(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117396193 A
(43)申请公布日 2024.01.12

(21)申请号 202280026001.6
(22)申请日 2022.03.30
(30)优先权数据
63/169,118 2021.03.31 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.09.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/022642 2022.03.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/212576 EN 2022.10.06
(71)申请人 再生技术有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 J·拉姆那斯 G·J·马尔可夫 W·G·奥尔森 K·D·布鲁尔
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 胡志君 黄革生
(51)Int.Cl.
A61K 9/51(2006.01)
A61K 31/7115(2006.01)
A61K 38/45(2006.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61K 47/22(2006.01)
A61K 47/20(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
B82Y 5/00(2011.01)

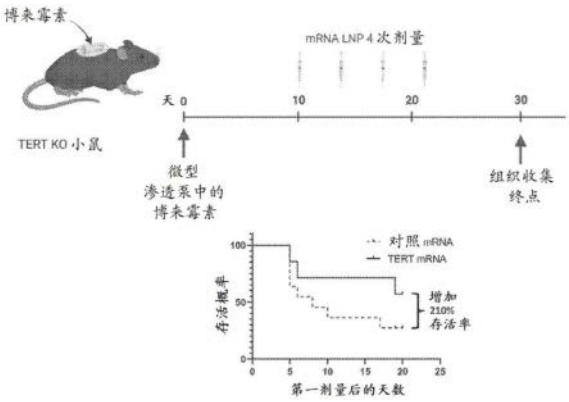
权利要求书7页 说明书81页
序列表80页 附图30页

(54)发明名称

用于递送RNA的组合物和方法

(57)摘要

本文提供的脂质纳米颗粒组合物优先递送到和/或转染肺。本文还提供了治疗性多核苷酸，例如TERT mRNA,其可以与LNP制剂一起递送用于治疗肺部疾病和纤维化。



CN 117396193 A

1.一种将多核苷酸递送到受试者的肺的方法,所述方法包括通过静脉内注射施用包封在脂质纳米颗粒(LNP)中的多核苷酸,所述LNP包含:

(i)摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质,

(ii)摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP或SS-OP类似物。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20αChol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

4.如权利要求3所述的方法,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

5.如权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

6.如权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

7.如权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述LNP包含结构脂质。

8.如权利要求7所述的方法,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

9.如权利要求7所述的方法,其中所述结构脂质是DOPC。

10.如权利要求9所述的方法,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

11.如权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

12.如权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

13.如权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

14.如权利要求1至13中任一项所述的方法,其中所述LNP包含隔离脂质。

15.如权利要求1至13中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

16.如权利要求1至15中任一项所述的方法,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

17.如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述多核苷酸是合成核糖核酸(RNA)。

18.如权利要求17所述的方法,其中所述合成核糖核酸(RNA)编码端粒酶逆转录酶(TERT),其中任选地,所述TERT mRNA包含与SEQ ID NO:38-40中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

19.一种治疗有需要的受试者的肺部疾病和/或肺纤维化的方法,所述方法包括施用有效量的包含递送媒介物的组合物,所述递送媒介物包含编码端粒酶逆转录酶(TERT)的合成核糖核酸(RNA),其中所述递送媒介物是包含SS-OP或SS-OP类似物的脂质纳米颗粒(LNP),其中任选地,所述TERT mRNA包含与SEQ ID NO:38-40中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

20.如权利要求19所述的方法,其中所述递送媒介物是包含摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP的脂质纳米颗粒(LNP)。

21.如权利要求20所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质、摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP、以及任选地结构脂质、隔离脂质和胆固醇中的一种或多种。

22.如权利要求19至21中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

23.如权利要求22所述的方法,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

24.如权利要求22所述的方法,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

25.如权利要求19至24中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含非翻译区(UTR)。

26.如权利要求19至25中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

27.如权利要求19至26中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含位于编码区

的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

28.如权利要求19至27中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

29.如权利要求19至28中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA是经密码子优化的。

30.如权利要求19至28中任一项所述的方法,其中所述肺部疾病与肺纤维化相关。

31.如权利要求30所述的方法,其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、囊性纤维化、感染性疾病、冠状病毒病或肺癌。

32.如权利要求19至31中任一项所述的方法,其中所述肺纤维化与TERT突变相关。

33.如权利要求19至32中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

34.如权利要求19至33中任一项所述的方法,其中所述组合物经由静脉内注射施用于所述受试者。

35.如权利要求19至33中任一项所述的方法,其中所述组合物经由吸入施用于所述受试者。

36.一种组合物,所述组合物包含包封在脂质纳米颗粒(LNP)中的多核苷酸,所述LNP包含:

(i)摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质,

(ii)摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP或SS-OP类似物。

37.如权利要求36所述的组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP。

38.如权利要求36所述的组合物,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20αChol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨

基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

39.如权利要求38所述的组合物,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

40.如权利要求36至39中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

41.如权利要求36至39中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

42.如权利要求36至41中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含结构脂质。

43.如权利要求42所述的组合物,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环已烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-0-单甲基PE、16-0-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

44.如权利要求43所述的组合物,其中所述结构脂质是DOPC。

45.如权利要求44所述的组合物,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

46.如权利要求36至45中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

47.如权利要求36至46中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

48.如权利要求36至46中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

49.如权利要求36至48中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含隔离脂质。

50.如权利要求36至48中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

51.如权利要求36至50中任一项所述的组合物,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

52.如权利要求36至51中任一项所述的组合物,其中所述多核苷酸是合成核糖核酸(RNA)。

53.如权利要求52所述的组合物,其中所述合成核糖核酸(RNA)编码端粒酶逆转录酶(TERT),其中任选地,所述TERT RNA包含与SEQ ID NO:38-40中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

54.如权利要求53所述的组合物,其中所述TERT RNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

55.如权利要求54所述的组合物,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

56.如权利要求54所述的组合物,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

57.如权利要求53至56所述的组合物,其中所述TERT RNA包含非翻译区(UTR)。

58.如权利要求53至57中任一项所述的组合物,其中所述TER T RNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

59.如权利要求53至58中任一项所述的组合物,其中所述TERT RNA包含位于编码区的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

60.如权利要求53至59中任一项所述的组合物,其中所述TERT RNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

61.如权利要求53至60中任一项所述的组合物,其中所述TERT RNA是经密码子优化的。

62.权利要求36至61中任一项所述的组合物用于治疗有需要的受试者的肺部疾病的用途。

63.根据权利要求62所述的组合物的用途,其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、囊性纤维化、感染性疾病、冠状病毒病或肺癌。

64.根据权利要求62或63所述的组合物的用途,其中所述肺部疾病与所述受试者的TERT突变相关。

65.根据权利要求62至64中任一项所述的组合物的用途,其中所述组合物经由静脉内注射或静脉内输注施用于所述受试者。

66.一种药物组合物,所述药物组合物包含:

(i)递送媒介物,所述递送媒介物包含编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA),其中任选地,所述TERT mRNA包含与SEQ ID NO:38-40中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列;以及

(ii)药学上可接受的溶剂或赋形剂;

其中所述递送媒介物是包含SS-OP或SS-OP类似物的LNP,并且能够优先递送到肺细胞和/或转染肺细胞。

67.如权利要求66所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP。

68.如权利要求67所述的药物组合物,其中所述LNP包含:摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质。

69.如权利要求66所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP类似物。

70.如权利要求68或69所述的药物组合物,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20α Chol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸

双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

71.如权利要求70所述的药物组合物,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

72.如权利要求68至71中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

73.如权利要求68至71中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

74.如权利要求68至73中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含结构脂质。

75.如权利要求74所述的药物组合物,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环已烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

76.如权利要求75所述的药物组合物,其中所述结构脂质是DOPC。

77.如权利要求76所述的药物组合物,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

78.如权利要求68至77中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

79.如权利要求68至78中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

80.如权利要求68至78中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

81.如权利要求68至80中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含隔离脂质。

82.如权利要求68至80中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

83.如权利要求68至82中任一项所述的药物组合物,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

84.如权利要求66至83中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT RNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

85.如权利要求84所述的药物组合物,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

86.如权利要求85所述的药物组合物,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

87.如权利要求66至86所述的药物组合物,其中所述TERT RNA包含非翻译区(UTR),任选地非天然存在的UTR。

88.如权利要求66至87中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT RNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

89.如权利要求66至88中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT RNA包含位于编码区的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

90.如权利要求66至89中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT RNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

91.如权利要求66至90中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT RNA是经密码子优化的。

92.权利要求66至91中任一项所述的药物组合物用于治疗有需要的受试者的肺部疾病和/或肺纤维化的用途。

93.根据权利要求92所述的药物组合物的用途,其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、囊性纤维化、感染性疾病、冠状病毒病或肺癌。

94.根据权利要求92或93所述的药物组合物的用途,其中所述肺纤维化与所述受试者的TERT突变相关。

95.根据权利要求92至94中任一项所述的药物组合物的用途,其中所述组合物经由静脉内注射施用于所述受试者。

用于递送RNA的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2021年3月31日提交的美国临时专利申请号63/169,118的优先权和权益,该临时专利申请的公开内容全文据此以引用方式并入。

[0003] 序列表的并入

[0004] 创建于2022年3月29日并且大小为205KB的名称为“REJU_005_01WO_SeqList_ST25.txt”的文本文件的内容全文据此以引用方式并入。

技术领域

[0005] 本公开总体上涉及用于在肺部疾病和纤维化疾病的治疗中递送核糖核酸(RNA)疗法的组合物和方法。

背景技术

[0006] 已经确定了许多目前没有治疗方法的肺部疾病。肺部疾病例如肺纤维化、间质性肺病和肺癌常常诱导纤维化作为疾病进展的一部分,这进一步限制了患者恢复可能发生的程度。用于治疗肺部疾病的多核苷酸向肺部的递送是在开发中的一种治疗方法;然而,用于递送这些治疗的组合物和方法需要改进,并且尚未开发出用于治疗所得纤维化的治疗方法。

[0007] 因此,本领域仍然需要能够将治疗肺部疾病和/或肺纤维化的多核苷酸例如mRNA递送到肺部的递送制剂。下面的公开内容解决了这种需求。

发明内容

[0008] 本文提供了用于以高转染率向肺细胞递送mRNA的递送媒介物及其组合物。在一些实施方案中,mRNA以低毒性递送到肺细胞。在一些实施方案中,肺细胞包括肺泡上皮和血管内皮,并且本文所公开的递送媒介物可用于递送可用于治疗或预防肺部疾病和病症的mRNA。在一些实施方案中,递送到肺细胞的mRNA编码可用于治疗肺部疾病或病症的蛋白质。在一些实施方案中,mRNA编码TERT蛋白。在一些实施方案中,所述蛋白质是病原体的抗原。在一些实施方案中,肺部疾病和病症包括但不限于:肺纤维化、特发性肺纤维化、肺气肿、间质性肺病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺部感染、肺炎、结核病、胃反流、肺癌、囊性纤维化、先天性角化不良、α-1抗胰蛋白酶缺乏症以及肺部的其他获得性或遗传性疾病。本公开涉及用于治疗例如肺部的纤维化疾病和病症以及肺部疾病和病症的端粒酶逆转录酶(TERT)信使核糖核酸(mRNA)疗法。用包含TERT mRNA的组合物治疗可以预防、逆转或治疗纤维化疾病和/或肺部疾病的纤维化和其他病理特征,引起整体器官功能和受试者健康的改善。因此,在一些实施方案中,本文提供了包含一种或多种编码端粒酶逆转录酶(TERT)的合成信使核糖核酸(mRNA)的组合物。

[0009] 在一些实施方案中,该组合物包含:(i)编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA),以及(ii)递送媒介物,其中编码TERT的RNA包含一个或多个经修饰的核苷酸,并且其

中(ii)的递送媒介物可操作地连接到编码TERT的RNA。

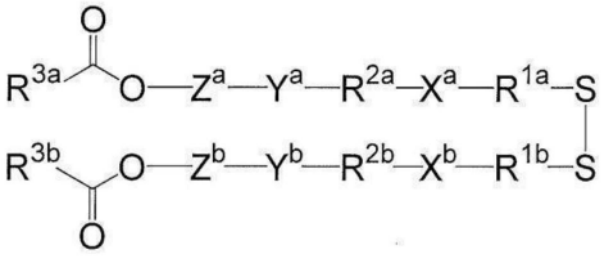
[0010] 在本公开的组合物的一些实施方案中,递送媒介物包含纳米颗粒、脂质体、阳离子脂质、外泌体、细胞外囊泡、脂质纳米颗粒、天然脂蛋白颗粒和人工脂蛋白颗粒中的一种或多种。

[0011] 本文提供了能够转染至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的肺细胞群体的脂质纳米颗粒(LNP)。

[0012] 在本公开的组合物的一些实施方案中,递送媒介物包含脂质纳米颗粒(LNP)。在一些实施方案中,递送媒介物包含阳离子脂质。

[0013] 在一些实施方案中,递送媒介物包含靶向部分。在一些实施方案中,靶向脂质导致递送媒介物特异性地或选择性地与肺细胞相互作用。在一些实施方案中,靶向部分包含胆固醇。在一些实施方案中,靶向部分是特异性地或选择性地与肺细胞相互作用的脂质。在一些实施方案中,靶向脂质包含1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DABB)或1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-乙基磷酸胆碱(EPC)。

[0014] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,递送媒介物包含式I的化合物:

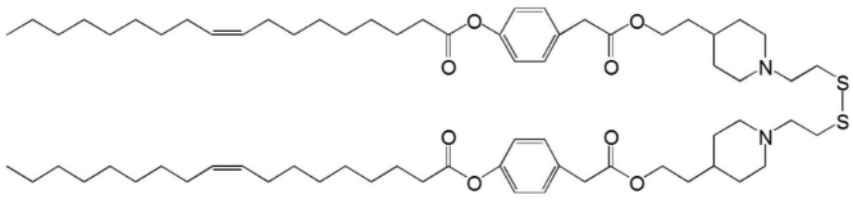
[0015] 

(1)

,

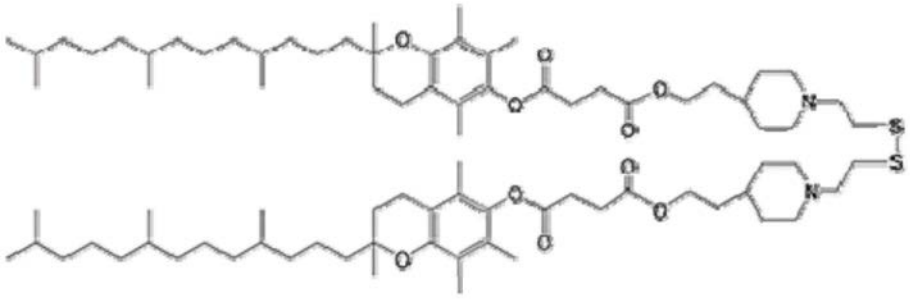
[0016] 其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地表示具有1至6个碳原子的亚烷基基团,其中X^a和X^b各自独立地为具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团或2至5个碳原子的无环烷基叔氨基基团,以及具有1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团,其中R^{2a}和R^{2b}各自独立地表示具有8个或更少碳原子的亚烷基基团或氧基二亚烷基基团,其中Y^a和Y^b各自独立地表示酯键、酰胺键、氨基甲酸酯键、醚键或脲键;其中Z^a和Z^b各自独立地为来源于具有3至16个碳原子、具有至少一个芳环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团,并且其中R^{3a}和R^{3b}各自独立地表示来源于具有羟基基团的脂溶性维生素与琥珀酸酐或戊二酸酐或者具有羟基基团的甾醇衍生物与琥珀酸酐的反应产物的残基,或者来源于与戊二酸酐的反应产物的残基,或具有12至22个碳原子的脂族烃基。

[0017] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

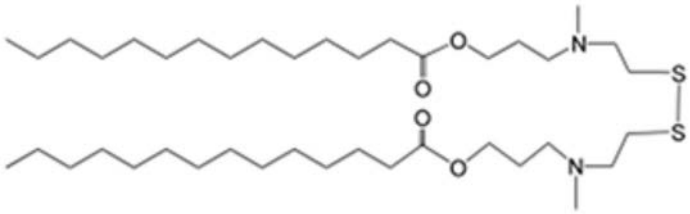
[0018] 

。

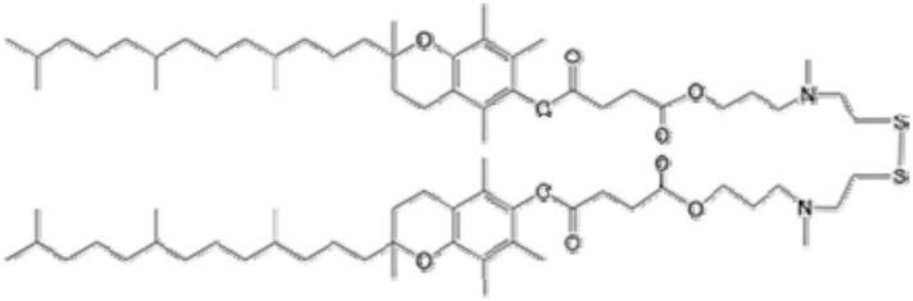
[0019] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

[0020] 

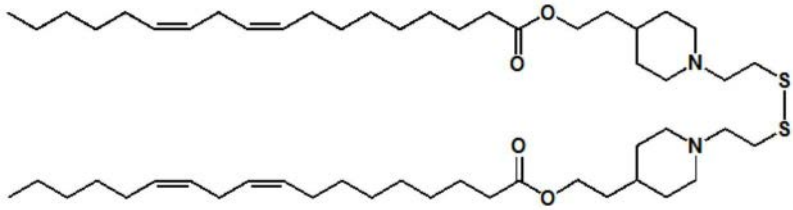
[0021] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

[0022] 

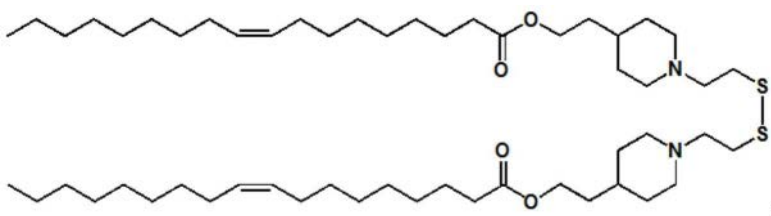
[0023] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

[0024] 

[0025] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

[0026] 

[0027] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,式I的化合物是:

[0028] 

[0029] 在一些实施方案中,RNA包含SEQ ID NO:1-5、30-31或37-40的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0030] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,RNA包含5'帽。在一些实施方案中,5'帽包含抗反向帽类似物(ARCA)。在一些实施方案中,ARCA包含3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G结构。在一些实施方案中,5'帽包含m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG。在一些实施方案中,5'帽包含m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG。

[0031] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,RNA还包含至少一个非翻译区(UTR)。UTR可包含SEQ ID NO:32-36的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,所述至少一个UTR位于编码TERT的RNA的5'。在一些实施方案中,所述至少一个UTR位于编码TERT的RNA的3'。在一些实施方案中,UTR包含人序列。在一些实施方案中,UTR包含非人或合成序列。在一些实施方案中,UTR包含嵌合序列。在一些实施方案中,UTR增加稳定性,延长半衰期,增加转录速率或减少编码TERT的RNA的转录起始前的时间。在一些实施方案中,UTR包含与分离自或来源于α-球蛋白、β-球蛋白、c-fos和烟草蚀纹病毒中的一种或多种的UTR序列具有至少70%同一性的序列。

[0032] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,编码TERT的RNA的一个或多个经修饰的核苷酸包括经修饰的腺嘌呤或其类似物、经修饰的胞苷或其类似物、经修饰的鸟苷或其类似物以及经修饰的尿苷或其类似物中的一种或多种。在一些实施方案中,编码TERT的RNA的一个或多个经修饰的核苷酸包括1-甲基假尿苷(也称为N1-甲基假尿苷)、假尿苷(N1m)、2-硫代尿苷和5-甲基胞苷中的一种或多种。在一些实施方案中,编码TERT的RNA的一个或多个经修饰的核苷酸包括5-甲氧基尿苷(5-moU)。在一些实施方案中,编码TERT的RNA的一个或多个经修饰的核苷酸包括以下的一种或多种:m1A 1-甲基腺苷、m6A N6-甲基腺苷、Am 2'-O-甲基腺苷、i6A N6-异戊烯基腺苷、io6A N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、ms2io6A 2-甲硫基-N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、g6A N6-甘氨酸氨基甲酰基腺苷、t6A N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、ms2t6A 2-甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、Ar(p)2'-O-核糖基腺苷(磷酸酯)、m6 2A N6,N6-二甲基腺苷、m6Am N6,2'-O-二甲基腺苷、m6 2Am N6,N6,2'-O-三甲基腺苷、m1Am 1,2'-O-二甲基腺苷、m3C 3-甲基胞苷、m5C 5-甲基胞苷、Cm 2'-O-甲基胞苷、ac4C N4-乙酰基胞苷、f5C 5-甲酰基胞苷、m4C N4-甲基胞苷、hm5C 5-羟甲基胞苷、f5Cm5-甲酰基-2'-O-甲基胞苷、m1G 1-甲基鸟苷、m2G N2-甲基鸟苷、m7G7-甲基鸟苷、Gm 2'-O-甲基鸟苷、m2 2G N2,N2-二甲基鸟苷、Gr(p)2'-O-核糖基鸟苷(磷酸酯)、yW怀丁苷、o2yW过氧怀丁苷、OHyW羟基怀丁苷、OHyW*修饰不足的羟基怀丁苷、imG怀俄苷、m2,7G N2,7-二甲基鸟苷、m2,2,7G N2,N2,7-三甲基鸟苷I肌苷、m1I 1-甲基肌苷、Im 2'-O-甲基肌苷、Q辫苷、galQ半乳糖基-辫苷、manQ甘露糖基-辫苷、Ψ假尿苷、D二氢尿苷、m5U 5-甲基尿苷、Um 2'-O-甲基尿苷、m5Um 5,2'-O-二甲基尿苷、m1Ψ 1-甲基假尿苷、Ψm 2'-O-甲基假尿苷、s2U 2-硫代尿苷、ho5U 5-羟基尿苷、chm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷、mchm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷、甲酯mcm5U 5-甲氧基羰基甲基尿苷、mcm5Um 5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基尿苷、mcm5s2U 5-甲氧基羰基甲基-2-硫代尿苷、ncm5U 5-氨基甲酰基甲基尿苷、ncm5Um 5-氨基甲酰基甲基-2'-O-甲基尿苷、cmnm5U 5-羧甲基氨基甲基尿苷、m3U 3-甲基尿苷、m1acp3Ψ1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷、cm5U 5-羧甲基

尿苷、m3Um 3,2'-O-二甲基尿苷、m5D 5-甲基二氢尿苷、τm5U 5-牛磺酸甲基尿苷、τm5s2U 5-牛磺酸甲基-2-硫代尿苷、2-氨基腺苷、2-氨基-6-氯嘌呤核苷、8-氮杂腺苷、6-氯嘌呤核苷、5-碘胞苷、5-碘尿苷、肌苷、2'-O-甲基肌苷、黄苷、4-硫代尿苷、O6-甲基鸟苷、5,6-二氢尿苷、2-硫代胞苷、6-氮杂胞苷、6-氮杂尿苷、2'-O-甲基-2-氨基腺苷、2'-O-甲基假尿苷、N1-甲基腺苷、2'-O-甲基-5-甲基尿苷、7-脱氮鸟苷、8-叠氮基腺苷、5-溴胞苷、5-溴尿苷、7-脱氮腺苷、5-氨基烯丙基尿苷、5-氨基烯丙基胞苷、8-氧代鸟苷、2-氨基嘌呤核苷、假异胞苷、N1-甲基假尿苷、5,6-二氢-5-甲基尿苷、N6-甲基-2-氨基腺苷、5-羧基胞苷、5-羟甲基尿苷、噻吩并鸟苷、5-羟基胞苷、5-甲酰基尿苷、5-羧基尿苷、5-甲氧基尿苷、5-甲氧基胞苷、噻吩并尿苷、5-羧基甲酯尿苷、噻吩并胞苷、8-氧代腺苷、异鸟苷、N1-乙基假尿苷、N1-甲基-2'-O-甲基假尿苷、N1-甲氧基甲基假尿苷、N1-丙基假尿苷、2'-O-甲基-N6-甲基腺苷、2-氨基-6-Cl-嘌呤-2'-脱氧核苷、2-氨基-2'-脱氧腺苷、2-氨基嘌呤-2'-脱氧核苷、5-溴-2'-脱氧胞苷、5-溴-2'-脱氧尿苷、6-氯嘌呤-2'-脱氧核苷、7-脱氮-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-2'-脱氧鸟苷、2'-脱氧肌苷、5-丙炔基-2'-脱氧胞苷、5-丙炔基-2'-脱氧尿苷、5-氟-2'-脱氧尿苷、5-碘-2'-脱氧胞苷、5-碘-2'-脱氧尿苷、N6-甲基-2'-脱氧腺苷、5-甲基-2'-脱氧胞苷、O6-甲基-2'-脱氧鸟苷、N2-甲基-2'-脱氧鸟苷、8-氧代-2'-脱氧腺苷、8-氧代-2'-脱氧鸟苷、2-硫代胸苷、2'-脱氧-P-核苷、5-羟基-2'-脱氧胞苷、4-硫代胸苷、2-硫代-2'-脱氧胞苷、6-氮杂-2'-脱氧尿苷、6-硫代-2'-脱氧鸟苷、8-氯-2'-脱氧腺苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧尿苷、N4-甲基-2'-脱氧胞苷、2'-脱氧泽布拉林、5-羟甲基-2'-脱氧尿苷、5-羟甲基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧胞苷、5-甲酰基-2'-脱氧胞苷、5-[(3-吲哚基)丙酰胺-N-烯丙基]-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧尿苷、5-甲酰基-2'-脱氧尿苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dUTP、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dCTP、生物素-16-氨基烯丙基胞苷、N4-生物素-OBEA-2'-脱氧胞苷、生物素-16-氨基烯丙基尿苷、Dabcyl-5-3-氨基烯丙基-2'-dUTP、脱硫生物素-6-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、脱硫生物素-16-氨基烯丙基-尿苷、生物素-16-7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、花青素3-5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素3-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素3-氨基烯丙基胞苷、花青素3-氨基烯丙基尿苷、花青素5-氨基烯丙基胞苷、花青素5-氨基烯丙基尿苷、花青素7-氨基烯丙基尿苷、2'-氟-2'-脱氧腺苷、2'-氟-2'-脱氧胞苷、2'-氟-2'-脱氧鸟苷、2'-氟-2'-脱氧尿苷、2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基胞苷、2'-O-甲基鸟苷、2'-O-甲基尿苷、嘌呤霉素、2'-氨基-2'-脱氧胞苷、2'-氨基-2'-脱氧尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧胞苷、2'-叠氮基-2'-脱氧尿苷、阿糖胞苷、阿糖尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧腺苷、2'-氨基-2'-脱氧腺苷、阿糖腺苷、2'-氟-胸苷、3'-O-甲基腺苷、3'-O-甲基胞苷、3'-O-甲基鸟苷、3'-O-甲基尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧鸟苷、阿糖鸟苷、2'-脱氧尿苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧腺苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧肌苷、3'-脱氧腺苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧-5-甲基尿苷、3'-脱氧尿苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胸苷、2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧鸟苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧

尿苷、5-溴-2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧肌苷、2'-脱氧腺苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-0-(1-硫代三磷酸酯)、2'-脱氧胸苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、腺苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、胞苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、鸟苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、尿苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧腺苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧胞苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧鸟苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、3'-脱氧胸苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧尿苷-5'-0-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧腺苷-5'-0-(1-硼烷磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-0-(1-硼烷磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-0-(1-硼烷磷酸酯)和2'-脱氧胸苷-5'-0-(1-硼烷磷酸酯)。

[0033] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,递送媒介物包含编码TERT的RNA。在一些实施方案中,递送媒介物的表面、层或容积中的一者或多者包含编码TERT的RNA。在一些实施方案中,所述表面包括外表面或内表面。在一些实施方案中,所述层包括脂质单层或脂质双层。在一些实施方案中,所述容积包括内部容积。

[0034] 在一些实施方案中,本公开提供了一种组合物,该组合物包含(i)编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA),以及(ii)递送媒介物,其中编码TERT的RNA包含一个或多个经修饰的核苷酸,并且其中(ii)的递送媒介物可操作地连接到编码TERT的RNA。

[0035] 在本公开的组合物的一些实施方案中,包括其中递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)的那些,该组合物还包含编码端粒酶RNA组分(TERC)的核糖核酸(RNA)。在一些实施方案中,递送媒介物可操作地连接到编码端粒酶RNA组分(TERC)的核糖核酸(RNA)。在一些实施方案中,递送媒介物包含编码TERC的RNA。在一些实施方案中,递送媒介物的表面、层或容积中的一者或多者包含编码TERC的RNA。在一些实施方案中,所述表面包括外表面或内表面。在一些实施方案中,所述层包括脂质单层或脂质双层。在一些实施方案中,所述容积包括内部容积。

[0036] 在一些实施方案中,编码TERT的RNA包含SEQ ID NO:1-5、7、9、14-17、19、21、23、25、27、29-31、37-40的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,编码TERT的RNA包含SEQ ID NO:32-34、35和36的UTR序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0037] 在一些实施方案中,RNA包括自我复制RNA。在一些实施方案中,RNA包括环状RNA。

[0038] 本公开提供了一种增加细胞中端粒酶活性的方法,该方法包括使细胞与本公开的组合物接触。在一些实施方案中,细胞是体内的、离体的或体外的。

[0039] 本公开提供了一种延长细胞中的端粒的方法,该方法包括使细胞与本公开的组合物接触。在一些实施方案中,细胞是体内的、离体的或体外的。

[0040] 本公开提供了一种包含本公开的组合物的细胞。

[0041] 本公开提供了一种包含本公开的细胞的制剂,该细胞包含本公开的组合物。在制剂的一些实施方案中,多个细胞包括本公开的细胞,该细胞包含本公开的组合物。在制剂的一些实施方案中,多个细胞中的每个细胞是本公开的细胞,该细胞包含本公开的组合物。

[0042] 本公开提供了治疗疾病或病症的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的组合物。

[0043] 本公开提供了治疗疾病或病症的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的细胞,该细胞包含本公开的组合物。

[0044] 本公开提供了治疗疾病或病症的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的制剂。

[0045] 本公开提供了延迟疾病发作的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的组合物。

[0046] 本公开提供了延迟疾病发作的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的细胞,该细胞包含本公开的组合物。

[0047] 本公开提供了一种延迟疾病发作的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本公开的制剂。

[0048] 以引用的方式并入

[0049] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请通过引用并入本文,就如每个单独的出版物、专利或专利申请被具体地和单独地指出通过引用并入的程度一样。

附图说明

[0050] 本公开的新颖特征在所附权利要求书中进行了具体阐述。通过参考以下阐述例示性实施方案的详细描述和附图将获得对本公开的特征和优点的更好理解,在这些例示性实施方案中利用了本公开的原理,在附图中:

[0051] 图1是示出经由端粒酶逆转录酶(TERT)mRNA实现的瞬时、快速端粒延长的长期治疗有益效果的示意图。具体地,通过TERT mRNA处理使端粒延长的速度成为可能能够通过不频繁的TERT mRNA给药维持端粒。在mRNA周转之前,由TERT mRNA递送产生的端粒酶活性在短时间内快速延长端粒,从而允许端粒缩短的保护性抗癌机制在大多数时间起作用。在治疗之间,存在正常的端粒酶活性和端粒缩短,因此端粒缩短以防止失控增殖的抗癌安全机制保持完整,而与短端粒相关的疾病的风险保持较低。相比之下,用于延长端粒的最佳现有小分子治疗需要长期递送,因此存在慢性癌症风险,甚至对端粒长度具有小的、不一致的影响,在约一半的患者中对端粒长度根本没有可检测的影响。

[0052] 图2示出了使用本文所公开的示例性脂质组分制备的mRNA-LN P的代表性动态光散射(DLS)图。

[0053] 图3示出了注射mRNA-LNP的小鼠中整体器官的生物发光成像。

[0054] 图4A至图4B示出了用mRNA报告子处理的小鼠(图4A)和未处理的对照小鼠(图4B)的肺细胞中tdTomato的免疫组织化学染色。

[0055] 图5A至图5B示出了递送TERT mRNA-LNP后的小鼠肺中(图5B)和未处理对照的小鼠肺中(图5A)的端粒酶活性的测量。

[0056] 图6A是示出示例性肺递送媒介物制剂的转染效率的柱状图。

[0057] 图6B至图6F示出了如上所述从小鼠收获的肺切片的代表性图像,其中报告蛋白显示为深色染色。

[0058] 图7A至图7C示出了测试肺纤维化的小鼠肺的计算机断层摄影(CT)X射线扫描。图

7D是量化图7A至图7C所示结果的柱状图。

[0059] 图8示出了显示给予表6A的制剂与肺靶向LNP的其他制剂相比小鼠的死亡率的图。

[0060] 图9A至图9D示出了来自用博来霉素处理以诱导肺纤维化并用CRE mRNA或盐水处理以显示将mRNA递送到肺泡细胞的小鼠的各种肺样本。

[0061] 图10示出了用SS-OP DOTAP和cKK DOTAP LNP制剂将荧光素酶mRNA静脉内(IV)和气管内(OA)递送到肺的肺发光。

[0062] 图11示出了静脉内施用的SS-OP DOTAP制剂优先递送到肺。从左到右,培养皿的LNP制剂是(1)口服递送的SS-OP DOTAP 75:1;(2)静脉内递送的SS-OP DOTAP 75:1;(3)PBS对照(无LNP);以及(4)口服递送的cKK DOTAP 40:1。

[0063] 图12示出了静脉内递送含有CRE mRNA的LNP制剂时肺实质中Tomato(+)细胞的百分比。

[0064] 图13示出了相对于用于配制递送萤火虫荧光素酶mRNA的LNP组合物的流速的肺发光。

[0065] 图14示出了递送荧光素酶RNA的LNP制剂的离体生物发光,其中RNA递送不需要结构脂质或胆固醇。

[0066] 图15示出了递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的离体肺平均辐射率,其中RNA与LNP的比率根据所示比率而变化。

[0067] 图16示出了递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的离体肺平均辐射率,其中RNA与LNP的比率根据所示比率而变化,并且在制剂中不使用DOPC结构脂质。

[0068] 图17A和图17B示出了递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的离体肺平均辐射率,其中PEG化脂质的百分比在制剂中是变化的。

[0069] 图18A和图18B示出了递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的离体肺平均辐射率,其中PEG化脂质的百分比低于1.5%,或不存在于制剂中。

[0070] 图19示出了递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的离体肺平均辐射率,其中制剂中DOTAP的百分比是变化的。

[0071] 图20A和图20B示出了将示例性LNP制剂离体优先递送到肺,其中DOTAP的百分比是变化的。图20A示出了根据DOTAP的百分比,递送荧光素酶mRNA的LNP制剂的肝平均辐射率。图20B示出了根据DOTAP的百分比,LNP制剂的肺/肝递送比率。

[0072] 图21A和图21B示出了LNP制剂在肺泡上皮细胞中的转染。示出了如在给予包含Cre mRNA的LNP的tomato fl/fl小鼠中诱导的tdTomato表达的免疫荧光染色。AT1和AT2肺上皮细胞标志物也被染色。

[0073] 图22示出了使用包含TERT mRNA的表6A的SS-OP DOTAP LNP,作为疾病治疗的治疗性mRNA的SS-OP DOTAP递送。在第0天将LNP TERT mRNA制剂递送到博来霉素诱导的肺纤维化模型小鼠。相对于对照mRNA,TERT mRNA的递送在终点使小鼠的存活率增加了210%。

具体实施方式

[0074] 本公开的组合物和方法提供了脂质纳米颗粒(LNP),其包含SS-OP脂质或其类似物诸如本文所述的式I的化合物,以及用于静脉内递送到肺例如用于治疗肺部疾病和/或肺纤维化的阳离子脂质。在一些变型中,SS-OP脂质或其类似物可以用cKK脂质或其类似物代替

或与其组合。如本文所公开,与已知的LNP制剂相比,前述LNP可具有改善的肺转导效率和/或肺特异性。

[0075] 本文还提供了待递送到肺以治疗例如肺纤维化的编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA)。编码TERT的RNA可任选地与前述SS-OP LNP组合物或与本领域已知的其他LNP一起递送。

[0076] 端粒酶逆转录酶(TERT)是已知维持和延长染色体末端(端粒)的酶。TERT酶是核糖核蛋白端粒酶的催化亚基。TERT通过在端粒酶的RNA组分内复制模板序列5'-GGTTAG-3'而将简单重复序列添加到端粒。重复脱氧核糖核酸(DNA)序列的这种添加有助于减缓端粒缩短,其随时间发生,例如是由于有丝分裂期间不完全的DNA复制。

[0077] TERT在细胞核与细胞质之间易位,并且已被证明是包括细胞增殖和癌转移在内的多种其他生物过程中的关键因素。因此,细胞核中TERT的水平可能是调节细胞和生物体健康的关键步骤。

[0078] 端粒酶逆转录酶(TERT)在本领域中也称为TRT、皮肤恶性黑素瘤9(CMM9)、常染色体显性先天性角化不良2(DKCA2)、常染色体隐性先天性角化不良-4(DKCB4)、人渐短端粒(human ever shorter telomeres)2(HEST2)、肺纤维化/骨髓衰竭端粒相关1(PFBMFT1)、端粒酶催化亚基(TCS1)和端粒酶相关蛋白2(TP2)。

[0079] 在一些实施方案中,本文所述的治疗可停止、减缓或逆转纤维化疾病例如肺部疾病或其他肺部疾病的进展。

[0080] TERT mRNA是瞬时的,并且在降解前仅需要数小时来延长人细胞中的端粒。因此,TERT mRNA使保护性抗癌端粒缩短机制保持完整。本公开提供了用于递送TERT mRNA和治疗纤维化疾病和肺部疾病的组合物和方法。

[0081] 在正常衰老期间,由于细胞周期的S期期间的氧化和不完全的DNA复制,端粒每年缩短大约30-100个碱基对(Kurenova EV等人,Telomere functions.A review.Biochemistry(Mosc)1997;62:1242-53)。由TERT蛋白和多核苷酸模板(TERC)组成的端粒酶延长端粒,但在人中,它在大多数体细胞类型中是无活性的,并且仅在低水平是有活性的,不足以防止许多祖细胞类型中的净端粒缩短。例外是生精谱系,其中端粒酶的活性足以在整个人寿命中维持端粒长度(Takubo K、Aida J、Izumiyama-Shimomura N等人,Changes of telomere length with aging.Geriatric Gerontology Int 2010;10增刊1:S197-206)。由于TERC组分在所有细胞类型中以高水平存在,通常每个细胞超过10,000个拷贝,TERT是限制性组分。因为短端粒限制细胞的增殖和再生能力,所以它们与衰老、早期死亡和大量疾病和病症相关。

[0082] 端粒在线性染色体的末端包含重复的DNA序列,当足够长时,其可以允许每个染色体末端形成保护末端免于充当双链或单链DNA断裂的环。端粒可以随时间缩短,部分由于氧化损伤和不完全的DNA复制,最终导致不能形成保护环的临界短端粒、染色体末端的暴露、染色体-染色体融合、DNA损伤应答以及细胞衰老、细胞凋亡或恶性肿瘤。

[0083] 端粒长度的维持可以在预防细胞衰老和细胞凋亡以及导致的细胞和器官功能障碍中起作用。在许多疾病中,对于细胞复制以替换被潜在疾病机制破坏或杀死的细胞的需要比正常情况更迅速地缩短端粒,从而耗尽细胞的复制能力,并导致组织功能障碍、恶化或额外的症状、残疾或死亡。此外,端粒酶(TERT)的遗传突变可与端粒维持不足的致命遗传疾

病有关,包括先天性角化不良和肺纤维化、肺部疾病和再生障碍性贫血的形式。染色体-染色体融合和由短端粒引起的细胞衰老可增加癌症的风险。短端粒还与衰老的有害病症和疾病以及大量疾病的不良结果有关。导致肺纤维化的肺部疾病包括但不限于:肺纤维化、肺癌、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、结核病、支气管炎、肺气肿、肺癌、慢性阻塞性肺病(COPD)、衰老相关纤维化、肺动脉高压、哮喘和囊性纤维化。

[0084] 通过端粒延长预防、延迟或治疗功能障碍、病症和疾病的前景激发了对于在体内和/或体外在动物细胞中延长端粒的安全且有效的治疗的需要,以及对于向动物细胞递送疗法以延长端粒的安全且有效的组合物和方法的需要。此外,需要安全且快速地延长细胞中的端粒以用于细胞疗法、细胞和组织工程化以及再生医学。然而,同时,与瞬时激活不同,在端粒酶活性的固有激活中可能存在危险。实际上,对于细胞疗法应用,需要避免细胞永生化。为此,瞬时的而非固有的端粒酶活性对于安全性是有利的,例如,如果升高的端粒酶活性不仅短暂而且足够快速地延长端粒,使得不需要连续重复治疗。

[0085] 因此,需要安全地延长端粒以潜在地预防、延迟、改善或治疗这些和其他病症和疾病的疗法,以实现伴随按时间顺序老化的身体形态和功能以及精神功能的逐渐衰退,以及使细胞疗法和再生医学成为可能。此外,需要将这些疗法例如编码端粒酶的核酸分子递送到细胞的改进方法。

[0086] 除非本文另有定义,否则本申请中使用的科学和技术术语应当具有本领域普通技术人员通常理解的含义。一般来讲,与本文所述的化学、分子生物学、细胞和癌症生物学、免疫学、微生物学、药理学以及蛋白质和核酸化学结合使用的命名法和技术是本领域熟知和常用的那些。

[0087] 如本文和所附权利要求中所用,除非上下文另有明确说明,否则单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代物。因此,例如,对“药物候选物”的提及是指此类候选物中的一种或此类候选物的混合物,并且对“该方法”的提及包括提及本领域技术人员已知的等效步骤和方法等。

[0088] 如本文所用,如应用于一个或多个所关注值的术语“大约”或“约”是指与所述参考值在大小上相似并且/或者在相似范围内的值。在某些实施方案中,除非另有说明或从上下文明显看出(除了此类数字将超过可能值的100%的情况),否则术语“大约”或“约”可以指在所述参考值的任一方向(大于或小于)上落在25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小范围内的值范围。

[0089] 在提供值范围的情况下,应当理解,除非上下文另外明确指示,否则在该范围的上限与下限之间到下限单位的十分之一的每个中间值以及该所述范围中的任何其他所述值或中间值涵盖在本公开内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在较小范围内,也涵盖在本公开内,受限于所述范围内的任何具体排除的限值。当所述范围包括一个或两个限值时,排除那些包括的限值中的任一个或两个的范围也包括在本公开中。

[0090] “G”、“C”、“A”、“T”和“U”通常分别代表碱基鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶。核碱基可通过添加五碳糖来形成核苷。如果糖是核糖,则核苷是核糖核苷。核苷继而可通过添加一个或多个连接基团诸如磷酸酯基团来形成核苷酸。核苷酸继而可形成包含短

聚合物(寡核苷酸)的聚合物(多核苷酸)。然而,应当理解,术语“碱基”、“核碱基”、“核苷”、“核糖核苷”、“核苷酸”、“核糖核苷酸”也可以指如下文进一步详述的经修饰的碱基、核碱基、核苷、核糖核苷、核苷酸或核糖核苷酸,或替代置换部分(参见例如表2和本文别处)。技术人员熟知,鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶、尿嘧啶可被其他部分置换,而基本上不损害包含携带这种置换部分的核苷酸的寡核苷酸或多核苷酸的一种或多种特定特性(诸如碱基配对特性、可翻译性或蛋白质结合特性)。含有此类置换部分的序列适用于本公开中所特有的组合物和方法。类似地,本领域技术人员熟知,核糖可以被其他部分置换,而不损害包含携带这种置换部分的核苷酸的寡核苷酸或多核苷酸的某些特性(诸如碱基配对特性、可翻译性或蛋白质结合特性)。含有此类置换部分的序列适用于本公开中所特有的组合物和方法。类似地,本领域技术人员熟知,磷酸酯可以被其他部分置换,而不损害包含携带这种置换部分的核苷酸的寡核苷酸或多核苷酸的某些特性(诸如碱基配对特性、可翻译性或蛋白质结合特性)。含有此类置换部分的序列适用于本公开中所特有的组合物和方法。

[0091] 如本文所用,术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指任何长度的氨基酸聚合物。该术语还涵盖已被修饰的氨基酸聚合物;例如,以包括二硫键形成、糖基化、脂化、磷酸化或与标记组分缀合。

[0092] 如本文所用,术语“同一性”和“相同”是指对于所关注的多肽或多核苷酸序列,所关注的序列与参考序列比对(诸如通过BLAST算法生成的比对)中的精确匹配残基的百分比。除非另有说明,否则计算参考序列全长的同一性。因此,如果当将参考序列(作为查询序列)与所关注序列(作为主题序列)比对时,将主题序列中至少x%(向下取整)的残基比对为与查询序列中对应残基的精确匹配,则所关注序列与参考序列“共享至少x%同一性”,分母是参考序列的全长加上通过参考序列与所关注序列的比对而插入到参考序列中的任何空位的长度。在主题序列具有可变位置(例如,表示为X的残基)的情况下,与查询序列中任何残基的比对被计算为匹配。可以使用NCBI Blast服务(BLAST+版本2.12.0)或给出相同结果的另一程序进行序列比对。

[0093] 如本文所用的术语“天然”或“野生型”是指存在于野生型细胞、组织、器官或生物体中的核苷酸序列例如基因或基因产物例如RNA或多肽。如本文所用的术语“变体”是指参考多核苷酸或多肽序列的突变体,例如天然多核苷酸或多肽序列,即与参考多核苷酸或多肽序列具有小于100%的序列同一性。换言之,相对于参考多核苷酸序列例如天然多核苷酸或多肽序列,变体包含至少一个核苷酸差异(例如,核苷酸取代、核苷酸插入、核苷酸缺失)或一个氨基酸差异(例如,氨基酸取代、氨基酸插入、氨基酸缺失)。例如,变体可以是与全长天然多核苷酸序列具有50%或更高、60%或更高、或70%或更高的序列同一性的多核苷酸,例如与全长天然多核苷酸序列具有75%或80%或更高,诸如85%、90%或95%或更高,例如98%或99%的同一性的多核苷酸。又如,变体可以是与全长天然多肽序列具有70%或更高的序列同一性的多肽,例如与全长天然多肽序列具有75%或80%或更高,诸如85%、90%或95%或更高,例如98%或99%的同一性。变体还可包括参考序列(例如天然序列)的变体片段,其与参考序列(例如天然序列)的片段共享70%或更高的序列同一性,例如与天然序列具有75%或80%或更高,诸如85%、90%或95%或更高,例如98%或99%的同一性。

[0094] 如本文所用,术语“经密码子优化的”是指用于通过调节宿主生物体的密码子偏好性来改善基因表达和增加所关注基因的翻译效率和/或降低多核苷酸的免疫原性的任何过

程。

[0095] 如本文使用的术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”通常是指用治疗剂获得期望的药理学和/或生理学效应。该效应在完全或部分预防疾病或其症状方面可以是预防性的,例如降低疾病或其症状在受试者中出现的可能性,并且/或者在完全或部分减轻症状方面可以是治疗性的,或者部分或完全治愈疾病和/或可归因于该疾病的副作用。如本文所用的“治疗”涵盖对哺乳动物的疾病的任何治疗,并且包括:(a)预防疾病在可能易患该疾病但尚未诊断为患有该疾病的受试者中发生;(b)抑制或减缓疾病的发作或发展;或者(c)减轻疾病,例如引起疾病或与疾病相关的症状的消退。治疗剂可以在疾病发作之前、期间或之后施用。正在进行的疾病的治疗可能是特别关注的,其中该治疗稳定或减少患者的不期望的临床症状。在一些实施方案中,在受累组织中的功能完全丧失之前进行治疗。在一些实施方案中,受试者疗法将在疾病的症状阶段之前;并且,在一些实施方案中,在疾病的症状阶段期间;并且,在一些实施方案中,在疾病的症状阶段之后施用。

[0096] 在一些实施方案中,如本文所述的疗法治疗纤维化疾病或肺部疾病,包括但不限于纤维化肺病。

[0097] 术语“个体”、“受试者”和“患者”在本文中可互换使用,并且是指需要治疗或疗法的任何受试者。受试者可以是哺乳动物受试者。哺乳动物受试者包括例如人、非人灵长类、啮齿动物(例如,大鼠、小鼠)、兔类动物(例如,兔)、有蹄类动物(例如,牛、绵羊、猪、马、山羊等)等。在一些实施方案中,受试者是人。在一些实施方案中,受试者是非人灵长类动物,例如食蟹猴。在一些实施方案中,受试者是伴侣或服务动物(例如猫或狗)。

[0098] 如本文所用,“有需要”的受试者是指患有或被鉴定为处于发展纤维化疾病或肺部疾病的风险中的任何受试者。

[0099] 应当理解,本公开不限于所描述的特定方法、产品、装置和因素,因为这些方法、装置和制剂可以变化。还应当理解,本文使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,并且不旨在限制将仅由所附权利要求限制的本公开范围。

[0100] I.合成mRNA

[0101] 如本文所用的合成核糖核酸(RNA)可以指包含不存在于野生型序列中的突变(点突变或缺失)或附加核苷酸的任何RNA序列。例如,合成TERT信使RNA(mRNA)可以指编码人TERT序列的野生型序列,其侧接添加的1、2、3、10、100或更多个核苷酸。类似地,核苷酸本身可以编码不同于野生型的氨基酸,或被修饰以降低细胞或组织中的免疫原性。在一些实施方案中,mRNA序列可包含以下修饰中的任一种,包括但不限于非翻译区(UTR)、5’帽和聚腺苷尾。在一些实施方案中,RNA可以是环状的和/或自我复制的。

[0102] 制备环状mRNA的示例性方法提供于Chen等人,Science.1995年4月21日,268(5209):415-7;Perriman R.(2002)Circular mRNA Encoding for Monomeric and Polymeric Green Fluorescent Protein.In:Hicks B.W.(eds)Green Fluorescent Protein.Methods in Molecular Biology,第183卷,Humana Press;Wang等人,RNA.2015年2月,21(2):172-9.doi:10.1261/rna.048272.114.Epub 2014年12月1日;Wesselhoeft等人,Nat Commun.2018年7月6日,9(1):2629;以及Wesselhoeft等人,Mol Cell.2019年5月2日,74(3):508-520.e4。制备自我复制的mRNA的示例性方法提供于Tews B.A.,Meyers G.(2017)Self-Replicating RNA.In:Kramps T.,Elbers K.(编)RNA Vaccines.Methods in

Molecular Biology,第1499卷,Humana Press;Leyman等人,Mol Pharm.2018年2月5日,15(2):377-384;以及Huysmans等人,Mol Ther Nucleic Acids.2019年9月6日,17:388-395。

[0103] TERT mRNA

[0104] 在一些实施方案中,组合物可包含逆转录酶端粒酶(TERT)mRNA序列以治疗与纤维化疾病或肺部疾病相关的一种或多种表型或症状。在一些实施方案中,TERT mRNA是指编码TERT蛋白的任何全长、功能性片段或部分的mRNA,包括其野生型序列或变体。

[0105] 在一些实施方案中,TERT mRNA可包含经密码子优化的序列。在一些实施方案中,TERT mRNA可包含尿苷耗尽的人TERT序列。在一些实施方案中,经密码子优化的序列可包含SEQ ID NO:1,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0106] 在一些实施方案中,TERT mRNA可包含突变型人TERT序列。在一些实施方案中,突变型人TERT mRNA可编码所得的肽序列中的Y707F突变。在一些实施方案中,TERT mRNA序列中的突变编码核输出信号中的突变,其可导致TERT肽的核滞留。在一些实施方案中,突变型TERT mRNA序列可包含SEQ ID NO:2,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0107] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA可包含经密码子优化的序列。在一些实施方案中,TERT mRNA可包含尿苷耗尽的小鼠TERT序列。在一些实施方案中,经密码子优化的序列可包含SEQ ID NO:3,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0108] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA可包含突变型小鼠TERT序列。在一些实施方案中,突变型小鼠TERT mRNA可编码所得的肽序列中的Y707F突变。在一些实施方案中,TERT mRNA序列中的突变编码核输出信号中的突变,其可导致TERT肽的核滞留。在一些实施方案中,突变型小鼠TERT mRNA序列可包含SEQ ID NO:4,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0109] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA可包含突变型小鼠TERT序列。在一些实施方案中,突变型小鼠TERT mRNA可编码所得的肽序列中的Y697F突变。在一些实施方案中,TERT mRNA序列中的突变编码核输出信号中的突变,其可导致TERT肽的核滞留。在一些实施方案中,突变型小鼠TERT mRNA序列可包含SEQ ID NO:5的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0110] 本公开的组合物可包含核糖核酸,例如编码端粒酶逆转录酶(TERT)的合成核糖核酸,其中端粒在用化合物处理的细胞内延长。用于TERT瞬时表达的核糖核酸可包含编码TERT蛋白的核糖核酸。核糖核酸还可包含一个或多个影响核糖核酸在细胞中的表达和/或稳定性的序列。例如,核糖核酸可以含有在编码序列的5'和/或3'侧的5'帽和非翻译区(UTR)。核糖核酸还可含有3'尾,诸如poly-A尾。poly-A尾可例如增加核糖核酸的稳定性。在一些实施方案中,poly-A尾包含至少25个核苷酸、至少50个核苷酸、至少75个核苷酸、至少100个核苷酸、至少125个核苷酸、至少150个核苷酸、至少200个核苷酸、至少225个核苷酸、至少250个核苷酸。在一些实施方案中,poly-A尾包含1至25个核苷酸、25至50个核苷酸、50

至75个核苷酸、75至100个核苷酸、100至125个核苷酸、125至150个核苷酸、150至175个核苷酸、175至200个核苷酸、200至225个核苷酸或225至250个核苷酸，包括每个范围的端点在内。在一些实施方案中，poly-A尾包含100至200个核苷酸，包括端点在内。

[0111] 在一些实施方案中，核糖核酸的5'帽是非免疫原性帽。在一些实施方案中，5'帽可增加核糖核酸的翻译。在一些实施方案中，可用磷酸酶处理5'帽以调节核糖核酸的先天免疫原性。在一些实施方案中，5'帽是抗反向帽类似物("ARCA")，诸如3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G RN A帽结构类似物。在一些实施方案中，5'帽是m7G(5')ppp(5')(2'OmeA)pG(也称为CleanCap© AG)。在一些实施方案中，5'帽是m7(3'Ome G)(5')ppp(5')(2'OmeA)pG(也称为CleanCap® AG(3'OMe))。

[0112] 上述特征或其他特征可以增加由核糖核酸编码的TERT蛋白的翻译，可以细胞类型特异性或非细胞类型依赖性方式增加或降低核糖核酸本身的稳定性，或者可以同时进行。在一些实施方案中，5'UTR和/或3'UTR来自具有非常稳定的mRNA和/或快速翻译的mRNA的基因，例如α-球蛋白或β-球蛋白、c-fos或烟草蚀纹病毒。在一些实施方案中，5'UTR和3'UTR来自不同的基因或者来自与递送组合物的物种不同的物种。UTR也可以是来自不同基因的mRNA的UTR部分的装配，其中所述部分被选择为实现稳定性和翻译效率的某种组合。UTR还可包含为RNA赋予特性诸如细胞类型特异性稳定性或非细胞类型依赖性稳定性的设计序列。

[0113] 本公开的核糖核酸可包含一个或多个经修饰的核苷，并且/或者包含核苷的一级序列，所述一级序列调节RNA的翻译、稳定性或免疫原性。真核细胞中的大多数成熟RNA分子含有作为规范的未修饰RNA核苷(即腺嘌呤、胞苷、鸟苷和尿苷)的修饰形式的核苷。例如，成熟RNA的5'帽包含经修饰的核苷，并且其他经修饰的核苷通常出现在RNA中的其他位置。这些修饰可以阻止RNA被识别为外源RNA。使用某些核苷制备的合成RNA分子比未修饰的RNA的免疫原性低得多。通过纯化合成的mRNA，例如通过使用高效液相色谱法(HPLC)，甚至可以进一步降低免疫原性。经修饰的核苷可以例如选自以下列出的核苷。在一些实施方案中，核苷是假尿苷、1-甲基假尿苷、2-硫代尿苷、5-甲氧基尿苷或5-甲基胞苷。一级序列可以增加或降低免疫原性的方式来修饰。在一些情况下，可能需要经修饰的RNA保留一些免疫原性。

[0114] 因此，在一些实施方案中，本发明组合物的核糖核酸包含1-甲基假尿苷、假尿苷、5-甲氧基尿苷(5-moU)、2-硫代尿苷、5-甲基胞苷或另一种经修饰的核苷。存在于真核细胞中的经修饰的核苷包括m1A1-甲基腺苷、m6A N6-甲基腺苷、Am 2'-O-甲基腺苷、i6A N6-异戊烯基腺苷、io6A N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、ms2io6A 2-甲硫基-N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、g6A N6-甘氨酸氨基甲酰基腺苷、t6A N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、ms2t6A 2-甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、Ar(p)2'-O-核糖基腺苷(磷酸酯)、m6 2A N6,N6-二甲基腺苷、m6Am N6,2'-O-二甲基腺苷、m6 2Am N6,N6,2'-O-三甲基腺苷、m1Am 1,2'-O-二甲基腺苷、m3C 3-甲基胞苷、m5C 5-甲基胞苷、Cm 2'-O-甲基胞苷、ac4C N4-乙酰基胞苷、f5C 5-甲酰基胞苷、m4C N4-甲基胞苷、hm5C 5-羟甲基胞苷、f5Cm 5-甲酰基-2'-O-甲基胞苷、m1G 1-甲基鸟苷、m2G N2-甲基鸟苷、m7G 7-甲基鸟苷、Gm 2'-O-甲基鸟苷、m2 2G N2,N2-二甲基鸟苷、Gr(p)2'-O-核糖基鸟苷(磷酸酯)、yW怀丁苷、o2yW过氧怀丁苷、OHyW羟基怀丁苷、OhyW*修饰不足的羟基怀丁苷、imG怀俄苷、m2,7G N2,7-二甲基鸟苷、m2,2,7G N2,N2,7-三甲基鸟苷I肌苷、m1I 1-甲基肌苷、Im 2'-O-甲基肌苷、Q辫苷、galQ半乳糖基-辫苷、manQ甘

露糖基-辫苷、Ψ假尿苷、D二氢尿苷、m5U 5-甲基尿苷、Um 2'-O-甲基尿苷、m5Um 5,2'-O-二甲基尿苷、m1Ψ1-甲基假尿苷、Ψm 2'-O-甲基假尿苷、s2U 2-硫代尿苷、ho5U 5-羟基尿苷、chm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷、mchm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷、甲酯mcm5U 5-甲氧基羰基甲基尿苷、mcm5Um 5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基尿苷、mcm5s2U 5-甲氧基羰基甲基-2-硫代尿苷、ncm5U 5-氨基甲酰基甲基尿苷、ncm5Um 5-氨基甲酰基甲基-2'-O-甲基尿苷、cmnm5U 5-羧甲基氨基甲基尿苷、m3U 3-甲基尿苷、m1acp3Ψ1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷、cm5U 5-羧甲基尿苷、m3Um 3,2'-O-二甲基尿苷、m5D 5-甲基二氢尿苷、τm5U 5-牛磺酸甲基尿苷、τm5s2U 5-牛磺酸甲基-2-硫代尿苷、2-氨基腺苷、2-氨基-6-氯嘌呤核苷、8-氮杂腺苷、6-氯嘌呤核苷、5-碘胞苷、5-碘尿苷、肌苷、2'-O-甲基肌苷、黄苷、4-硫代尿苷、O6-甲基鸟苷、5,6-二氢尿苷、2-硫代胞苷、6-氮杂胞苷、6-氮杂尿苷、2'-O-甲基-2-氨基腺苷、2'-O-甲基假尿苷、N1-甲基腺苷、2'-O-甲基-5-甲基尿苷、7-脱氮鸟苷、8-叠氮基腺苷、5-溴胞苷、5-溴尿苷、7-脱氮腺苷、5-氨基烯丙基尿苷、5-氨基烯丙基胞苷、8-氧代鸟苷、2-氨基嘌呤核苷、假异胞苷、N1-甲基假尿苷、5,6-二氢-5-甲基尿苷、N6-甲基-2-氨基腺苷、5-羧基胞苷、5-羟甲基尿苷、噻吩并鸟苷、5-羟基胞苷、5-甲酰基尿苷、5-羧基尿苷、5-甲氧基尿苷、5-甲氧基胞苷、噻吩并尿苷、5-羧基甲酯尿苷、噻吩并胞苷、8-氧代腺苷、异鸟苷、N1-乙基假尿苷、N1-甲基-2'-O-甲基假尿苷、N1-甲氧基甲基假尿苷、N1-丙基假尿苷、2'-O-甲基-N6-甲基腺苷、2-氨基-6-Cl-嘌呤-2'-脱氧核苷、2-氨基-2'-脱氧腺苷、2-氨基嘌呤-2'-脱氧核苷、5-溴-2'-脱氧胞苷、5-溴-2'-脱氧尿苷、6-氯嘌呤-2'-脱氧核苷、7-脱氮-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-2'-脱氧鸟苷、2'-脱氧肌苷、5-丙炔基-2'-脱氧胞苷、5-丙炔基-2'-脱氧尿苷、5-氟-2'-脱氧尿苷、5-碘-2'-脱氧胞苷、5-碘-2'-脱氧尿苷、N6-甲基-2'-脱氧腺苷、5-甲基-2'-脱氧胞苷、O6-甲基-2'-脱氧鸟苷、N2-甲基-2'-脱氧鸟苷、8-氧代-2'-脱氧腺苷、8-氧代-2'-脱氧鸟苷、2-硫代胸苷、2'-脱氧-P-核苷、5-羟基-2'-脱氧胞苷、4-硫代胸苷、2-硫代-2'-脱氧胞苷、6-氮杂-2'-脱氧尿苷、6-硫代-2'-脱氧鸟苷、8-氯-2'-脱氧腺苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧尿苷、N4-甲基-2'-脱氧胞苷、2'-脱氧泽布拉林、5-羟甲基-2'-脱氧尿苷、5-羟甲基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧胞苷、5-甲酰基-2'-脱氧胞苷、5-[(3-吲哚基)丙酰胺-N-烯丙基]-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧尿苷、5-甲酰基-2'-脱氧尿苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dUTP、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dCTP、生物素-16-氨基烯丙基胞苷、N4-生物素-OBEA-2'-脱氧胞苷、生物素-16-氨基烯丙基尿苷、Dabcyl-5-3-氨基烯丙基-2'-dUTP、脱硫生物素-6-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、脱硫生物素-16-氨基烯丙基-尿苷、生物素-16-7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、花青素3-5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素3-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素3-氨基烯丙基胞苷、花青素3-氨基烯丙基尿苷、花青素5-氨基烯丙基胞苷、花青素5-氨基烯丙基尿苷、花青素7-氨基烯丙基尿苷、2'-氟-2'-脱氧腺苷、2'-氟-2'-脱氧胞苷、2'-氟-2'-脱氧鸟苷、2'-氟-2'-脱氧尿苷、2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基胞苷、2'-O-甲基鸟苷、2'-O-甲基尿苷、嘌呤霉素、2'-氨基-2'-脱氧胞苷、2'-氨基-2'-脱氧尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧胞苷、2'-叠氮基-2'-脱氧尿苷、阿糖胞苷、阿糖尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧腺苷、2'-氨基-2'-脱氧腺苷、阿糖腺苷、2'-氟-胸苷、3'-O-甲基腺苷、3'-O-甲基胞苷、3'-O-甲基鸟苷、

3'-O-甲基尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧鸟苷、阿糖鸟苷、2'-脱氧尿苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧腺苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧肌苷、3'-脱氧腺苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧-5-甲基尿苷、3'-脱氧尿苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胸苷、2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧鸟苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧尿苷、5-溴-2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧肌苷、2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、腺苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、胞苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、鸟苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、尿苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、3'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2',3'-二脱氧尿苷-5'-O-(1-硫代磷酸酯)、2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硼烷磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硼烷磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硼烷磷酸酯)和2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硼烷磷酸酯)。

[0115] 不希望受理论束缚,经修饰的核苷和/或改变RNA的二级结构和/或RNA与RNA结合蛋白或微RNA的结合的核苷序列的存在可使得mRNA能够避免由各种受体(包括Toll样受体和RIG-1)介导的免疫应答的激活。非免疫原性mRNA已经由局部递送用作小鼠的治疗剂。Kormann等人(2011)Nature Biotechnology 29:154-157。在一些实施方案中,核糖核酸包含上述核苷或上述核苷的组合中的多于一种。在一些实施方案中,核糖核酸包含1-甲基假尿苷、5-甲氧基尿苷,或假尿苷和5-甲基胞苷。

[0116] 在一些实施方案中,可能需要对mRNA的免疫应答,并且可修饰RNA以诱导最佳水平的先天免疫。在其他实施方案中,可能不需要对mRNA的免疫应答,并且可修饰RNA以使这种反应最小化。可针对任一情况对RNA进行修饰。

[0117] 核糖核酸分子可以是合成的核糖核酸。如本文所用,术语"合成的"可意指在一些实施方案中使用分子生物学工具在人的指导下制备核糖核酸,例如如下所述。合成的核糖核酸可例如使用细胞提取物或纯化的酶和核酸模板通过体外合成来制备。在一些实施方案中,合成的核糖核酸可通过化学合成部分地或完全地制备。另选地或除此之外,在一些实施方案中,合成的核糖核酸可通过在细胞中工程化表达,随后破坏细胞并至少部分纯化核糖核酸来制备。

[0118] 本公开的核糖核酸可使用多种技术来制备,如本领域普通技术人员将理解的那样。在一些实施方案中,核糖核酸可通过体外合成来制备。在一些实施方案中,核糖核酸可通过化学合成来制备。在一些实施方案中,核糖核酸可通过体外合成和化学合成的组合来制备。如上所述,术语"合成的"应当理解为包括通过化学合成、通过体外合成、通过体内表达和至少部分纯化,或通过这些或其他化学或分子生物学方法的组合制备的核糖核酸。

[0119] 在一些实施方案中,可以纯化核糖核酸。如上所述,纯化可降低核糖核酸的免疫原性,并且在一些情况下可能是有利的。在一些实施方案中,核糖核酸通过HPLC、DNA酶处理、蛋白酶处理中的一种或多种或通过亲和捕获和洗脱来纯化。

[0120] TERT的蛋白质结构可包含至少三个独特结构域:位于氨基末端的长延伸(N-末端

延伸,NTE),其含有保守结构域和非结构化接头区域;位于一级序列中间的催化性逆转录酶结构域,其含有七个保守逆转录酶(RT)基序;以及位于羧基末端的短延伸。在一些实施方案中,核糖核酸编码全长TERT。在一些实施方案中,核糖核酸编码TERT的催化性逆转录酶结构域。在一些实施方案中,核糖核酸编码具有TERT活性的多肽。TERT活性可使用包括端粒酶重复扩增方案(TRAP)的已知方法来测量。

[0121] 由本公开的核糖核酸编码的TERT可以是哺乳动物、禽类、爬行动物或鱼类TERT。在一些实施方案中,TERT是哺乳动物TERT,诸如人TERT。Meyerson等人(1997)Cell 90:785-795;Nakamura等人(1997)Science 277:955-959;Wick等人(1999)Gene 232:97-106。

[0122] 两种人TERT同种型的氨基酸序列可作为NCBI参考序列获得:NP_937983.2和NP_001180305.1。

[0123] 人TERT同种型1的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:6的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号NP_937983.2)。

[0124] 人TERT同种型1的核酸序列可包含SEQ ID NO:7的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号NM_198253.3)。

[0125] 人TERT同种型2的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:8的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号NP_001180305.1)。

[0126] 人TERT同种型2的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:9的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号NM_001193376.3)。

[0127] 在一些实施方案中,人TERT mRNA可包含野生型TERT序列。在一些实施方案中,野生型TERT序列可包含SEQ ID NO:30的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0128] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA可包含野生型TERT序列。在一些实施方案中,野生型TERT序列可包含SEQ ID NO:31,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0129] 在一些实施方案中,TERT mRNA可包含与SEQ ID NO:1-5、7、9或30中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0130] 在一些实施方案中,TERT mRNA可编码与SEQ ID NO:6或8相比含有一个或多个氨基酸取代、缺失和/或插入同时保留显著的TERT活性的经修饰的TERT蛋白。在一些实施方案中,TERT mRNA可编码与SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的氨基酸序列。

[0131] 在其他实施方案中,TERT mRNA可编码相对于SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有以下突变的氨基酸序列:L55Q、P65A、V70M、A202T、A279T、V299M、H412Y、残基441缺失、R522K、K570N、R631Q、G682D、V694M、Y697F、P704S、Y707F、A716T、P721R、T726M、Y772C、P785L、V791I、R811C、L841F、R865H、V867M、R901W、K902N、P923L、S948R、R979W、V1025F、A1062T、V1090M、T1110M和/或F1127L。在一些实施方案中,TERT mRNA可编码TERT同种型,其中相对

于SEQ ID NO:6的氨基酸序列,翻译的蛋白质缺少氨基酸残基711-722、764-807、808-1132或885-947。在一些实施方案中,结构域之前或之后的约1个、约5个、约10个、约20个或约100个氨基酸也从SEQ ID NO:6的氨基酸序列中缺失。

[0132] 在一些实施方案中,TERT mRNA可编码其中相对于SEQ ID NO:6的氨基酸序列缺失或重复一个或多个蛋白质区域的氨基酸序列:对应于RNA相互作用结构域1的残基1-230、对应于“GQ”残基基序的残基58-197、与端粒DNA和引物延伸的特异性相关的残基137-141、对应于无序区域的残基210-320、与接头序列相关的残基231-324、与寡聚化相关的残基301-538、对应于RNA相互作用结构域的残基325-550或460-594、对应于“QFP”残基基序的残基376-521、对应于“CP”残基基序的残基397-417、对应于DNA重复模板的残基825-884、对应于逆转录酶样元件的残基618-729、与寡聚化相关的残基914-928、与引物夹序列相关的残基930-934和/或对应于C-末端的残基936-1132。在一些实施方案中,结构域之前或之后的约1个、约5个、约10个、约20个或约100个氨基酸也被缺失或重复。

[0133] 在一些实施方案中,TERT mRNA可包含与所公开的核酸序列的任何子序列(例如,所公开的核酸序列的任何100个碱基对(bp)、200bp、300bp、400bp、500bp或更多)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高同一性的核苷酸序列或由所述核苷酸序列组成。在一些实施方案中,TERT mRNA可编码与所公开的多肽序列中的任一者或与所公开的多肽序列的任何子序列(例如,所公开的多肽序列的任何50个氨基酸(aa)、100aa、200aa、300aa、400aa、500aa或更多)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0134] 本公开的非限制性TERT序列包括表1中列出的TERT核酸和氨基酸序列。

[0135] 表1:非人TERT序列

[0136]

TERT 物种	氨基酸 SEQ ID NO:	氨基酸序列	示例性核酸 SEQ ID NO:	示例性核酸序列
猫		ASO67359.1		KX620456.1
狗		NP_001026800.1		NM_001031630.1
小鼠		AAI27069.1		BC127068.1
小鼠，同种型 1	10	NP_033380.1	14	NM_009354.2
小鼠，同种型 2	11	NP_001349316.1	15	NM_001362387.1
小鼠，同种型 3	12	NP_001349317.1	16	NM_001362388.1
小鼠		EDL37055.1		EDL37055.1 机器反向翻译
奶牛		NP_001039707.1		NM_001046242.1
绵羊，同种型 1		XP_027835754.1		XM_027979953.1
绵羊，同种型 2		XP_027835755.1		XM_027979954.1
猪		NP_001231229.1		NM_001244300.1
非洲象		XP_023401395.1		XM_023545627.1
鸡		NP_001026178.1		NM_001031007.1
大鼠	13	NP_445875.1	17	NM_053423.1
斑马鱼		NP_001077335.1		NM_001083866.1

[0137]

日本青鳉		NP_001098286.1		NM_001104816.1
马，同种型1		XP_023481649.1		XM_023625881.1
马，同种型2		XP_023481650.1		XM_023625882.1
马，同种型3		XP_023481651.1		XM_023625883.1

[0138] 在本公开的组合物和方法的一些实施方案中,TERT的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:6-8或10-13的序列,或与其具有至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列,或由所述序列组成。在本公开的组合物和方法的一些实施方案中,功能或非功能的TERT的一部分的氨基酸序列可包含与SEQ ID NO:6-8或10-13中的一者或多者的子序列具有至少70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％同一性的序列或由所述序列组成。

[0139] 在本公开的组合物和方法的一些实施方案中,TERT的核酸序列可包含SEQ ID NO:1-5、7、9、14-17、30或31的序列,或与其具有至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的核酸序列,或由所述序列组成。

[0140] 非人灵长类动物TERT同种型1的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:18的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号XP_016808391.2)。

[0141] 非人灵长类动物TERT同种型1的核酸序列可包含SEQ ID NO:19的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号XM_016952902.2)。

[0142] 非人灵长类动物TERT同种型2的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:20(GenBank登录号PNI27662.1)的序列或由该序列组成。

[0143] 非人灵长类动物TERT同种型2的核酸序列可包含SEQ ID NO:21(GenBank登录号PNI27662.1的反向机器翻译)的序列或由该序列组成。

[0144] 非人灵长类动物TERT同种型3的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:22的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号PNI27663.1)。

[0145] 非人灵长类动物TERT同种型3的核酸序列可包含SEQ ID NO:23(GenBank登录号PNI27663.1的反向机器翻译)的序列或由该序列组成。

[0146] 非人灵长类动物TERT同种型4的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:24的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号PNI27664.1)。

[0147] 非人灵长类动物TERT同种型4的核酸序列可包含SEQ ID NO:25(GenBank登录号PNI27664.1的反向机器翻译)的序列或由该序列组成。

[0148] 非人灵长类动物TERT同种型5的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:26的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号PNI27665.1)。

[0149] 非人灵长类动物TERT同种型5的核酸序列可包含SEQ ID NO:27(GenBank登录号PNI27665.1的反向机器翻译)的序列或由该序列组成。

[0150] 非人灵长类动物TERT同种型6的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:28的序列或由该序列组成(还描述于GenBank登录号PNI27666.1)。

[0151] 非人灵长类动物TERT同种型6的核酸序列可包含SEQ ID NO:29(GenBank登录号PNI27666.1的反向机器翻译)的序列或由该序列组成。

[0152] 在本公开的组合物和方法的一些实施方案中,TERT的氨基酸序列可包含SEQ ID NO:6、8、10-13、18、20、22、24、26或28的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列,或由所述序列组成。

[0153] 在本公开的组合物和方法的一些实施方案中,TERT的核酸序列可包含SEQ ID NO:1-5、7、9、14-17、19、21、23、25、27、29、30或31的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列,或由所述序列组成。在一些实施方案中,本发明的核糖核酸可对应于编码上述TERT蛋白的天然基因序列,或者可对应于由于遗传密码的冗余而成为可能的变体,如本领域普通技术人员将理解的那样。在一些实施方案中,密码子选择可使用本领域普通技术人员已知的算法和方法优化以优化蛋白质表达并且/或者降低或增加免疫原性。

[0154] 在一些实施方案中,mRNA序列可被合成为未修饰的或经修饰的mRNA。mRNA可被修饰以增强稳定性并且/或者逃避免疫检测和降解。经修饰的mRNA可包括例如核苷酸修饰、核苷修饰、主链修饰、糖修饰和/或碱基修饰中的一种或多种。在一些实施方案中,经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。在一些实施方案中,假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。在一些实施方案中,经修饰的核苷是5-甲氧基尿苷。在一些实施方案中,如本文所用的经修饰的核苷可包括表2中所列的任何部分。

[0155] 表2

[0156]

通用名
假尿苷
N-1-甲基假尿苷
5-甲氧基尿苷

[0157]

1,2'-*O*-二甲基腺苷
1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷
1-甲基腺苷
1-甲基鸟苷
1-甲基肌苷
1-甲基假尿苷
2,2-二甲基-鸟苷
2',3'-二脱氧腺苷
2',3'-二脱氧胞苷
2',3'-二脱氧鸟苷
2',3'-二脱氧肌苷
2',3'-二脱氧核苷
2',3'-二脱氧胸苷
2',3'-二脱氧胸腺嘧啶
2',3'-二脱氧尿苷
2,6-二氨基嘌呤
2'-*O*-核糖基腺苷(磷酸酯)
2'-氨基-2'-脱氧腺苷
2-氨基-2'-脱氧腺苷
2'-氨基-2'-脱氧尿苷
2-氨基-6-氯嘌呤核苷
2-氨基-6-Cl-嘌呤-2'-脱氧核苷
2-氨基腺苷
2-氨基腺苷
2-氨基嘌呤-2'-脱氧核苷
2-氨基嘌呤-核苷
2'-叠氮基-2'-脱氧腺苷
2'-叠氮基-2'-脱氧胞苷
2'-叠氮基-2'-脱氧鸟苷
2'-叠氮基-2'-脱氧尿苷
2'-脱氧肌苷
2'-脱氧-P-核苷
2'-脱氧尿苷
2'-脱氧泽布拉林
2'-氟-2'-脱氧腺苷
2'-氟-2'-脱氧胞苷
2'-氟-2'-脱氧鸟苷

2'-氟-2'-脱氧尿苷
2'-氟-胸苷
2-甲基-腺苷
2-甲基-鸟苷
2-甲硫基-N^6-(*顺式*-羟基异戊烯基)腺苷
2-甲硫基-N-6-异戊烯基-腺苷
2-甲硫基-N^6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷
2'-O-甲基-2-氨基腺苷
2'-O-甲基-5-甲基尿苷
2'-*O*-甲基腺苷
2'-*O*-甲基胞苷
2'-*O*-甲基鸟苷
2'-*O*-甲基肌苷
2'-O-甲基-N6-甲基腺苷
2'-*O*-甲基假尿苷
2'-*O*-甲基尿苷
2'-*O*-核糖基鸟苷(磷酸酯)
2-硫代-2'-脱氧胞苷
2-硫代胞苷
2-硫代胸苷
2-硫代尿苷
3,2'-*O*-二甲基尿苷
3'-氨基-2',3'-二脱氧腺苷
3'-氨基-2',3'-二脱氧胞苷
3'-氨基-2',3'-二脱氧鸟苷
3'-氨基-2',3'-二脱氧胸苷
3'-叠氮基-2',3'-二脱氧腺苷
3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胞苷
3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷
3'-叠氮基-2',3'-二脱氧尿苷
3'-脱氧-5-甲基尿苷
3'-脱氧腺苷
3'-脱氧腺苷(虫草素)
3'-脱氧胞苷
3'-脱氧鸟苷
3'-脱氧胸腺嘧啶
3'-脱氧尿苷

[0158]

[0159]

3-甲基胞苷
3-甲基尿苷
3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧腺苷
3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧肌苷
3'-O-甲基腺苷
3'-O-甲基胞苷
3'-O-甲基鸟苷
3'-O-甲基尿苷
4-乙酰基-胞苷
4-硫代胸苷
4-硫代尿苷
5-(羧基羟甲基)尿苷甲酯
5-(羧基羟甲基)尿苷
5,2'-*O*-二甲基尿苷
5,6-二氢-5-甲基尿苷
5,6-二氢尿苷
5-[(3-吲哚基)丙酰胺-N-烯丙基]-2'-脱氧尿苷
5-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷
5-氨基烯丙基-2'-脱氧尿苷
5-氨基烯丙基胞苷
5-氨基烯丙基尿苷
5-溴-2',3'-二脱氧尿苷
5-溴-2'-脱氧胞苷
5-溴-2'-脱氧尿苷
5-溴胞苷
5-溴尿苷
5-氨基甲酰基甲基-2'-*O*-甲基尿苷
5-氨基甲酰基甲基尿苷
5-羧基-2'-脱氧胞苷
5-羧基胞苷
5-羧甲基氨基甲基-2-硫代-尿苷
5-羧甲基氨基甲基尿苷
5-羧甲酯尿苷
5-羧甲基尿苷
5-羧基尿苷
5-氟-2'-脱氧尿苷
5-氟-尿苷

[0160]

5-甲酰基-2'-脱氧胞苷
5-甲酰基-2'-脱氧尿苷
5-甲酰基-2'-*O*-甲基胞苷
5-甲酰基胞苷
5-甲酰基尿苷
5-羟基-2'-脱氧胞苷
5-羟基胞苷
5-羟甲基-2'-脱氧胞苷
5-羟甲基-2'-脱氧尿苷
5-羟甲基胞苷
5-羟甲基尿苷
5-羟基尿苷
5-碘-2'-脱氧胞苷
5-碘-2'-脱氧尿苷
5-碘胞苷
5-碘尿苷
5-甲氧基氨基甲基-2-硫代-尿苷
5-甲氧基羰基甲基-2'-*O*-甲基尿苷
5-甲氧基羰基甲基-2-硫代尿苷
5'-甲氧基羰基甲基-尿苷
5-甲氧基羰基甲基尿苷
5-甲氧基胞苷
5-甲氧基尿苷
5-甲氧基-尿苷
5-甲基-2'-脱氧胞苷
5-甲基-2-硫代-尿苷
5-甲基氨基甲基-尿苷
5-甲基胞苷
5-甲基二氢尿苷
5-甲基尿苷
5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷
5-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷
5-丙炔基-2'-脱氧胞苷
5-牛磺酸甲基-2-硫代尿苷
5-牛磺酸甲基尿苷
6-氮杂-2'-脱氧尿苷
6-氮杂胞苷

[0161]

6-氮杂尿苷
6-氯嘌呤核苷
6-氯嘌呤-2'-脱氧核苷
6-O-甲基鸟苷
6-硫代-2'-脱氧鸟苷
7-脱氮-2'-脱氧腺苷
7-脱氮-2'-脱氧鸟苷
7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧腺苷
7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷
7-脱氮腺苷
7-脱氮鸟苷
7-甲基鸟苷
7-甲基-鸟苷
8-氮杂腺苷
8-叠氮基腺苷
8-氯-2'-脱氧腺苷
8-氧代-2'-脱氧腺苷
8-氧代-2'-脱氧鸟苷
8-氧代腺苷
8-氧代鸟苷
a 2'-脱氧核苷
ac4C N4-乙酰基胞苷
Am 2'-O-甲基腺苷
an-O-甲基核苷
Ar(p) 2'-O-核糖基腺苷(磷酸酯)
阿糖腺苷
阿糖胞苷
阿糖鸟苷
阿糖尿苷
苯并咪唑核苷
β-D-甘露糖基-辫苷
生物素-16-7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷
生物素-16-氨基烯丙基-2'-dCTP
生物素-16-氨基烯丙基-2'-dUTP
生物素-16-氨基烯丙基胞苷
生物素-16-氨基烯丙基尿苷
chm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷

2'-O-甲基胞苷
5-羧甲基尿苷
5-羧甲基氨基甲基尿苷
花青素 3-5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷
花青素 3-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷
花青素 3-氨基烯丙基胞苷
花青素 3-氨基烯丙基尿苷
花青素 5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷
花青素 5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷
花青素 5-氨基烯丙基胞苷
花青素 5-氨基烯丙基尿苷
花青素 7-氨基烯丙基尿苷
二氢尿苷
Dabcyl-5-3-氨基烯丙基-2'-dUTP
脱硫生物素-16-氨基烯丙基-尿苷
脱硫生物素-6-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷
二氢尿苷
5-甲酰基胞苷
[0162] 5-甲酰基-2'-O-甲基胞苷
N6-甘氨酰氨基甲酰基腺苷
半乳糖基-辫苷
2'-O-甲基鸟苷
2'-O-核糖基鸟苷(磷酸酯)
5-羟甲基胞苷
5-羟基尿苷
羟基怀丁苷
N6-异戊烯基腺苷
2'-O-甲基肌苷
怀俄苷
肌苷
N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷
异鸟苷
1-甲基鸟苷
1-甲基腺苷
1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷
1,2'-O-二甲基腺苷
1-甲基鸟苷

[0163]

1-甲基肌苷
1-甲基假尿苷
N2,N2-二甲基鸟苷
N2,N2,7-三甲基鸟苷 I 肌苷
N2,7-二甲基鸟苷
N2-甲基鸟苷
3-甲基胞苷
3-甲基尿苷
3,2'-O-二甲基尿苷
N4-甲基胞苷
5-甲基胞苷
5-甲基二氢尿苷
5-甲基尿苷
5,2'-O-二甲基尿苷
N6,N6-二甲基腺苷
N6,N6,2'-O-三甲基腺苷
N6-甲基腺苷
N6,2'-O-二甲基腺苷
7-甲基鸟苷
甘露糖基-辫苷
5-(羧基羟甲基)尿苷
5-甲氧基羰基甲基-2-硫代尿苷
5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基尿苷
5-甲氧基羰基甲基尿苷
2-甲硫基-N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷
2-甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷
N1-乙基假尿苷
N1-甲氧基甲基假尿苷
N1-甲基-2'-O-甲基假尿苷
N1-甲基腺苷
N1-丙基假尿苷
N^2,7-二甲基鸟苷
N^2,N^2,7-三甲基鸟苷
N^2,N^2-二甲基鸟苷
N2-甲基-2'-脱氧鸟苷
N^2-甲基鸟苷
N^4-乙酰基胞苷

N4-生物素-OBEA-2'-脱氧胞苷
N4-甲基-2'-脱氧胞苷
N^4-甲基胞苷
N^{6-}(顺式-羟基异戊烯基)-腺苷
N^6,2'-*O*-二甲基腺苷
N^6,N^6,2'-*O*-三甲基腺苷
N^6,N^6-二甲基腺苷
N^6-甘氨酰氨基甲酰基腺苷
N^6-异戊烯基腺苷
N6-异戊烯基-腺苷
N6-甲基-2-氨基腺苷
N6-甲基-2'-脱氧腺苷
N^6-甲基腺苷
N6-甲基-腺苷
N^6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷
ncm5U 5-氨基甲酰基甲基尿苷
ncm5Um 5-氨基甲酰甲基-2'-O-甲基尿苷
Nl-甲基腺苷
[0164] N-尿苷-5-氧基乙酸甲酯
过氧怀丁苷
O6-甲基-2'-脱氧鸟苷
O6-甲基鸟苷
羟基怀丁苷
修饰不足的羟基怀丁苷
O-甲基假尿苷
过氧怀丁苷
假异胞苷
嘌呤霉素
辫苷
2-硫代尿苷
N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷
噻吩并胞苷
噻吩并鸟苷
噻吩并尿苷
2'-O-甲基尿苷
修饰不足的羟基怀丁苷
尿苷-5-氧基乙酸(v)

[0165]

尿苷-5-氧基乙酸甲酯
怀丁苷
怀丁氧苷
怀俄苷
黄苷
5-牛磺酸甲基-2-硫代尿苷
5-牛磺酸甲基尿苷
2'-O-甲基假尿苷

[0166] 在一些实施方案中,RNA例如mRNA可以由天然存在的碱基和/或碱基类似物(经修饰的碱基)合成,所述碱基和/或碱基类似物包括但不限于嘌呤(腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G))或嘧啶(胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、尿嘧啶(U))及其类似物和衍生物,例如1-甲基-腺嘌呤、2-甲基-腺嘌呤、2-甲硫基-N-6-异戊烯基-腺嘌呤、N6-甲基-腺嘌呤、N6-异戊烯基-腺嘌呤、2-硫代-胞嘧啶、3-甲基-胞嘧啶、4-乙酰基-胞嘧啶、5-甲基-胞嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、1-甲基-鸟嘌呤、2-甲基-鸟嘌呤、2,2-二甲基-鸟嘌呤、7-甲基-鸟嘌呤、肌苷、1-甲基-肌苷、假尿嘧啶(5-尿嘧啶)、假尿苷、N-1-甲基-假尿苷、二氢-尿嘧啶、2-硫代-尿嘧啶、4-硫代-尿嘧啶、5-羧甲基氨基甲基-2-硫代-尿嘧啶、5-(羧基羟甲基)-尿嘧啶、5-氟-尿嘧啶、5-溴-尿嘧啶、5-羧甲基氨基甲基-尿嘧啶、5-甲基-2-硫代-尿嘧啶、5-甲基-尿嘧啶、N-尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、5-甲基氨基甲基-尿嘧啶、5-甲氧基氨基甲基-2-硫代-尿嘧啶、5'-甲氧基羰基甲基-尿嘧啶、5-甲氧基-尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、1-甲基-假尿嘧啶、羟苷、β-D-甘露糖基-羟苷、怀丁氧苷、和氨基磷酸酯、硫代磷酸酯、肽核苷酸、甲基膦酸酯、7-脱氮鸟苷、5-甲基胞嘧啶和肌苷。

[0167] 在一些实施方案中,RNA例如mRNA可以由天然存在的核苷和/或核苷类似物(经修饰的核苷)合成,所述核苷和核苷类似物包括但不限于包含腺苷(A)、鸟苷(G)或嘧啶(胸腺嘧啶(T)、胞苷(C)、尿苷(U))的核苷以及包括其类似物和衍生物的核苷,例如3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸腺嘧啶、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸腺嘧啶、a 2'-脱氧核苷、-O-甲基核苷、1-甲基-腺嘌呤、2-甲基-腺嘌呤、2-甲硫基-N-6-异戊烯基-腺嘌呤、N6-甲基-腺嘌呤、N6-异戊烯基-腺嘌呤、2-硫代-胞嘧啶、3-甲基-胞嘧啶、4-乙酰基-胞嘧啶、5-甲基-胞嘧啶、2,6-二氨基嘌呤、1-甲基-鸟嘌呤、2-甲基-鸟嘌呤、2,2-二甲基-鸟嘌呤、7-甲基-鸟嘌呤、肌苷、1-甲基-肌苷、假尿苷、N-1-甲基-假尿苷、二氢-尿嘧啶、2-硫代-尿嘧啶、4-硫代-尿苷、5-羧甲基氨基甲基-2-硫代-尿苷、5-(羧基羟甲基)-尿苷、5-氟-尿苷、5-溴-尿苷、5-羧甲基氨基甲基-尿苷、5-甲基-2-硫代-尿苷、5-甲基-尿苷、N-尿苷-5-氧基乙酸甲酯、5-甲基氨基甲基-尿苷、5-甲氧基氨基甲基-2-硫代-尿苷、5'-甲氧基羰基甲基-尿嘧啶、5-甲氧基-尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、1-甲基-假尿苷、羟苷、β-D-甘露糖基-羟苷、怀丁氧苷、7-脱氮鸟苷、5-甲基胞嘧啶和肌苷。

[0168] 此类碱基、核苷、核苷酸和主链类似物、修饰和衍生物的制备是本领域技术人员已知的,例如从美国专利号4,373,071、美国专利号4,401,796、美国专利号4,415,732、美国专利号4,458,066、美国专利号4,500,707、美国专利号4,668,777、美国专利号4,973,679、美

国专利号5,047,524、美国专利号5,132,418、美国专利号5,153,319、美国专利号5,262,530和5,700,642已知,所有这些专利全文以引用方式并入。

[0169] 在一些实施方案中,mRNA的尿嘧啶核苷被约80%、约90%、95%、99%或100%耗尽并且被尿嘧啶核苷类似物例如假尿苷、5-甲氧基尿苷或N-1-甲基-假尿苷置换。

[0170] 在一些实施方案中,RNA可包含RNA主链修饰。通常,主链修饰是其中包含在RNA中的核苷酸主链的磷酸酯被化学修饰的修饰。示例性主链修饰可包括但不限于其中磷酸二酯键被选自由肽、甲基膦酸酯、甲基氨基磷酸酯、氨基磷酸酯、硫代磷酸酯(例如,胞苷5'-O-(1-硫代磷酸酯))、硼烷磷酸酯和/或带正电荷的胍基团组成的组的成员置换的修饰,或置换磷酸二酯键的其他方式。

[0171] 在一些实施方案中,RNA可包含糖修饰。糖修饰可包括但不限于2'O-甲基糖修饰、2'氟糖修饰(例如2'-氟代核糖)、3'氨基糖修饰、2'硫代糖修饰、2'-O-烷基糖修饰、5-甲硫基核糖,以及2'-脱氧-2'-氟-核糖核苷酸(2'-氟-2'-脱氧胞苷、2'-氟-2'-脱氧尿苷)、2'-脱氧-2'-脱胺-核糖核苷酸(2'-氨基-2'-脱氧胞苷、2-氨基-2'-脱氧尿苷)、2'-O-烷基核糖核苷酸、2'-脱氧-2'-C-烷基核糖核苷酸(2'-O-甲基胞苷、2'-甲基尿苷)、2'-C-烷基核糖核苷酸,以及它们的异构体(2'-阿糖胞苷、2'-阿糖尿苷)、或叠氮基磷酸酯(2'-叠氮基-2'-脱氧胞苷、2'-叠氮基-2'-脱氧尿苷)的糖修饰。

[0172] 在一些实施方案中,RNA可由一种或多种核苷酸三磷酸合成,所述核苷酸三磷酸包含本文所公开的任何核苷和核苷酸,或任何以下核苷三磷酸:2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、尿苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2',3'-二脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2',3'-二脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2',3'-二脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、3'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2',3'-二脱氧尿苷-5'-O-(1-硫代三磷酸)、2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸)和2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸)。

[0173] 在一些实施方案中,mRNA可包含在N-末端(5')端添加的"帽",以及在C-末端(3')端添加的"尾"。帽的存在可以提供对存在于真核细胞中的核酸酶的抗性。"尾"的存在可以保护mRNA免遭核酸外切酶降解。

[0174] 帽结构

[0175] 在一些实施方案中,mRNA可包含5'帽结构。5'帽可包含例如三磷酸键和鸟嘌呤核苷酸,其中7-氮被甲基化。帽结构的示例包括但不限于m7G(5')ppp(5')A、G(5')ppp(5')A和G(5')ppp(5')G。天然存在的帽结构包括7-甲基鸟苷,其经由三磷酸桥连接到第一转录核苷酸的5'端,得到m7G(5')ppp(5')N的二核苷酸帽,其中N为任何核苷。在体内,帽在转录起始后立即通过酶鸟苷酰基转移酶添加到细胞核中。

[0176] 在一些实施方案中,5'帽可包含m7(3'OmeG)(5')ppp(5')(2'OmeA)pG或(CleanCap™ 3'OMe)结构。在一些实施方案中,5'帽可包含m7G(5')ppp(5')G。在一些实施方案中,抗反向帽类似物("ARCA")或经修饰的ARCA是其中2'或3'OH基团被-OCH3置换的5'帽。在一些实施方案中,ARCA包含3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G结构。在一些实施方案中,5'帽包

含m7G(5')ppp(5')(2'OmeA)pG。另外的mRNA帽可包括但不限于选自由m7GpppG、m7GpppA、m7GpppC组成的组的化学结构;未甲基化的帽(例如,GpppG);47甲基化帽(例如,m2'7GpppG)、三甲基化帽类似物或抗反向帽类似物(例如,ARCA;m7,2'OmeGppp G、m72'dGpppG、m7'3'OmeGpppG、m7,3dGpppG以及它们的四磷酸酯衍生物)(参见例如,Jemielity,J.等人,'Wove anti-reverse cap analogs with superior translational properties",RNA,9:1108-1122(2003))。

[0177] 在一些实施方案中,合适的帽是7-甲基鸟苷酸("m7G"),其经由三磷酸桥连接到第一转录核苷酸的5'端,得到m7G(5')ppp(5')N,其中N为任何核苷。在本公开的实施方案中使用的m7G帽的实施方案是m7G(5')ppp(5')G。在一些实施方案中,帽是Cap0结构。Cap0结构缺少与碱基1和2连接的核糖的2'-0-甲基残基。在一些实施方案中,帽是Cap1结构。Cap1结构具有在碱基2处的2'-0-甲基残基。在一些实施方案中,帽是Cap2结构。Cap2结构具有与碱基2和3连接的2'-0-甲基残基。

[0178] 多种m7G帽类似物是本领域已知的,其中许多可商购获得。这些包括上述的m7GpppG,以及ARCA 3'-OCH3和2'-OCH3帽类似物(Jemielity,J.等人,RNA,9:1108-1122(2003))。用于本公开的实施方案中的另外的帽类似物包括N7-苄基化二核苷四磷酸类似物(描述于Grudzien,E.等人,RNA,10:1479-1487(2004)中)、硫代磷酸酯帽类似物(描述于Grudzien-Nogalska,E.等人,RNA,13:1745-1755(2007))和描述于美国专利号8,093,367和8,304,529中的帽类似物(包括生物素化帽类似物),所述文献以引用方式并入本文。

[0179] 在一些实施方案中,5'帽是肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、m7(3'OmeG)(5')ppp(5')(2'OmeA)pG、CleanCap™、m7(3'OmeG)(5')ppp(5')(2'OmeA)pG、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

[0180] 在一些实施方案中,5'帽包含内部核糖体进入位点(IRES)或由其组成。在一些实施方案中,IRES位于5'UTR内。在一些实施方案中,5'帽包含2A自切割肽或由其组成,例如P2A、T2A、E2A和F2A中的一者或多者。

[0181] 尾结构

[0182] "尾"的存在可用于保护mRNA免遭核酸外切酶降解。据信,poly-A尾稳定天然信使和合成有义RNA。因此,在某些实施方案中,可将长poly-A尾添加到mRNA分子中,从而使RNA更稳定。poly-A尾可使用多种本领域公认的技术进行添加。例如,可使用poly-A聚合酶将长poly-A尾添加到合成的或体外转录的RNA中(Yokoe等人,Nature Biotechnology.1996;14:1252-1256)。转录载体还可以编码长poly-A尾。此外,可通过直接从PCR产物转录来添加poly-A尾。也可以用RNA连接酶将poly-A连接到有义RNA的3'端(参见例如,Molecular Cloning A Laboratory Manual,第2版,由Sambrook、Fritsch和Maniatis编辑(Cold Spring Harbor Laboratory Press:1991版))。

[0183] 在一些实施方案中,mRNA可包含3'poly(A)尾结构。poly-A尾的长度可为至少约10个、50个、100个、200个、300个、400个或至少约500个核苷酸。在一些实施方案中,mRNA的3'末端上的poly-A尾可包含约10个至300个腺苷核苷酸(例如,约10个至200个腺苷核苷酸、约10个至150个腺苷核苷酸、约10个至100个腺苷核苷酸、约20个至70个腺苷核苷酸或约20个至60个腺苷核苷酸)。在一些实施方案中,poly A尾是120个腺苷核苷酸。

[0184] 在一些实施方案中,mRNA可包含3'poly-C尾结构。mRNA的3'末端上的poly-C尾可

包含约10个至200个胞嘧啶核苷酸(例如,约10个至150个胞嘧啶核苷酸、约10个至100个胞嘧啶核苷酸、约20个至70个胞嘧啶核苷酸、约20个至60个胞嘧啶核苷酸或约10个至40个胞嘧啶核苷酸)。poly-C尾可添加到poly-A尾或可以替代poly-A尾。在一些实施方案中,poly-A或poly C尾的长度与经修饰的有义mRNA的稳定性相关,因此与蛋白质的转录相关。例如,因为poly-A尾的长度可以影响有义mRNA分子的半衰期,可调节poly-A尾的长度以改变mRNA对核酸酶的抗性水平,从而提供对多核苷酸表达和/或多肽产生的时间过程的更多控制。

[0185] 5'和3'非翻译区(UTR)

[0186] 在一些实施方案中,mRNA可包括5'非翻译区(UTR)和/或3'UTR。在一些实施方案中,5'UTR可包括一个或多个影响mRNA的稳定性或翻译的元件。在一些实施方案中,5'UTR例如可包括铁反应元件。在一些实施方案中,5'UTR的长度可介于约50个至约100个或约50个至约500个核苷酸之间。在一些实施方案中,3'UTR包括poly-A信号、可能影响mRNA稳定性或定位的蛋白质结合位点或者一个或多个miRNA的结合位点中的一者或多者。在一些实施方案中,3'UTR的长度可介于约0个和约50个核苷酸之间、或约50个至约100个核苷酸之间。

[0187] 示例性3'和5'UTR序列可来源于具有相对长半衰期的mRNA(例如,球蛋白、肌动蛋白、GAPDH、微管蛋白、组蛋白或柠檬酸循环酶)以增加有义mRNA分子的稳定性。例如,5'UTR序列可包括巨细胞病毒(CMV)立即早期1(IE1)基因或其片段的部分序列,以改善核酸酶抗性并且/或者延长多核苷酸的半衰期。一般来讲,这些修饰相对于其未修饰的对应物改善了多核苷酸的稳定性和/或药代动力学特性(例如,半衰期),并且包括例如为改善此类多核苷酸对体内核酸酶消化的抗性而进行的修饰。

[0188] 在一些实施方案中,UTR可以改善例如肺中的组织特异性表达。在一些实施方案中,3'UTR是小鼠α-球蛋白3'UTR。在一些实施方案中,3'UTR包含SEQ ID NO:32的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0189] 在一些实施方案中,3'UTR是野生型人β-球蛋白3'UTR。在一些实施方案中,3'UTR包含SEQ ID NO:33的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸。

[0190] 在一些实施方案中,3'UTR是变体人β-球蛋白3'UTR。在一些实施方案中,3'UTR包含SEQ ID NO:34的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0191] 在一些实施方案中,5'UTR是合成的5'UTR。在一些实施方案中,5'UTR包含SEQ ID NO:35的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸。

[0192] 在一些实施方案中,5'UTR是人β-球蛋白5'UTR。在一些实施方案中,5'UTR包含SEQ ID NO:36的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸。

[0193] 在一些实施方案中,UTR可以是在PCT申请号WO2017053297A1和专利号US10519189B2中的任一者中描述的那些中的任一个或其功能变体,所述文献均全文并入本文。

[0194] 示例性治疗性TERT mRNA序列

[0195] 在一些实施方案中,TERT mRNA可以指递送到组织例如肺的全长mRNA序列,即编码的和非编码的。示例性序列包括包含SEQ ID NO:37和38的小鼠TERT的序列,以及包含SEQ ID NO:39和40的人TERT的序列。

[0196] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA包含SEQ ID NO:37的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0197] 在一些实施方案中,小鼠TERT mRNA包含SEQ ID NO:38的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0198] 在一些实施方案中,人TERT mRNA包含SEQ ID NO:39的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸。

[0199] 在一些实施方案中,人TERT mRNA包含SEQ ID NO:40的序列,或与其具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0200] 在一些实施方案中,TERT mRNA可包含与SEQ ID NO:38-40中的任一者具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0201] 本公开提供了用于延长细胞中的端粒的组合物,该组合物包含如上所述的本公开的化合物和另外的组分。在一些实施方案中,所述另外的组分包含端粒酶RNA组分(TERC)。在一些实施方案中,组合物还包含端粒酶RNA组分(TERC)。在一些实施方案中,组合物还包含一种或多种可促进RNA体外和/或体内递送到细胞的附加组分。在一些实施方案中,所述一种或多种附加组分包含纳米颗粒。在一些实施方案中,纳米颗粒包含脂质。在一些实施方案中,纳米颗粒或脂质包含coatsome样脂质或本公开的化合物。在一些实施方案中,纳米颗粒或脂质包含根据式I的本公开的化合物。

[0202] II.递送媒介物

[0203] 在一些实施方案中,一种或多种mRNA可经由递送媒介物递送到细胞或组织。在一些实施方案中,递送媒介物可以是纳米颗粒。在一些实施方案中,递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP),包括但不限于包含脂质和/或聚合物的纳米颗粒、脂质体、脂质体纳米颗粒、阳离子脂质或外泌体。如本文所用,脂质体纳米颗粒可表征为具有通过一个或多个双层膜与外部介质隔离的内部水性空间的微观囊泡。

[0204] 在一些实施方案中,纳米颗粒是聚合物纳米颗粒。在一些实施方案中,纳米颗粒是金属纳米颗粒。在其他实施方案中,递送媒介物包含重组病毒或病毒样颗粒(例如,腺病毒、腺相关病毒(AAV)、疱疹病毒或逆转录病毒,例如慢病毒)或由重组病毒或病毒样颗粒组成。在一些实施方案中,递送媒介物包含经修饰的病毒载体(例如,腺病毒十二面体或重组腺病毒聚集物)或由经修饰的病毒载体组成。在其他实施方案中,递送媒介物可包含磷酸钙核苷酸、适体、细胞穿透肽或其他载体标签或由它们组成。

[0205] 在一些实施方案中,合适的递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)。示例性LNP可包含

一种或多种不同的脂质和/或聚合物。在一些实施方案中,LNP包含可电离脂质、阳离子脂质、结构脂质、胆固醇和/或隔离脂质(insulator lipid)(例如,聚乙二醇化脂质)中的一种或多种。

[0206] 本公开的组合物可包含一种或多种可促进RNA递送到细胞的组分。组合物的组分可以共同地或部分地包含递送媒介物。在一些实施方案中,递送媒介物促进本公开的组合物的核糖核酸靶向和摄取到靶细胞。示例性递送媒介物包括但不限于纳米颗粒、脂质纳米颗粒(LNP)、脂质体、胶束、外泌体、阳离子脂质和天然或人工脂蛋白颗粒。

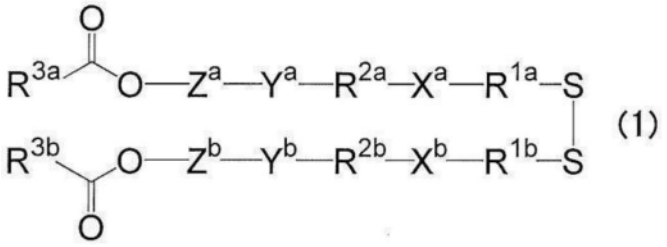
[0207] 可电离脂质

[0208] 在本公开的一些实施方案中,LNP可包含可电离脂质,例如SS-OP或其类似物。脂质的电荷可取决于周围溶液的pH,使其成为可电离脂质。可电离脂质也可以是可裂解的。可电离脂质在哺乳动物细胞的内体或溶酶体中的pH范围内可以是阳离子的。

[0209] 可电离脂质可以指在选定pH诸如生理pH下具有净正电荷的多种脂质种类中的任一种。在一些实施方案中,LNP可包含如WO 2010/053572或WO 2012/170930中任一者所公开的可电离脂质或其变型,所述文献均全文以引用方式并入本文。

[0210] 在一些实施方案中,用于TERT mRNA的肺递送的LNP可包含MC3(((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基4-(二甲基氨基)丁酸酯)、1,2-二亚油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DLinDAP)、DLin-MC3-DMA4-(二甲基氨基)-丁酸、(10Z,13Z)-1-(9Z,12Z)-9,12-十八碳二烯-1-基-10,13-十九碳二烯-1-基酯和/或cKK-E12 3,6-双(4-(双(2-羟基十二烷基)氨基)丁基)哌嗪-2,5-二酮中的一种或多种。在一些实施方案中,LNP包含2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(Dlin-KC2-DMA,1)和/或4-(二甲基氨基)丁酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基酯。

[0211] 在一些实施方案中,可电离脂质可包含SS-OP或其类似物。在一些实施方案中,可电离脂质是式(1)的化合物:

[0212] 

(1)

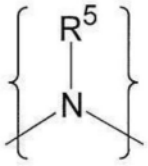
[0213] 在式(1)中:R^{1a}和R^{1b}各自独立地表示具有1至6个碳原子的亚烷基基团,并且可以是直链的或支链的。亚烷基基团可具有1至4个碳原子,或者可具有1至2个碳原子。具有1至6个碳原子的亚烷基基团的具体示例包括亚甲基基团、亚乙基基团、三亚甲基基团、异亚丙基基团、四亚甲基基团、异亚丁基基团、五亚甲基基团和新亚戊基基团。R^{1a}和R^{1b}可以各自独立地为亚甲基基团、亚乙基基团、三亚甲基基团、异亚丙基基团或四亚甲基基团,并且可为亚乙基基团。

[0214] R^{1a}可以与R^{1b}不同或相同。

[0215] X^a和X^b各自独立地为具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团、或2至5个碳原子的无环烷基叔氨基基团,和具有1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团,和/或各自独立地为具有2至5个碳原子和1至2个叔氨基基团和亚烷基叔氨基基团的环状亚烷基。

[0216] 在具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团的无环烷基叔氨基基团中,具有1至6个碳原子的烷基基团是支链的,尽管它是直链的。烷基基团可以是环形的。烷基基团可具有1至3个碳原子。具有1至6个碳原子的烷基基团的具体示例包括甲基基团、乙基基团、丙基基团、异丙基基团、正丁基基团、仲丁基基团、异丁基基团、叔丁基基团、戊基基团和异戊基基团。可以提及新戊基基团、叔戊基基团、1,2-二甲基丙基基团、2-甲基丁基基团、2-甲基戊基基团、3-甲基戊基基团、2,2-二甲基丁基基团、2,3-二甲基丁基基团、环己基基团等。

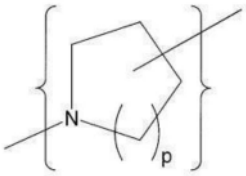
[0217] 具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团的无环烷基叔氨基基团的具体结构由X^1表示。

[0218] $X^1=$ 

[0219] X^1的R^5表示具有1至6个碳原子的烷基基团,并且可以是直链的、支链的或环状的。烷基基团可具有1至3个碳原子。具有1至6个碳原子的烷基基团的具体示例包括甲基基团、乙基基团、丙基基团、异丙基基团、正丁基基团、仲丁基基团、异丁基基团、叔丁基基团、戊基基团和异戊基基团。可以提及新戊基基团、叔戊基基团、1,2-二甲基丙基基团、2-甲基丁基基团、2-甲基戊基基团、3-甲基戊基基团、2,2-二甲基丁基基团、2,3-二甲基丁基基团、环己基基团等。

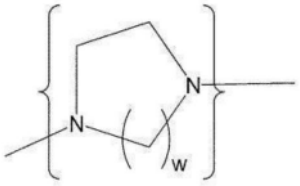
[0220] 具有2至5个碳原子和1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团中的碳原子数可为4至5。具有2至5个碳原子和1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团的具体示例包括亚氮杂环丙烷基基团、亚氮杂环丁烷基基团、亚吡咯烷基基团、亚哌啶基基团、亚咪唑烷基基团、亚哌嗪基基团、任选的亚吡咯烷基基团、亚哌啶基基团或亚哌嗪基基团。

[0221] 数目为2至5个碳原子,并且含有1个环状叔氨基基团的亚烷基叔氨基基团的具体结构由X^2表示。

[0222] $X^2=$ 

[0223] X^2的p为1或2。当p为1时,X^2为亚吡咯烷基基团,并且当p为2时,X^2为亚哌啶基基团。

[0224] 具有2至5个碳原子和2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团的具体结构由X^3表示。

[0225] $X^3=$ 

[0226] X^3的w为1或2。当w为1时,X^3为亚咪唑烷基基团,并且当w为2时,X^3为亚哌嗪基基团。

[0227] X^a可以不同于X^b。

[0228] R^{2a}和R^{2b}各自独立地表示具有8个或更少碳原子的亚烷基基团或氧基二亚烷基基团,任选地各自独立地表示具有8个或更少碳原子的亚烷基基团。

[0229] 具有8个或更少碳原子的亚烷基基团可以是直链的或支链的,但任选地是直链的。亚烷基基团中所含的碳原子数任选地为6或更少,并且任选地为4或更少。具有8个或更少碳原子的亚烷基基团的具体示例包括亚甲基基团、亚乙基基团、亚丙基基团、亚异丙基基团、四亚甲基基团、异亚丁基基团、五亚甲基基团、六亚甲基基团、七亚甲基基团、八亚甲基基团等。在一些实施方案中,包括亚甲基基团、亚乙基基团、亚丙基基团和四亚甲基基团。

[0230] 具有8个或更少碳原子的氧基二亚烷基基团是指经由醚键的亚烷基基团(亚烷基-O-亚烷基),并且两个亚烷基基团的碳原子总数为8个或更少。在此,所述两个亚烷基可以是相同的或不同的,但任选地是相同的。具有8个或更少碳原子的氧基二亚烷基基团的具体示例包括氧基二亚甲基基团、氧基二亚乙基基团、氧基二亚丙基基团和氧基二亚丁基基团。

[0231] R^{2a}可以与R^{2b}相同或不同。

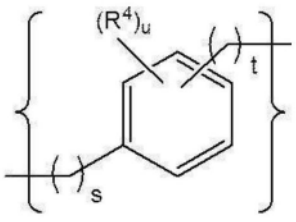
[0232] Y^a和Y^b各自独立地为酯键、酰胺键、氨基甲酸酯键、醚键或脲键,任选地各自独立地为酯键、酰胺键或氨基甲酸酯键。虽然Y^a和Y^b的Y结合取向不受限制,但如果Y^a和Y^b为酯键,任选地-Z^a-CO---R^{2a}-和-Z^b-CO-O-R^{2b}-结构。

[0233] Y^a可以与Y^b不同或相同。

[0234] Z^a和Z^b各自独立地为来源于具有3至16个碳原子、具有至少一个芳环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团。表示。芳族化合物中所含的碳原子数任选地为6至12、或6至7。此外,芳族化合物中所含的芳环数任选地为一。

[0235] 作为具有3至16个碳原子的芳族化合物中所含的芳环的类型,对于芳族烃环,如苯环、萘环、蒽环,以及芳族杂环,如咪唑环、吡唑环、噁唑环、异噁唑环、噻唑环、异噻唑环、三嗪环、吡咯环、呋喃并噻吩环、嘧啶环、哒嗪环、吡嗪环、吡啶环、嘌呤环、蝶啶环、苯并咪唑环、吲哚环、苯并呋喃环、喹唑啉环、酞嗪环、喹啉环、异喹啉环、香豆素环、色酮环、苯二氮䓬环、吩噁嗪环、吩噻嗪环、吖啶环等,任选地苯环、萘环、蒽环。芳环可具有取代基。取代基的示例包括具有2至4个碳原子的酰基基团、具有2至4个碳原子的烷氧基羰基基团、具有2至4个碳原子的氨基甲酰基基团、和2至4个碳原子。4酰氧基基团、具有2至4个碳原子的酰氨基基团、具有2至4个碳原子的烷氧基羰基氨基基团、氟原子、氯原子、溴原子、碘原子、具有1至4个碳原子的烷硫基基团、具有1至4个碳原子的烷基磺酰基基团、具有6至10个碳原子的芳基磺酰基基团、硝基基团、三氟甲基基团、氰基基团、具有1至4个碳原子的烷基基团、具有1至4个碳原子的脲基基团、具有1至4个碳原子的烷氧基基团、具有6至10个碳原子的芳基基团、具有6至10个碳原子的芳氧基基团等。一些示例包括乙酰基基团、甲氧基羰基基团、碳酸甲酯基团等、moy1基团、乙酰氧基基团、乙酰胺基团、甲氧基羰基氨基基团、氟原子、氯原子、溴原子、碘原子、甲硫基基团、苯磺酰基基团、硝基基团、三氟甲基基团、氰基基团、甲基基团、乙基基团、丙基基团、异丙基基团、叔丁基基团、脲基基团、甲氧基基团、乙氧基基团、丙氧基基团、异丙氧基基团、叔丁氧基基团、苯基基团和苯氧基基团。

[0236] Z^a和Z^b的具体结构包括Z^1。

[0237] Z^1 = 

[0238] 其中,s表示0至3的整数,t表示0至3的整数,u表示0至4的整数,R4独立地为取代基。

[0239] Z^1中的S任选地为0至1的整数。

[0240] Z^1中的T任选地为0至2的整数。

[0241] Z^1中的U任选地为0至2的整数。

[0242] Z^1中的R4是具有3至16个碳原子的芳族化合物中所含的芳环(苯环)的取代基,其不抑制合成可电离脂质的过程中的反应。取代基的示例包括具有2至4个碳原子的酰基基团、具有2至4个碳原子的烷氧基羰基基团、具有2至4个碳原子的氨基甲酰基基团、具有2至4个碳原子的酰氧基基团、和具有2至4个碳原子的酰氨基基团、具有2至4个碳原子的烷氧基羰基氨基基团、氟原子、氯原子、溴原子、碘原子、具有1至4个碳原子的烷硫基基团、具有1至4个碳原子的烷基磺酰基基团、具有6至10个碳原子的芳基磺酰基基团、硝基基团、三氟甲基基团、氰基基团、具有1至4个碳原子的烷基基团、具有1至4个碳原子的脲基基团、具有1至4个碳原子的烷氧基基团、具有6至10个碳原子的芳基基团和具有6至10个碳原子的芳氧基基团,并且示例包括乙酰基、甲氧基羰基、甲基氨基甲酰基、乙酰氧基、Mido基团、甲氧基羰基氨基基团、氟原子、氯原子、溴原子、碘原子、甲硫基基团、苯磺酰基基团、硝基基团、三氟甲基基团、氰基基团、甲基基团、乙基基团、丙基基团、异丙基基团、叔丁基基团、脲基基团、甲氧基基团、乙氧基基团、丙氧基基团、异丙氧基基团、叔丁氧基基团、苯基基团和苯氧基基团。当存在多个R^4时,每个R^4可以相同或不同。

[0243] Z^a可以与Z^b不同甚至相同。

[0244] R^{3a}和R^{3b}各自独立地为来源于具有羟基基团的脂溶性维生素与琥珀酸酐或戊二酸酐或者具有羟基基团的甾醇衍生物与琥珀酸酐或戊二酸的反应产物的残基。表示来源于与酸酐的反应产物的残基,或具有12至22个碳原子的脂族烃基,并且任选地各自独立地具有羟基基团的脂溶性维生素与琥珀酸酐或戊二酸酐的反应产物的残基。或C12-22脂族烃基,并且任选地各自独立地为具有12-22个碳原子的脂族烃基。

[0245] 具有羟基基团的脂溶性维生素的示例包括视黄醇、麦角固醇、7-脱氢胆固醇、钙化醇、corcalciferol、二氢麦角钙化醇、二氢紫杉醇、生育酚和生育三烯酚。具有羟基基团的脂溶性维生素任选地为生育酚。

[0246] 具有羟基基团的甾醇衍生物的示例包括胆固醇、胆甾烷醇、豆甾醇、β-谷甾醇、羊毛甾醇、麦角甾醇等,任选地胆固醇或胆甾烷醇。

[0247] 具有12至22个碳原子的脂族烃基可以是直链的或支链的。脂族烃基可以是饱和的或不饱和的。就不饱和脂族烃基而言,脂族烃基中所含的不饱和键的数目通常为1至6,任选地为1至3、或1至2。不饱和键包括碳-碳双键和碳-碳三键。脂族烃基中所含的碳原子数任选地为13至19、或13至17。脂族烃基包括烷基基团、烯基基团、炔基基团等,并且任选地包括烷基基团或烯基基团。具有12至22个碳原子的脂族烃基的具体示例包括十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基、二十一烷基、二十二烷基、十二碳烯基基团、十三碳烯基基团、十四碳烯基基团、十五碳烯基基团、十六碳烯基基团、十七碳烯基基团、十八碳烯基基团、十九碳烯基基团、二十碳烯基基团、二十一碳烯基基团、二十二碳烯基基团、十二碳二烯基基团、十三碳二烯基基团、十四碳二烯基基团、十五碳二烯基基团、十六碳二烯基基团、十七碳二烯基基团、十八碳二烯基基团、十九碳二烯

基基团、二十碳二烯基基团、二十一碳二烯基基团、二十二碳二烯基基团、十八碳三烯基基团、二十碳三烯基基团、二十碳四烯基基团、二十碳五烯基基团、二十二碳六烯基基团、异硬脂基基团、1-己基庚基基团、1-己基壬基基团、1-辛基壬基基团、1-辛基十一烷基基团、1-癸基十一烷基基团等。具有12至22个碳原子的脂族烃基任选地为十三烷基基团、十五烷基基团、十七烷基基团、十九烷基基团、十七碳烯基基团、十七碳二烯基基团、或1-己基壬基基团、或十三烷基基团、十七烷基基团、十七碳烯基基团和十七碳二烯基基团。

[0248] 在本公开的一个实施方案中,由R^{3a}和R^{3b}表示的具有12至22个碳原子的脂族烃基来源于脂肪酸。在这种情况下,来源于脂肪酸的羰基碳包含在式(1)的-CO-O-中。脂族烃基的具体示例包括当亚油酸用作脂肪酸时的十七碳烯基基团,以及当油酸用作脂肪酸时的十七碳烯基基团。

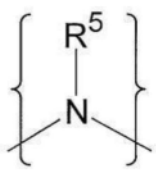
[0249] R^{3a}可以与R^{3b}不同或相同。

[0250] 在本公开的一个实施方案中,R^{1a}与R^{1b}相同,X^a与X^b相同,R^{2a}与R^{2b}相同,Y^a与Y^b相同,并且Z^a与Z^b相同,R^{3a}与R^{3b}相同。

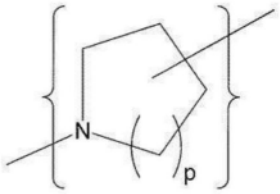
[0251] 由式(1)表示的可电离脂质的优选示例包括以下可电离脂质:可电离脂质(1-1);R1a和R1b各自独立地为具有1至6个碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团);Xa和Xb各自独立地为具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团的无环烷基叔氨基基团(例如,-N(CH3)-),或具有2至5个碳原子和1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团(例如,亚哌啶基基团);R^{2a}和R^{2b}各自独立地为具有8个或更少碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团、亚丙基基团);Y^a和Y^b各自独立地为酯键或酰胺键;Z^a和Z^b各自独立地为来源于具有3至16个碳原子、具有至少一个芳环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团。(例如,-C6H4-CH2-、-CH2-C6H4-CH2-);R^{3a}和R^{3b}各自独立地为来源于具有羟基基团的脂溶性维生素(例如,生育酚)与琥珀酸酐或戊二酸酐的反应产物的残基,或具有12至22个碳原子的脂族烃基(例如,十七碳烯基基团、十七碳二烯基基团、1-己基壬基基团);

[0252] 可电离脂质(1-2);R^{1a}和R^{1b}各自独立地为具有1至4个碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团);Xa和Xb各自独立地为具有1至3个碳原子和1个叔氨基基团的无环烷基叔氨基基团(例如,-N(CH3)-),或具有2至5个碳原子和1个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团(例如,亚哌啶基基团);R^{2a}和R^{2b}各自独立地为具有6个或更少碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团、亚丙基基团);Y^a和Y^b各自独立地为酯键或酰胺键;Za和Zb各自独立地为来源于具有6至12个碳原子、一个芳环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团(例如,-C6H4-CH2-,-CH2-C6H4-CH2-);R^{3a}和R^{3b}各自独立地为来源于具有羟基基团的脂溶性维生素(例如,生育酚)与琥珀酸酐的反应产物的残基,或具有13至19个碳原子的脂族烃基(例如,十七碳烯基基团、十七碳二烯基基团、1-己基壬基基团)。

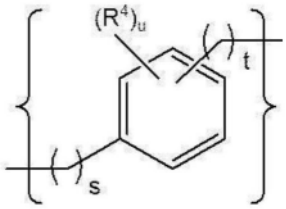
[0253] 可电离脂质(1-3);R^{1a}和R^{1b}各自独立地为具有1至2个碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团);X^a和X^b各自独立地为X^1:

[0254] $X^1=$ 

[0255] (其中R^5为具有1至3个碳原子的烷基基团(例如,甲基基团)),或X^2:

[0256] $X^2=$ 

[0257] (其中p为1或2),R^{2a}和R^{2b}各自独立地为具有4个或更少碳原子的亚烷基基团(例如,亚甲基基团、亚乙基基团、亚丙基基团);Y^a和Y^b各自独立地为酯键或酰胺键;Z^a和Z^b各自独立地为Z^1:

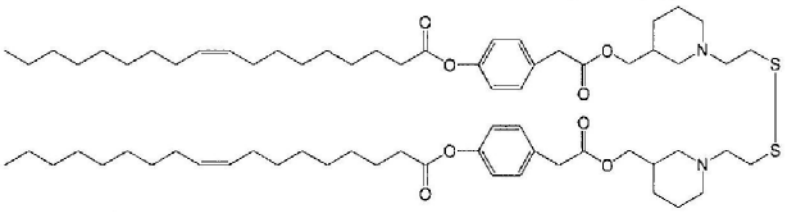
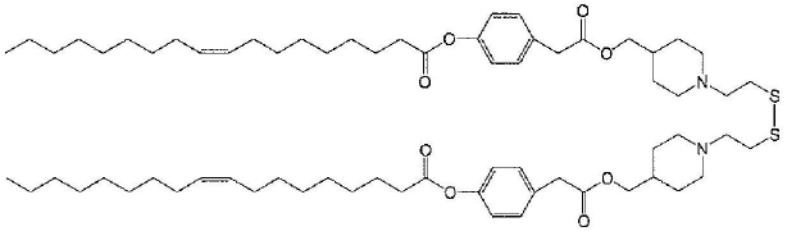
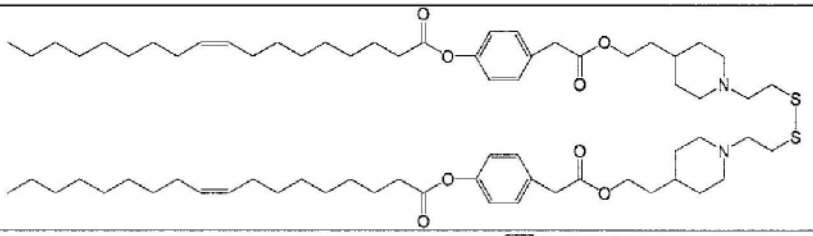
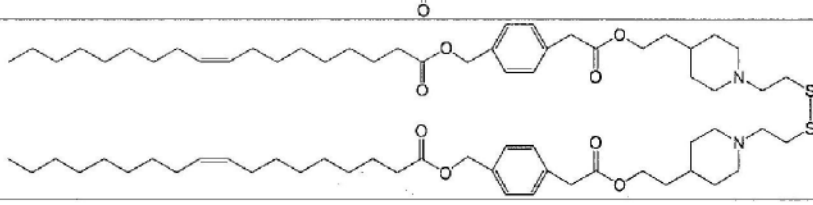
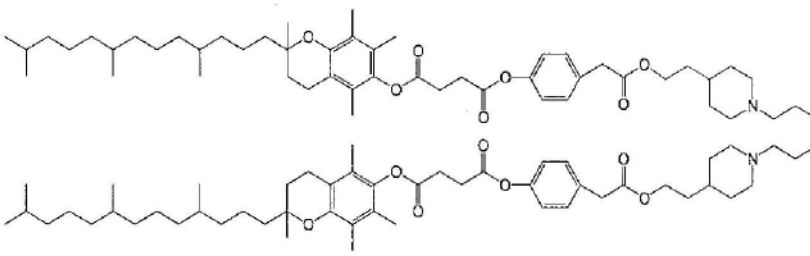
[0258] $Z^1=$ 

[0259] 其中s为0至1的整数,t为0至2的整数,u为0至2的整数(任选地0),并且$(R^4)u$各自独立地表示取代基。R^{3a}和R^{3b}各自独立地为来源于具有羟基基团的脂溶性维生素(例如,生育酚)与琥珀酸酐的反应产物的残基,或具有13至17个碳原子的脂族烃基(例如,十七碳烯基基团、十七碳二烯基基团、1-己基壬基基团);

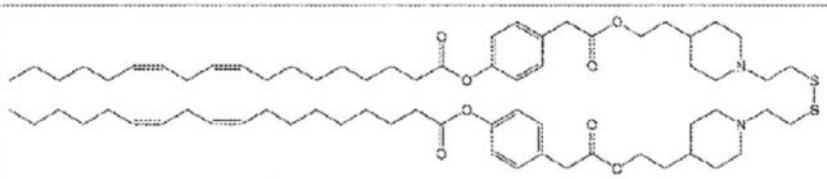
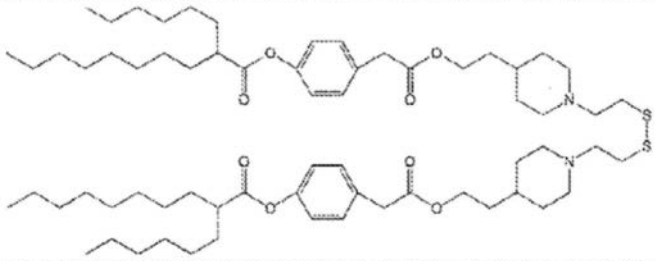
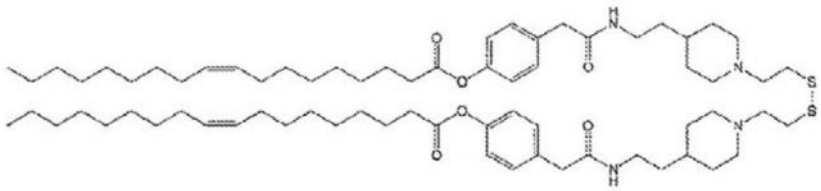
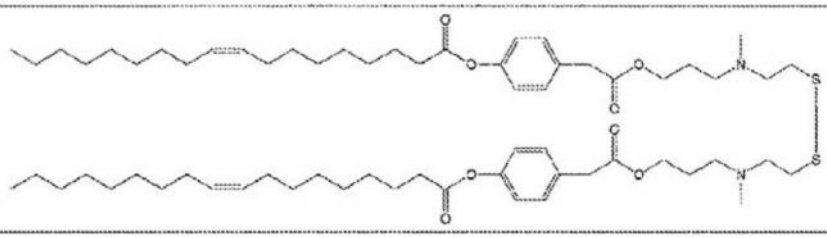
[0260] 根据本公开的式1的可电离脂质的具体示例包括如表3、4和5中所示的以下O-Ph-P3C1、O-Ph-P4C1、O-Ph-P4C2、O-Bn-P4C2、E-Ph-P4C2、L-Ph-P4C2、HD-Ph-P4C2、O-Ph-酰胺-P4C2和O-Ph-C3M。

[0261] 表3:可电离脂质

[0262]

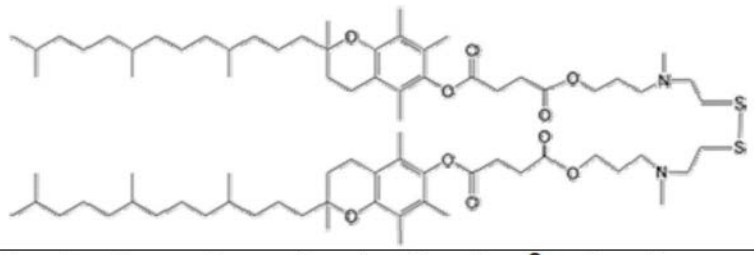
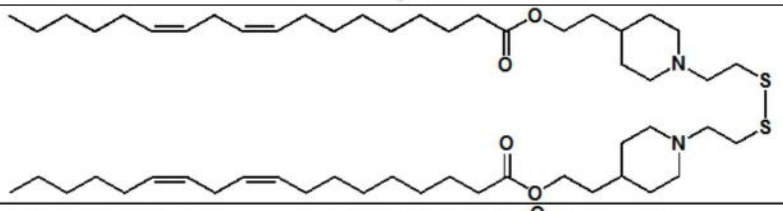
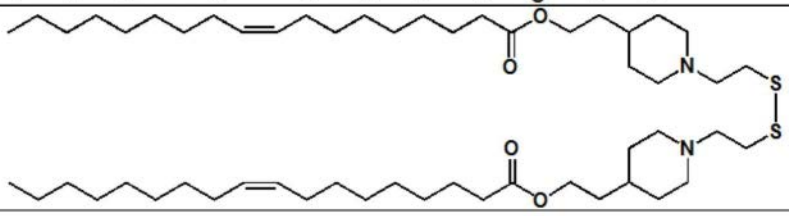
O-Ph-P3C1	
O-Ph-P4C1	
O-Ph-P4C2	
O-Bn-P4C2	
E-Ph-P4C2	

[0263]

L-Ph-P4C2	
HD-Ph-P4C2	
O-Ph- 酰胺-P4C2	
O-Ph-C3M	

[0264] 表4:可电离脂质

[0265]

α-D-生育酚琥珀酰基	
亚油酰基	
油酰基	

[0266] 在一些实施方案中,递送媒介物是能够转染至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的肺细胞群体的LNP,其中可电离脂质是LNP的摩尔百分比的至

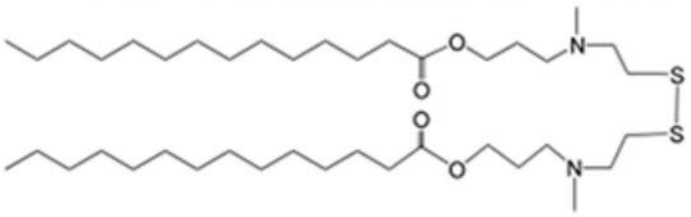
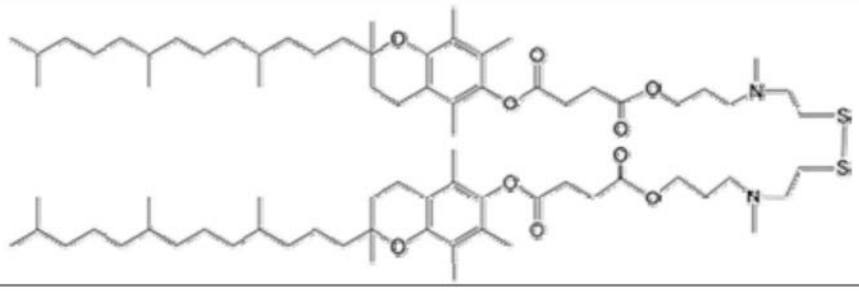
少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％或至少80％。

[0267] 在一些实施方案中,可电离脂质不超过LNP的摩尔百分比的20％、不超过30％、不超过40％、不超过50％、不超过60％、不超过70％或不超过90％。示例性可电离脂质包括但不限于:(15Z,18Z)-N,N-二甲基-6-(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十四碳-15,18-二烯-1-胺(HGT5000)、(15Z,18Z)-N,N-二甲基-6-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十四碳-4,15,18-三烯-1-胺(HGT5001)和(15Z,18Z)-N,N-二甲基-6-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十四碳-5,15,18-三烯-1-胺(HGT5002)。

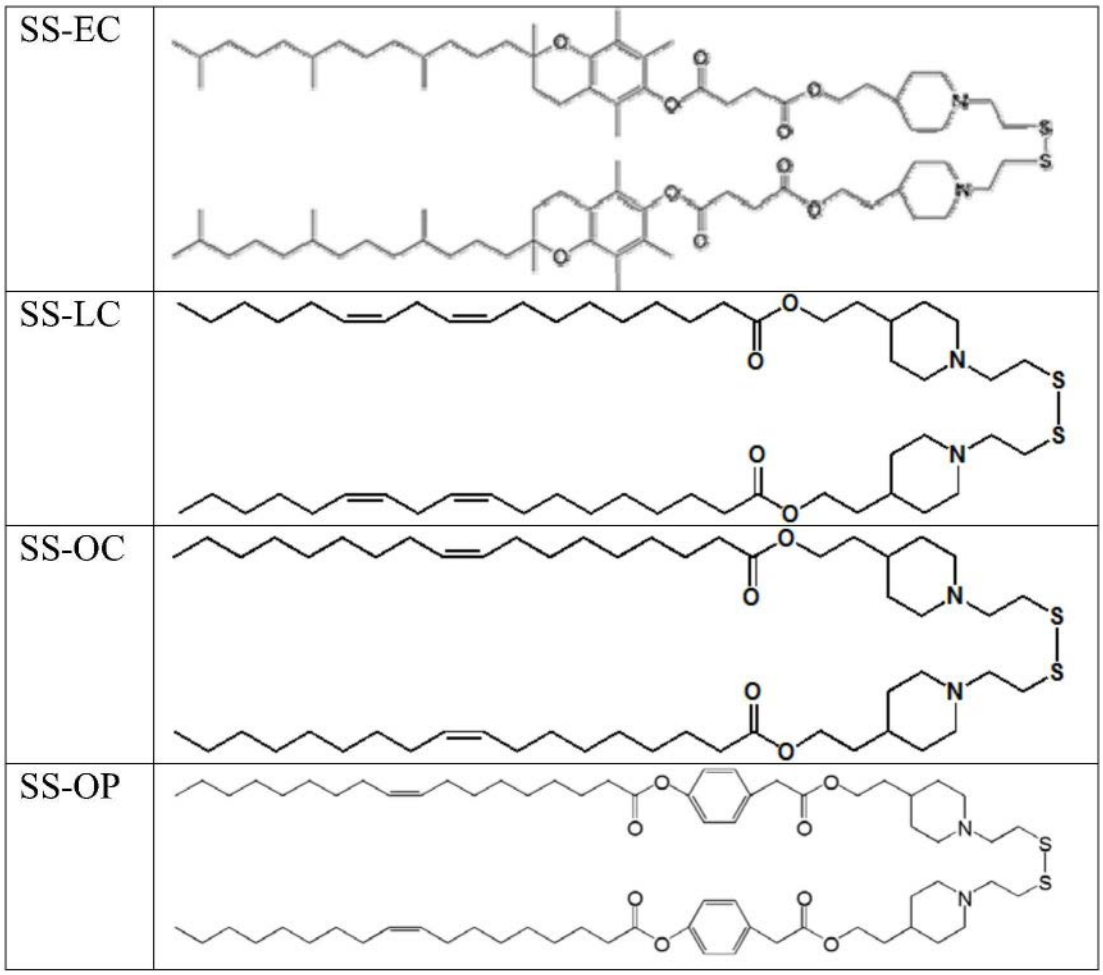
[0268] 具有式I的结构的脂质如下表5所示。例如,SS-OP也称为O-Ph-P4C2。如本文所用的术语“SS-OP类似物”是指式I的化合物。

[0269] 表5:脂类命名法

[0270]

名称	结构
SS-M	
SS-E	

[0271]



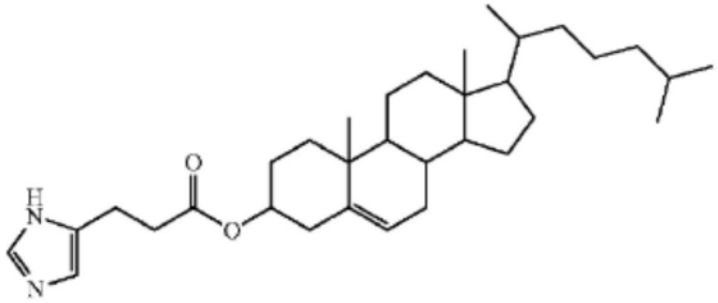
[0272] 阳离子脂质

[0273] 在一些实施方案中,本公开的脂质纳米颗粒(LNP)包含阳离子脂质,例如DOTAP或其变体。阳离子脂质可以是“永久性阳离子脂质”。术语阳离子脂质在存在于哺乳动物生理环境诸如血液或间质液中的pH范围内可以是阳离子的。阳离子脂质可以由阳离子胺部分和脂质部分组成,并且阳离子胺部分和聚阴离子核酸可以相互作用以形成带正电荷的脂质体或脂质膜结构。因此,可以促进向细胞中的摄取并将核酸递送到细胞中。

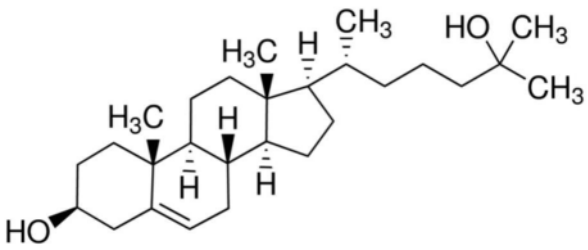
[0274] 在一些实施方案中,阳离子脂质可选自1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DABB)或1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-乙基磷酸胆碱(EPC)中的一种或多种。在一些实施方案中,LNP包含可电离脂质,其中可电离脂质是以下中的一种或多种:N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、1,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲

基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

[0275] 在一些实施方案中,阳离子脂质是指阳离子胆固醇脂质。在本公开的一些实施方案中,LNP包含咪唑胆固醇酯(ICE)。在一些实施方案中,ICE结构基本上类似于:

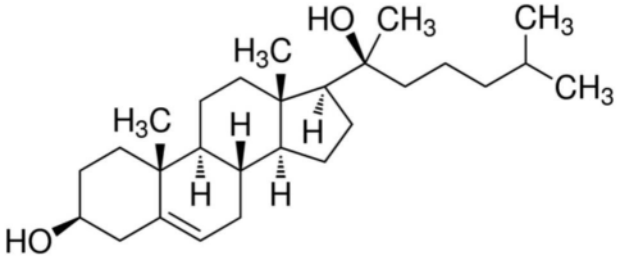
[0276] 

[0277] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含25-羟基胆固醇(25OH Chol)。在一些实施方案中,25OH Chol结构基本上类似于:

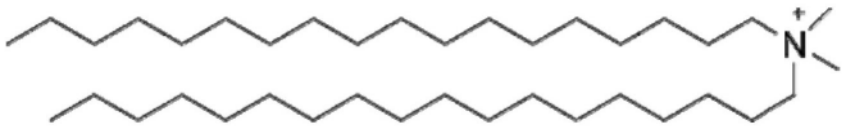
[0278] 

[0279] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α。

[0280] 在一些实施方案中,20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α(也称为20α-二醇或20α胆固醇结构)基本上类似于:

[0281] 

[0282] 在一些实施方案中,阳离子脂质是指二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)。在本公开的一些实施方案中,LNP包含二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)。在一些实施方案中,二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)结构基本上类似于:

[0283] 

[0284] 结构脂质

[0285] 在一些实施方案中,LNP包含结构脂质。如本文所用,结构脂质是作为电荷的补充

或独立于电荷向LNP贡献物理或化学特性的脂质。例如,结构脂质可倾向于具有增加LNP的治疗效用的形状、大小、刚性、疏水性或其他特性,诸如通过增加其稳定性、半衰期、可变形性、转染效率、趋向性、热稳定性、抗聚集性、膜流动性或其他参数。在一些实施方案中,结构脂质是电荷中性的,这是由于缺乏带电荷的部分,或由于是两性离子的,具有总计为零净电荷的平衡电荷。

[0286] 在一些实施方案中,LNP可包含选自以下中的一种或多种的结构脂质:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环已烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)或它们的变体。

[0287] 在一些实施方案中,LNP可包含一种或多种磷脂酰脂质,例如磷脂酰化合物(例如,磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺)。在一些实施方案中,LNP可包含鞘脂,例如但不限于鞘氨醇、神经酰胺、鞘磷脂、脑苷脂和神经节苷脂。在一些实施方案中,前述“结构”脂质有助于LNP组合物的稳定性和/或特异性。

[0288] 基于胆固醇的脂质

[0289] 在一些实施方案中,LNP可包含一种或多种基于胆固醇的脂质。基于胆固醇的脂质可包括但不限于:聚乙二醇化胆固醇、DC-Choi(N,N-二甲基-N-乙基甲酰氨基胆固醇)、1,4-双(3-N-油烯基氨基-丙基)哌嗪。

[0290] 聚乙二醇化脂质

[0291] 在本公开的一些实施方案中,LNP可包含一种或多种聚乙二醇化脂质。例如,经聚乙二醇(PEG)修饰的磷脂和衍生的脂质如衍生的神经酰胺(PEG-CER),包括N-辛酰基-鞘氨醇-1-[琥珀酰基(甲氧基聚乙二醇)-2000](C8PEG-2000神经酰胺)的使用被本公开设想与一种或多种可电离脂质和/或其他脂质组合。在一些实施方案中,聚乙二醇化脂质包含具有较短酰基链(例如,C14或C18)的PEG-神经酰胺。在一些实施方案中,可以使用聚乙二醇化脂质DSPE-PEG-马来酰亚胺-凝集素。其他设想的经PEG修饰的脂质包括但不限于与具有C6-C20长度的烷基链的脂质共价连接的长度高达5kDa的聚乙二醇链。不希望受特定理论束缚,可以设想,添加聚乙二醇化脂质可防止复合物聚集并增加循环寿命以促进脂质体包封的mRNA递送到靶细胞。

[0292] 在一些实施方案中,脂质纳米颗粒制剂可包含美国专利号11,185,595、9,868,693、10,195,156、9,877,919、9,738,593、10,399,937、10,106,490、9,738,593、10,821,186或8,058,069(所述专利中每一篇全文以引用方式并入本文)中所述或美国专利申请公布号US20180085474A1、US20210259980A1、US20200206362A1、US20210267895A1、US20200283372A1或US20200163878A1(所述专利申请公布中每一篇全文以引用方式并入本文)中所述的那些中的任一种,基本上由其组成或由其组成。

[0293] 脂质纳米颗粒(LNP)组合物

[0294] 以下示例性LNP制剂并非旨在是限制性的。

[0295] 在本公开的一些实施方案中,LNP可包含可电离脂质,例如SS-OP或SS-OP类似物,相对于总脂质,其摩尔百分比为约20、约25、约30、约35、约40、约45、约55或约60;以及阳离子脂质,例如DOTAP、ICE、DDAB或阳离子胆固醇脂质,相对于总脂质,其摩尔百分比为约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45或约50。

[0296] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的阳离子脂质。在一些实施方案中,LNP包含摩尔百分比为约30%的阳离子脂质。

[0297] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含结构脂质。在一些实施方案中,结构脂质是DOPC。在一些实施方案中,LNP以总脂质的约1%、约2%、约3%、约4%或约5%的摩尔比包含DOPC。

[0298] 在本公开的一些实施方案中,LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

[0299] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含胆固醇。在一些实施方案中,LNP包含相对于总脂质摩尔百分比为约20%至约40%的胆固醇。在一些实施方案中,LNP基本上不含胆固醇。

[0300] 在本公开的一些实施方案中,LNP包含隔离脂质。在一些实施方案中,LNP包含摩尔比为约0.1%至约2%的隔离脂质。在一些实施方案中,LNP包含摩尔比为约0.5%至约1.5%的隔离脂质。在一些实施方案中,LNP基本上不含隔离脂质。

[0301] 聚合物纳米颗粒

[0302] 在一些实施方案中,合适的递送媒介物使用聚合物作为载剂单独地或与包含本文所述的各种脂质的其他载剂组合配制。因此,在一些实施方案中,如本文所用的脂质体递送媒介物还涵盖含聚合物的纳米颗粒。合适的聚合物可包括例如聚丙烯酸酯、聚烷基氰基丙烯酸酯、聚丙交酯、聚丙交酯-聚乙交酯共聚物、聚己内酯、葡聚糖、白蛋白、明胶、藻酸盐、胶原、壳聚糖、环糊精、鱼精蛋白、经聚乙二醇(PEG)修饰的(PEG化的)鱼精蛋白、聚-D-赖氨酸(PLL)、PEG化的PLL和聚乙烯亚胺(PEI)。当PEI存在时,它可以是分子量在10至40kDA范围内的直链或支链PEI,例如25kDa支链PEI(Sigma#408727)。在一些实施方案中,PEG化脂质是14:0PEG2000 PE和/或DMG-PEG2000。

[0303] 肺靶向

[0304] 本文所公开的递送媒介物优先靶向肺。在各种实施方案中,与肝相比,递送媒介物可以10、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、10^7、10^8、10^9或10^{10}倍有效地将多核苷酸例如mRNA递送和/或转染到肺细胞。与肝相比,如本文提供的LNP组合物优先向肺递送和/或转染多核苷酸,例如RNA。

[0305] 然而,应当理解,在不降低靶器官/细胞的效力的情况下,可以耐受向非靶细胞/器官的一定水平的递送。在一些实施方案中,递送媒介物的脂质组合物相对于本领域已知的其他脂质组合物增强了向肺的递送。在其他实施方案中,递送媒介物的脂质组合物相对于其他脂质组合物增强了向肺的递送。在一些实施方案中,胆固醇的存在或水平增强了递送媒介物例如LNP或细胞外囊泡向肺的递送。在一些实施方案中,递送媒介物包含器官特异性靶向配体以增强向特定器官例如肺的递送。

[0306] III.mRNA和纳米颗粒递送媒介物组合物的配制

[0307] mRNA和脂质纳米颗粒(LNP)的合成方法已得到很好的确立。例如包含5'帽、5'和3'

UTR编码序列以及poly-A尾的合成mRNA可通过使用RNA聚合酶(例如T7 RNA聚合酶)体外转录DNA模板由经修饰的和未修饰的核苷酸合成。DNA模板可以例如通过PCR或质粒扩增和限制性消化,随后纯化来生成。

[0308] 携带mRNA的脂质纳米颗粒(LNP)、脂质体或聚合物纳米颗粒递送媒介物可以例如通过将有机溶剂(例如,乙醇)中的脂质或聚合物与水性缓冲液中的一种或多种mRNA混合,然后进行缓冲液更换和浓缩来产生。在一些实施方案中,LNP、脂质体或聚合物纳米颗粒递送媒介物可使用微流体装置产生以快速混合试剂并形成受控大小的单分散颗粒。例如,微流体混合器可以是交错人字形混合器(SHM)。例如,微流体混合器可以由Precision Nanosystems(PNI)制造的NanoAsssemblr生产。在其他实施方案中,LNP、脂质体或聚合物纳米颗粒递送媒介物可通过T-混合器产生。在一些实施方案中,LNP、脂质体或聚合物纳米颗粒可以包封mRNA并且/或者通过静电相互作用与一种或多种mRNA缔合。LNP、脂质体或聚合物纳米颗粒的缓冲液更换和浓缩可通过切向流过滤来进行。在其他实施方案中,LNP、脂质体或聚合物纳米颗粒的缓冲液更换和浓缩可通过使用标称分子量截留值<=500,000Da,例如100,000Da的膜的离心超滤来进行。

[0309] 在一些实施方案中,本文提供的脂质纳米颗粒(LNP)制剂能够转染至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的肺细胞群体。

[0310] 本公开的脂质膜结构的形式没有特别限制。例如,作为其中本公开的脂质分散在水性溶剂中的形式,脂质体(例如,单层脂质体、多层脂质体等)、球形胶束、串胶束、脂质纳米颗粒(LNP)或未指定的层状结构。

[0311] 本公开的脂质膜结构还可包含其他组分。其他组分的示例包括脂质(磷脂(诸如磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱)、糖脂、肽脂质、胆固醇、可电离脂质、阳离子脂质、PEG化脂质等)、表面活性剂(例如3-[(3-胆酰胺丙基)二甲氨基]丙烷磺酸盐、胆酸钠盐、辛基糖苷、ND-葡萄糖-N-甲基烷酰胺)、聚乙二醇、蛋白质等。本公开的脂质膜结构中的其他组分的含量通常为5摩尔%至95摩尔%,任选地10摩尔%至90摩尔%、或30摩尔%至80摩尔%。

[0312] 本公开的脂质膜结构通过将本公开的脂质和其他组分(脂质等)分散在合适的溶剂或分散介质(例如,水性溶剂或醇溶剂)中来制备,并且如果需要,组织可通过进行诱导结晶的操作来制备。

[0313] “诱导组织的操作”的示例包括使用微通道或涡流的乙醇稀释法、简单水合法、超声处理、加热、涡流、醚注射法、弗氏压碎器法和胆酸法。其示例包括但不限于本身已知的方法,诸如Ca 2+融合法、冻融法和反相蒸发法。

[0314] 可通过将核酸包封在含有本公开的可电离脂质的脂质膜结构中并使其与细胞接触而将核酸体内和/或体外引入细胞中。因此,本公开提供了包含本公开的可电离脂质或脂质膜结构的核酸引入剂。

[0315] 本公开的核酸引入剂可以将任何核酸引入细胞中。核酸的示例包括但不限于DNA、RNA、RNA嵌合核酸、DNA/RNA杂合体等。核酸可以是1至3条链中的任一条,但任选地是单链或双链。核酸可以是其他类型的核苷酸,所述其他类型的核苷酸是嘌呤或嘧啶碱基的N-糖苷、或具有非核苷酸主链的其他寡聚物(例如,可商购获得的肽核酸(PNA)等)或具有特定键的其他寡聚物。寡聚物可含有具有允许存在于DNA或RNA中的碱基配对或碱基连接的构型的核

苷酸。此外,核酸可以被例如已知的经修饰的核酸、标记的核酸、加帽的核酸、甲基化核酸或本领域已知的一种或多种天然核苷酸、分子内经核苷酸修饰的核酸、具有不带电键(例如,甲基磺酸酯、磷酸三酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯等)、带电键或含硫键(例如硫代磷酸酯)的核酸、侧链基团如蛋白质(例如,核酸酶、核酸酶抑制剂、毒素、抗体、信号肽、聚-L-赖氨酸等)和糖(例如,单糖)、核酸和具有互流化合物(例如吖啶、补骨脂素等)的核酸、含有螯合化合物(例如,金属、放射性金属、硼、氧化金属等)的核酸、含有烷化剂的核酸以及具有修饰键的核酸(例如,α异头核酸等)取代。

[0316] 可用于本公开的DNA的类型没有特别限制,并且可根据使用目的适当地选择。示例包括质粒DNA、cDNA、反义DNA、染色体DNA、PAC、BAC和CpG oligo,任选地质粒DNA、cDNA和反义DNA或质粒DNA。环状DNA诸如质粒DNA可用限制酶等适当消化并用作线性DNA。

[0317] 可用于本公开的RNA的类型没有特别限制,并且可根据使用目的适当地选择。例如,siRNA、miRNA、shRNA、反义RNA、信使RNA(mRNA)、单链RNA基因组、双链RNA基因组、RNA复制子、转移RNA、核糖体RNA等,任选地siRNA、miRNA、shRNA、mRNA、反义RNA、RNA复制子。

[0318] 本公开中使用的核酸任选地通过本领域技术人员常用的方法来纯化。

[0319] 包封核酸的本公开的核酸引入剂可以体内施用以用于例如预防和/或治疗疾病的目的。因此,本公开中使用的核酸任选地是对给定疾病具有预防和/或治疗活性的核酸(预防性/治疗性核酸)。此类核酸的示例包括用于所谓基因疗法的核酸。

[0320] 为了使用本公开的核酸引入剂将核酸引入细胞中,当形成本公开的脂质膜结构时,通过使靶核酸共存来包封核酸。形成本公开的脂质膜结构。例如,当通过乙醇稀释法形成脂质体时,通过涡旋或微通道等剧烈混合核酸的水溶液和本公开的脂质膜结构的组分(脂质等)的乙醇溶液,用适当的缓冲液稀释。当通过简单的水合方法形成脂质体时,将本公开的脂质膜结构的组分(脂质等)溶解于适当的有机溶剂中,将溶液置于玻璃容器中,并通过减压干燥保留溶剂并留下以获得脂质膜。在此,添加核酸水溶液并水合,然后用超声波仪超声处理。本公开还提供了上述脂质膜结构,所述核酸被包封在其中。

[0321] 其中包封核酸的脂质膜结构的示例是通过在核酸和可电离脂质之间形成静电复合物而包封在核酸中的LNP。该LNP可用作选择性地将核酸等递送到特定细胞中的药物递送系统。例如,通过将抗原基因引入树突细胞中的DNA疫苗(一种用于肿瘤的基因疗法药物),RNA对于使用干扰抑制靶基因表达的核酸药物是有用的。

[0322] 包封核酸的本公开的脂质膜结构的粒径没有特别限制,但任选地为10nm至500nm、或20nm至200nm。粒径可使用粒度分布测量装置诸如Zetasizer Nano(Malvern)来测量。脂质膜结构的粒径可根据制备脂质膜结构的方法适当地调节。

[0323] 包封核酸的本公开的脂质膜结构的表面电势(ζ电势)没有特别限制,但可为-60至+60mV、-45至45mV、-30至+30mV、-15至+15mV或-10至+10mV。脂质膜结构的ζ电势可以是正的(>0mV)、+5mV至+60mV、+30mM至+45mV、或+10mV至+45mV。在常规的基因转移中,主要使用具有正表面电势的颗粒。虽然这可用作促进与带负电荷的细胞表面硫酸肝素的静电相互作用和促进细胞摄取的方法,但是表面正电荷是在细胞内递送的。有可能由于与核酸的相互作用而抑制核酸从载剂中的释放,并且由于mRNA与递送核酸之间的相互作用而抑制蛋白质合成。通过在上述范围内调节表面电荷,可以解决该问题。表面电荷可通过使用ζ电势测量装置诸如Zetasizer Nano来测量。脂质膜结构的表面电荷可通过脂质膜结构组分的组成来调

节。

[0324] 本公开的脂质膜结构的脂质膜表面pKa(下文称为脂质体pKa)没有特别限制,但可具有5.5至7.2的pKa、或6.0至6.8的pKa。脂质体pKa用作指示通过胞吞作用摄取的脂质膜结构在内体内的弱酸性环境中易受脂质膜结构的质子化影响的指标。脂质体的pKa可通过脂质膜结构组分的组成来调节。

[0325] 本公开的脂质膜结构的溶血活性(膜融合能力)没有特别限制,但在生理pH(pH 7.4)下可能不具有溶血活性(小于5%),并且可以是内体的。溶血活性越高,核酸可以越有效地递送到细胞质中。然而,如果溶血活性存在于生理pH下,核酸将在血液中停留期间被递送到非预期的细胞,导致靶标定向性和毒性降低。因此,优选的是如上所述仅在内体环境中具有溶血活性。溶血活性可通过脂质膜结构组分的组成来调节。

[0326] 通过使其中包封有核酸的本公开的脂质膜结构与细胞接触,可以将包封的核酸引入细胞中。细胞可以是含有癌细胞的培养细胞系、从个体或组织分离的细胞、或细胞的组织或组织块。此外,细胞可以是贴壁细胞或非贴壁细胞。

[0327] 下面将具体描述使包封核酸的本公开的脂质膜结构与细胞体外接触的步骤。

[0328] 将细胞悬浮于适当的培养基中若干天,然后与脂质膜结构接触并在适当的条件下培养。在与脂质膜结构接触时,细胞可以处于或不处于生长期。

[0329] 接触时的培养基可以是含血清培养基或无血清培养基,但培养基中的血清浓度可为30重量%或更少,更可为20重量%或更少。如果培养基含有过量的蛋白质诸如血清,则脂质膜结构与细胞之间的接触可能被抑制。

[0330] 接触时的细胞密度没有特别限制,并且可以考虑细胞类型适当地设定,但通常在1×10^4至1×10^7个细胞/mL的范围内。

[0331] 例如,将其中包封有上述核酸的本公开的脂质膜结构的悬浮液添加到由此制备的细胞中。悬浮液的添加量没有特别限制,并且可以考虑细胞的数目等适当地设定。接触细胞时脂质膜结构的浓度没有特别限制,只要可以实现靶核酸向细胞中的引入即可,但脂质浓度通常为1至100nmol/mL,并且可为0.1至10μg/mL。

[0332] 向细胞中添加上述悬浮液之后,培养细胞。考虑细胞类型适当地设定培养温度、湿度、CO_2浓度等。当细胞是哺乳动物细胞时,温度通常为约37℃,湿度为约95%,并且CO_2浓度为约5%。此外,培养时间可以考虑诸如所用细胞的类型等条件适当地设定,但可在0.1至76小时的范围内,或在0.2至24小时的范围内,并且可为0.5-12小时。如果培养时间过短,核酸不能充分引入细胞中,并且如果培养时间过长,细胞可能变弱。

[0333] 通过上述培养将核酸引入细胞中。培养基可以用新鲜培养基替换,或者将新鲜培养基添加到该培养基中并继续培养。如果细胞是哺乳动物细胞,新鲜培养基可含有血清或营养因子。

[0334] 除本公开的可电离脂质之外,本公开的脂质膜结构还可含有其他组分。其他组分的示例包括脂质(磷脂(诸如磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱)、糖脂、肽脂质、胆固醇、除阳离子脂质之外的可电离脂质、PEG脂质等)、表面活性剂(例如3-[(3-胆酰胺丙基)二甲氨基]丙烷磺酸盐、胆酸钠盐、辛基糖苷、ND-葡萄糖-N-甲基烷酰胺)、聚乙二醇、蛋白质等。

[0335] 本公开的脂质膜结构通过将本公开的可电离脂质和其他组分(脂质等)分散在合

适的溶剂或分散介质(例如,水性溶剂或醇溶剂)中来制备,并且如果需要,组织可通过进行诱导结晶的操作来制备。

[0336] “诱导组织的操作”的示例包括使用微通道或涡流的乙醇稀释法、简单水合法、超声处理、加热、涡流、醚注射法、弗氏压碎器法和胆酸法。其示例包括但不限于本身已知的方法,诸如Ca 2+融合法、冻融法和反相蒸发法。

[0337] 可通过将核酸包封在含有本公开的可电离脂质的脂质膜结构中并使其与细胞接触而将核酸体内和/或体外引入细胞中。因此,本公开提供了包含本公开的可电离脂质或脂质膜结构的核酸引入剂。

[0338] 本公开的核酸引入剂可以将任何核酸引入细胞中。核酸的示例包括但不限于DNA、RNA、RNA嵌合核酸、DNA/RNA杂合体等。核酸可以是1至3条链中的任一条,但可以是单链或双链。核酸可以是其他类型的核苷酸,所述其他类型的核苷酸是嘌呤或嘧啶碱基的N-糖苷、或具有非核苷酸主链的其他寡聚物(例如,可商购获得的肽核酸(PNA)等)或具有特定键的其他寡聚物。寡聚物可含有具有允许存在于DNA或RNA中的碱基配对或碱基连接的构型的核苷酸。

[0339] 可用于本公开的RNA的类型没有特别限制,并且可根据使用目的适当地选择。例如,siRNA、miRNA、shRNA、反义RNA、信使RNA(mRNA)、单链RNA基因组、双链RNA基因组、RNA复制子、转移RNA、核糖体RNA等,或者siRNA、miRNA、shRNA、mRNA、反义RNA或RNA复制子。

[0340] 本公开中使用的核酸可通过本领域技术人员常用的方法来纯化。

[0341] 包封核酸的本公开的核酸引入剂可以体内施用以用于例如预防和/或治疗疾病的目的。因此,本公开中使用的核酸可以是对给定疾病具有预防和/或治疗活性的核酸(预防性/治疗性核酸)。此类核酸的示例包括用于所谓基因疗法的核酸。

[0342] IV.治疗方法

[0343] 如本文所述的治疗方法是指通过施用包含一种或多种TERT mRNA序列的组合物来治疗有需要的受试者的纤维化疾病和/或肺部疾病和/或肺纤维化。本公开的组合物和方法可用于治疗纤维化病症,包括纤维化。在一些实施方案中,旨在用于治疗纤维化病症(包括纤维化)的本公开的组合物和/或使用组合物的方法在肺细胞中诱导TERT表达或增加TERT活性。在一些实施方案中,旨在用于治疗纤维化病症(包括纤维化)的本公开的组合物和/或组合物的使用方法不诱导细胞、组织或全身毒性。组合物可以全身施用,例如静脉内施用。

[0344] 端粒酶逆转录酶(TERT)mRNA的剂量和时间

[0345] 在本文所述的组合物和方法中,在一些实施方案中,TERT mRNA以约0.001mg/kg受试者体重至约2.0mg/kg受试者体重的剂量施用于有需要的受试者。在一些实施方案中,TERT mRNA以约0.01mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.025mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.05mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.075mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.1mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.125mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.150mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.175mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.2mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.5mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约0.75mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约1.0mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约1.25mg/kg的剂量;在一些实施方案中以约1.5mg/kg的剂量;或在一些实施方案中以约2.0mg/kg的剂量施用于有需要的受试者。在一些实施方案中,TERT mRNA以0.1mg/kg的剂量施用于有需要的受

试者。在一些实施方案中,TERT mRNA以0.125mg/kg的剂量施用于有需要的受试者。

[0346] 在一些实施方案中,TERT mRNA以单剂量施用于有需要的受试者。在一些实施方案中,将TERT mRNA向有需要的受试者施用两次、三次、四次或五次或更多次。在一些实施方案中,TERT mRNA每周两次、每周一次、每两周一次、每四周一次、每六周一次、每十二周一次或每十五周一次施用。在一些实施方案中,TERT mRNA每月一次、每两个月一次、每三个月一次、每六个月一次、每年一次施用,持续进行或由其医师确定。

[0347] TERT mRNA共同疗法

[0348] 在一些实施方案中,TERT mRNA的共同施用可与用于治疗纤维化疾病和/或肺部疾病的其他抗纤维化药物组合。可使用的药物包括但不限于尼达尼布、吡非尼酮、泼尼松、硫唑嘌呤、环磷酰胺、麦考酚酸吗乙酯、潘瑞鲁单抗和N-乙酰半胱氨酸。

[0349] 施用途径

[0350] 在一些实施方案中,TERT mRNA可经口、皮下、静脉内、鼻内、皮内、透皮、腹膜内、肌内、肺内、阴道、直肠或眼内递送。在示例性实施方案中,TERT mRNA可以静脉内或通过吸入施用。

[0351] 受试者和治疗

[0352] 本文所述的治疗方法可用于治疗有需要的受试者的肺部疾病和/或肺纤维化。肺部疾病和肺纤维化疾病可包括但不限于肺纤维化、肺癌、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病(ILD)、肺炎、间质性肺炎、结核病、支气管炎、肺气肿、肺癌、慢性阻塞性肺病(COPD)、衰老相关纤维化、肺动脉高压、哮喘和囊性纤维化。

[0353] 在一些实施方案中,需要本文所述的组合治疗的受试者是患有端粒酶逆转录酶(TERT)的遗传病症或突变的受试者。在一些实施方案中,受试者没有纤维化症状。在其他实施方案中,受试者具有症状并且治疗完全地或部分地改善症状。在其他实施方案中,治疗减缓症状的进展。

[0354] 在一些实施方案中,需要本文所述治疗的受试者是患有端粒酶逆转录酶(TERT)的遗传病症或突变的受试者。在一些实施方案中,受试者没有肺部疾病和/或肺纤维化的症状。在其他实施方案中,受试者具有症状并且治疗完全地或部分地改善症状。在其他实施方案中,治疗减缓症状的进展。

[0355] 在一些实施方案中,受试者是人。

[0356] 在一些实施方案中,治疗功效可通过肺测量或者肺功能可通过包括但不限于以下的方法进行:呼吸量测定法、身体体积描记法、乙酰甲胆碱吸入激发、六分钟行走测试、呼出气一氧化氮测试、动脉血气测试、肺容量测试、肺扩散容量、心肺运动测试、步行血氧测定、呼吸肌强度测试、海拔模拟测试、运动挑战(使用呼吸量测定法前后)、分流研究(100%O_2)、用力呼气量(FEV1)、用力肺活量(FVC)和最大自主通气量(MVV)。

[0357] 在一些实施方案中,施用TERT mRNA在治疗期内和/或治疗期后使受试者的纤维化组织减少至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少99%或至少100%。

[0358] 在一些实施方案中,相对于未进行治疗的受试者,施用TERT mRNA停止或减缓纤维化组织随时间推移的增加。在一些实施方案中,TERT mRNA的施用在治疗期内和/或治疗期

后使受试者的纤维化组织的量的增加减缓至少5％、至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少99％或至少100％。

[0359] 在一些实施方案中,相对于未进行治疗的受试者,TERT mRNA的施用增强了肺功能。在一些实施方案中,TERT mRNA的施用在治疗期内和/或治疗期后使受试者的肺功能增强至少5％、至少10％、至少20％、至少30％、至少40％或至少50％。

[0360] 在一些实施方案中,相对于未进行治疗的受试者,TERT mRNA的施用延长了存活期。在一些实施方案中,相对于未进行治疗的受试者,TERT mRNA的施用延长了无肺移植存活期。在一些实施方案中,TERT mRNA的施用在治疗期内和/或治疗期后使受试者的存活期延长至少5％、至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少99％、至少100％、至少200％、至少300％、至少400％、至少500％、至少1000％。在一些实施方案中,TERT mRNA的施用减少了治疗肺部疾病和/或肺纤维化的住院时间和/或住院就诊次数。在一些实施方案中,TERT mRNA的施用延迟了肺移植的时间。

[0361] V.药物组合

[0362] 在一些实施方案中,包含TERT mRNA的组合物包含赋形剂或载剂,例如水性载剂。可以使用各种水性载剂,例如缓冲盐水。组合物可含有药学上可接受的辅助物质,如接近生理条件所需的那些,诸如pH和缓冲剂、毒性对抗剂,例如乙酸钠、氯化钠、柠檬酸钠、氯化钾、氯化钙和乳酸钠。在一些实施方案中,药物组合物包含缓冲至pH 6.4的10mM柠檬酸钠。组合物可含有冷冻保护剂,例如甘油、乙二醇、蔗糖、丙二醇或二甲亚砜(DMSO)。活性剂在这些制剂中的浓度可以变化,并且根据所选择的特定施用模式和患者的需要基于流体体积、粘度和体重进行选择(例如,Remington's Pharmaceutical Science(第15版,1980)和Goodman&Gillman,The Pharmacological Basis of Therapeutics(Hardman等人编辑,1996))。

[0363] VI.延长端粒的方法

[0364] 在另一方面,本公开提供了延长端粒的方法,该方法包括向具有缩短的端粒的细胞施用任何上述化合物或组合物的步骤,其中端粒在细胞内延长。本公开还提供了治疗方法,该方法包括向需要端粒延长或可受益于端粒延长的动物受试者施用任何上述化合物或组合物的步骤。

[0365] 在一些实施方案中,将化合物或组合物施用于细胞,其中细胞是分离的细胞或是细胞培养物、分离的组织培养物、分离的器官等的一部分(即,施用是体外的)。

[0366] 在其他实施方案中,在不从受试者分离一个或多个细胞、组织或器官的情况下施用化合物或组合物(即,施用是体内的)。在这些实施方案的一些中,将化合物或组合物递送到受试者体内的所有或几乎所有细胞。在一些实施方案中,将化合物或组合物递送到受试者体内的特定细胞、细胞类型、组织或器官。

[0367] 本公开的化合物或组合物的施用可导致细胞中端粒酶活性的瞬时表达。增加的活性可通过各种测定法测量,例如端粒酶重复扩增方案(TRAP)测定法。TRAP测定法的商业型式是可获得的,例如Trapeze®端粒酶检测试剂盒(Millipore),其提供端粒酶活性的灵敏检测和定量,但其他测量技术也是可能的。

[0368] 如先前所述,本发明技术的一个优点是端粒酶活性的表达在经处理的细胞中是瞬

时的。具体地,这种瞬时表达与先前的技术形成对比,在先前的技术中,端粒酶逆转录酶基因持续存在于游离DNA部分中,或插入到细胞的基因组序列中,或以其他方式永久地修饰靶细胞的遗传组成,并导致核酸序列的固有活性。

[0369] 图1图示说明了本文所公开的化合物、组合物和方法的一些优点。具体地,用这些化合物、组合物和方法使端粒延长的速度成为可能能够通过极不频繁地递送TERT mRNA来维持端粒。在周转之前,所表达的端粒酶活性在短时间内快速延长端粒,从而允许端粒缩短的保护性抗癌机制在大多数时间起作用。在治疗之间,存在正常的端粒酶活性和端粒缩短,因此端粒缩短以防止失控增殖的抗癌安全机制保持完整,而与短端粒相关的疾病的风险保持较低。相比之下,用于延长端粒的小分子治疗可能需要长期递送,因此存在长期癌症风险,治疗有益效果很小。

[0370] 在本发明方法的一些实施方案中,瞬时表达不依赖于细胞周期。

[0371] 如上所述,端粒酶逆转录酶的瞬时表达导致经处理的细胞中缩短的端粒延长。端粒长度可使用诸如末端限制性片段(TRF)长度分析、qPCR、MMqPCR、TeSLA、流式FISH和Q-FISH的技术来测量,如本领域普通技术人员将理解的那样。在一些实施方案中,本发明方法使经处理的细胞中的平均端粒长度增加至少0.1kb、至少0.2kb、至少0.3kb、至少0.4kb、至少0.5kb、至少1kb、至少2kb、至少3kb、至少4kb、至少5kb或甚至更多。在一些实施方案中,本发明的方法降低了长度低于一定长度(例如1kb、2kb、3kb、4kb、5kb或更大)的端粒的百分比。

[0372] 本发明化合物、组合物和方法的优点之一是通过这些技术实现的端粒延长的快速性。这些技术允许治疗是短暂的,因此治疗之间的间隔可以是长的,因此治疗可以是安全的,因为正常的保护性端粒缩短机制在大多数时间(即治疗之间)保持完整。

[0373] 端粒酶逆转录酶的瞬时表达也导致经处理的细胞中复制能力的增强。在接近复制性衰老的细胞中,通过测量此类细胞中额外的群体倍增,可以容易地监测复制能力的增强。衰老细胞不响应于导致正常细胞分裂的许多条件而分裂,例如在培养物中传代或用血清处理。衰老细胞的特征通常还在于pH依赖性β-半乳糖苷酶活性的表达、细胞周期抑制剂p53和p19的表达、以及基因表达的其他改变模式、以及扩大的细胞大小。本领域已知,在未用TERT mRNA处理的情况下,某些类型的细胞(例如,人肺成纤维细胞)通常在出生后衰老前翻倍50-60倍;然而,用TERT mRNA处理时,这些细胞实现额外的16-28次群体倍增。如果数周后再次处理,则再次赋予额外的增殖能力。这种周期性再延长端粒的间歇处理方法可以应用另外的次数,其中处理之间的间隔取决于诸如端粒缩短速率、细胞分裂速率和治疗提供的端粒延长量等因素。同样,在未用本发明组合物处理的情况下,来自年老个体的人微血管皮肤内皮细胞可以仅实现1-2次群体倍增,而经处理的细胞可以实现3次、4次或甚至更多次群体倍增。

[0374] 因此,在一些实施方案中,本发明的治疗方法增加了经处理的细胞的群体倍增数。

[0375] 本公开的组合物可以治疗由不直接参与端粒维持但导致端粒缩短的基因突变引起的遗传疾病。此类疾病包括例如先天性角化不良(DC)和肺纤维化、肺部疾病、骨髓衰竭和再生障碍性贫血的形式。

[0376] 此外,各种类型的癌症可通过用本公开的化合物治疗来预防或延迟,并且实际上由严重短端粒引起的染色体-染色体融合被认为是癌症的起因。

[0377] VII.治疗试剂盒

[0378] 本文还设想了包括TERT mRNA或其序列(包括互补序列)的药物组合物和使用说明书的治疗试剂盒。在一些实施方案中,该治疗试剂盒包括用于施用的装置,包括但不限于注射器、吸入器、喷雾器和小瓶或容器。

[0379] 在另一方面,本公开提供了用于延长哺乳动物细胞中的端粒的即用型试剂盒。该试剂盒包括任何上述化合物或组合物,以及它们的使用说明书。在一些实施方案中,试剂盒还包括包装材料。在一些实施方案中,包装材料是气密的。在这些实施方案中,包装材料可以任选地填充有惰性气体,诸如氮气、氩气等。在一些实施方案中,包装材料包括金属箔容器,例如密封的铝袋等。这种包装材料是本领域普通技术人员熟知的。试剂盒还可包括递送媒介物,诸如本文所述的脂质。在一些实施方案中,制剂的一种或多种组分被设置为与冷冻保护剂一起冷冻或被冻干。

[0380] 在一些实施方案中,试剂盒还可包括干燥剂、培养基、RNA酶抑制剂或其他此类组分。在一些实施方案中,试剂盒还可包括这些附加组分中多于一种的组合。在一些试剂盒实施方案中,试剂盒的组合物是无菌的。

[0381] 枚举的实施方案

[0382] 可通过参考以下枚举的例示性实施方案来限定本公开。

[0383] 实施方案I

[0384] 实施方案I-1.一种组合物,所述组合物包含(i)编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA),以及(ii)递送媒介物,其中(i)的所述RNA包含一个或多个经修饰的核苷酸,并且其中(ii)的所述递送媒介物可操作地连接到(i)的所述RNA。

[0385] 实施方案I-2.如实施方案I-1所述的组合物,其中所述递送媒介物包含纳米颗粒、脂质体、阳离子脂质、可电离脂质、外泌体、脂质纳米颗粒、天然脂蛋白颗粒和人工脂蛋白颗粒中的一种或多种。

[0386] 实施方案I-3.如实施方案I-1所述的组合物,其中所述递送媒介物包含脂质纳米颗粒。

[0387] 实施方案I-4.如实施方案I-1所述的组合物,其中所述递送媒介物包含可电离脂质纳米颗粒。

[0388] 实施方案I-5.如实施方案I-1至I-4中任一项所述的组合物,其中所述递送媒介物包含靶向脂质。

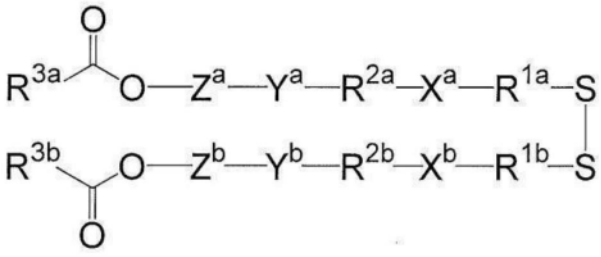
[0389] 实施方案I-6.如实施方案I-5所述的组合物,其中所述靶向脂质特异性地或选择性地与肝细胞相互作用。

[0390] 实施方案I-7.如实施方案I-6所述的组合物,其中所述靶向脂质包含胆固醇。

[0391] 实施方案I-8.如实施方案I-5所述的组合物,其中所述靶向脂质特异性地或选择性地与肺细胞相互作用。

[0392] 实施方案I-9.如实施方案I-8所述的组合物,其中所述靶向脂质包含1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DABB)或1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-乙基磷酸胆碱(EPC)。

[0393] 实施方案I-10.如实施方案I-1至I-9中任一项所述的组合物,其中所述递送媒介物包含式I的化合物:

[0394] 
(1)

[0395] 其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地表示具有1至6个碳原子的亚烷基基团,其中X^a和X^b各自独立地为具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团、或2至5个碳原子的无环烷基叔氨基基团,以及具有1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团,

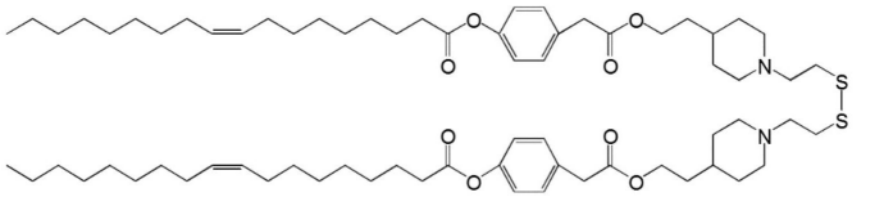
[0396] 其中R^{2a}和R^{2b}各自独立地表示具有8个或更少碳原子的亚烷基基团或氧基二亚烷基基团,

[0397] 其中Y^a和Y^b各自独立地表示酯键、酰胺键、氨基甲酸酯键、醚键或脲键;

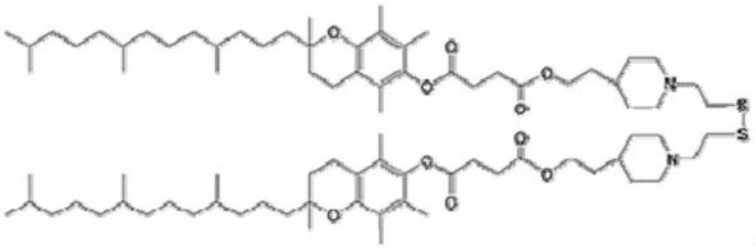
[0398] 其中Z^a和Z^b各自独立地为来源于具有3至16个碳原子、具有至少一个芳族环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团,并且

[0399] 其中R^{3a}和R^{3b}各自独立地表示来源于具有羟基基团的脂溶性维生素与琥珀酸酐或戊二酸酐或者具有羟基基团的甾醇衍生物与琥珀酸酐的反应产物的残基,或者来源于与戊二酸酐的反应产物的残基,或具有12至22个碳原子的脂族烃基。

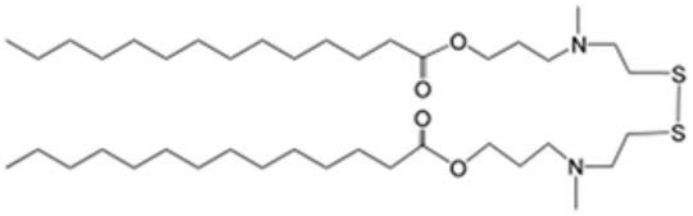
[0400] 实施方案I-11.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0401] 

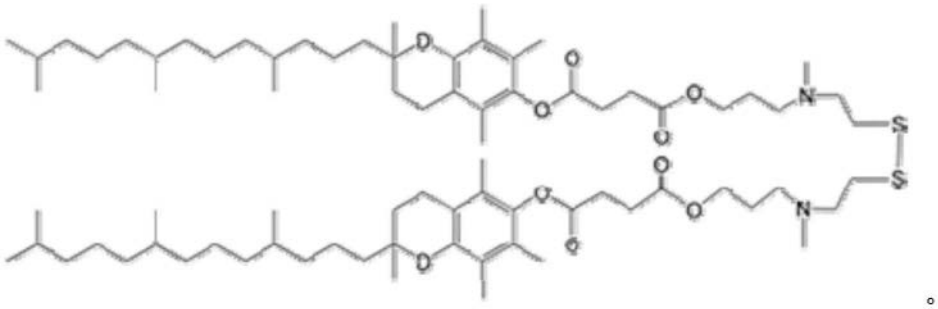
[0402] 实施方案I-12.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0403] 

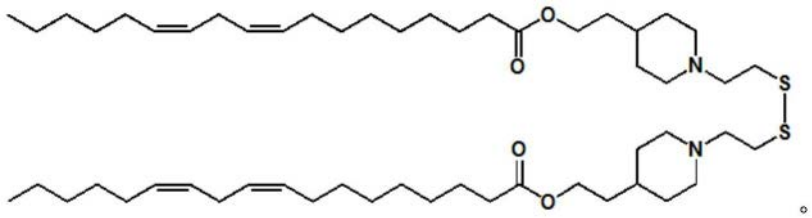
[0404] 实施方案I-13.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0405] 

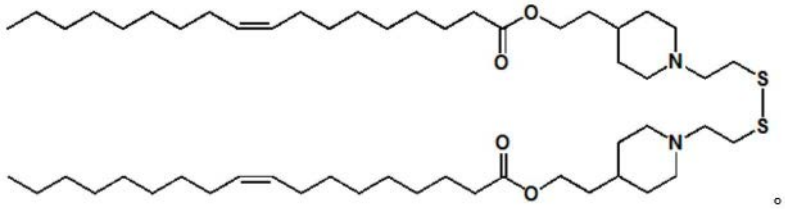
[0406] 实施方案I-14.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0407] 

[0408] 实施方案I-15.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0409] 

[0410] 实施方案I-16.如实施方案I-10所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0411] 

[0412] 实施方案I-17.如实施方案I-1至I-16中任一项所述的组合物,其中所述RNA包含SEQ ID NO:3或4的人序列或与SEQ ID NO:3或4的所述序列具有至少70%同一性的序列。

[0413] 实施方案I-18.如实施方案I-17所述的组合物,其中所述RNA包含5'帽。

[0414] 实施方案I-19.如实施方案I-18所述的组合物,其中所述5'帽包含抗反向帽类似物(ARCA)。

[0415] 实施方案I-20.如实施方案I-19所述的组合物,其中所述ARCA包含3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G结构。

[0416] 实施方案I-21.如实施方案I-18所述的组合物,其中所述5'帽包含m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG。

[0417] 实施方案I-22.如实施方案I-1至I-21中任一项所述的组合物,其中所述RNA还包含至少一个非翻译区(UTR)。

[0418] 实施方案I-23.如实施方案I-22所述的组合物,其中所述至少一个UTR位于(i)的所述RNA的5'。

[0419] 实施方案I-24.如实施方案I-22所述的组合物,其中所述至少一个UTR位于(i)的所述RNA的3'。

[0420] 实施方案I-25.如实施方案I-22至I-24中任一项所述的组合物,其中所述UTR包含人序列。

[0421] 实施方案I-26.如实施方案I-22至I-24中任一项所述的组合物,其中所述UTR包含非人序列。

[0422] 实施方案I-27.如实施方案I-22至I-26中任一项所述的组合物,其中所述UTR包含

嵌合序列。

[0423] 实施方案I-28.如实施方案I-27所述的组合物,其中所述嵌合序列增加稳定性,增加转录速率或减少(i)的所述RNA的转录起始前的时间。

[0424] 实施方案I-29.如实施方案I-22至I-28中任一项所述的组合物,其中所述UTR包含与分离自或来源于α-球蛋白、β-球蛋白、c-fos和烟草蚀纹病毒中的一种或多种的UTR序列具有至少70%同一性的序列。

[0425] 实施方案I-30.如实施方案I-1至I-29中任一项所述的组合物,其中(i)的所述RNA的所述一个或多个经修饰的核苷酸包括经修饰的腺嘌呤或其类似物、经修饰的胞苷或其类似物、经修饰的鸟苷或其类似物以及经修饰的尿苷或其类似物中的一种或多种。

[0426] 实施方案I-31.如实施方案I-1至I-30中任一项所述的组合物,其中(i)的所述RNA的所述一个或多个经修饰的核苷酸包括1-甲基假尿苷、假尿苷、2-硫代尿苷和5-甲基胞苷中的一种或多种。

[0427] 实施方案I-32.如实施方案I-1至I-31中任一项所述的组合物,其中(i)的所述RNA的所述一个或多个经修饰的核苷酸包括5-甲氧基尿苷(5-moU)。

[0428] 实施方案I-33.如实施方案I-1至I-32中任一项所述的组合物,其中(i)的所述RNA的所述一个或多个经修饰的核苷酸包括以下中的一种或多种:m1A 1-甲基腺苷、m6A N6-甲基腺苷、Am 2'-O-甲基腺苷、i6A N6-异戊烯基腺苷、io6A N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、ms2io6A 2-甲硫基-N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、g6A N6-甘氨酸氨基甲酰基腺苷、t6A N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、ms2t6A 2-甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲酰基腺苷、Ar(p)2'-O-核糖基腺苷(磷酸酯)、m6 2A N6,N6-二甲基腺苷、m6Am N6,2'-O-二甲基腺苷、m6 2Am N6,N6,2'-O-三甲基腺苷、m1Am 1,2'-O-二甲基腺苷、m3C 3-甲基胞苷、m5C 5-甲基胞苷、Cm 2'-O-甲基胞苷、ac4C N4-乙酰基胞苷、f5C 5-甲酰基胞苷、m4C N4-甲基胞苷、hm5C 5-羟甲基胞苷、f5Cm 5-甲酰基-2'-O-甲基胞苷、m1G 1-甲基鸟苷、m2G N2-甲基鸟苷、m7G 7-甲基鸟苷、Gm 2'-O-甲基鸟苷、m2 2G N2,N2-二甲基鸟苷、Gr(p)2'-O-核糖基鸟苷(磷酸酯)、yW怀丁苷、o2yW过氧怀丁苷、OHyW羟基怀丁苷、OHyW*修饰不足的羟基怀丁苷、imG怀俄苷、m2,7G N2,7-二甲基鸟苷、m2,2,7G N2,N2,7-三甲基鸟苷I肌苷、m1I 1-甲基肌苷、Im 2'-O-甲基肌苷、Q辫苷、galQ半乳糖基-辫苷、manQ甘露糖基-辫苷、Ψ假尿苷、D二氢尿苷、m5U 5-甲基尿苷、Um 2'-O-甲基尿苷、m5Um5,2'-O-二甲基尿苷、m1Ψ1-甲基假尿苷、Ψm 2'-O-甲基假尿苷、s2U 2-硫代尿苷、ho5U 5-羟基尿苷、chm5U 5-(羧基羟甲基)尿苷、mchm5U5-(羧基羟甲基)尿苷、甲酯mcm5U 5-甲氧基羰基甲基尿苷、mcm5Um5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基尿苷、mcm5s2U 5-甲氧基羰基甲基-2-硫代尿苷、ncm5U 5-氨基甲酰基甲基尿苷、ncm5Um 5-氨基甲酰基甲基-2'-O-甲基尿苷、cmnm5U 5-羧甲基氨基甲基尿苷、m3U 3-甲基尿苷、m1acp3Ψ1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷、cm5U 5-羧甲基尿苷、m3Um 3,2'-O-二甲基尿苷、m5D 5-甲基二氢尿苷、τm5U 5-牛磺酸甲基尿苷、τm5s2U 5-牛磺酸甲基-2-硫代尿苷、2-氨基腺苷、2-氨基-6-氯嘌呤核苷、8-氮杂腺苷、6-氯嘌呤核苷、5-碘胞苷、5-碘尿苷、肌苷、2'-O-甲基肌苷、黄苷、4-硫代尿苷、O6-甲基鸟苷、5,6-二氢尿苷、2-硫代胞苷、6-氮杂胞苷、6-氮杂尿苷、2'-O-甲基-2-氨基腺苷、2'-O-甲基假尿苷、N1-甲基腺苷、2'-O-甲基-5-甲基尿苷、7-脱氮鸟苷、8-叠氮基腺苷、5-溴胞苷、5-溴尿苷、7-脱氮腺苷、5-氨基烯丙基尿苷、5-氨基烯丙基胞苷、8-氧代鸟苷、2-氨基嘌呤核苷、假异胞苷、N1-甲基假尿苷、5,6-二氢-5-甲基尿

苷、N6-甲基-2-氨基腺苷、5-羧基胞苷、5-羟甲基尿苷、噻吩并鸟苷、5-羟基胞苷、5-甲酰基尿苷、5-羧基尿苷、5-甲氧基尿苷、5-甲氧基胞苷、噻吩并尿苷、5-羧基甲酯尿苷、噻吩并胞苷、8-氧代腺苷、异鸟苷、N1-乙基假尿苷、N1-甲基-2'-O-甲基假尿苷、N1-甲氧基甲基假尿苷、N1-丙基假尿苷、2'-O-甲基-N6-甲基腺苷、2-氨基-6-Cl-嘌呤-2'-脱氧核苷、2-氨基-2'-脱氧腺苷、2-氨基嘌呤-2'-脱氧核苷、5-溴-2'-脱氧胞苷、5-溴-2'-脱氧尿苷、6-氯嘌呤-2'-脱氧核苷、7-脱氮-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-2'-脱氧鸟苷、2'-脱氧肌苷、5-丙炔基-2'-脱氧胞苷、5-丙炔基-2'-脱氧尿苷、5-氟-2'-脱氧尿苷、5-碘-2'-脱氧胞苷、5-碘-2'-脱氧尿苷、N6-甲基-2'-脱氧腺苷、5-甲基-2'-脱氧胞苷、O6-甲基-2'-脱氧鸟苷、N2-甲基-2'-脱氧鸟苷、8-氧代-2'-脱氧腺苷、8-氧代-2'-脱氧鸟苷、2-硫代胸苷、2'-脱氧-P-核苷、5-羟基-2'-脱氧胞苷、4-硫代胸苷、2-硫代-2'-脱氧胞苷、6-氮杂-2'-脱氧尿苷、6-硫代-2'-脱氧鸟苷、8-氯-2'-脱氧腺苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、5-氨基烯丙基-2'-脱氧尿苷、N4-甲基-2'-脱氧胞苷、2'-脱氧泽布拉林、5-羟甲基-2'-脱氧尿苷、5-羟甲基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、5-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧胞苷、5-甲酰基-2'-脱氧胞苷、5-[(3-吲哚基)丙酰胺-N-烯丙基]-2'-脱氧尿苷、5-羧基-2'-脱氧尿苷、5-甲酰基-2'-脱氧尿苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧腺苷、7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dUTP、生物素-16-氨基烯丙基-2'-dCTP、生物素-16-氨基烯丙基胞苷、N4-生物素-OBEA-2'-脱氧胞苷、生物素-16-氨基烯丙基尿苷、Dabcyl-5-3-氨基烯丙基-2'-dUTP、脱硫生物素-6-氨基烯丙基-2'-脱氧胞苷、脱硫生物素-16-氨基烯丙基-尿苷、生物素-16-7-脱氮-7-炔丙基氨基-2'-脱氧鸟苷、花青素3-5-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素3-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧胞苷、花青素5-6-炔丙基氨基-2'-脱氧尿苷、花青素3-氨基烯丙基胞苷、花青素3-氨基烯丙基尿苷、花青素5-氨基烯丙基胞苷、花青素5-氨基烯丙基尿苷、花青素7-氨基烯丙基尿苷、2'-氟-2'-脱氧腺苷、2'-氟-2'-脱氧胞苷、2'-氟-2'-脱氧鸟苷、2'-氟-2'-脱氧尿苷、2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基胞苷、2'-O-甲基鸟苷、2'-O-甲基尿苷、嘌呤霉素、2'-氨基-2'-脱氧胞苷、2'-氨基-2'-脱氧尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧胞苷、2'-叠氮基-2'-脱氧尿苷、阿糖胞苷、阿糖尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧腺苷、2'-氨基-2'-脱氧腺苷、阿糖腺苷、2'-氟-胸苷、3'-O-甲基腺苷、3'-O-甲基胞苷、3'-O-甲基鸟苷、3'-O-甲基尿苷、2'-叠氮基-2'-脱氧鸟苷、阿糖鸟苷、2'-脱氧尿苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧腺苷、3'-O-(2-硝基苄基)-2'-脱氧肌苷、3'-脱氧腺苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧-5-甲基尿苷、3'-脱氧尿苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胸苷、2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧腺苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧鸟苷、3'-氨基-2',3'-二脱氧胸苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胞苷、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧尿苷、5-溴-2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧肌苷、2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、尿苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2',3'-二脱氧腺苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2',3'-二脱氧胞苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2',3'-二脱氧鸟苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、3'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧胸苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2',

3'-二脱氧尿苷-5'-O-(1-硫代三磷酸酯)、2'-脱氧腺苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸酯)、2'-脱氧胞苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸酯)、2'-脱氧鸟苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸酯)和2'-脱氧胸苷-5'-O-(1-硼烷三磷酸酯)。

[0429] 实施方案I-34.如实施方案I-1至I-33中任一项所述的组合物,其中所述组合物还包含编码端粒酶RNA组分(TERC)的核糖核酸(RNA)。

[0430] 实施方案I-35.如实施方案I-1至I-34中任一项所述的组合物,其中所述递送媒介物包含编码TERT的所述RNA。

[0431] 实施方案I-36.如实施方案I-35所述的组合物,其中所述递送媒介物的表面、层或容积中的一者或多者包含编码TERT的所述RNA。

[0432] 实施方案I-37.如实施方案I-36所述的组合物,其中所述表面包括外表面或内表面。

[0433] 实施方案I-38.如实施方案I-36所述的组合物,其中所述层包括脂质单层或脂质双层。

[0434] 实施方案I-39.如实施方案I-36所述的组合物,其中所述容积包括内部容积。

[0435] 实施方案I-40.如实施方案I-1至I-39中任一项所述的组合物,其中所述递送媒介物可操作地连接到编码端粒酶RNA组分(TERC)的核糖核酸(RNA)。

[0436] 实施方案I-41.如实施方案I-40所述的组合物,其中所述递送媒介物包含编码TERC的所述RNA。

[0437] 实施方案I-42.如实施方案I-35所述的组合物,其中所述递送媒介物的表面、层或容积中的一者或多者包含编码TERC的所述RNA。

[0438] 实施方案I-43.如实施方案I-42所述的组合物,其中所述表面包括外表面或内表面。

[0439] 实施方案I-44.如实施方案I-42所述的组合物,其中所述层包括脂质单层或脂质双层。

[0440] 实施方案I-45.如实施方案I-42所述的组合物,其中所述容积包括内部容积。

[0441] 实施方案I-46.一种增加细胞中端粒酶活性的方法,所述方法包括使所述细胞与实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物接触。

[0442] 实施方案I-47.一种延长细胞中的端粒的方法,所述方法包括使所述细胞与实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物接触。

[0443] 实施方案I-48.如实施方案I-46或I-47所述的方法,其中所述细胞是体内的、离体的或体外的。

[0444] 实施方案I-49.一种细胞,所述细胞包含实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物。

[0445] 实施方案I-50.一种制剂,所述制剂包含实施方案I-49所述的细胞。

[0446] 实施方案I-51.如实施方案I-50所述的制剂,其中多个细胞包括如实施方案I-49所述的细胞。

[0447] 实施方案I-52.如实施方案I-51所述的制剂,其中所述多个中的每个细胞是根据实施方案I-49所述的细胞。

[0448] 实施方案I-53.一种治疗疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量

的根据实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物。

[0449] 实施方案I-54.一种治疗疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的根据实施方案I-49所述的细胞。

[0450] 实施方案I-55.一种治疗疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的根据实施方案I-50至I-52中任一项所述的制剂。

[0451] 实施方案I-56.一种延迟疾病发作的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的根据实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物。

[0452] 实施方案I-57.一种延迟疾病发作的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的根据实施方案I-49所述的细胞。

[0453] 实施方案I-58.一种延迟疾病发作的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的根据实施方案I-50至I-52中任一项所述的制剂。

[0454] 实施方案I-59.如实施方案I-1至I-45中任一项所述的组合物,其中所述组合物能够转染至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的肺细胞群体。

[0455] 实施方案I-60.一种组合物,所述组合物包含能够转染至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的肺细胞群体的脂质纳米颗粒(LNP)。

[0456] 实施方案I-61.如实施方案I-60所述的组合物,其包含多核苷酸。

[0457] 实施方案I-62.如实施方案I-61所述的组合物,其中所述多核苷酸是RNA。

[0458] 实施方案I-63.如实施方案I-62所述的组合物,其中所述RNA是mRNA。

[0459] 实施方案I-64.如实施方案I-60至I-63中任一项所述的组合物,其中所述LNP能够转染约50%-99%、约60%-99%、约70%-99%、约80%-99%或约90%-99%的所述肺细胞群体。

[0460] 实施方案I-65.如实施方案I-60至I-63中任一项所述的组合物,其中所述LNP能够转染50%-95%、约60%-95%、约70%-95%、约80%-95%或约90%-95%的所述肺细胞群体。

[0461] 实施方案I-66.如实施方案I-60至I-65中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺内皮细胞。

[0462] 实施方案I-67.如实施方案I-66所述的组合物,其中所述肺内皮细胞包括血管内皮细胞。

[0463] 实施方案I-68.如实施方案I-66所述的组合物,其中所述肺内皮细胞包括肺泡内皮细胞。

[0464] 实施方案I-69.如实施方案I-60至I-68中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺上皮细胞。

[0465] 实施方案I-70.如实施方案I-69所述的组合物,其中所述肺上皮细胞包括肺泡上皮细胞。

[0466] 实施方案I-71.如实施方案I-70所述的组合物,其中所述肺泡上皮细胞包括肺泡1型(AT1)细胞。

[0467] 实施方案I-72.如实施方案I-70所述的组合物,其中所述肺泡上皮细胞包括肺泡2型(AT2)细胞。

[0468] 实施方案I-73.如实施方案I-60至I-72中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞

包括巨噬细胞、肥大细胞、棒状细胞、刷细胞、神经上皮细胞和杯状细胞中的任一种或多种。

[0469] 实施方案I-74.如实施方案I-60至I-73中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞包括成纤维细胞、肌成纤维细胞、脂成纤维细胞和成纤维肌细胞中的一种或多种。

[0470] 实施方案I-75.如实施方案I-60至I-74中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括支气管细胞。

[0471] 实施方案I-76.如实施方案I-60至I-75中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括细支气管肺泡干细胞。

[0472] 实施方案I-77.如实施方案I-60至I-76中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺免疫细胞。

[0473] 实施方案I-78.如实施方案I-60至I-77中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺成纤维细胞。

[0474] 实施方案I-79.如实施方案I-60至I-78中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺癌前细胞和癌细胞中的一种或多种。

[0475] 实施方案I-80.如实施方案I-60至I-79中任一项所述的组合物,其中所述肺细胞群体包括肺泡内皮细胞和肺泡上皮细胞,并且至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的所述肺内皮细胞被转染,并且至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的所述肺上皮细胞被转染。

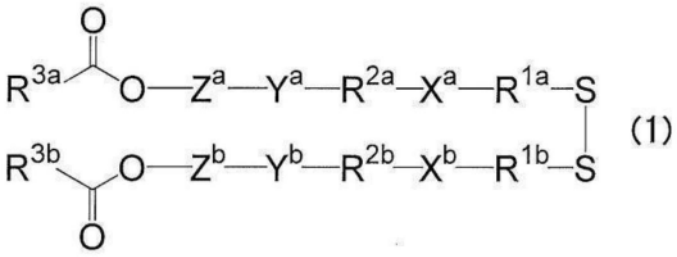
[0476] 实施方案I-81.如实施方案I-60至I-80中任一项所述的组合物,其中当通过静脉内注射向受试者施用时,所述肺细胞被转染。

[0477] 实施方案I-82.如实施方案I-60至I-80中任一项所述的组合物,当通过气溶胶注射、气溶胶化、吸入、雾化或滴注中的一种或多种向受试者施用时,所述肺细胞被转染。

[0478] 实施方案I-83.如实施方案I-60至I-82中任一项所述的组合物,其中所述组合物包含可电离脂质。

[0479] 实施方案I-84.如实施方案I-83所述的组合物,其中所述可电离脂质为所述LNP的摩尔百分比的约40%-60%。

[0480] 实施方案I-85.如实施方案I-60至I-84中任一项所述的组合物,其中所述组合物包含式I的化合物:

[0481]  (1),

[0482] 其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地表示具有1至6个碳原子的亚烷基基团,其中X^a和X^b各自独立地为具有1至6个碳原子和1个叔氨基基团、或2至5个碳原子的无环烷基叔氨基基团,以及具有1至2个叔氨基基团的环状亚烷基叔氨基基团,

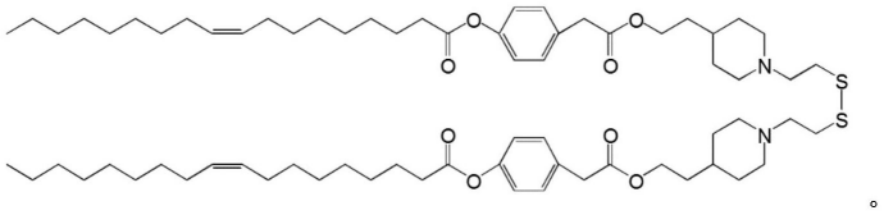
[0483] 其中R^{2a}和R^{2b}各自独立地表示具有8个或更少碳原子的亚烷基基团或氧基二亚烷基基团,

[0484] 其中Y^a和Y^b各自独立地表示酯键、酰胺键、氨基甲酸酯键、醚键或脲键;

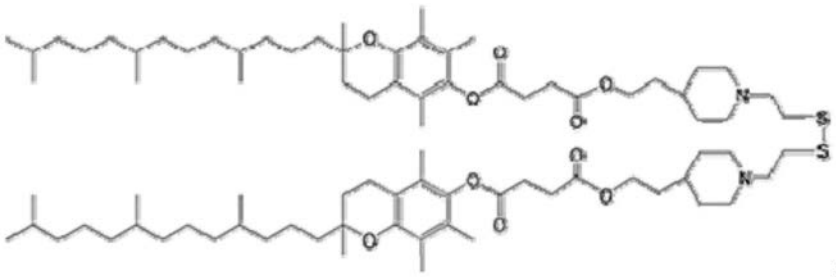
[0485] 其中Z^a和Z^b各自独立地为来源于具有3至16个碳原子、具有至少一个芳族环并且任选地具有杂原子的芳族化合物的二价基团,并且

[0486] 其中R^{3a}和R^{3b}各自独立地表示来源于具有羟基基团的脂溶性维生素与琥珀酸酐或戊二酸酐或者具有羟基基团的甾醇衍生物与琥珀酸酐的反应产物的残基,或者来源于与戊二酸酐的反应产物的残基,或具有12至22个碳原子的脂族烃基。

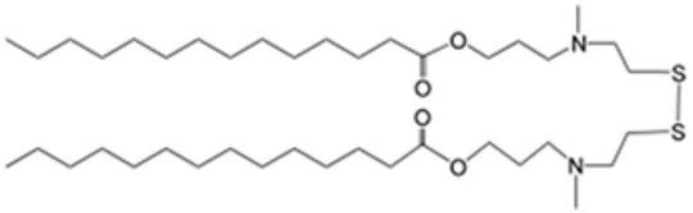
[0487] 实施方案I-86.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0488] 

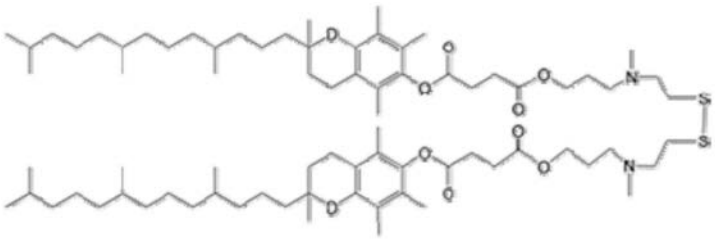
[0489] 实施方案I-87.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0490] 

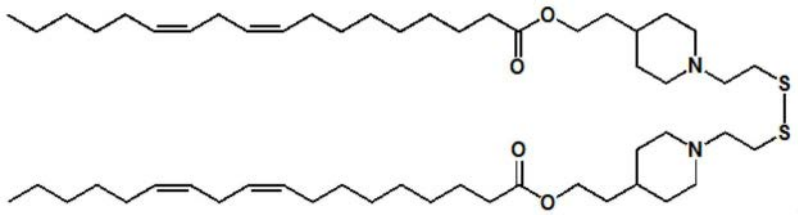
[0491] 实施方案I-88.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0492] 

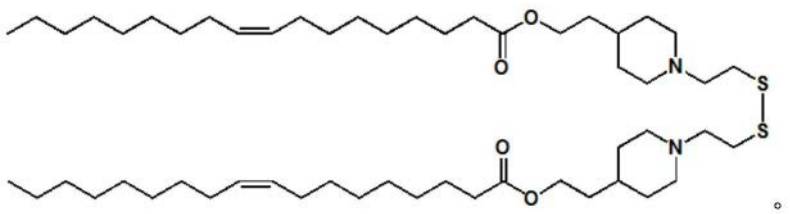
[0493] 实施方案I-89.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0494] 

[0495] 实施方案I-90.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0496] 

[0497] 实施方案I-91.如实施方案I-84所述的组合物,其中所述式I的化合物为:

[0498] 

[0499] 实施方案I-92.如实施方案I-60至I-91中任一项所述的组合物,其中所述式I的化合物包含具有8至24个碳原子的碳链。

[0500] 实施方案I-93.如实施方案I-60至I-92中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含两种或更多种可电离脂质的混合物。

[0501] 实施方案I-94.如实施方案I-82至I-92中任一项所述的组合物,其中所述阳离子脂质是可电离脂质和靶向脂质。

[0502] 实施方案I-95.如实施方案I-60至I-93中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含固醇。

[0503] 实施方案I-96.如实施方案I-94所述的组合物,其中所述固醇是胆固醇。

[0504] 实施方案I-97.如实施方案I-94至I-96中任一项所述的组合物,其中所述固醇为所述LNP的摩尔百分比的约10%-30%。

[0505] 实施方案I-98.如实施方案I-1至I-97中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含隔离脂质。

[0506] 实施方案I-99.如实施方案I-98所述的组合物,其中所述隔离脂质是聚乙二醇化脂质。

[0507] 实施方案I-100.如实施方案I-98至I-99中任一项所述的组合物,其中所述聚乙二醇化脂质是直链的。

[0508] 实施方案I-101.如实施方案I-98至I-99中任一项所述的组合物,其中所述聚乙二醇化脂质是支链的。

[0509] 实施方案I-102.如实施方案I-98至I-101中任一项所述的组合物,其中所述聚乙二醇化脂质包含具有8至24个碳原子的碳链。

[0510] 实施方案I-103.如实施方案I-98至I-102中任一项所述的组合物,其中所述隔离脂质缀合至血液蛋白或血液蛋白的肽序列,其中所述血液蛋白是白蛋白或球蛋白。

[0511] 实施方案I-104.如实施方案I-98至I-101中任一项所述的组合物,其中所述隔离脂质为所述LNP的摩尔百分比的至少0.25%-5%。

[0512] 实施方案I-105.如实施方案I-1至I-104中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含阳离子脂质。

[0513] 实施方案I-106.如实施方案I-105所述的组合物,其中所述阳离子脂质是1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)和DOTAP类似物中的任一种或多种。

[0514] 实施方案I-107.如实施方案I-105所述的组合物,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、1,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-

N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

[0515] 实施方案I-108.如实施方案I-1至I-107中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含结构脂质。

[0516] 实施方案I-109.如实施方案I-108所述的组合物,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

[0517] 实施方案I-110.如实施方案I-1至I-109中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含至少第一组分、第二组分和第三组分,其中:

[0518] 所述第一组分是可电离脂质;

[0519] 所述第二组分是阳离子脂质;并且

[0520] 所述第三组分是结构脂质。

[0521] 实施方案I-111.如实施方案I-110所述的组合物,所述组合物还包含固醇。

[0522] 实施方案I-112.如实施方案I-110至I-111中任一项所述的组合物,所述组合物包含选自以下的隔离脂质:14:0PEG2000 PE和DMG-PEG化脂质,以及缀合至血液蛋白或血液蛋白的肽序列的脂质,其中所述血液蛋白是白蛋白或球蛋白。

[0523] 实施方案I-113.如实施方案I-1至I-112中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含SS-OP或SS-OP类似物、DOPC、胆固醇、DMG-PEG2000和DOTAP。

[0524] 实施方案I-114.如实施方案I-113所述的组合物,其中所述LNP包含45%-55%阳离子脂质和20%-40%的SS-OP或其类似物。

[0525] 实施方案I-115.如实施方案I-114所述的组合物,其中所述LNP包含45%-55%DOTAP。

[0526] 实施方案I-116.如实施方案I-113所述的LNP,其中所述LNP包含SS-OP、DOPC、胆固

醇、DMG-PEG2000和DOTAP。

[0527] 实施方案I-117.如实施方案I-114所述的组合物,其中所述LNP包含25％-29％的SS-OP;1％-3％ DOPC;15％-35％胆固醇;0.8％-1.6％DMG-PEG2000;以及45％-55％DOTAP。

[0528] 实施方案I-118.如实施方案I-114所述的组合物,其中所述LNP包含27％的SS-OP;2.5％ DOPC;20％胆固醇;1.2％ DMG-PEG2000;以及50％ DOTAP。

[0529] 实施方案I-119.如实施方案I-60至I-118中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含cKK-E12或cKK-E12类似物、DOPE、胆固醇、PEG2000 PE和DOTAP。

[0530] 实施方案I-120.一种在有需要的受试者中将货物递送到受试者的肺细胞群体的方法,所述方法包括将实施方案I-1至I-45或实施方案I-1至I-119中任一项所述的组合物施用于所述受试者。

[0531] 实施方案I-121.一种治疗有需要的受试者的肺部疾病或病症的方法,所述方法包括将实施方案I-1至I-45或实施方案I-60至I-119中任一项所述的组合物施用于所述受试者。

[0532] 实施方案I-122.如实施方案I-120至I-121中任一项所述的方法,所述方法包括通过静脉内注射施用所述组合物。

[0533] 实施方案I-123.如实施方案I-120至I-121中任一项所述的方法,所述方法包括通过气溶胶注射、气溶胶化、吸入、雾化或滴注中的一种或多种施用所述LNP。

[0534] 实施方案I-124.如实施方案I-120至I-123中任一项所述的方法,其中所述货物包含多核苷酸。

[0535] 实施方案I-125.如实施方案I-124所述的方法,其中所述多核苷酸是RNA。

[0536] 实施方案I-126.如实施方案I-125所述的方法,其中所述RNA是mRNA。

[0537] 实施方案I-127.如实施方案I-126所述的方法,其中所述mRNA编码TERT、囊性纤维化跨膜传导调节(CFTR)蛋白、生长因子、转录因子和基因编辑蛋白中的一种或多种。

[0538] 实施方案I-128.如实施方案I-120至I-127中任一项所述的方法,其中所述受试者的至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％的肺细胞群体被转染。

[0539] 实施方案I-129.如实施方案I-120至I-128中任一项所述的方法,其中所述受试者的约50％-99％、约60％-99％、约70％-99％、约80％-99％或约90％-99％的肺细胞群体被转染。

[0540] 实施方案I-130.如实施方案I-120至I-129中任一项所述的方法,其中所述受试者的约50％-95％、约60％-95％、约70％-95％、约80％-95％或约90％-95％的肺细胞群体被转染。

[0541] 实施方案I-131.如实施方案I-120至I-130中任一项所述的方法,其中所述肺部疾病或病症选自:肺纤维化、特发性肺纤维化、肺气肿、间质性肺病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺部感染、肺炎、结核病、胃反流、肺癌、囊性纤维化、先天性角化不良、α-1抗胰蛋白酶缺乏症以及肺部的其他遗传性疾病。

[0542] 实施方案I-132.如实施方案I-120至I-131中任一项所述的方法,其中所述LNP以单剂量施用于所述受试者。

[0543] 实施方案I-133.如实施方案I-120至I-131中任一项所述的方法,其中所述LNP以

多个剂量施用于所述受试者,其中所述多个剂量包括至少两个剂量。

[0544] 实施方案I-134.如实施方案I-120至I-133中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述LNP的剂量为按所述受试者的重量计至少0.01、0.1、1、2、5、10、20、30、40、50、60、70或80mg/kg。

[0545] 实施方案I-135.如实施方案I-120至I-134中任一项所述的方法,其中所述货物是mRNA,并且所述mRNA以按所述受试者的重量计约0.1、约0.2、约0.3、约0.4、约0.5、约0.6、约0.7、约0.8、约0.9、约1、约1.5、约2或约2.5mg/kg的剂量施用于所述受试者。

[0546] 实施方案I-136.如实施方案I-120至I-135中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[0547] 实施方案II

[0548] 实施方案II-1.一种将多核苷酸递送到受试者的肺的方法,所述方法包括通过静脉内注射施用包封在脂质纳米颗粒(LNP)中的多核苷酸,所述LNP包含:

[0549] (i)摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质,

[0550] (ii)摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP或SS-OP类似物。

[0551] 实施方案II-2.如实施方案II-1所述的方法,其中所述SS-OP类似物是SS-M、SS-E、SS-EC、SS-LC和SS-OC中的任一种或多种。

[0552] 实施方案II-3.如实施方案II-1或II-2所述的方法,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20αChol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

[0553] 实施方案II-4.如实施方案II-4所述的方法,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

[0554] 实施方案II-5.如实施方案II-1至II-4中任一项所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

[0555] 实施方案II-6.如实施方案II-1至II-4中任一项所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

[0556] 实施方案II-7.如实施方案II-1至II-6中任一项所述的方法,其中所述LNP包含结构脂质。

[0557] 实施方案II-8.如实施方案II-7所述的方法,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

[0558] 实施方案II-9.如实施方案II-7所述的方法,其中所述结构脂质是DOPC。

[0559] 实施方案II-10.如实施方案II-9所述的方法,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

[0560] 实施方案II-11.如实施方案II-1至II-6中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

[0561] 实施方案II-12.如实施方案II-1至II-11中任一项所述的方法,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

[0562] 实施方案II-13.如实施方案II-1至II-11中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

[0563] 实施方案II-14.如实施方案II-1至II-13中任一项所述的方法,其中所述LNP包含隔离脂质。

[0564] 实施方案II-15.如实施方案II-1至II-13中任一项所述的方法,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

[0565] 实施方案II-16.如实施方案II-1至II-15中任一项所述的方法,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

[0566] 实施方案II-17.如实施方案II-1至II-16中任一项所述的方法,其中所述多核苷酸是合成核糖核酸(RNA)。

[0567] 实施方案II-18.如实施方案II-17所述的方法,其中所述合成核糖核酸(RNA)编码端粒酶逆转录酶(TERT)。

[0568] 实施方案II-19.一种治疗有需要的受试者的肺纤维化的方法,所述方法包括施用有效量的包含递送媒介物的组合物,所述递送媒介物包含编码端粒酶逆转录酶(TERT)的合成核糖核酸(RNA)。

[0569] 实施方案II-20.如实施方案II-19所述的方法,其中所述递送媒介物是脂质纳米颗粒(LNP)。

[0570] 实施方案II-21.如实施方案II-20所述的方法,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质、摩尔百分比介于约20%和60%之间的SS-OP或SS-OP类似物、以及任选地结构脂质、隔离脂质和胆固醇中的一种或多种。

[0571] 实施方案II-22.如实施方案II-19至II-21中任一项所述的方法,其中所述TERT合

成mRNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

[0572] 实施方案II-23.如实施方案II-22所述的方法,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

[0573] 实施方案II-24.如实施方案II-22所述的方法,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

[0574] 实施方案II-25.如实施方案II-19至II-24中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含非翻译区(UTR)。

[0575] 实施方案II-26.如实施方案II-19至II-25中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

[0576] 实施方案II-27.如实施方案II-19至II-26中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含位于编码区的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

[0577] 实施方案II-28.如实施方案II-19至II-27中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

[0578] 实施方案II-29.如实施方案II-19至II-28中任一项所述的方法,其中所述TERT合成mRNA是经密码子优化的。

[0579] 实施方案II-30.如实施方案II-19至II-28中任一项所述的方法,其中所述肺纤维化与肺部疾病相关。

[0580] 实施方案II-31.如实施方案II-30所述的方法,其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿或肺癌。

[0581] 实施方案II-32.如实施方案II-19至II-31中任一项所述的方法,其中所述肺纤维化与TERT突变相关。

[0582] 实施方案II-33.如实施方案II-19至II-32中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[0583] 实施方案II-34.如实施方案II-19至II-33中任一项所述的方法,其中所述组合物经由静脉内注射施用于所述受试者。

[0584] 实施方案II-35.如实施方案II-19至II-33中任一项所述的方法,其中所述组合物经由吸入施用于所述受试者。

[0585] 实施方案II-36.一种组合物,所述组合物包含包封在脂质纳米颗粒(LNP)中的多核苷酸,所述LNP包含:

[0586] (i)摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质,

[0587] (ii)摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP或SS-OP类似物。

[0588] 实施方案II-37.如实施方案II-36所述的组合物,其中所述SS-OP类似物是SS-M、SS-E、SS-EC、SS-LC和SS-OC中的任一种或多种。

[0589] 实施方案II-38.如实施方案II-36所述的组合物,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20αChol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

[0590] 实施方案II-39.如实施方案II-38所述的组合物,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

[0591] 实施方案II-40.如实施方案II-36至II-39中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

[0592] 实施方案II-41.如实施方案II-36至II-39中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

[0593] 实施方案II-42.如实施方案II-36至II-41中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含结构脂质。

[0594] 实施方案II-43.如实施方案II-42所述的组合物,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环已烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

[0595] 实施方案II-44.如实施方案II-43所述的组合物,其中所述结构脂质是DOPC。

[0596] 实施方案II-45.如实施方案II-44所述的组合物,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

[0597] 实施方案II-46.如实施方案II-36至II-45中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

[0598] 实施方案II-47.如实施方案II-36至II-46中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

[0599] 实施方案II-48.如实施方案II-36至II-46中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

[0600] 实施方案II-49.如实施方案II-36至II-48中任一项所述的组合物,其中所述LNP包含隔离脂质。

[0601] 实施方案II-50.如实施方案II-36至II-48中任一项所述的组合物,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

[0602] 实施方案II-51.如实施方案II-36至II-50中任一项所述的组合物,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

[0603] 实施方案II-52.如实施方案II-36至II-51中任一项所述的组合物,其中所述多核苷酸是合成核糖核酸(RNA)。

[0604] 实施方案II-53.如实施方案II-52所述的组合物,其中所述合成核糖核酸(RNA)编码端粒酶逆转录酶(TERT)。

[0605] 实施方案II-54.如实施方案II-53所述的组合物,其中所述TERT合成RNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

[0606] 实施方案II-55.如实施方案II-54所述的组合物,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

[0607] 实施方案II-56.如实施方案II-54所述的组合物,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

[0608] 实施方案II-57.如实施方案II-53至II-56所述的组合物,其中所述TERT合成RNA包含非翻译区(UTR)。

[0609] 实施方案II-58.如实施方案II-53至II-57中任一项所述的组合物,其中所述TERT合成RNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

[0610] 实施方案II-59.如实施方案II-53至II-58中任一项所述的组合物,其中所述TERT合成RNA包含位于编码区的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

[0611] 实施方案II-60.如实施方案II-53至II-59中任一项所述的组合物,其中所述TERT合成RNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

[0612] 实施方案II-61.如实施方案II-53至II-60中任一项所述的组合物,其中所述TERT合成RNA是经密码子优化的。

[0613] 实施方案II-62.实施方案II-36至II-61中任一项所述的组合物用于治疗有需要的受试者的肺纤维化的用途。

[0614] 实施方案II-63.根据实施方案II-62所述的组合物的用途,其中所述肺纤维化与肺部疾病相关,并且其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与

先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿或肺癌。

[0615] 实施方案II-64.根据实施方案II-62或II-63所述的组合物的用途,其中所述肺纤维化与所述受试者的TERT突变相关。

[0616] 实施方案II-65.根据实施方案II-62至II-64中任一项所述的组合物的用途,其中所述组合物经由静脉内注射施用于所述受试者。

[0617] 实施方案II-66.一种药物组合物,所述药物组合物包含:

[0618] (i)递送媒介物,所述递送媒介物包含编码端粒酶逆转录酶(TERT)的核糖核酸(RNA);以及

[0619] (ii)以及药学上可接受的溶剂或赋形剂;

[0620] 其中所述递送媒介物能够优先递送到肺细胞和/或转染肺细胞。

[0621] 实施方案II-67.如实施方案II-66所述的药物组合物,其中所述递送媒介物是LNP。

[0622] 实施方案II-68.如实施方案II-67所述的药物组合物,其中所述LNP包含:

[0623] (i)摩尔百分比介于约20%和约50%之间的阳离子脂质;以及

[0624] (ii)摩尔百分比介于约20%和约60%之间的SS-OP或SS-OP类似物。

[0625] 实施方案II-69.如实施方案II-68所述的药物组合物,其中所述SS-OP类似物是SS-M、SS-E、SS-EC、SS-LC和SS-OC中的任一种或多种。

[0626] 实施方案II-70.如实施方案II-68或II-69所述的药物组合物,其中所述阳离子脂质是以下中的任一种或多种:2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(DOTAP)、二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB)、咪唑胆固醇酯(ICE)、25-羟基胆固醇(25OH Chol)、20α-羟基胆固醇5-胆甾烯-3α,20α-二醇(20αChol)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、5-羧基精胺基甘氨酸双十八烷基酰胺(DOGS)、2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺-甲酰氨基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵(DOSPA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、11,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、1,2-二油酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DODMA)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLinDMA)、二甲基双十八烷基铵(DDA)、1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DLenDMA)、N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羟乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁烷-4-氧基)-1-(顺,顺-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基1-1-(顺,顺-9′,1-2′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油烯基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰基氨基甲酰基-3-二甲基氨基丙烷或(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)以及它们的混合物。

[0627] 实施方案II-71.如实施方案II-70所述的药物组合物,其中所述阳离子脂质是DOTAP。

[0628] 实施方案II-72.如实施方案II-68至II-71中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比介于约25%和约35%之间的所述阳离子脂质。

[0629] 实施方案II-73.如实施方案II-68至II-71中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含摩尔百分比为约30%的所述阳离子脂质。

[0630] 实施方案II-74.如实施方案II-68至II-73中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含结构脂质。

[0631] 实施方案II-75.如实施方案II-74所述的药物组合物,其中所述结构脂质是以下中的任一种或多种:1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、甘油-单油酸酯(GMO)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰-磷脂酰乙醇胺(POPE)、二油酰-磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、16-O-单甲基PE、16-O-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、胆固醇或另一种固醇,以及它们的混合物。

[0632] 实施方案II-76.如实施方案II-75所述的药物组合物,其中所述结构脂质是DOPC。

[0633] 实施方案II-77.如实施方案II-76所述的药物组合物,其中所述LNP包含介于约1%和约5%之间的DOPC。

[0634] 实施方案II-78.如实施方案II-68至II-77中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含结构脂质并且/或者包含至多1%的结构脂质。

[0635] 实施方案II-79.如实施方案II-68至II-78中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含介于约20%和约40%之间的胆固醇。

[0636] 实施方案II-80.如实施方案II-68至II-78中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含胆固醇。

[0637] 实施方案II-81.如实施方案II-68至II-80中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP包含隔离脂质。

[0638] 实施方案II-82.如实施方案II-68至II-80中任一项所述的药物组合物,其中所述LNP基本上不含隔离脂质。

[0639] 实施方案II-83.如实施方案II-68至II-82中任一项所述的药物组合物,其中与肝相比,所述LNP优先递送到肺和/或转染肺。

[0640] 实施方案II-84.如实施方案II-66至II-83中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA包含至少一种来自表2的列表的经修饰的核苷。

[0641] 实施方案II-85.如实施方案II-84所述的药物组合物,其中所述经修饰的核苷是假尿苷或假尿苷类似物。

[0642] 实施方案II-86.如实施方案II-85所述的药物组合物,其中所述假尿苷类似物是N-1-甲基假尿苷。

[0643] 实施方案II-87.如实施方案II-66至II-86所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA包含非翻译区(UTR)。

[0644] 实施方案II-88.如实施方案II-66至II-87中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA包含5'帽结构,其中所述5'帽结构是m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG、IRES、Cap0、Cap1、ARCA、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、CleanCapTM、8-氧

代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷、2-叠氮基-鸟苷、Cap2、Cap4、CAP-003或CAP-225。

[0645] 实施方案II-89.如实施方案II-66至II-88中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA包含位于编码区的3'的聚腺苷(poly-A)核苷酸序列。

[0646] 实施方案II-90.如实施方案II-66至II-89中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA包含链终止核苷酸,其中所述核苷酸是3'-脱氧腺苷(虫草素)、3'-脱氧尿苷、3'-脱氧胞苷、3'-脱氧鸟苷、3'-脱氧胸苷、2',3'-二脱氧核苷、2',3'-二脱氧腺苷、2',3'-二脱氧尿苷、2',3'-二脱氧胞苷、2',3'-二脱氧鸟苷、2',3'-二脱氧胸苷、2'-脱氧核苷或-O-甲基核苷。

[0647] 实施方案II-91.如实施方案II-66至II-90中任一项所述的药物组合物,其中所述TERT合成RNA是经密码子优化的。

[0648] 实施方案II-92.实施方案II-66至II-91中任一项所述的药物组合物用于治疗有需要的受试者的肺纤维化的用途。

[0649] 实施方案II-93.根据实施方案II-92所述的药物组合物的用途,其中所述肺纤维化与肺部疾病相关,并且其中所述肺部疾病是肺纤维化、家族性肺纤维化、特发性肺纤维化、与先天性角化不良相关的肺纤维化、间质性肺病、肺炎、间质性肺炎、肺气肿或肺癌。

[0650] 实施方案II-94.根据实施方案II-92或II-93所述的药物组合物的用途,其中所述肺纤维化与所述受试者的TERT突变相关。

[0651] 实施方案II-95.根据实施方案II-92至II-94中任一项所述的药物组合物的用途,其中所述组合物经由静脉内注射施用于所述受试者。

[0652] 实施例

[0653] 以下实施例是为了说明的目的而包括在内,并非旨在限制本公开的范围。

[0654] 实施例1:脂质纳米颗粒制剂

[0655] 本公开的组合物和方法可用于通过递送媒介物将货物诸如多核苷酸递送到肺细胞。在一些实施方案中,递送媒介物是如本文所公开的脂质纳米颗粒(LNP)。在一些实施方案中,本文所公开的LNP用于将mRNA递送到肺细胞群体。

[0656] 下面的表6A至表6B示出了可用作递送媒介物的LNP的示例性制剂,并且下面的表6C示出了可用作递送媒介物的具有脂质类别的LNP的示例性摩尔百分比范围。

[0657] 图2示出了使用表6A中所示的示例性脂质组分制备的mRNA-L NP的代表性动态光散射(DLS)图。

[0658] 表6A

[0659]

化合物		pK	摩尔比	摩尔百分比
SS-OP	可电离脂质	约6.4	55	27.2%
DOPC			5	2.5%
胆固醇			40	19.8%
DMG-PEG2000			2.5	1.2%
DOTAP	阳离子脂质		100	49.4%

[0660] 表6B

[0661]

化合物	摩尔比	摩尔百分比
cKK-E12	35	17.5%

DOPE	16	8.0%
胆固醇	46.5	23.3%
14:0PEG2000PE	2.5	1.3%
DOTAP	100	50.0%

[0662] 表6C

[0663]

化合物	摩尔百分比
可电离脂质	10%-50%
结构脂质	0%-15%
胆固醇	0%-40%

[0664]

隔离脂质	0.2%-6%
阳离子脂质	20%-80%

[0665] 实施例2:在小鼠中静脉内注射mRNA-LNP

[0666] 图3示出了注射mRNA-LNP的小鼠的全部器官的生物发光成像。mRNA-LNP通过使用微流体混合配制来制备,并且接下来在注射之前通过浓缩和缓冲液更换来处理。在对小鼠静脉内给药0.6mg/kg总mRNA/体重的荧光素酶mRNA-LNP后26小时,收获器官并成像。生物发光成像证明LNP递送媒介物能够将mRNA货物递送到肺。

[0667] 实施例3:在小鼠中静脉内注射后的mRNA翻译

[0668] 图4A至图4B分别示出了用mRNA报告子处理的小鼠和未处理的对照小鼠的肺细胞中tdTomato的免疫组织化学染色。向tdTomato fl/fl小鼠静脉内给予0.6mg/kg的Cre mRNA LNP或盐水。4天后收获肺。这些图证明在Cre mRNA-LNP成功靶向的细胞中,Cre mRNA被翻译并且Cre重组酶切除STOP密码子,允许在Rosa26基因座中在CAG启动子下的tdTomato表达。在图4A至图4B中,比例尺为50μM。

[0669] 实施例4:TERT mRNA-LNA递送后小鼠肺中的端粒酶活性测量

[0670] 图5A至图5B分别示出了递送TERT mRNA-LNP后小鼠肺中和未处理对照的小鼠肺中的端粒酶活性的测量结果。为TERT敲除(KO)小鼠静脉内施用2.0mg/kg的TERT mRNA LNP,19小时后收获肺。作为对照,还从未处理的TERT KO小鼠收获肺。在肺裂解物上运行端粒重复扩增方案(TRAP)。在经TERT mRNA LNP处理的小鼠的肺裂解物中观察到的带型表明存在端粒酶活性。

[0671] TRAP测定法如下进行。将来自细胞或组织的蛋白质裂解物与人工端粒(DNA寡核苷酸)一起温育。如果存在活性端粒酶,其一次延长人工端粒6bp,产生梯状图案。然后通过PCR扩增该延长反应并在凝胶(Agilent生物分析仪,使用微流体琼脂糖凝胶)上运行。以6bp增量存在的梯状表示端粒酶活性。

[0672] 实施例5:肺递送媒介物制剂的转染效率

[0673] 图6A是示出随小鼠中Cre剂量、剂量数和基因型变化的示例性肺递送媒介物制剂的转染效率的柱状图。与表6A的LNP肺媒介物复合的Cre mRNA以所示剂量经由尾静脉注射递送到携带需要Cre开启的tdTomato报告基因的小鼠。收获肺,以通过报告基因的免疫染色进行组织学分析。图6A证明Cre mRNA LNP制剂转染肺细胞并以剂量依赖性方式开启报告基因。

[0674] 图6B至图6F示出了如上所述从小鼠收获的肺切片的代表性图像,其中报告蛋白显示为深色染色。在用盐水对照(图6B)、0.1mg/kg(图6C)、0.3mg/kg(图6D)、0.6mg/kg(图6E)或2.0mg/kg(图6F)按体重剂量的mRNA处理后收获肺细胞。

[0675] 实施例6:用TERT mRNA LNP治疗小鼠的肺纤维化

[0676] 图7A至图7C示出了测试肺纤维化的小鼠肺的计算机断层摄影(CT)X射线扫描。在第0天为小鼠气管内滴注1U/kg博来霉素,并在第4、7和11天静脉内注射0.6mg/kg TERT mRNA LNP或盐水。两周后采集CT图像。图7A示出了未进行博来霉素处理的对照,并且图7B至图7C示出了使用1U/kg博来霉素诱导肺纤维化。图7B至图7C分别用盐水和TERT mRNA LNP处理。健康的肺组织显得较暗,而纤维化的肺组织显得较亮。在经TERT mRNA LNP处理的小鼠中显示出比经盐水处理的对照更少的纤维化。这些图证明在肺纤维化的博来霉素小鼠模型中用TERT mRNA LNP处理对纤维化减少的影响。

[0677] 实施例7:在小鼠中使用SS-OP DOTAP降低毒性

[0678] 图8示出了显示给予各种肺靶向LNP制剂的小鼠的死亡率的图。向C57Bl/6小鼠给予根据表6A的示例性制剂的含有SS-OP和DOTAP的肺靶向LNP制剂(每个时间点N=2-12),或根据表6B的示例性制剂的含有cKK DOTAP的肺靶向LNP制剂(每个时间点N=2-4)。死亡率显示为短期治疗后存活的小鼠的百分比。基于mg/kg总报告mRNA为小鼠给药。这些结果证明使用SS-OP和DOTAP的表6A的示例性制剂的改善的耐受性和降低的毒性率。

[0679] 实施例8:在小鼠纤维化模型中向肺泡细胞递送mRNA

[0680] 图9A至图9D示出了来自用博来霉素处理以诱导肺纤维化并用CRE mRNA或盐水处理以显示将mRNA递送到肺泡细胞的小鼠的各种肺样本。简言之,经由口服吸入(OA)给予Ai14(ROSA26Lox-stop-lox tdTomato)小鼠1U/kg博来霉素以诱导纤维化。在博来霉素后第21天,给予小鼠盐水或2mg/kg Cre mRNA,其翻译允许tdTomato表达。在给药后3天(第24天),处死小鼠并通过用PFA充气来固定肺。用抗tdTomato抗体和三色染色法对肺切片染色。这些结果表明,即使在患有肺纤维化的小鼠中,Cre mRNA也可以成功地递送到肺泡细胞,这可以解决疾病背景中LNP的分流是否影响mRNA递送的问题。

[0681] 实施例9:通过SS-OP DOTAP IV和OA途径进行mRNA的肺递送

[0682] 为了比较SS-OP DOTAP LNP制剂的静脉内和口服施用,根据表2A和表2B配制包封萤火虫荧光素酶(Luc)mRNA的脂质纳米颗粒(LNP)组合物。在这些实验中使用的脂质与mRNA的比率(wt/wt)为75:1和40:1。经由静脉内注射(IV)以0.5mg/kg或经由口咽吸入(OA)以0.2mg/kg给予C57Bl/6小鼠LNP-mRNA。24小时后对肺进行离体成像。图10示出了肺中荧光素酶的平均辐射率(光子/s/cm2/sr)。静脉内施用SS-OP DOTAP制剂比通过口服施用提供显著更高的肺转染(图10和图11)。此外,当静脉内给药时,脂质:RNA比率为75:1或40:1脂质:RNA的SS-OP DOTAP LNP表现出相似的转染效率。

[0683] 实施例10:带正电荷的脂质将mRNA靶向到肺

[0684] 为了将SS-OP LNP制剂与其他阳离子脂质进行比较,给予Tomato fl/fl小鼠0.1-0.5mg/kg范围内的静脉内递送的包封Cre mRNA的各种LNP制剂,如图12所示。SS-OP DOTAP制剂、SS-OP 20αChol制剂、SS-OP DDAB制剂和25OH Chol的脂质与mRNA比率为80μmol脂质:1mg mRNA。SS-OP ICE的脂质与mRNA比率为50:1。SS-OP DOTAP ICE制剂的脂质与mRNA比率为70:1。3天后收获肺,经由福尔马林固定和石蜡包埋进行处理。用抗-tdTomato抗体标记阳

性细胞。图12示出了肺实质中阳性Tomato细胞的百分比。

[0685] 转染的结果示于图12中。值得注意的是,在生理pH(7.4)下具有净正电荷的其他阳离子脂质可替代DOTAP,包括SS-OP LNP制剂中的带正电荷形式的胆固醇(ICE)。测试的LNP制剂示于下表7至表12中。

[0686] 表7:SS-OP DOTAP

[0687]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	27.2
DOPC	5	2.5
胆固醇	40	19.8
DMG-PEG2000	2.5	1.2
DOTAP	100	49.4

[0688] 表8:SS-OP ICE

[0689]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	54.2
DOPC	5	4.9
胆固醇	0	0

[0690]

ICE	40	39.4
DMG-PEG2000	1.5	1.5

[0691] 表9:SS-OP 20αChol

[0692]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	27.2
DOPC	5	2.5
20αChol	40	19.8
DMG-PEG2000	2.5	1.2
DOTAP	100	49.4

[0693] 表10:SS-OP DDAB

[0694]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	27.2
DOPC	5	2.5
胆固醇	40	19.8
DMG-PEG2000	2.5	1.2
DDAB	100	49.4

[0695] 表11:SS-OP 25 OH Chol

[0696]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	27.2
DOPC	5	2.5
25 OH Chol	40	19.8

DMG-PEG2000	2.5	1.2
DOTAP	100	49.4

[0697] 表12:SS-OP DOTAP ICE

[0698]

化合物	摩尔比	百分比
SS-OP	55	30.2
DOPC	5	2.7
ICE	40	22
胆固醇	20	11
DMG-PEG2000	2.2	1.2

[0699]

DOTAP	60	32.9

[0700] 实施例11:用于肺递送的mRNA LNP制剂的不同流速

[0701] 为了比较包封mRNA的SS-OP DOTAP LNP(表6A)制剂的流速,按照表6A中的比率配制包封荧光素酶mRNA的SS-OP DOTAP LNP。脂质:mRNA重量/重量比率为50:1。水(mRNA)与乙醇(脂质)的流量比为3:1。总流速如图13所示变化。经由静脉内注射以0.1mg/kg对C57Bl/6小鼠给药,并且20小时后对肺进行离体成像。所示为肺的平均辐射率(光子/s/cm2/sr)。据发现,对于LNP mRNA包封,SS OP DOTAP制剂的最高信号在8ml/分钟流速下(图13)。表13比较了表6A的SS OP DOTAP制剂的流速与粒度、ζ电位和包封效率。

[0702] 表13:流速对比粒度、ζ电位和包封效率

[0703]

流速	粒度(nm)	ζ电位(mV)	包封效率
1ml/min	69	41.8	95
4ml/min	73	30.8	96
8ml/min	52	17.3	95
12ml/min	54	-2.6	94

[0704] 实施例12:SS-OP DOTAP LNP mRNA递送不需要DOPC和胆固醇

[0705] 为了确定转染肺所必需的SS-OP DOTAP LNP的组分,根据下表14中所示的配方改变表6A的SS-OP DOTAP LNP制剂。经由静脉内注射给予C57Bl/6小鼠包含荧光素酶mRNA的表14的LNP制剂,并且16小时后对肺进行离体成像。图14示出了每种制剂的肺中荧光素酶活性的平均辐射率(光子/s/cm^2/sr)。值得注意的是,用SS-OP DOTAP LNP制剂进行肺转染既不需要中性脂质例如DOPC,也不需要胆固醇。表14示出了所测试的含和不含DOPC和/或胆固醇的SS-OP DOTAP制剂。

[0706] 表14:不含DOPC和/或胆固醇的SS-OP DOTAP制剂

[0707]

混合物编号	SS-OP	DOPC	胆固醇	DMG-PEG2000	DOTAP	名称	DOTAP%	PEG%
1	55	5	40	2.5	100	SSOP DOTAP	49.4%	1.2%
2	55	0	40	2.5	95	无 DOPC	49.4%	1.3%
3	55	0	20	2.5	75	无 DOPC，较少胆固醇	49.2%	1.6%
4	55	0	0	2.5	55	无 DOPC，无胆固醇	48.9%	2.2%
5	55	0	40	4	95	无 DOPC，2% PEG	49.0%	2.1%

[0708] 实施例13:不同mRNA:脂质比率显示出不同的活性

[0709] 为了确定mRNA递送与mRNA与脂质的比率的联系,在C57B1/6小鼠中静脉内给予根据表6A的配方并且以1:62、1:45和1:30的mRNA:脂质比率(wt/wt)包含荧光素酶mRNA的SS-OP DOTAP LNP。经由静脉内注射以1.5mg/kg为小鼠给药,并且26小时后对肺进行离体成像。图15示出了1:30至1:62的mRNA:脂质比率是表现最好的mRNA:脂质比率,其中1:30表现出最高的生物发光。

[0710] 将不含DOPC且包含不同比率的萤火虫荧光素酶(Luc)mRNA的SS-OP DOTAP LNP以1.5mg/kg的剂量静脉内注射到C57B1/6小鼠中。26小时后对肺进行离体成像。所示为肺的平均辐射率(光子/s/cm2/sr)。

[0711] 在1:5的mRNA:脂质比率下不形成LNP(N.D.是指未给药)。在这些不含DOPC的SS-OP DOTAP LNP制剂中,1:62的mRNA:脂质比率表现出最高的荧光素酶信号(图16)。

[0712] 实施例14:不同PEG化脂质百分比显示出不同的活性

[0713] 为了确定PEG化脂质百分比对SS-OP DOTAP LNP递送mRNA的影响,按照下表15中的比率用荧光素酶mRNA配制LNP,并以1.5mg/kg的剂量静脉内施用于C57B1/6小鼠。19小时后对肺进行离体成像。图17A和图17B示出了肺的平均辐射率(光子/s/cm^2/sr)。观察到生物发光信号随着PEG信号增加而降低。

[0714] 据发现,SS-OP DOTAP LNPw的最佳PEG化脂质范围为0%-3%,其中0.5%提供mRNA的最佳LNP递送(图17A和图17B)。表15示出了具有不同百分比的PEG化脂质的SS-OP DOTAP制剂。

[0715] 表15:具有不同百分比的PEG化脂质的SS-OP DOTAP制剂

[0716]

名称	SS-OP	DOPC	胆固醇	DMG-PEG2000	DOTAP	DOTAP%	PEG%	脂质:mRNA wt/wt
0.5% PEG	55	5	40	1.0	100	50%	0.5%	62
1.2% PEG	55	5	40	2.5	100	49%	1.2%	62
3.5% PEG	55	5	40	7.3	100	48%	3.5%	63
6% PEG	55	5	40	12.8	100	47%	6.0%	65
7% PEG	55	5	40	15.0	100	47%	7.0%	66

[0717] 实施例16:PEG化脂质对于肺靶向不是必需的

[0718] 为了确定SS-OP DOTAP LNP mRNA递送是否需要PEG化脂质,按照下表16中的比率用荧光素酶mRNA配制LNP。经由静脉内注射对C57Bl/6小鼠给药,并且21小时后对肺进行离体成像。对于1.2%PEG和0.1% PEG条件,LNP-mRNA剂量为1.5mg mRNA/kg动物体重。脂质与mRNA比率为63。对于0% PEG条件,以0.2mg/kg对小鼠给药。图18A和图18B示出了肺的平均辐射率(光子/s/cm2/sr)。这些结果表明含有0.1%-1.2% PEG化的SS-OP DOTAP LNP制剂可能是最佳的。然而,不含PEG化脂质的LNP制剂成功地将mRNA递送到肺。表16示出了低水平和无PEG化脂质的SS-OP DOTAP制剂。

[0719] 表16:低水平和无PEG化脂质的SS-OP DOTAP制剂

[0720]

脂质混合物	SSOP%	DOPC%	胆固醇%	DMG-PEG2000%	DOTAP%
1.2%PEG	38%	3%	27%	1.2%	30%
0.1%PEG	38%	3%	28%	0.1%	30%
0%PEG	38%	3%	28%	0.0%	30%

[0721] 实施例15:不同DOTAP百分比显示出不同的肺活性

[0722] 为了确定不同DOTAP百分比对SS-OP DOTAP LNP的影响,按照表17中的比率用萤火虫荧光素酶(Luc)mRNA配制SS-OP DOTAP LNP。经由静脉内注射以1.5mg/kg对C57Bl/6小鼠给药,并且19小时后对肺进行离体成像。图19示出了相对于DOTAP在LNP中的百分比,肺的平均辐射率(光子/s/cm^2/sr)。在表17的配方中,SS-OP DOTAP LNP向肺的最有效递送为30% DOTAP。对于具有20%或更大DOTAP的LNP,观察到最小的肝靶向;而使用10% DOTAP时观察到强的肝脏信号(图20A和图20B)。表17示出了具有不同DOTAP百分比的SS-OP DOTAP制剂。

[0723] 表17:具有不同DOTAP百分比的SS-OP DOTAP制剂

[0724]

名称	SS-OP	DOPC	胆固醇	DMG-PEG2000	DOTAP	DOTAP%	PEG%	脂质:mRNA wt/wt
49% DOTAP	55	5	40	2.5	100	49%	1.2%	62
40% DOTAP	55	5	40	2.5	69	40%	1.5%	53
30% DOTAP	55	5	40	2.5	44	30%	1.7%	45
20% DOTAP	55	5	40	2.5	26	20%	1.9%	39
10% DOTAP	55	5	40	2.5	11	10%	2.2%	35

[0725] 实施例17:向肺递送LNP-mRNA转染肺泡上皮细胞

[0726] 为了观察按照表6A的配方通过SS-OP DOTAP LNP转染的细胞类型,用Cre mRNA配制LNP并以2.0mg/kg施用于tomato fl/fl小鼠(图21A)。图21B示出了PBS阴性对照。3天后收获肺,并经由福尔马林固定和石蜡包埋进行处理。取4μm切片用以下物质进行染色:

[0727] 抗IGFBP2(一种AT1肺泡上皮肺细胞的标志物)、抗促表面活性剂蛋白C(SPC)(一种AT2肺泡上皮肺干细胞的标志物)、抗tdTomato、以及作为鉴定细胞的DNA标志物的DAPI。SPC和tdTomato阳性的细胞证明LNP制剂成功转染肺AT2肺泡上皮干细胞。IGFBP2和tdTomato阳性的细胞证明LNP制剂成功转染肺AT1肺泡上皮细胞。对照中没有tdTomato染色表明,抗tdTomato染色是特异性的。

[0728] 实施例18:在具有SS-OP DOTAP的KO小鼠中的TERT mRNA递送

[0729] 为了确定作为疾病治疗的治疗性mRNA的SS-OP DOTAP递送,将包封TERT mRNA的SS-OP DOTAP LNP施用于肺纤维化模型小鼠。小鼠肺纤维化模型肺和治疗的时间线示于图22中。在第三代(G3)TERT敲除(KO)小鼠中诱导肺纤维化,所述小鼠具有与人相似的端粒长度。经由皮下植入的微型渗透泵连续施用博来霉素。递送的总剂量为100U/kg。包封在表6A的SS-OP DOTAP LNP制剂中的TERT mRNA在第10天开始静脉内施用四次,如图所示。相对于萤火虫荧光素酶mRNA的对照,TERT mRNA的递送在终点使小鼠的存活率增加了210%。

[0730] 虽然本文已示出并描述了本公开的优选实施方案,但对于本领域的技术人员而言显而易见的是,此类实施方案仅以举例的方式提供。对于本领域的技术人员来说,在不偏离本公开的情况下,将能够进行许多变化、改变和替换。应当理解,在实践本公开时,可采用本文所述的本公开的实施方案的各种另选方案。以下权利要求书旨在限定本公开的范围,因此这些权利要求的范围内的方法和结构以及它们的等同物将被覆盖。

序列表

<110> 再生技术有限责任公司

<120> 用于递送RNA的组合物和方法

<130> REJU-005/01WO 331132-2029

<150> US 63/169,118

<151> 2021-03-31

<160> 40

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 3399

<212> DNA

<213> 人工(Artificial)

<220>

<223> 合成

<400> 1

atgcccagag cccccagatg cagagccgtg agaagcctgc tgagaagcca ctacagagag 60
gtgctgcccc tggccacctt cgtgagaaga ctgggccccc agggctggag actggtgcag 120
agaggcgacc ccgccgcctt cagagccctg gtggcccagt gcctggtgtg cgtgccctgg 180
gacgccagac cccctcccgc cgcccccagc ttcagacagg tgagctgcct gaaggagctg 240
gtggccagag tgctgcagag actgtgcgag agaggcgcca agaacgtgct ggccttcggc 300
ttcgccctgc tggacggcgc cagaggcggc cctcccgagg ccttcaccac cagcgtgaga 360
agctacctgc ccaacaccgt gaccgacgcc ctgagaggca gcggcgcctg gggcctgctg 420
ctgagaagag tgggcgacga cgtgctggtg cacctgctgg ccagatgcgc cctgttcgtg 480
ctggtggccc ccagctgcgc ctaccaggtg tgcggccctc ccctgtacca gctgggcgcc 540
gccacccagg ccagaccccc tccccacgcc agcggcccca gaagaagact gggctgcgag 600
agagcctgga accacagcgt gagagaggcc ggcgtgcccc tgggcctgcc cgcccccggc 660
gccagaagaa gaggcggcag cgccagcaga agcctgcccc tgcccaagag acccagaaga 720
ggcgccgccc ccgagcccga gagaaccccc gtgggccagg gcagctgggc ccaccccggc 780
agaaccagag gccccagcga cagaggcttc tgcgtggtga gccccgccag acccgccgag 840
gaggccacca gcctggaggg cgccctgagc ggcaccagac acagccaccc cagcgtgggc 900
agacagcacc acgccggccc tcccagcacc agcagacctc ccagaccctg ggacaccccc 960
tgccctcccg tgtacgccga gaccaagcac ttcctgtaca gcagcggcga caaggagcag 1020
ctgagaccca gcttcctgct gagcagcctg agacccagcc tgaccggcgc cagaagactg 1080
gtggagacca tcttcctggg cagcagaccc tggatgcccg gcacccccag aagactgccc 1140
agactgcccc agagatactg gcagatgaga cccctgttcc tggagctgct gggcaaccac 1200
gcccagtgcc cctacggcgt gctgctgaag acccactgcc ccctgagagc cgccgtgacc 1260
cccgccgccg gcgtgtgcgc cagagagaag ccccagggca gcgtggccgc ccccgaggag 1320
gaggacaccg accccagaag actggtgcag ctgctgagac agcacagcag cccctggcag 1380

gtgtacggct tcgtgagagc ctgcctgaga agactggtgc ctcccggcct gtggggcagc 1440
agacacaacg agagaagatt cctgagaaac accaagaagt tcatcagcct gggcaagcac 1500
gccaagctga gcctgcagga gctgacctgg aagatgagcg tgagagactg cgcctggctg 1560
agaagaagcc ccggcgtggg ctgcgtgccc gccgccgagc acagactgag agaggagatc 1620
ctggccaagt tcctgcactg gctgatgagc gtgtacgtgg tggagctgct gagaagcttc 1680
ttctacgtga ccgagaccac cttccagaag aacagactgt tcttctacag aaagagcgtg 1740
tggagcaagc tgcagagcat cggcatcaga cagcacctga agagagtgca gctgagagag 1800
ctgagcgagg ccgaggtgag acagcacaga gaggccagac ccgccctgct gaccagcaga 1860
ctgagattca tccccaagcc cgacggcctg agacccatcg tgaacatgga ctacgtggtg 1920
ggcgccagaa ccttcagaag agagaagaga gccgagagac tgaccagcag agtgaaggcc 1980
ctgttcagcg tgctgaacta cgagagagcc agaagacccg gcctgctggg cgccagcgtg 2040
ctgggcctgg acgacatcca cagagcctgg agaaccttcg tgctgagagt gagagcccag 2100
gatccccctc ccgagctgta cttcgtgaag gtggacgtga ccggcgccta cgacaccatc 2160
ccccaggaca gactgaccga ggtgatcgcc agcatcatca agccccagaa cacctactgc 2220
gtgagaagat acgccgtggt gcagaaggcc gcccacggcc acgtgagaaa ggccttcaag 2280
agccacgtga gcaccctgac cgacctgcag ccctacatga gacagttcgt ggcccacctg 2340
caggagacca gccccctgag agacgccgtg gtgatcgagc agagcagcag cctgaacgag 2400
gccagcagcg gcctgttcga cgtgttcctg agattcatgt gccaccacgc cgtgagaatc 2460
agaggcaaga gctacgtgca gtgccagggc atcccccagg gcagcatcct gagcaccctg 2520
ctgtgcagcc tgtgctacgg cgacatggag aacaagctgt tcgccggcat cagaagagac 2580
ggcctgctgc tgagactggt ggacgacttc ctgctggtga cacccacct gacccacgcc 2640
aagaccttcc tgagaaccct ggtgagaggc gtgcccgagt acggctgcgt ggtgaacctg 2700
agaaagaccg tggtgaactt ccccgtggag gacgaggccc tgggcggcac cgccttcgtg 2760
cagatgcccg cccacggcct gttcccctgg tgcggcctgc tgctggacac cagaaccctg 2820
gaggtgcaga gcgactacag cagctacgcc agaaccagca tcagagccag cctgaccttc 2880
aacagaggct tcaaggccgg cagaaacatg agaagaaagc tgttcggcgt gctgagactg 2940
aagtgccaca gcctgttcct ggacctgcag gtgaacagcc tgcagaccgt gtgcaccaac 3000
atctacaaga tcctgctgct gcaggcctac agattccacg cctgcgtgct gcagctgccc 3060
ttccaccagc aggtgtggaa gaaccccacc ttcttcctga gagtgatcag cgacaccgcc 3120
agcctgtgct acagcatcct gaaggccaag aacgccggca tgagcctggg cgccaagggc 3180
gccgccggcc ccctgcccag cgaggccgtg cagtggctgt gccaccaggc cttcctgctg 3240
aagctgacca gacacagagt gacctacgtg cccctgctgg gcagcctgag aaccgcccag 3300
acccagctga gcagaaagct gcccggcacc accctgaccg ccctggaggc cgccgccaac 3360
cccgccctgc ccagcgactt caagaccatc ctggactga 3399

<210> 2
<211> 3399
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>

<223> 合成

<400> 2

atgccgcgcg ctccccgctg ccgagccgtg cgctccctgc tgcgcagcca ctaccgcgag 60
gtgctgccgc tggccacgtt cgtgcggcgc ctggggcccc agggctggcg gctggtgcag 120
cgcggggacc cggcggcttt ccgcgcgctg gtggcccagt gcctggtgtg cgtgccctgg 180
gacgcacggc cgcccccccgc cgccccctcc ttccgccagg tgtcctgcct gaaggagctg 240
gtggcccgag tgctgcagag gctgtgcgag cgcggcgcga agaacgtgct ggccttcggc 300
ttcgcgctgc tggacggggc ccgcgggggc ccccccgagg ccttcaccac cagcgtgcgc 360
agctacctgc ccaacacggt gaccgacgca ctgcggggga gcggggcgtg ggggctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgacga cgtgctggtt cacctgctgg cacgctgcgc gctctttgtg 480
ctggtggctc ccagctgcgc ctaccaggtg tgcgggccgc cgctgtacca gctcggcgct 540
gccactcagg cccggccccc gccacacgct agtggacccc gaaggcgtct gggatgcgaa 600
cgggcctgga accatagcgt cagggaggcc ggggtccccc tgggcctgcc agccccgggt 660
gcgaggaggc gcgggggcag tgccagccga agtctgccgt tgcccaagag gcccaggcgt 720
ggcgctgccc ctgagccgga gcggacgccc gttgggcagg ggtcctgggc ccacccgggc 780
aggacgcgtg gaccgagtga ccgtggtttc tgtgtggtgt cacctgccag acccgccgaa 840
gaagccacct ctttggaggg tgcgctctct ggcacgcgcc actcccaccc atccgtgggc 900
cgccagcacc acgcgggccc cccatccaca tcgcggccac cacgtccctg ggacacgcct 960
tgtcccccgg tgtacgccga gaccaagcac ttcctctact cctcaggcga caaggagcag 1020
ctgcggccct ccttcctact cagctctctg aggcccagcc tgactggcgc tcggaggctc 1080
gtggagacca tctttctggg ttccaggccc tggatgccag ggactccccg caggttgccc 1140
cgcctgcccc agcgctactg gcaaatgcgg cccctgtttc tggagctgct tgggaaccac 1200
gcgcagtgcc cctacggggt gctcctcaag acgcactgcc cgctgcgagc tgcggtcacc 1260
ccagcagccg gtgtctgtgc ccgggagaag ccccagggct ctgtggcggc ccccgaggag 1320
gaggacacag acccccgtcg cctggtgcag ctgctccgcc agcacagcag cccctggcag 1380
gtgtacggct tcgtgcgggc ctgcctgcgc cggctggtgc ccccaggcct ctggggctcc 1440
aggcacaacg aacgccgctt cctcaggaac accaagaagt tcatctccct ggggaagcat 1500
gccaagctct cgctgcagga gctgacgtgg aagatgagcg tgcgggactg cgcttggctg 1560
cgcaggagcc caggggttgg ctgtgttccg gccgcagagc accgtctgcg tgaggagatc 1620
ctggccaagt tcctgcactg gctgatgagt gtgtacgtcg tcgagctgct caggtctttc 1680
ttttatgtca cggagaccac gtttcaaaag aacaggctct ttttctaccg gaagagtgtc 1740
tggagcaagt tgcaaagcat tggaatcaga cagcacttga agagggtgca gctgcgggag 1800
ctgtcggaag cagaggtcag gcagcatcgg gaagccaggc ccgccctgct gacgtccaga 1860
ctccgcttca tccccaagcc tgacgggctg cggccgattg tgaacatgga ctacgtcgtg 1920
ggagccagaa cgttccgcag agaaaagagg gccgagcgtc tcacctcgag ggtgaaggca 1980
ctgttcagcg tgctcaacta cgagcgggcg cggcgccccg gcctcctggg cgcctctgtg 2040
ctgggcctgg acgatatcca cagggcctgg cgcaccttcg tgctgcgtgt gcgggcccag 2100
gacccgccgc ctgagctgtt ctttgtcaag gtggatgtga cgggcgcgta cgacaccatc 2160
ccccaggaca ggctcacgga ggtcatcgcc agcatcatca aaccccagaa cacgtactgc 2220

gtgcgtcggt atgccgtggt ccagaaggcc gcccatgggc acgtccgcaa ggccttcaag 2280
agccacgtct ctaccttgac agacctccag ccgtacatgc gacagttcgt ggctcacctg 2340
caggagacca gcccgctgag ggatgccgtc gtcatcgagc agagctcctc cctgaatgag 2400
gccagcagtg gcctcttcga cgtcttccta cgcttcatgt gccaccacgc cgtgcgcatc 2460
aggggcaagt cctacgtcca gtgccagggg atcccgcagg gctccatcct ctccacgctg 2520
ctctgcagcc tgtgctacgg cgacatggag aacaagctgt ttgcggggat tcggcgggac 2580
gggctgctcc tgcgtttggt ggatgatttc ttgttggtga cacctcacct cacccacgcg 2640
aaaaccttcc tcaggaccct ggtccgaggt gtccctgagt atggctgcgt ggtgaacttg 2700
cggaagacag tggtgaactt ccctgtagaa gacgaggccc tgggtggcac ggcttttgtt 2760
cagatgccgg cccacggcct attcccctgg tgcggcctgc tgctggatac ccggaccctg 2820
gaggtgcaga gcgactactc cagctatgcc cggacctcca tcagagccag tctcaccttc 2880
aaccgcggct tcaaggctgg gaggaacatg cgtcgcaaac tctttggggt cttgcggctg 2940
aagtgtcaca gcctgtttct ggatttgcag gtgaacagcc tccagacggt gtgcaccaac 3000
atctacaaga tcctcctgct gcaggcgtac aggtttcacg catgtgtgct gcagctccca 3060
tttcatcagc aagtttggaa gaaccccaca tttttcctgc gcgtcatctc tgacacggcc 3120
tccctctgct actccatcct gaaagccaag aacgcaggga tgtcgctggg ggccaagggc 3180
gccgccggcc ctctgccctc cgaggccgtg cagtggctgt gccaccaagc attcctgctc 3240
aagctgactc gacaccgtgt cacctacgtg ccactcctgg ggtcactcag gacagcccag 3300
acgcagctga gtcggaagct cccggggacg acgctgactg ccctggaggc cgcagccaac 3360
ccggcactgc cctcagactt caagaccatc ctggactga 3399

<210> 3
<211> 3369
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 3

atgaccaggg cccctaggtg ccctgccgtg aggagcctgc tgaggagcag gtacagggag 60
gtgtggcctc tggccacctt cgtgaggagg ctgggccctg agggcaggag gctggtgcag 120
cctggcgacc ctaagatcta caggaccctg gtggcccagt gcctggtgtg catgcactgg 180
ggcagccagc ctcctcctgc cgacctgagc ttccaccagg tgagcagcct gaaggagctg 240
gtggccaggg tggtgcagag gctgtgcgag aggaacgaga ggaacgtgct ggccttcggc 300
ttcgagctgc tgaacgaggc caggggcggc cctcctatgg ccttcaccag cagcgtgagg 360
agctacctgc ctaacaccgt gatcgagacc ctgagggtga gcggcgcctg gatgctgctg 420
ctgagcaggg tgggcgacga cctgctggtg tacctgctgg cccactgcgc cctgtacctg 480
ctggtgcctc ctagctgcgc ctaccaggtg tgcggcagcc ctctgtacca gatctgcgcc 540
accaccgaca tctggcctag cgtgagcgcc agctacaggc ctaccaggcc tgtgggcagg 600
aacttcacca acctgaggtt cctgcagcag atcaagagca gcagcaggca ggaggcccct 660
aagcctctgg ccctgcctag caggggcacc aagaggcacc tgagcctgac cagcaccagc 720

gtgcctagcg ccaagaaggc caggtgctac cctgtgccta gggtggagga gggccctcac 780
aggcaggtgc tgcctacccc tagcggcaag agctgggtgc ctagccctgc caggagccct 840
gaggtgccta ccgccgagaa ggacctgagc agcaagggca aggtgagcga cctgagcctg 900
agcggcagcg tgtgctgcaa gcacaagcct agcagcacca gcctgctgag ccctcctagg 960
cagaacgcct tccagctgag gcctttcatc gagaccaggc acttcctgta cagcaggggc 1020
gacggccagg agaggctgaa ccctagcttc ctgctgagca acctgcagcc taacctgacc 1080
ggcgccagga ggctggtgga gatcatcttc ctgggcagca ggcctaggac cagcggccct 1140
ctgtgcagga cccacaggct gagcaggagg tactggcaga tgaggcctct gttccagcag 1200
ctgctggtga accacgccga gtgccagtac gtgaggctgc tgaggagcca ctgcaggttc 1260
aggaccgcca accagcaggt gaccgacgcc ctgaacacca gccctcctca cctgatggac 1320
ctgctgaggc tgcacagcag cccttggcag gtgtacggct tcctgagggc ctgcctgtgc 1380
aaggtggtga gcgccagcct gtggggcacc aggcacaacg agaggaggtt cttcaagaac 1440
ctgaagaagt tcatcagcct gggcaagtac ggcaagctga gcctgcagga gctgatgtgg 1500
aagatgaagg tggaggactg ccactggctg aggagcagcc ctggcaagga cagggtgcct 1560
gccgccgagc acaggctgag ggagaggatc ctggccacct tcctgttctg gctgatggac 1620
acctacgtgg tgcagctgct gaggagcttc ttctacatca ccgagagcac cttccagaag 1680
aacaggctgt tcttctacag gaagagcgtg tggagcaagc tgcagagcat cggcgtgagg 1740
cagcacctgg agagggtgag gctgagggag ctgagccagg aggaggtgag gcaccaccag 1800
gacacctggc tggccatgcc tatctgcagg ctgaggttca tccctaagcc taacggcctg 1860
aggcctatcg tgaacatgag ctacagcatg ggcaccaggg ccctgggcag gaggaagcag 1920
gcccagcact tcacccagag gctgaagacc ctgttcagca tgctgaacta cgagaggacc 1980
aagcaccctc acctgatggg cagcagcgtg ctgggcatga acgacatcta caggacctgg 2040
agggccttcg tgctgagggt gagggccctg gaccagaccc ctaggatgta cttcgtgaag 2100
gccgacgtga ccggcgccta cgacgccatc cctcagggca agctggtgga ggtggtggcc 2160
aacatgatca ggcacagcga gagcacctac tgcatcaggc agtacgccgt ggtgaggagg 2220
gacagccagg gccaggtgca caagagcttc aggaggcagg tgaccaccct gagcgacctg 2280
cagccttaca tgggccagtt cctgaagcac ctgcaggaca gcgacgccag cgccctgagg 2340
aacagcgtgg tgatcgagca gagcatcagc atgaacgaga gcagcagcag cctgttcgac 2400
ttcttcctgc acttcctgag gcacagcgtg gtgaagatcg gcgacaggtg ctacacccag 2460
tgccagggca tccctcaggg cagcagcctg agcaccctgc tgtgcagcct gtgcttcggc 2520
gacatggaga acaagctgtt cgccgaggtg cagagggacg gcctgctgct gaggttcgtg 2580
gacgacttcc tgctggtgac ccctcacctg gaccaggcca agaccttcct gagcaccctg 2640
gtgcacggcg tgcctgagta cggctgcatg atcaacctgc agaagaccgt ggtgaacttc 2700
cctgtggagc ctggcaccct gggcggcgcc gccccttacc agctgcctgc ccactgcctg 2760
ttcccttggt gcggcctgct gctggacacc cagaccctgg aggtgttctg cgactacagc 2820
ggctacgccc agaccagcat caagaccagc ctgaccttcc agagcgtgtt caaggccggc 2880
aagaccatga ggaacaagct gctgagcgtg ctgaggctga agtgccacgg cctgttcctg 2940
gacctgcagg tgaacagcct gcagaccgtg tgcatcaaca tctacaagat cttcctgctg 3000
caggcctaca ggttccacgc ctgcgtgatc cagctgcctt tcgaccagag ggtgaggaag 3060

aacctgacct tcttcctggg catcatcagc agccaggcca gctgctgcta cgccatcctg 3120
aaggtgaaga accctggcat gaccctgaag gccagcggca gcttccctcc tgaggccgcc 3180
cactggctgt gctaccaggc cttcctgctg aagctggccg cccacagcgt gatctacaag 3240
tgcctgctgg gccctctgag gaccgcccag aagctgctgt gcaggaagct gcctgaggcc 3300
accatgacca tcctgaaggc cgccgccgac cctgccctga gcaccgactt ccagaccatc 3360
ctggactga 3369

<210> 4
<211> 3369
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 4

atgacccgcg ctcctcgttg ccccgcggtg cgctctctgc tgcgcagccg ataccgggag 60
gtgtggccgc tggcaacctt tgtgcggcgc ctggggcccg agggcaggcg gcttgtgcaa 120
cccggggacc cgaagatcta ccgcactttg gttgcccaat gcctagtgtg catgcactgg 180
ggctcacagc ctccacctgc cgacctttcc ttccaccagg tgtcatccct gaaagagctg 240
gtggccaggg ttgtgcagag actctgcgag cgcaacgaga gaaacgtgct ggcttttggc 300
tttgagctgc ttaacgaggc cagaggcggg cctcccatgg ccttcactag tagcgtgcgt 360
agctacttgc ccaacactgt tattgagacc ctgcgtgtca gtggtgcatg gatgctactg 420
ttgagccgag tgggcgacga cctgctggtc tacctgctgg cacactgtgc tctttatctt 480
ctggtgcccc ccagctgtgc ctaccaggtg tgtgggtctc ccctgtacca aatttgtgcc 540
accacggata tctggccctc tgtgtccgct agttacaggc ccacccgacc cgtgggcagg 600
aatttcacta accttaggtt cttacaacag atcaagagca gtagtcgcca ggaagcaccg 660
aaacccctgg ccttgccatc tcgaggtaca aagaggcatc tgagtctcac cagtacaagt 720
gtgccttcag ctaagaaggc cagatgctat cctgtcccga gagtggagga gggaccccac 780
aggcaggtgc taccaacccc atcaggcaaa tcatgggtgc caagtcctgc tcggtccccc 840
gaggtgccta ctgcagagaa agatttgtct tctaaaggaa aggtgtctga cctgagtctc 900
tctgggtcgg tgtgctgtaa acacaagccc agctccacat ctctgctgtc accaccccgc 960
caaaatgcct ttcagctcag gccatttatt gagaccagac atttccttta ctccagggga 1020
gatggccaag agcgtctaaa cccctcattc ctactcagca acctccagcc taacttgact 1080
ggggccagga gactggtgga gatcatcttt ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca 1140
ctctgcagga cacaccgtct atcgcgtcga tactggcaga tgcggccccct gttccaacag 1200
ctgctggtga accatgcaga gtgccaatat gtcagactcc tcaggtcaca ttgcaggttt 1260
cgaacagcaa accaacaggt gacagatgcc ttgaacacca gcccaccgca cctcatggat 1320
ttgctccgcc tgcacagcag tccctggcag gtatatggtt ttcttcgggc ctgtctctgc 1380
aaggtggtgt ctgctagtct ctggggtacc aggcacaatg agcgccgctt ctttaagaac 1440
ttaaagaagt tcatctcgtt ggggaaatac ggcaagctat cactgcagga actgatgtgg 1500
aagatgaaag tagaggattg ccactggctc cgcagcagcc cggggaagga ccgtgtcccc 1560

gctgcagagc accgtctgag ggagaggatc ctggctacgt tcctgttctg gctgatggac 1620
acatacgtgg tacagctgct taggtcattc ttttacatca cagagagcac attccagaag 1680
aacaggctct tcttctaccg taagagtgtg tggagcaagc tgcagagcat tggagtcagg 1740
caacaccttg agagagtgcg gctacgggag ctgtcacaag aggaggtcag gcatcaccag 1800
gacacctggc tagccatgcc catctgcaga ctgcgcttca tccccaagcc caacggcctg 1860
cggcccattg tgaacatgag ttatagcatg ggtaccagag ctttgggcag aaggaagcag 1920
gcccagcatt tcacccagcg tctcaagact ctcttcagca tgctcaacta tgagcggaca 1980
aaacatcctc accttatggg gtcttctgta ctgggtatga atgacatcta caggacctgg 2040
cgggcctttg tgctgcgtgt gcgtgctctg gaccagacac ccaggatgta ctttgttaag 2100
gcagatgtga ccggggcctt tgatgccatc ccccagggta agctggtgga ggttgttgcc 2160
aatatgatca ggcactcgga gagcacgtac tgtatccgcc agtatgcagt ggtccggaga 2220
gatagccaag gccaagtcca caagtccttt aggagacagg tcaccaccct ctctgacctc 2280
cagccataca tgggccagtt ccttaagcat ctgcaggatt cagatgccag tgcactgagg 2340
aactccgttg tcatcgagca gagcatctct atgaatgaga gcagcagcag cctgtttgac 2400
ttcttcctgc acttcctgcg tcacagtgtc gtaaagattg gtgacaggtg ctatacgcag 2460
tgccagggca tcccccaggg ctccagccta tccaccctgc tctgcagtct gtgtttcgga 2520
gacatggaga acaagctgtt tgctgaggtg cagcgggatg ggttgctttt acgttttgtt 2580
gatgactttc tgttggtgac gcctcacttg gaccaagcaa aaaccttcct cagcaccctg 2640
gtccatggcg ttcctgagta tgggtgcatg ataaacttgc agaagacagt ggtgaacttc 2700
cctgtggagc ctggtaccct gggtggtgca gctccatacc agctgcctgc tcactgcctg 2760
tttccctggt gtggcttgct gctggacact cagactttgg aggtgttctg tgactactca 2820
ggttatgccc agacctcaat taagacgagc ctcaccttcc agagtgtctt caaagctggg 2880
aagaccatgc ggaacaagct cctgtcggtc ttgcggttga agtgtcacgg tctatttcta 2940
gacttgcagg tgaacagcct ccagacagtc tgcatcaata tatacaagat cttcctgctt 3000
caggcctaca ggttccatgc atgtgtgatt cagcttccct ttgaccagcg tgttaggaag 3060
aacctcacat tctttctggg catcatctcc agccaagcat cctgctgcta tgctatcctg 3120
aaggtcaaga atccaggaat gacactaaag gcctctggct cctttcctcc tgaagccgca 3180
cattggctct gctaccaggc cttcctgctc aagctggctg ctcattctgt catctacaaa 3240
tgtctcctgg gacctctgag gacagcccaa aaactgctgt gccggaagct cccagaggcg 3300
acaatgacca tccttaaagc tgcagctgac ccagccctaa gcacagactt tcagaccatt 3360
ttggactaa 3369

<210> 5
<211> 3369
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 5

atgacccgcg ctcctcgttg ccccgcggtg cgctctctgc tgcgcagccg ataccgggag 60

gtgtggccgc tggcaacctt tgtgcggcgc ctggggcccg agggcaggcg gcttgtgcaa 120
cccggggacc cgaagatcta ccgcactttg gttgcccaat gcctagtgtg catgcactgg 180
ggctcacagc ctccacctgc cgacctttcc ttccaccagg tgtcatccct gaaagagctg 240
gtggccaggg ttgtgcagag actctgcgag cgcaacgaga gaaacgtgct ggcttttggc 300
tttgagctgc ttaacgaggc cagaggcggg cctcccatgg ccttcactag tagcgtgcgt 360
agctacttgc ccaacactgt tattgagacc ctgcgtgtca gtggtgcatg gatgctactg 420
ttgagccgag tgggcgacga cctgctggtc tacctgctgg cacactgtgc tctttatctt 480
ctggtgcccc ccagctgtgc ctaccaggtg tgtgggtctc ccctgtacca aatttgtgcc 540
accacggata tctggccctc tgtgtccgct agttacaggc ccacccgacc cgtgggcagg 600
aatttcacta accttaggtt cttacaacag atcaagagca gtagtcgcca ggaagcaccg 660
aaacccctgg ccttgccatc tcgaggtaca aagaggcatc tgagtctcac cagtacaagt 720
gtgccttcag ctaagaaggc cagatgctat cctgtcccga gagtggagga gggaccccac 780
aggcaggtgc taccaacccc atcaggcaaa tcatgggtgc caagtcctgc tcggtccccc 840
gaggtgccta ctgcagagaa agatttgtct tctaaaggaa aggtgtctga cctgagtctc 900
tctgggtcgg tgtgctgtaa acacaagccc agctccacat ctctgctgtc accaccccgc 960
caaaatgcct ttcagctcag gccatttatt gagaccagac atttccttta ctccagggga 1020
gatggccaag agcgtctaaa cccctcattc ctactcagca acctccagcc taacttgact 1080
ggggccagga gactggtgga gatcatcttt ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca 1140
ctctgcagga cacaccgtct atcgcgtcga tactggcaga tgcggcccct gttccaacag 1200
ctgctggtga accatgcaga gtgccaatat gtcagactcc tcaggtcaca ttgcaggttt 1260
cgaacagcaa accaacaggt gacagatgcc ttgaacacca gcccaccgca cctcatggat 1320
ttgctccgcc tgcacagcag tccctggcag gtatatggtt ttcttcgggc ctgtctctgc 1380
aaggtggtgt ctgctagtct ctggggtacc aggcacaatg agcgccgctt ctttaagaac 1440
ttaaagaagt tcatctcgtt ggggaaatac ggcaagctat cactgcagga actgatgtgg 1500
aagatgaaag tagaggattg ccactggctc cgcagcagcc cggggaagga ccgtgtcccc 1560
gctgcagagc accgtctgag ggagaggatc ctggctacgt tcctgttctg gctgatggac 1620
acatacgtgg tacagctgct taggtcattc ttttacatca cagagagcac attccagaag 1680
aacaggctct tcttctaccg taagagtgtg tggagcaagc tgcagagcat tggagtcagg 1740
caacaccttg agagagtgcg gctacgggag ctgtcacaag aggaggtcag gcatcaccag 1800
gacacctggc tagccatgcc catctgcaga ctgcgcttca tccccaagcc caacggcctg 1860
cggcccattg tgaacatgag ttatagcatg ggtaccagag ctttgggcag aaggaagcag 1920
gcccagcatt tcacccagcg tctcaagact ctcttcagca tgctcaacta tgagcggaca 1980
aaacatcctc accttatggg gtcttctgta ctgggtatga atgacatcta caggacctgg 2040
cgggcctttg tgctgcgtgt gcgtgctctg gaccagacac ccaggatgtt ctttgttaag 2100
gcagatgtga ccggggccta tgatgccatc ccccagggta agctggtgga ggttgttgcc 2160
aatatgatca ggcactcgga gagcacgtac tgtatccgcc agtatgcagt ggtccggaga 2220
gatagccaag gccaagtcca caagtccttt aggagacagg tcaccaccct ctctgacctc 2280
cagccataca tgggccagtt ccttaagcat ctgcaggatt cagatgccag tgcactgagg 2340
aactccgttg tcatcgagca gagcatctct atgaatgaga gcagcagcag cctgtttgac 2400

ttcttcctgc acttcctgcg tcacagtgtc gtaaagattg gtgacaggtg ctatacgcag 2460
tgccagggca tcccccaggg ctccagccta tccaccctgc tctgcagtct gtgtttcgga 2520
gacatggaga acaagctgtt tgctgaggtg cagcgggatg ggttgctttt acgttttgtt 2580
gatgactttc tgttggtgac gcctcacttg gaccaagcaa aaaccttcct cagcaccctg 2640
gtccatggcg ttcctgagta tgggtgcatg ataaacttgc agaagacagt ggtgaacttc 2700
cctgtggagc ctggtaccct gggtggtgca gctccatacc agctgcctgc tcactgcctg 2760
tttccctggt gtggcttgct gctggacact cagactttgg aggtgttctg tgactactca 2820
ggttatgccc agacctcaat taagacgagc ctcaccttcc agagtgtctt caaagctggg 2880
aagaccatgc ggaacaagct cctgtcggtc ttgcggttga agtgtcacgg tctatttcta 2940
gacttgcagg tgaacagcct ccagacagtc tgcatcaata tatacaagat cttcctgctt 3000
caggcctaca ggttccatgc atgtgtgatt cagcttccct ttgaccagcg tgttaggaag 3060
aacctcacat tctttctggg catcatctcc agccaagcat cctgctgcta tgctatcctg 3120
aaggtcaaga atccaggaat gacactaaag gcctctggct cctttcctcc tgaagccgca 3180
cattggctct gctaccaggc cttcctgctc aagctggctg ctcattctgt catctacaaa 3240
tgtctcctgg gacctctgag gacagcccaa aaactgctgt gccggaagct cccagaggcg 3300
acaatgacca tccttaaagc tgcagctgac ccagccctaa gcacagactt tcagaccatt 3360
ttggactaa 3369

<210> 6
<211> 1132
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 6

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

130 135 140

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

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460
Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480
Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495
Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510
Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525
Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540
Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560
Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575
Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590
Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605
His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp

755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080
Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125
Thr Ile Leu Asp
1130

<210> 7
<211> 4039
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 7

ctctcctcgc ggcgcgagtt tcaggcagcg ctgcgtcctg ctgcgcacgt gggaagccct 60
ggccccggcc acccccgcga tgccgcgcgc tccccgctgc cgagccgtgc gctccctgct 120
gcgcagccac taccgcgagg tgctgccgct ggccacgttc gtgcggcgcc tggggcccca 180
gggctggcgg ctggtgcagc gcggggaccc ggcggctttc cgcgcgctgg tggcccagtg 240
cctggtgtgc gtgccctggg acgcacggcc gccccccgcc gccccctcct tccgccaggt 300
gtcctgcctg aaggagctgg tggcccgagt gctgcagagg ctgtgcgagc gcggcgcgaa 360
gaacgtgctg gccttcggct tcgcgctgct ggacggggcc cgcgggggcc cccccgaggc 420
cttcaccacc agcgtgcgca gctacctgcc caacacggtg accgacgcac tgcgggggag 480
cggggcgtgg gggctgctgc tgcgccgcgt gggcgacgac gtgctggttc acctgctggc 540
acgctgcgcg ctctttgtgc tggtggctcc cagctgcgcc taccaggtgt gcgggccgcc 600
gctgtaccag ctcggcgctg ccactcaggc ccggcccccg ccacacgcta gtggaccccg 660
aaggcgtctg ggatgcgaac gggcctggaa ccatagcgtc agggaggccg gggtcccccc 720
gggcctgcca gccccgggtg cgaggaggcg cgggggcagt gccagccgaa gtctgccgtt 780
gcccaagagg cccaggcgtg gcgctgcccc tgagccggag cggacgcccg ttgggcaggg 840
gtcctgggcc cacccgggca ggacgcgtgg accgagtgac cgtggtttct gtgtggtgtc 900
acctgccaga cccgccgaag aagccacctc tttggagggt gcgctctctg gcacgcgcca 960
ctcccaccca tccgtgggcc gccagcacca cgcgggcccc ccatccacat cgcggccacc 1020
acgtccctgg gacacgcctt gtcccccggt gtacgccgag accaagcact tcctctactc 1080
ctcaggcgac aaggagcagc tgcggccctc cttcctactc agctctctga ggcccagcct 1140
gactggcgct cggaggctcg tggagaccat ctttctgggt tccaggccct ggatgccagg 1200
gactccccgc aggttgcccc gcctgcccca gcgctactgg caaatgcggc ccctgtttct 1260
ggagctgctt gggaaccacg cgcagtgccc ctacggggtg ctcctcaaga cgcactgccc 1320
gctgcgagct gcggtcaccc cagcagccgg tgtctgtgcc cgggagaagc cccagggctc 1380
tgtggcggcc cccgaggagg aggacacaga cccccgtcgc ctggtgcagc tgctccgcca 1440

gcacagcagc ccctggcagg tgtacggctt cgtgcgggcc tgcctgcgcc ggctggtgcc 1500
cccaggcctc tggggctcca ggcacaacga acgccgcttc ctcaggaaca ccaagaagtt 1560
catctccctg gggaagcatg ccaagctctc gctgcaggag ctgacgtgga agatgagcgt 1620
gcgggactgc gcttggctgc gcaggagccc aggggttggc tgtgttccgg ccgcagagca 1680
ccgtctgcgt gaggagatcc tggccaagtt cctgcactgg ctgatgagtg tgtacgtcgt 1740
cgagctgctc aggtctttct tttatgtcac ggagaccacg tttcaaaaga acaggctctt 1800
tttctaccgg aagagtgtct ggagcaagtt gcaaagcatt ggaatcagac agcacttgaa 1860
gagggtgcag ctgcgggagc tgtcggaagc agaggtcagg cagcatcggg aagccaggcc 1920
cgccctgctg acgtccagac tccgcttcat ccccaagcct gacgggctgc ggccgattgt 1980
gaacatggac tacgtcgtgg gagccagaac gttccgcaga gaaaagaggg ccgagcgtct 2040
cacctcgagg gtgaaggcac tgttcagcgt gctcaactac gagcgggcgc ggcgccccgg 2100
cctcctgggc gcctctgtgc tgggcctgga cgatatccac agggcctggc gcaccttcgt 2160
gctgcgtgtg cgggcccagg acccgccgcc tgagctgtac tttgtcaagg tggatgtgac 2220
gggcgcgtac gacaccatcc cccaggacag gctcacggag gtcatcgcca gcatcatcaa 2280
accccagaac acgtactgcg tgcgtcggta tgccgtggtc cagaaggccg cccatgggca 2340
cgtccgcaag gccttcaaga gccacgtctc taccttgaca gacctccagc cgtacatgcg 2400
acagttcgtg gctcacctgc aggagaccag cccgctgagg gatgccgtcg tcatcgagca 2460
gagctcctcc ctgaatgagg ccagcagtgg cctcttcgac gtcttcctac gcttcatgtg 2520
ccaccacgcc gtgcgcatca ggggcaagtc ctacgtccag tgccagggga tcccgcaggg 2580
ctccatcctc tccacgctgc tctgcagcct gtgctacggc gacatggaga acaagctgtt 2640
tgcggggatt cggcgggacg ggctgctcct gcgtttggtg gatgatttct tgttggtgac 2700
acctcacctc acccacgcga aaaccttcct caggaccctg gtccgaggtg tccctgagta 2760
tggctgcgtg gtgaacttgc ggaagacagt ggtgaacttc cctgtagaag acgaggccct 2820
gggtggcacg gcttttgttc agatgccggc ccacggccta ttcccctggt gcggcctgct 2880
gctggatacc cggaccctgg aggtgcagag cgactactcc agctatgccc ggacctccat 2940
cagagccagt ctcaccttca accgcggctt caaggctggg aggaacatgc gtcgcaaact 3000
ctttggggtc ttgcggctga agtgtcacag cctgtttctg gatttgcagg tgaacagcct 3060
ccagacggtg tgcaccaaca tctacaagat cctcctgctg caggcgtaca ggtttcacgc 3120
atgtgtgctg cagctcccat ttcatcagca agtttggaag aaccccacat ttttcctgcg 3180
cgtcatctct gacacggcct ccctctgcta ctccatcctg aaagccaaga acgcagggat 3240
gtcgctgggg gccaagggcg ccgccggccc tctgccctcc gaggccgtgc agtggctgtg 3300
ccaccaagca ttcctgctca agctgactcg acaccgtgtc acctacgtgc cactcctggg 3360
gtcactcagg acagcccaga cgcagctgag tcggaagctc ccggggacga cgctgactgc 3420
cctggaggcc gcagccaacc cggcactgcc ctcagacttc aagaccatcc tggactgatg 3480
gccacccgcc cacagccagg ccgagagcag acaccagcag ccctgtcacg ccgggctcta 3540
cgtcccaggg agggaggggc ggcccacacc caggcccgca ccgctgggag tctgaggcct 3600
gagtgagtgt ttggccgagg cctgcatgtc cggctgaagg ctgagtgtcc ggctgaggcc 3660
tgagcgagtg tccagccaag ggctgagtgt ccagcacacc tgccgtcttc acttccccac 3720
aggctggcgc tcggctccac cccagggcca gcttttcctc accaggagcc cggcttccac 3780

tccccacata ggaatagtcc atccccagat tcgccattgt tcacccctcg ccctgccctc 3840
ctttgccttc cacccccacc atccaggtgg agaccctgag aaggaccctg ggagctctgg 3900
gaatttggag tgaccaaagg tgtgccctgt acacaggcga ggaccctgca cctggatggg 3960
ggtccctgtg ggtcaaattg gggggaggtg ctgtgggagt aaaatactga atatatgagt 4020
ttttcagttt tgaaaaaaa 4039

<210> 8
<211> 1069
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 8

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

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

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

850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr
885 890 895

Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe
900 905 910

Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val
915 920 925

Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu
930 935 940

Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
945 950 955 960

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr
965 970 975

Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
980 985 990

Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln
995 1000 1005

Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
1010 1015 1020

Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr
1025 1030 1035

Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu
1040 1045 1050

Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
1055 1060 1065

Asp

<210> 9

<211> 3850

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 9

ctctcctcgc ggcgcgagtt tcaggcagcg ctgcgtcctg ctgcgcacgt gggaagccct 60

ggccccggcc acccccgcga tgccgcgcgc tccccgctgc cgagccgtgc gctccctgct 120

gcgcagccac taccgcgagg tgctgccgct ggccacgttc gtgcggcgcc tggggcccca 180

gggctggcgg ctggtgcagc gcggggaccc ggcggctttc cgcgcgctgg tggcccagtg 240

cctggtgtgc gtgccctggg acgcacggcc gccccccgcc gccccctcct tccgccaggt 300

gtcctgcctg aaggagctgg tggcccgagt gctgcagagg ctgtgcgagc gcggcgcgaa 360

gaacgtgctg gccttcggct tcgcgctgct ggacggggcc cgcgggggcc cccccgaggc 420
cttcaccacc agcgtgcgca gctacctgcc caacacggtg accgacgcac tgcgggggag 480
cggggcgtgg gggctgctgc tgcgccgcgt gggcgacgac gtgctggttc acctgctggc 540
acgctgcgcg ctctttgtgc tggtggctcc cagctgcgcc taccaggtgt gcgggccgcc 600
gctgtaccag ctcggcgctg ccactcaggc ccggcccccg ccacacgcta gtggaccccg 660
aaggcgtctg ggatgcgaac gggcctggaa ccatagcgtc agggaggccg gggtccccct 720
gggcctgcca gccccgggtg cgaggaggcg cgggggcagt gccagccgaa gtctgccgtt 780
gcccaagagg cccaggcgtg gcgctgcccc tgagccggag cggacgcccg ttgggcaggg 840
gtcctgggcc cacccgggca ggacgcgtgg accgagtgac cgtggtttct gtgtggtgtc 900
acctgccaga cccgccgaag aagccacctc tttggagggt gcgctctctg gcacgcgcca 960
ctcccaccca tccgtgggcc gccagcacca cgcgggcccc ccatccacat cgcggccacc 1020
acgtccctgg gacacgcctt gtcccccggt gtacgccgag accaagcact tcctctactc 1080
ctcaggcgac aaggagcagc tgcggccctc cttcctactc agctctctga ggcccagcct 1140
gactggcgct cggaggctcg tggagaccat ctttctgggt tccaggccct ggatgccagg 1200
gactccccgc aggttgcccc gcctgcccca gcgctactgg caaatgcggc ccctgtttct 1260
ggagctgctt gggaaccacg cgcagtgccc ctacggggtg ctcctcaaga cgcactgccc 1320
gctgcgagct gcggtcaccc cagcagccgg tgtctgtgcc cgggagaagc cccagggctc 1380
tgtggcggcc cccgaggagg aggacacaga cccccgtcgc ctggtgcagc tgctccgcca 1440
gcacagcagc ccctggcagg tgtacggctt cgtgcgggcc tgcctgcgcc ggctggtgcc 1500
cccaggcctc tggggctcca ggcacaacga acgccgcttc ctcaggaaca ccaagaagtt 1560
catctccctg gggaagcatg ccaagctctc gctgcaggag ctgacgtgga agatgagcgt 1620
gcgggactgc gcttggctgc gcaggagccc aggggttggc tgtgttccgg ccgcagagca 1680
ccgtctgcgt gaggagatcc tggccaagtt cctgcactgg ctgatgagtg tgtacgtcgt 1740
cgagctgctc aggtctttct tttatgtcac ggagaccacg tttcaaaaga acaggctctt 1800
tttctaccgg aagagtgtct ggagcaagtt gcaaagcatt ggaatcagac agcacttgaa 1860
gagggtgcag ctgcgggagc tgtcggaagc agaggtcagg cagcatcggg aagccaggcc 1920
cgccctgctg acgtccagac tccgcttcat ccccaagcct gacgggctgc ggccgattgt 1980
gaacatggac tacgtcgtgg gagccagaac gttccgcaga gaaaagaggg ccgagcgtct 2040
cacctcgagg gtgaaggcac tgttcagcgt gctcaactac gagcgggcgc ggcgcccggg 2100
cctcctgggc gcctctgtgc tgggcctgga cgatatccac agggcctggc gcaccttcgt 2160
gctgcgtgtg cgggcccagg acccgccgcc tgagctgtac tttgtcaagg tggatgtgac 2220
gggcgcgtac gacaccatcc cccaggacag gctcacggag gtcatcgcca gcatcatcaa 2280
accccagaac acgtactgcg tgcgtcggta tgccgtggtc cagaaggccg cccatgggca 2340
cgtccgcaag gccttcaaga gccacgtctc taccttgaca gacctccagc cgtacatgcg 2400
acagttcgtg gctcacctgc aggagaccag cccgctgagg gatgccgtcg tcatcgagca 2460
gagctcctcc ctgaatgagg ccagcagtgg cctcttcgac gtcttcctac gcttcatgtg 2520
ccaccacgcc gtgcgcatca ggggcaagtc ctacgtccag tgccagggga tcccgcaggg 2580
ctccatcctc tccacgctgc tctgcagcct gtgctacggc gacatggaga acaagctgtt 2640
tgcggggatt cggcgggacg ggctgctcct gcgtttggtg gatgatttct tgttggtgac 2700

acctcacctc acccacgcga aaaccttcct cagctatgcc cggacctcca tcagagccag 2760
tctcaccttc aaccgcggct tcaaggctgg gaggaacatg cgtcgcaaac tctttggggt 2820
cttgcggctg aagtgtcaca gcctgtttct ggatttgcag gtgaacagcc tccagacggt 2880
gtgcaccaac atctacaaga tcctcctgct gcaggcgtac aggtttcacg catgtgtgct 2940
gcagctccca tttcatcagc aagtttggaa gaaccccaca tttttcctgc gcgtcatctc 3000
tgacacggcc tccctctgct actccatcct gaaagccaag aacgcaggga tgtcgctggg 3060
ggccaagggc gccgccggcc ctctgccctc cgaggccgtg cagtggctgt gccaccaagc 3120
attcctgctc aagctgactc gacaccgtgt cacctacgtg ccactcctgg ggtcactcag 3180
gacagcccag acgcagctga gtcggaagct cccggggacg acgctgactg ccctggaggc 3240
cgcagccaac ccggcactgc cctcagactt caagaccatc ctggactgat ggccacccgc 3300
ccacagccag gccgagagca gacaccagca gccctgtcac gccgggctct acgtcccagg 3360
gagggagggg cggcccacac ccaggcccgc accgctggga gtctgaggcc tgagtgagtg 3420
tttggccgag gcctgcatgt ccggctgaag gctgagtgtc cggctgaggc ctgagcgagt 3480
gtccagccaa gggctgagtg tccagcacac ctgccgtctt cacttcccca caggctggcg 3540
ctcggctcca ccccagggcc agcttttcct caccaggagc ccggcttcca ctccccacat 3600
aggaatagtc catccccaga ttcgccattg ttcacccctc gccctgccct cctttgcctt 3660
ccacccccac catccaggtg gagaccctga gaaggaccct gggagctctg ggaatttgga 3720
gtgaccaaag gtgtgccctg tacacaggcg aggaccctgc acctggatgg gggtccctgt 3780
gggtcaaatt ggggggaggt gctgtgggag taaaatactg aatatatgag tttttcagtt 3840
ttgaaaaaaa 3850

<210> 10
<211> 1122
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 10

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

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

420 425 430

Thr Ser Pro Pro His Leu Met Asp Leu Leu Arg Leu His Ser Ser Pro
435 440 445

Trp Gln Val Tyr Gly Phe Leu Arg Ala Cys Leu Cys Lys Val Val Ser
450 455 460

Ala Ser Leu Trp Gly Thr Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Phe Lys Asn
465 470 475 480

Leu Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys Tyr Gly Lys Leu Ser Leu Gln
485 490 495

Glu Leu Met Trp Lys Met Lys Val Glu Asp Cys His Trp Leu Arg Ser
500 505 510

Ser Pro Gly Lys Asp Arg Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu
515 520 525

Arg Ile Leu Ala Thr Phe Leu Phe Trp Leu Met Asp Thr Tyr Val Val
530 535 540

Gln Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Ile Thr Glu Ser Thr Phe Gln Lys
545 550 555 560

Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser
565 570 575

Ile Gly Val Arg Gln His Leu Glu Arg Val Arg Leu Arg Glu Leu Ser
580 585 590

Gln Glu Glu Val Arg His His Gln Asp Thr Trp Leu Ala Met Pro Ile
595 600 605

Cys Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asn Gly Leu Arg Pro Ile Val
610 615 620

Asn Met Ser Tyr Ser Met Gly Thr Arg Ala Leu Gly Arg Arg Lys Gln
625 630 635 640

Ala Gln His Phe Thr Gln Arg Leu Lys Thr Leu Phe Ser Met Leu Asn
645 650 655

Tyr Glu Arg Thr Lys His Pro His Leu Met Gly Ser Ser Val Leu Gly
660 665 670

Met Asn Asp Ile Tyr Arg Thr Trp Arg Ala Phe Val Leu Arg Val Arg
675 680 685

Ala Leu Asp Gln Thr Pro Arg Met Tyr Phe Val Lys Ala Asp Val Thr
690 695 700

Gly Ala Tyr Asp Ala Ile Pro Gln Gly Lys Leu Val Glu Val Val Ala
705 710 715 720

Asn Met Ile Arg His Ser Glu Ser Thr Tyr Cys Ile Arg Gln Tyr Ala
725 730 735

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

1040 1045 1050
Ser Phe Pro Pro Glu Ala Ala His Trp Leu Cys Tyr Gln Ala Phe
1055 1060 1065
Leu Leu Lys Leu Ala Ala His Ser Val Ile Tyr Lys Cys Leu Leu
1070 1075 1080
Gly Pro Leu Arg Thr Ala Gln Lys Leu Leu Cys Arg Lys Leu Pro
1085 1090 1095
Glu Ala Thr Met Thr Ile Leu Lys Ala Ala Ala Asp Pro Ala Leu
1100 1105 1110
Ser Thr Asp Phe Gln Thr Ile Leu Asp
1115 1120

<210> 11
<211> 729
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 11

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

180 185 190

Val Arg Leu Arg Glu Leu Ser Gln Glu Glu Val Arg His His Gln Asp

195 200 205

Thr Trp Leu Ala Met Pro Ile Cys Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro

210 215 220

Asn Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Ser Tyr Ser Met Gly Thr Arg

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Leu Phe Ser Met Leu Asn Tyr Glu Arg Thr Lys His Pro His Leu

260 265 270

Met Gly Ser Ser Val Leu Gly Met Asn Asp Ile Tyr Arg Thr Trp Arg

275 280 285

Ala Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Leu Asp Gln Thr Pro Arg Met Tyr

290 295 300

Phe Val Lys Ala Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Ala Ile Pro Gln Gly

305 310 315 320

Lys Leu Val Glu Val Val Ala Asn Met Ile Arg His Ser Glu Ser Thr

325 330 335

Tyr Cys Ile Arg Gln Tyr Ala Val Val Arg Arg Asp Ser Gln Gly Gln

340 345 350

Val His Lys Ser Phe Arg Arg Gln Val Thr Thr Leu Ser Asp Leu Gln

355 360 365

Pro Tyr Met Gly Gln Phe Leu Lys His Leu Gln Asp Ser Asp Ala Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Ser Ser Ser Leu Phe Asp Phe Phe Leu His Phe Leu Arg His Ser

405 410 415

Val Val Lys Ile Gly Asp Arg Cys Tyr Thr Gln Cys Gln Gly Ile Pro

420 425 430

Gln Gly Ser Ser Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Phe Gly Asp

435 440 445

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Glu Val Gln Arg Asp Gly Leu Leu Leu

450 455 460

Arg Phe Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Asp Gln Ala

465 470 475 480

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

485 490 495

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

<210> 12
<211> 584
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 12
Met Asp Thr Tyr Val Val Gln Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Ile Thr
1 5 10 15
Glu Ser Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val
20 25 30

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

340 345 350

Ile Asn Leu Gln Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Pro Gly Thr
355 360 365

Leu Gly Gly Ala Ala Pro Tyr Gln Leu Pro Ala His Cys Leu Phe Pro
370 375 380

Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Gln Thr Leu Glu Val Phe Cys Asp
385 390 395 400

Tyr Ser Gly Tyr Ala Gln Thr Ser Ile Lys Thr Ser Leu Thr Phe Gln
405 410 415

Ser Val Phe Lys Ala Gly Lys Thr Met Arg Asn Lys Leu Leu Ser Val
420 425 430

Leu Arg Leu Lys Cys His Gly Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser
435 440 445

Leu Gln Thr Val Cys Ile Asn Ile Tyr Lys Ile Phe Leu Leu Gln Ala
450 455 460

Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Ile Gln Leu Pro Phe Asp Gln Arg Val
465 470 475 480

Arg Lys Asn Leu Thr Phe Phe Leu Gly Ile Ile Ser Ser Gln Ala Ser
485 490 495

Cys Cys Tyr Ala Ile Leu Lys Val Lys Asn Pro Gly Met Thr Leu Lys
500 505 510

Ala Ser Gly Ser Phe Pro Pro Glu Ala Ala His Trp Leu Cys Tyr Gln
515 520 525

Ala Phe Leu Leu Lys Leu Ala Ala His Ser Val Ile Tyr Lys Cys Leu
530 535 540

Leu Gly Pro Leu Arg Thr Ala Gln Lys Leu Leu Cys Arg Lys Leu Pro
545 550 555 560

Glu Ala Thr Met Thr Ile Leu Lys Ala Ala Ala Asp Pro Ala Leu Ser
565 570 575

Thr Asp Phe Gln Thr Ile Leu Asp
580

<210> 13
<211> 1125
<212> PRT
<213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)
<400> 13

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Pro Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

Arg Tyr Arg Glu Val Trp Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly

20 25 30

Leu Glu Gly Ser Arg Leu Val Gln Pro Gly Asp Pro Lys Val Phe Arg
35 40 45

Thr Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Gly Ser Gln Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Asp Leu Ser Phe His Gln Val Ser Ser Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ser Arg Val Val Gln Lys Leu Cys Glu Arg Gly Glu Arg Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asn Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Met Ala Phe Thr Thr Ser Val His Ser Tyr Leu Pro Asn Ser Val Thr
115 120 125

Glu Ser Leu Cys Val Ser Gly Ala Trp Met Leu Leu Leu Ser Arg Val
130 135 140

Gly Asp Asp Leu Leu Val Tyr Leu Leu Ser His Cys Ala Leu Tyr Leu
145 150 155 160

Leu Val Pro Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Ser Pro Leu Tyr
165 170 175

Gln Ile Cys Ala Thr Thr Asp Thr Trp Ser Ser Val Pro Ala Gly Tyr
180 185 190

Arg Pro Thr Arg Pro Val Gly Gly Asn Phe Thr Asn Leu Gly Ser Ala
195 200 205

His Gln Ile Lys Asn Ser Gly His Gln Glu Ala Pro Lys Pro Gln Ala
210 215 220

Leu Pro Ser Arg Gly Thr Lys Arg Leu Leu Ser Leu Thr Ser Thr Asn
225 230 235 240

Val Pro Ser Ala Lys Lys Ala Arg Phe Glu Pro Ala Leu Arg Val Asp
245 250 255

Lys Gly Pro His Arg Gln Val Val Pro Thr Pro Ser Gly Lys Thr Trp
260 265 270

Ala Pro Ser Pro Ala Ala Ser Pro Lys Val Pro Pro Ala Ala Lys Asn
275 280 285

Leu Ser Leu Lys Gly Lys Ala Ser Asp Pro Ser Leu Ser Gly Ser Val
290 295 300

Cys Cys Lys His Lys Pro Ser Ser Ser Ser Leu Leu Ser Ser Pro Pro
305 310 315 320

Gln Asp Ala Glu Lys Leu Arg Pro Phe Thr Glu Thr Arg His Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Gly Gly Gly Gln Glu Glu Leu Asn Pro Ser Phe Leu Leu
340 345 350
Asn Ser Leu Pro Pro Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Ile
355 360 365
Ile Phe Leu Gly Ser Arg Pro Arg Thr Ser Gly Pro Phe Cys Arg Thr
370 375 380
Arg Arg Leu Pro Arg Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Gln Gln
385 390 395 400
Leu Leu Met Asn His Ala Lys Cys Gln Tyr Val Arg Phe Leu Arg Ser
405 410 415
His Cys Arg Phe Arg Thr Ala Asn Gln Arg Val Pro Asp Ala Met Asp
420 425 430
Thr Ser Pro Ser His Leu Thr Ser Leu Leu Arg Leu His Ser Ser Pro
435 440 445
Trp Gln Val Tyr Gly Phe Leu Arg Ala Cys Leu Arg Glu Leu Val Pro
450 455 460
Ala Gly Leu Trp Gly Thr Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Lys Asn
465 470 475 480
Val Lys Lys Phe Ile Ser Leu Gly Lys Tyr Ala Lys Leu Ser Leu Gln
485 490 495
Glu Leu Met Trp Arg Val Lys Val Glu Asp Cys His Trp Leu Arg Ser
500 505 510
Ser Pro Glu Lys Asp Thr Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu
515 520 525
Arg Ile Leu Ala Met Phe Leu Phe Trp Leu Met Asp Thr Tyr Val Val
530 535 540
Gln Leu Leu Arg Ser Phe Phe Tyr Ile Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys
545 550 555 560
Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser
565 570 575
Ile Gly Ile Arg Gln Gln Leu Glu Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser
580 585 590
Gln Glu Glu Val Lys His His Gln Asp Thr Trp Leu Ala Met Pro Ile
595 600 605
Cys Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Leu Asn Gly Leu Arg Pro Ile Val
610 615 620
Asn Met Ser Tyr Gly Met Asp Thr Arg Ala Phe Gly Lys Lys Lys Gln
625 630 635 640
Thr Gln Cys Phe Thr Gln Ser Leu Lys Thr Leu Phe Ser Val Leu Asn

645 650 655
Tyr Glu Arg Thr Lys His Pro Asn Leu Met Gly Ala Ser Val Leu Gly
660 665 670
Thr Ser Asp Ser Tyr Arg Ile Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg
675 680 685
Ala Leu Asp Gln Thr Pro Arg Met Tyr Phe Val Lys Ala Asp Val Thr
690 695 700
Gly Ala Tyr Asp Ala Ile Pro Gln Asp Lys Leu Val Glu Ile Val Ala
705 710 715 720
Asn Ile Ile Arg Arg Ser Glu Ser Met Tyr Cys Ile Arg Gln Tyr Ala
725 730 735
Val Val Gln Lys Asp Ser Gln Gly Gln Val His Lys Ser Phe Arg Arg
740 745 750
Gln Val Ser Thr Leu Ser Asp Leu Gln Pro Tyr Met Gly Gln Phe Thr
755 760 765
Lys His Leu Gln Asp Ser Asp Ala Ser Ala Leu Arg Asn Ser Val Val
770 775 780
Ile Glu Gln Ser Ile Ser Met Asn Glu Thr Gly Ser Ser Leu Leu His
785 790 795 800
Phe Phe Leu Arg Phe Val Arg His Ser Val Val Lys Ile Asp Gly Arg
805 810 815
Phe Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro Gln Gly Ser Ser Leu Ser Thr
820 825 830
Leu Leu Cys Ser Leu Cys Phe Gly Asp Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala
835 840 845
Glu Val Gln Gln Asp Gly Leu Leu Leu Arg Phe Val Asp Asp Phe Leu
850 855 860
Leu Val Thr Pro His Leu Ala His Ala Lys Ala Phe Leu Ser Thr Leu
865 870 875 880
Val His Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys Met Ile Asn Leu Gln Lys Thr
885 890 895
Val Val Asn Phe Pro Val Glu Thr Gly Ala Leu Gly Gly Ala Ala Pro
900 905 910
His Gln Leu Pro Ala His Cys Leu Phe Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu
915 920 925
Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Phe Cys Asp Tyr Ser Gly Tyr Gly Arg
930 935 940
Thr Ser Ile Lys Met Ser Leu Thr Phe Gln Gly Val Ser Arg Ala Gly
945 950 955 960

Lys Thr Met Arg Tyr Lys Leu Leu Ser Val Leu Arg Leu Lys Cys His
965 970 975
Gly Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Ile
980 985 990
Asn Ile Tyr Lys Ile Phe Leu Leu Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys
995 1000 1005
Val Ile Arg Leu Pro Phe Gly Gln His Val Arg Lys Asn His Ala
1010 1015 1020
Phe Phe Leu Gly Ile Ile Ser Asn Leu Ala Ser Cys Cys Tyr Ala
1025 1030 1035
Ile Leu Lys Val Lys Asn Pro Gly Val Ser Leu Arg Ala Lys Gly
1040 1045 1050
Ala Pro Gly Ser Phe Pro Pro Glu Ala Thr Arg Trp Leu Cys Tyr
1055 1060 1065
Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Ala Ala His Ser Val Thr Tyr Lys
1070 1075 1080
Cys Leu Leu Gly Pro Leu Arg Thr Ala Gln Lys Gln Leu Cys Arg
1085 1090 1095
Lys Leu Pro Glu Ala Thr Met Thr Leu Leu Lys Thr Ala Ala Asp
1100 1105 1110
Pro Ala Leu Ser Thr Asp Phe Gln Thr Ile Leu Asp
1115 1120 1125

<210> 14
<211> 4335
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 14

gttcccagcc tcatcttttt cgtcgtggac tctcagtggc ctgggtcctg gctgttttct 60
aagcacaccc ttgcatcttg gttcccgcac gtgggaggcc catcccggcc ttgagcacaa 120
tgacccgcgc tcctcgttgc cccgcggtgc gctctctgct gcgcagccga taccgggagg 180
tgtggccgct ggcaaccttt gtgcggcgcc tggggcccga gggcaggcgg cttgtgcaac 240
ccggggaccc gaagatctac cgcactttgg ttgcccaatg cctagtgtgc atgcactggg 300
gctcacagcc tccacctgcc gacctttcct tccaccaggt gtcatccctg aaagagctgg 360
tggccagggt tgtgcagaga ctctgcgagc gcaacgagag aaacgtgctg gcttttggct 420
ttgagctgct taacgaggcc agaggcgggc ctcccatggc cttcactagt agcgtgcgta 480
gctacttgcc caacactgtt attgagaccc tgcgtgtcag tggtgcatgg atgctactgt 540
tgagccgagt gggcgacgac ctgctggtct acctgctggc acactgtgct ctttatcttc 600
tggtgccccc cagctgtgcc taccaggtgt gtgggtctcc cctgtaccaa atttgtgcca 660
ccacggatat ctggccctct gtgtccgcta gttacaggcc cacccgaccc gtgggcagga 720

atttcactaa ccttaggttc ttacaacaga tcaagagcag tagtcgccag gaagcaccga 780
aacccctggc cttgccatct cgaggtacaa agaggcatct gagtctcacc agtacaagtg 840
tgccttcagc taagaaggcc agatgctatc ctgtcccgag agtggaggag ggaccccaca 900
ggcaggtgct accaacccca tcaggcaaat catgggtgcc aagtcctgct cggtcccccg 960
aggtgcctac tgcagagaaa gatttgtctt ctaaaggaaa ggtgtctgac ctgagtctct 1020
ctgggtcggt gtgctgtaaa cacaagccca gctccacatc tctgctgtca ccaccccgcc 1080
aaaatgcctt tcagctcagg ccatttattg agaccagaca tttcctttac tccaggggag 1140
atggccaaga gcgtctaaac ccctcattcc tactcagcaa cctccagcct aacttgactg 1200
gggccaggag actggtggag atcatctttc tgggctcaag gcctaggaca tcaggaccac 1260
tctgcaggac acaccgtcta tcgcgtcgat actggcagat gcggcccctg ttccaacagc 1320
tgctggtgaa ccatgcagag tgccaatatg tcagactcct caggtcacat tgcaggtttc 1380
gaacagcaaa ccaacaggtg acagatgcct tgaacaccag cccaccgcac ctcatggatt 1440
tgctccgcct gcacagcagt ccctggcagg tatatggttt tcttcgggcc tgtctctgca 1500
aggtggtgtc tgctagtctc tggggtacca ggcacaatga gcgccgcttc tttaagaact 1560
taaagaagtt catctcgttg gggaaatacg gcaagctatc actgcaggaa ctgatgtgga 1620
agatgaaagt agaggattgc cactggctcc gcagcagccc ggggaaggac cgtgtccccg 1680
ctgcagagca ccgtctgagg gagaggatcc tggctacgtt cctgttctgg ctgatggaca 1740
catacgtggt acagctgctt aggtcattct tttacatcac agagagcaca ttccagaaga 1800
acaggctctt cttctaccgt aagagtgtgt ggagcaagct gcagagcatt ggagtcaggc 1860
aacaccttga gagagtgcgg ctacgggagc tgtcacaaga ggaggtcagg catcaccagg 1920
acacctggct agccatgccc atctgcagac tgcgcttcat ccccaagccc aacggcctgc 1980
ggcccattgt gaacatgagt tatagcatgg gtaccagagc tttgggcaga aggaagcagg 2040
cccagcattt cacccagcgt ctcaagactc tcttcagcat gctcaactat gagcggacaa 2100
aacatcctca ccttatgggg tcttctgtac tgggtatgaa tgacatctac aggacctggc 2160
gggcctttgt gctgcgtgtg cgtgctctgg accagacacc caggatgtac tttgttaagg 2220
cagatgtgac cggggcctat gatgccatcc cccagggtaa gctggtggag gttgttgcca 2280
atatgatcag gcactcggag agcacgtact gtatccgcca gtatgcagtg gtccggagag 2340
atagccaagg ccaagtccac aagtccttta ggagacaggt caccaccctc tctgacctcc 2400
agccatacat gggccagttc cttaagcatc tgcaggattc agatgccagt gcactgagga 2460
actccgttgt catcgagcag agcatctcta tgaatgagag cagcagcagc ctgtttgact 2520
tcttcctgca cttcctgcgt cacagtgtcg taaagattgg tgacaggtgc tatacgcagt 2580
gccagggcat cccccagggc tccagcctat ccaccctgct ctgcagtctg tgtttcggag 2640
acatggagaa caagctgttt gctgaggtgc agcgggatgg gttgctttta cgttttgttg 2700
atgactttct gttggtgacg cctcacttgg accaagcaaa aaccttcctc agcaccctgg 2760
tccatggcgt tcctgagtat gggtgcatga taaacttgca gaagacagtg gtgaacttcc 2820
ctgtggagcc tggtaccctg ggtggtgcag ctccatacca gctgcctgct cactgcctgt 2880
ttccctggtg tggcttgctg ctggacactc agactttgga ggtgttctgt gactactcag 2940
gttatgccca gacctcaatt aagacgagcc tcaccttcca gagtgtcttc aaagctggga 3000
agaccatgcg gaacaagctc ctgtcggtct tgcggttgaa gtgtcacggt ctatttctag 3060

acttgcaggt gaacagcctc cagacagtct gcatcaatat atacaagatc ttcctgcttc 3120
aggcctacag gttccatgca tgtgtgattc agcttccctt tgaccagcgt gttaggaaga 3180
acctcacatt ctttctgggc atcatctcca gccaagcatc ctgctgctat gctatcctga 3240
aggtcaagaa tccaggaatg acactaaagg cctctggctc ctttcctcct gaagccgcac 3300
attggctctg ctaccaggcc ttcctgctca agctggctgc tcattctgtc atctacaaat 3360
gtctcctggg acctctgagg acagcccaaa aactgctgtg ccggaagctc ccagaggcga 3420
caatgaccat ccttaaagct gcagctgacc cagccctaag cacagacttt cagaccattt 3480
tggactaacc ctgtctcctt ccgctagatg aacatgggca ttgtagcctc agcactcctg 3540
gatccacgtc acaagaggga ctggtcagtt gtgaggctag gtcatcctcc aaacctctgt 3600
gtcatgggtg gtatgggaga ttgtcccagt gccttgtttc ctgtaacagg cttgatttct 3660
ttcctgatgc cctcagggag gcagatccta tccctttttag tggcagggat ccactagcac 3720
cagcacatga ggagtgcacc cagtgcacat gggcactggg acagtggaca ggtgtgagat 3780
tcctgggccc tggagtcttt tcacacctaa ccatggagcc tgtcccagta catcagagtg 3840
cctcggagat gaaaaaggac atcgagccag tgacctaaat tacagcctga atatactctg 3900
aattcatgtg actgccttag ctacttctct actgctgtgt agtaaaacac caagccaact 3960
tataaaagca ggattttcct actggagcag cagctgagag tttacatctt gatccataag 4020
cacaaaagca caagacagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag 4080
agagagagag agagagtcag tcagtcagtc taacaaataa ctaagaaagg tgaagggtga 4140
tgaagtccac agggatcacg ctagggatgt tccatgcctt ctctgaagct aagattcctt 4200
ggcagcgttt gacagtaacc atagtgggta cctactgaga tcactataaa gataaaatag 4260
ggggaagcgt atttgtactg aactggaaaa acatacaaat aaagagtaaa tcatggaaaa 4320
aaaaaaaaaa aaaaa 4335

<210> 15
<211> 3826
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 15

gttcccagcc tcatcttttt cgtcgtggac tctcagtggc ctgggtcctg gctgttttct 60
aagcacaccc ttgcatcttg gttcccgcac gtgggaggcc catcccggcc ttgagcacaa 120
tgacccgcgc tcctcgttgc cccgcggtgc gctctctgct gcgcagccga taccgggagg 180
tgtggccgct ggcaaccttt gtgcggcgcc tggggcccga gggcaggcgg cttgtgcaac 240
ccggggaccc gaagatctac cgcactttgg ttgcccaatg cctagtgtgc atgcactggg 300
gctcacagcc tccacctgcc gacctttcct tccaccaggt gtcatccctg aaagagctgg 360
tggccagggt tgtgcagaga ctctgcgagc gcaacgagag aaacgtgctg gcttttggct 420
ttgagctgct taacgaggcc agaggcgggc ctcccatggc cttcactagt agcgtgcgta 480
gctacttgcc caacactgtt attgagaccc tgcgtgtcag tggtgcatgg atgctactgt 540
tgagccgagt gggcgacgac ctgctggtct acctgctggc acactgtgct ctttatcttc 600
tggtgccccc cagctgtgcc taccagggga gatggccaag agcgtctaaa cccctcattc 660
ctactcagca acctccagcc taacttgact ggggccagga gactggtgga gatcatcttt 720

ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca ctctgcagga cacaccgtct atcgcgtcga 780
tactggcaga tgcggcccct gttccaacag ctgctggtga accatgcaga gtgccaatat 840
gtcagactcc tcaggtcaca ttgcaggttt cgaacagcaa accaacaggt gacagatgcc 900
ttgaacacca gcccaccgca cctcatggat ttgctccgcc tgcacagcag tccctggcag 960
gtatatggtt ttcttcgggc ctgtctctgc aaggtggtgt ctgctagtct ctggggtacc 1020
aggcacaatg agcgccgctt ctttaagaac ttaaagaagt tcatctcgtt ggggaaatac 1080
ggcaagctat cactgcagga actgatgtgg aagatgaaag tagaggattg ccactggctc 1140
cgcagcagcc cggggaagga ccgtgtcccc gctgcagagc accgtctgag ggagaggatc 1200
ctggctacgt tcctgttctg gctgatggac acatacgtgg tacagctgct taggtcattc 1260
ttttacatca cagagagcac attccagaag aacaggctct tcttctaccg taagagtgtg 1320
tggagcaagc tgcagagcat tggagtcagg caacaccttg agagagtgcg gctacgggag 1380
ctgtcacaag aggaggtcag gcatcaccag gacacctggc tagccatgcc catctgcaga 1440
ctgcgcttca tccccaagcc caacggcctg cggcccattg tgaacatgag ttatagcatg 1500
ggtaccagag ctttgggcag aaggaagcag gcccagcatt tcacccagcg tctcaagact 1560
ctcttcagca tgctcaacta tgagcggaca aaacatcctc accttatggg gtcttctgta 1620
ctgggtatga atgacatcta caggacctgg cgggcctttg tgctgcgtgt gcgtgctctg 1680
gaccagacac ccaggatgta ctttgttaag gcagatgtga ccggggccta tgatgccatc 1740
ccccagggta agctggtgga ggttgttgcc aatatgatca ggcactcgga gagcacgtac 1800
tgtatccgcc agtatgcagt ggtccggaga gatagccaag gccaagtcca caagtccttt 1860
aggagacagg tcaccaccct ctctgacctc cagccataca tgggccagtt ccttaagcat 1920
ctgcaggatt cagatgccag tgcactgagg aactccgttg tcatcgagca gagcatctct 1980
atgaatgaga gcagcagcag cctgtttgac ttcttcctgc acttcctgcg tcacagtgtc 2040
gtaaagattg gtgacaggtg ctatacgcag tgccagggca tcccccaggg ctccagccta 2100
tccaccctgc tctgcagtct gtgtttcgga gacatggaga acaagctgtt tgctgaggtg 2160
cagcgggatg ggttgctttt acgttttgtt gatgactttc tgttggtgac gcctcacttg 2220
gaccaagcaa aaaccttcct cagcaccctg gtccatggcg ttcctgagta tgggtgcatg 2280
ataaacttgc agaagacagt ggtgaacttc cctgtggagc ctggtaccct gggtggtgca 2340
gctccatacc agctgcctgc tcactgcctg tttccctggt gtggcttgct gctggacact 2400
cagactttgg aggtgttctg tgactactca ggttatgccc agacctcaat taagacgagc 2460
ctcaccttcc agagtgtctt caaagctggg aagaccatgc ggaacaagct cctgtcggtc 2520
ttgcggttga agtgtcacgg tctatttcta gacttgcagg tgaacagcct ccagacagtc 2580
tgcatcaata tatacaagat cttcctgctt caggcctaca ggttccatgc atgtgtgatt 2640
cagcttccct ttgaccagcg tgttaggaag aacctcacat tctttctggg catcatctcc 2700
agccaagcat cctgctgcta tgctatcctg aaggtcaaga atccaggaat gacactaaag 2760
gcctctggct cctttcctcc tgaagccgca cattggctct gctaccaggc cttcctgctc 2820
aagctggctg ctcattctgt catctacaaa tgtctcctgg gacctctgag gacagcccaa 2880
aaactgctgt gccggaagct cccagaggcg acaatgacca tccttaaagc tgcagctgac 2940
ccagccctaa gcacagactt tcagaccatt ttggactaac cctgtctcct tccgctagat 3000
gaacatgggc attgtagcct cagcactcct ggatccacgt cacaagaggg actggtcagt 3060

tgtgaggcta ggtcatcctc caaacctctg tgtcatgggt ggtatgggag attgtcccag 3120
tgccttgttt cctgtaacag gcttgatttc tttcctgatg ccctcaggga ggcagatcct 3180
atccctttta gtggcaggga tccactagca ccagcacatg aggagtgcac ccagtgcaca 3240
tgggcactgg gacagtggac aggtgtgaga ttcctgggcc ctggagtctt ttcacaccta 3300
accatggagc ctgtcccagt acatcagagt gcctcggaga tgaaaaagga catcgagcca 3360
gtgacctaaa ttacagcctg aatatactct gaattcatgt gactgcctta gctacttctc 3420
tactgctgtg tagtaaaaca ccaagccaac ttataaaagc aggattttcc tactggagca 3480
gcagctgaga gtttacatct tgatccataa gcacaaaagc acaagacaga gagagagaga 3540
gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagtca gtcagtcagt 3600
ctaacaaata actaagaaag gtgaagggtg atgaagtcca cagggatcac gctagggatg 3660
ttccatgcct tctctgaagc taagattcct tggcagcgtt tgacagtaac catagtgggt 3720
acctactgag atcactataa agataaaata gggggaagcg tatttgtact gaactggaaa 3780
aacatacaaa taaagagtaa atcatggaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 3826

<210> 16
<211> 3633
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 16

gttcccagcc tcatcttttt cgtcgtggac tctcagtggc ctgggtcctg gctgttttct 60
aagcacaccc ttgcatcttg gttcccgcac gtgggaggcc catcccggcc ttgagcacaa 120
tgacccgcgc tcctcgttgc cccgcggtgc gctctctgct gcgcagccga taccgggagg 180
tgtggccgct ggcaaccttt gtgcggcgcc tggggcccga gggcaggcgg cttgtgcaac 240
ccggggaccc gaagatctac cgcactttgg ttgcccaatg cctagtgtgc atgcactggg 300
gctcacagcc tccacctgcc gacctttcct tccaccaggt gtcatccctg aaagagctgg 360
tggccagggt tgtgcagaga ctctgcgagc gcaacgagag aaacgtgctg gcttttggct 420
ttgagctgct taacgaggcc agaggcgggc ctcccatggc cttcactagt agcgtgcgta 480
gctacttgcc caacactgtt attgagaccc tgcgtgtcag tggtgcatgg atgctactgt 540
tgagccgagt gggcgacgac ctgctggtct acctgctggc acactgtgct ctttatcttc 600
tggtgccccc cagctgtgcc taccagggga gatggccaag agcgtctaaa cccctcattc 660
ctactcagca acctccagcc taacttgact ggggccagga gactggtgga gatcatcttt 720
ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca ctctgcagga cacaccgtct atcgcgtcga 780
tactggcaga tgcggcccct gttccaacag ctgctggtga accatgcaga gtgccaatat 840
gtcagactcc tcaggtcaca ttgcaggttt cgaacagcaa accaacaggt gacagatgcc 900
ttgaacacca gcccaccgca cctcatggat ttgctccgcc tgcacagcag tccctggcag 960
ggaaggaccg tgtccccgct gcagagcacc gtctgaggga gaggatcctg gctacgttcc 1020
tgttctggct gatggacaca tacgtggtac agctgcttag gtcattcttt tacatcacag 1080
agagcacatt ccagaagaac aggctcttct tctaccgtaa gagtgtgtgg agcaagctgc 1140
agagcattgg agtcaggcaa caccttgaga gagtgcggct acgggagctg tcacaagagg 1200
aggtcaggca tcaccaggac acctggctag ccatgcccat ctgcagactg cgcttcatcc 1260

ccaagcccaa cggcctgcgg cccattgtga acatgagtta tagcatgggt accagagctt 1320
tgggcagaag gaagcaggcc cagcatttca cccagcgtct caagactctc ttcagcatgc 1380
tcaactatga gcggacaaaa catcctcacc ttatggggtc ttctgtactg ggtatgaatg 1440
acatctacag gacctggcgg gcctttgtgc tgcgtgtgcg tgctctggac cagacaccca 1500
ggatgtactt tgttaaggca gatgtgaccg gggcctatga tgccatcccc cagggtaagc 1560
tggtggaggt tgttgccaat atgatcaggc actcggagag cacgtactgt atccgccagt 1620
atgcagtggt ccggagagat agccaaggcc aagtccacaa gtcctttagg agacaggtca 1680
ccaccctctc tgacctccag ccatacatgg gccagttcct taagcatctg caggattcag 1740
atgccagtgc actgaggaac tccgttgtca tcgagcagag catctctatg aatgagagca 1800
gcagcagcct gtttgacttc ttcctgcact tcctgcgtca cagtgtcgta aagattggtg 1860
acaggtgcta tacgcagtgc cagggcatcc cccagggctc cagcctatcc accctgctct 1920
gcagtctgtg tttcggagac atggagaaca agctgtttgc tgaggtgcag cgggatgggt 1980
tgcttttacg ttttgttgat gactttctgt tggtgacgcc tcacttggac caagcaaaaa 2040
ccttcctcag caccctggtc catggcgttc ctgagtatgg gtgcatgata aacttgcaga 2100
agacagtggt gaacttccct gtggagcctg gtaccctggg tggtgcagct ccataccagc 2160
tgcctgctca ctgcctgttt ccctggtgtg gcttgctgct ggacactcag actttggagg 2220
tgttctgtga ctactcaggt tatgcccaga cctcaattaa gacgagcctc accttccaga 2280
gtgtcttcaa agctgggaag accatgcgga acaagctcct gtcggtcttg cggttgaagt 2340
gtcacggtct atttctagac ttgcaggtga acagcctcca gacagtctgc atcaatatat 2400
acaagatctt cctgcttcag gcctacaggt tccatgcatg tgtgattcag cttccctttg 2460
accagcgtgt taggaagaac ctcacattct ttctgggcat catctccagc caagcatcct 2520
gctgctatgc tatcctgaag gtcaagaatc caggaatgac actaaaggcc tctggctcct 2580
ttcctcctga agccgcacat tggctctgct accaggcctt cctgctcaag ctggctgctc 2640
attctgtcat ctacaaatgt ctcctgggac ctctgaggac agcccaaaaa ctgctgtgcc 2700
ggaagctccc agaggcgaca atgaccatcc ttaaagctgc agctgaccca gccctaagca 2760
cagactttca gaccattttg gactaaccct gtctccttcc gctagatgaa catgggcatt 2820
gtagcctcag cactcctgga tccacgtcac aagagggact ggtcagttgt gaggctaggt 2880
catcctccaa acctctgtgt catgggtggt atgggagatt gtcccagtgc cttgtttcct 2940
gtaacaggct tgatttcttt cctgatgccc tcagggaggc agatcctatc ccttttagtg 3000
gcagggatcc actagcacca gcacatgagg agtgcaccca gtgcacatgg gcactgggac 3060
agtggacagg tgtgagattc ctgggccctg gagtctttc acacctaacc atggagcctg 3120
tcccagtaca tcagagtgcc tcggagatga aaaaggacat cgagccagtg acctaaatta 3180
cagcctgaat atactctgaa ttcatgtgac tgccttagct acttctctac tgctgtgtag 3240
taaaacacca agccaactta taaaagcagg attttcctac tggagcagca gctgagagtt 3300
tacatcttga tccataagca caaaagcaca agacagagag agagagagag agagagagag 3360
agagagagag agagagagag agagagagag agagtcagtc agtcagtcta acaaataact 3420
aagaaaggtg aagggtgatg aagtccacag ggatcacgct agggatgttc catgccttct 3480
ctgaagctaa gattccttgg cagcgtttga cagtaaccat agtgggtacc tactgagatc 3540
actataaaga taaaataggg ggaagcgtat ttgtactgaa ctggaaaaac atacaaataa 3600

agagtaaatc atggaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3633

<210> 17

<211> 3378

<212> DNA

<213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)

<400> 17

atgccccgcg ctcctcgttg ccccgccgtg cgctctctac tgcgcagccg atatcgggag 60
gtgtggccgc tggcgacctt tgtgcggcgc ctggggcttg agggcagtcg gcttgtgcaa 120
cccggggacc cgaaggtctt ccgcacgttg gttgcccagt gcctagtgtg cgtgccctgg 180
ggctcacagc cgccacctgc tgacctttcc ttccaccagg tgtcatccct gaaagagctg 240
gtgtccaggg ttgtgcagaa actttgcgag cgcggtgaga ggaatgtgct ggcttttggc 300
tttgcactgc ttaacggggc cagaggtggg cctcccatgg ccttcacgac cagcgtgcat 360
agctacttgc ccaactcggt tactgagtcc ctgtgtgtca gtggtgcatg gatgctactg 420
ttgagccgag tgggcgacga cctgctggtc tacctgctgt cgcactgtgc gctctacctg 480
ctggtgcccc ccagctgtgc ctaccaggtg tgcgggtcac ccctgtacca aatttgtgcc 540
accacggata cctggtcctc tgtgcccgct ggttacaggc ccactcgacc cgtgggcggg 600
aatttcacta accttgggtc cgcacaccag atcaaaaaca gtggtcacca ggaagcacca 660
aaaccccagg ccttgccatc acgaggtacg aagaggcttc tgagtctcac cagtacaaac 720
gtgccttcag ctaagaaggc caggtttgaa cctgccctga gagtggataa gggaccccac 780
aggcaggtgg taccaacccc atcaggcaaa acatgggcgc caagtcctgc tgcgtccccc 840
aaggtgcctc ctgcagcgaa aaacttgtct ttgaaaggaa aggcatctga cccgagtctc 900
tctgggtcgg tgtgctgtaa acacaagccc agctcctcgt ccctgctgtc atcaccaccc 960
caagatgctg aaaagctcag gccattcact gagaccagac atttccttta ctccagggga 1020
ggtggccaag aggagctaaa tccctcattc ctactcaaca gcctcccgcc tagcttgacc 1080
ggggccagga gactggtgga gatcatcttt ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca 1140
ttctgcagga cccgccgcct gccccgtcga tactggcaga tgcgaccccc attccagcag 1200
ctgctcatga accacgcaaa gtgccaatat gtcagattcc tccggtcgca ctgcagattt 1260
cgaacagcaa accagcgggt gccggatgcc atggacacca gcccatccca cctcacgagt 1320
ttgctccggt tacacagcag cccctggcag gtatacggct ttcttcgggc ctgcctccgc 1380
gagctggtgc ctgccggtct ctggggcacc aggcacaatg agcgccgctt cttaaagaac 1440
gtgaagaagt tcatctcgtt ggggaagtac gccaagctat ccctgcagga actgatgtgg 1500
agggtgaaag tggaggactg ccactggctc cgcagcagcc cagagaagga cactgtccct 1560
gccgcagagc accgtctgag ggagaggatc cttgccatgt tcctgttctg gctaatggac 1620
acatatgtgg tacagctgct gaggtcattc ttctacatca cagagaccac gttccagaag 1680
aaccgccttt tcttctaccg taagagtgtg tggagcaagc tgcagagcat tggaatcagg 1740
caacagcttg agagagttca gctacgggaa ctgtcacaag aggaggtcaa gcatcaccag 1800
gacacttggc tggccatgcc tatctgcaga ttgcgcttca tccccaagct caatggtctc 1860
cggcccattg tgaacatgag ttatggcatg gacaccagag cttttggcaa aaagaagcag 1920
acccagtgtt tcactcagag tctcaagact ttgttcagcg tgctcaacta cgagcggacc 1980

aaacatccta accttatggg tgcttcagta ctgggtacga gtgacagcta caggatctgg 2040
cggaccttcg tgctgcgtgt gcgtgctctg gaccagacac ccaggatgta ctttgttaag 2100
gcagatgtga caggggccta tgatgccatc ccccaggaca agctcgtgga aattgtcgcc 2160
aatataatca ggcgctcaga gagcatgtac tgtatccgcc agtatgcagt ggttcagaaa 2220
gatagccaag gccaagtcca caagtccttc aggagacagg tctccaccct ctctgacctc 2280
cagccataca tgggccagtt caccaagcat ctgcaggact cagatgccag tgcactgagg 2340
aactctgttg tcatcgagca gagcatctcc atgaatgaga ctggcagtag cctgctccac 2400
ttcttcctgc gctttgtccg tcacagtgtc gtgaagatcg atggcaggtt ctatgtgcaa 2460
tgccagggca tcccccaggg ctccagcctg tccaccctgc tctgcagtct gtgtttcgga 2520
gacatggaga acaagctgtt tgccgaggtg cagcaggacg gcttgctttt acgttttgtc 2580
gatgactttc tgttggtgac acctcacctg gcccatgcaa aagcctttct cagcaccctg 2640
gtccatggcg tgcccgagta tggctgcatg ataaacttgc agaagacagt ggtgaacttc 2700
cctgtggaga ccggcgccct gggaggtgca gccccgcacc agctgcctgc tcactgcctg 2760
tttccctggt gtggcttact gctggacact cggactttgg aagtattctg tgactactca 2820
ggttacggac ggacctcaat taagatgagc ctcaccttcc agggtgtctc cagggccggg 2880
aagaccatgc ggtacaagct cttgtcagtc ttgcggttga agtgtcatgg tctgtttcta 2940
gacttgcagg tgaacagcct gcagacagtc tgcatcaata tatacaagat cttcctgctt 3000
caggcctaca ggttccatgc atgtgtgatt cggcttccct ttggccagca tgttaggaag 3060
aaccatgcat tctttctggg catcatctcc aacctagcat cctgctgcta cgccatcctg 3120
aaggtcaaga atccaggagt gtcactaagg gccaagggtg cccctggctc ctttccgccc 3180
gaggccacac gttggctctg ctaccaagcc ttcctgctca agctggctgc tcattctgtc 3240
acctacaagt gtctcctggg acctcttagg acagcccaaa aacagctgtg ccggaagctc 3300
ccagaggcaa caatgaccct ccttaagact gcagctgacc cagccctaag cacagatttt 3360
cagaccattt tggactaa 3378

<210> 18
<211> 1132
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)
<400> 18

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

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

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

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

1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Ile Ile Ser Asp

1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly

1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu

1055 1060 1065

Ala Met Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr

1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr

1085 1090 1095

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

1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys

1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp

1130

<210> 19

<211> 4036

<212> DNA

<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)

<400> 19

ctcgcggcgc gagtttcagg cagcgctgcg tcctgctgcg cacgtgggaa gccctggccc 60

cggccacccc cgcgatgccg cgcgctcccc gctgccgagc cgtgcgctcc ctgctgcgca 120

gccactaccg cgaggtgctg ccgctggcca cgttcgtgcg gcgcctgggg ccccagggct 180

ggcggctggt gcagcgcggg gacccggcgg ctttccgcgc gctggtggcc cagtgcctgg 240

tgtgcgtgcc ctgggacgca cggccgcccc ccgccgcccc ctccttccgc caggtgtcct 300

gcctgaagga gctggtggcc cgagtgctgc agaggctgtg cgagcgcggc gcgaagaacg 360

tgctggcctt cggcttcgcg ctgctggacg gggcccgcgg gggccccccc gaggccttca 420

ccaccagcgt gcgcagctac ctgcccaaca cggtgaccga cgcactgcgg gggagcgggg 480

cgtgggggct gctgctgcgc cgcgtgggcg acgacgtgct ggttcacctg ctggcacgct 540

gcgcgctctt tgtgctggtg gctcccagct gcgcctacca ggtgtgcggg ccgccgctgt 600

accagctcgg cgctgccact caggcccggc ccccgccaca cgctagtgga ccccgaaggc 660

gtctaggatg cgaacgggcc tggaaccata gcgtcaggga ggccggggtc cccctgggcc 720

tgccagcccc gggtgcgagg aggcgcgggg gcagtgccag ccgaagtctg ccgttgccca 780

agaggcccag gcgtggcgct gcccctgagc cggagcggac gcccgttggg caggggtcct 840

gggcccaccc gggcaggacg cgtggaccga gtgaccgtgg tttctgtgtg gtgtcacctg 900

ccagacccgc cgaagaagcc acctctttgg agggtgcgct ctctggcacg cgccactccc 960

acccatccgt gggccgccag caccacgcgg gccccccatc cacatcgcgg ccaccacgtc 1020

cctgggacac gccttgtccc ccggtgtacg ccgagaccaa gcacttcctc tactcctcag 1080
gcgacaagga gcagctgcgg ccctccttcc tactcagctc tctgaggccc agcctgactg 1140
gcgctcggag gctcgtggag accatctttc tgggttccag gccctggatg ccagggactc 1200
cccgcaggtt gccccgcctg ccccagcgct actggcaaat gcggcccctg tttctggagc 1260
tgcttgggaa ccacgcgcag tgcccctacg gggtgctcct caagacgcac tgcccgctgc 1320
gagctgcggt caccccagca gccggtgtct gtgcccggga gaagccccag ggctctgtgg 1380
cggcccccga ggaggaggac acagaccccc gtcgcctggt gcagctgctc cgccagcaca 1440
gcagcccctg gcaggtgtac ggcttcgtgc gggcctgcct gcgccggctg gtgcccccag 1500
gcctctgggg ctccaggcac aacgaacgcc gcttcctcag gaacaccaag aagttcatct 1560
ccctggggaa gcatgccaag ctctcgctgc aggagctgac gtggaagatg agcgtgcggg 1620
actgcgcttg gctgcgcagg agcccagggg ttggctctgt tccggccgca gagcaccgtc 1680
tgcgtgagga gatcctggcc aagttcttgc actggctgat gagtgtgtac gttgtcgagc 1740
tgctcaggtc tttcttttat gtcacggaga ccacgtttca gaagaacagg ctctttttct 1800
accggaagag tgtctggagc aagttgcaaa gcattggaat cagacagcac ttgaagaggg 1860
tgcagctgcg ggagctgtcg gaagcagagg tcaggcagca tcaggaagcc aggcccgccc 1920
tgctgacgtc cagactccgc ttcatcccca agcctgacgg gctgcggccg attgtgaaca 1980
tggactacgt cgtgggagcc agaacgttcc gcagagaaaa gagggccgag cgtctcacct 2040
cgagggtgaa ggcactgttc agcgtgctca actacgagcg ggcgcggcgc cccggcctcc 2100
tgggcgcctc tgtgctgggc ctggacgata tccacagggc ctggcgcacc ttcgtgctgc 2160
gtgtgcgggc ccaggacccg ccgcctgagc tgtactttgt caaggtggat gtgacgggcg 2220
cgtacgacac catcccccag gacaggctca cggaggtcat cgccagcatc atcaaacccc 2280
agaacacgta ctgcgtgcgt cggtatgctg tggtccagaa ggccgcccat gggcacgtcc 2340
gcaaggcctt caagagccac gtctctacct tgacagacct ccagccgtac atgcgacagt 2400
tcgtggctca cctgcaggag accagcccac tgagggatgc cgtcatcatc gagcagagct 2460
cctccctgaa tgaggccagc agtggcctct tcgacgtctt cctacgcttc gtgtgccgcc 2520
acgccgtgcg catcaggggc aagtcctacg tccagtgcca ggggatcccg cagggctcca 2580
tcctgtccac gctgctctgc agcctgtgct acggcgacat ggagaacaag ctgtttgcgg 2640
ggattcggcg ggacgggctg ctcctgcgtt tggtggatga tttcttgttg gtgacacctc 2700
acctcaccca cgcgaaagcc ttcctcagga ccctggtccg aggtgtccct gagtatggct 2760
gcgtggtgaa cttgcggaag acagtagtga acttccctgt agaagatgag gccctgggtg 2820
gcacggcttt tgttcagctg ccggcccacg gcctattccc ctggtgcggc ctgctgctgg 2880
acacccggac cctggaggtg cagagcgact actccagcta tgcccggacc tccatcagag 2940
ccagtctcac cttcaaccgc ggcttcaagg ctgggaggaa catgcgtcgc aaactctttg 3000
gggtcttgcg gctgaagtgt cacagcctgt ttctggattt gcaggtgaac agcctccaga 3060
cggtgtgcac caacatctac aagatcctcc tgctgcaggc gtacaggttt cacgcatgtg 3120
tgctgcagct cccatttcat cagcaagttt ggaagaaccc cacatttttc ctgcgcatca 3180
tctctgacac ggcctccctc tgctactcca tcctgaaagc caagaacgca gggatgtcgc 3240
tgggggccaa gggtgccgcc ggccctctgc cctccgaggc catgcagtgg ctgtgccacc 3300
aagcattcct gctcaagctg actcgacacc gcgtcaccta cgtgccactc ctggggtcac 3360

tcaggacagc ccagacgcag ctgagtcgga agctcccggg gacgacgctg agtgccctgg 3420
aggccgcagc caacccggca ctgccctcag acttcaagac catcctggac tgatggccac 3480
ccgcccacag ccgggccgag agcagacacc agcagccctg tcacgccggg ctctacgtcc 3540
cagggaggga ggggcggccc acacccagac ccgcaccgct gggagtctga ggcctgagtg 3600
agtgtctggc caaggcctgc atgtccggct gaaggctgag tgtccagctg aggcctgagc 3660
gagtgtccag ccaagggctg agtgtccagc acacctgccg tcttcacttc cccacaggct 3720
ggcgctcggc tccaccccag ggccagcttt tcctcgccag gagcccggct tcccactccc 3780
cacatgggaa tagtccatcc ccagattcgc cattgtccac ccctcgccct gccctccttt 3840
gccttccacg cccaccatcc agatggagac cctgagaagg accctgggag ctctgggaat 3900
ttggagtgac caaaggtgtg ccctgtacac aggtgaggac cctgcacctg gatgggggtc 3960
cctgtgggtc aaattggggg gggggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt 4020
tcagttttga aaaaaa 4036

<210> 20
<211> 1132
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)
<400> 20

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

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

485 490 495
Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510
Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Ser
515 520 525
Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540
Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560
Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575
Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590
Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605
His Gln Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765
Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780
Pro Leu Arg Asp Ala Val Ile Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Val Cys Arg His
805 810 815
Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830
Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845
Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880
Lys Ala Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895
Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910
Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Leu Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925
Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940
Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960
Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975
Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990
Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Ile Ile Ser Asp
1025 1030 1035
Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050
Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065
Ala Met Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080
Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Ser

1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys

1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp

1130

<210> 21

<211> 3396

<212> DNA

<213> 人工(Artificial)

<220>

<223> 合成

<400> 21

atgccgcgcg cgccgcgctg ccgcgcggtg cgcagcctgc tgcgcagcca ttatcgcgaa 60

gtgctgccgc tggcgacctt tgtgcgccgc ctgggcccgc agggctggcg cctggtgcag 120

cgcggcgatc cggcggcgtt tcgcgcgctg gtggcgcagt gcctggtgtg cgtgccgtgg 180

gatgcgcgcc cgccgccggc ggcgccgagc tttcgccagg tgagctgcct gaaagaactg 240

gtggcgcgcg tgctgcagcg cctgtgcgaa cgcggcgcga aaaacgtgct ggcgtttggc 300

tttgcgctgc tggatggcgc gcgcggcggc ccgccggaag cgtttaccac cagcgtgcgc 360

agctatctgc cgaacaccgt gaccgatgcg ctgcgcggca gcggcgcgtg gggcctgctg 420

ctgcgccgcg tgggcgatga tgtgctggtg catctgctgg cgcgctgcgc gctgtttgtg 480

ctggtggcgc cgagctgcgc gtatcaggtg tgcggcccgc cgctgtatca gctgggcgcg 540

gcgacccagg cgcgcccgcc gccgcatgcg agcggcccgc gccgccgcct gggctgcgaa 600

cgcgcgtgga accatagcgt gcgcgaagcg ggcgtgccgc tgggcctgcc ggcgccgggc 660

gcgcgccgcc gcggcggcag cgcgagccgc agcctgccgc tgccgaaacg cccgcgccgc 720

ggcgcggcgc cggaaccgga acgcaccccg gtgggccagg gcagctgggc gcatccgggc 780

cgcacccgcg gcccgagcga tcgcggcttt tgcgtggtga gcccggcgcg cccggcggaa 840

gaagcgacca gcctggaagg cgcgctgagc ggcacccgcc atagccatcc gagcgtgggc 900

cgccagcatc atgcgggccc gccgagcacc agccgcccgc cgcgcccgtg ggataccccg 960

tgcccgccgg tgtatgcgga aaccaaacat tttctgtata gcagcggcga taaagaacag 1020

ctgcgcccga gctttctgct gagcagcctg cgcccgagcc tgaccggcgc gcgccgcctg 1080

gtggaaacca tttttctggg cagccgcccg tggatgccgg gcaccccgcg ccgcctgccg 1140

cgcctgccgc agcgctattg gcagatgcgc ccgctgtttc tggaactgct gggcaaccat 1200

gcgcagtgcc cgtatggcgt gctgctgaaa acccattgcc cgctgcgcgc ggcggtgacc 1260

ccggcggcgg gcgtgtgcgc gcgcgaaaaa ccgcagggca gcgtggcggc gccggaagaa 1320

gaagataccg atccgcgccg cctggtgcag ctgctgcgcc agcatagcag cccgtggcag 1380

gtgtatggct ttgtgcgcgc gtgcctgcgc cgcctggtgc cgccgggcct gtggggcagc 1440

cgccataacg aacgccgctt tctgcgcaac accaaaaaat ttattagcct gggcaaacat 1500

gcgaaactga gcctgcagga actgacctgg aaaatgagcg tgcgcgattg cgcgtggctg 1560

cgccgcagcc cgggcgtggg cagcgtgccg gcggcggaac atcgcctgcg cgaagaaatt 1620

ctggcgaaat ttctgcattg gctgatgagc gtgtatgtgg tggaactgct gcgcagcttt 1680
ttttatgtga ccgaaaccac ctttcagaaa aaccgcctgt ttttttatcg caaaagcgtg 1740
tggagcaaac tgcagagcat tggcattcgc cagcatctga aacgcgtgca gctgcgcgaa 1800
ctgagcgaag cggaagtgcg ccagcatcag gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc 1860
ctgcgcttta ttccgaaacc ggatggcctg cgcccgattg tgaacatgga ttatgtggtg 1920
ggcgcgcgca cctttcgccg cgaaaaacgc gcggaacgcc tgaccagccg cgtgaaagcg 1980
ctgtttagcg tgctgaacta tgaacgcgcg cgccgcccgg gcctgctggg cgcgagcgtg 2040
ctgggcctgg atgatattca tcgcgcgtgg cgcacctttg tgctgcgcgt gcgcgcgcag 2100
gatccgccgc cggaactgta ttttgtgaaa gtggatgtga ccggcgcgta tgataccatt 2160
ccgcaggatc gcctgaccga agtgattgcg agcattatta aaccgcagaa cacctattgc 2220
gtgcgccgct atgcggtggt gcagaaagcg gcgcatggcc atgtgcgcaa agcgtttaaa 2280
agccatgtga gcaccctgac cgatctgcag ccgtatatgc gccagtttgt ggcgcatctg 2340
caggaaacca gcccgctgcg cgatgcggtg attattgaac agagcagcag cctgaacgaa 2400
gcgagcagcg gcctgtttga tgtgtttctg cgctttgtgt gccgccatgc ggtgcgcatt 2460
cgcggcaaaa gctatgtgca gtgccagggc attccgcagg gcagcattct gagcaccctg 2520
ctgtgcagcc tgtgctatgg cgatatggaa aacaaactgt ttgcgggcat tcgccgcgat 2580
ggcctgctgc tgcgcctggt ggatgatttt ctgctggtga ccccgcatct gacccatgcg 2640
aaagcgtttc tgcgcaccct ggtgcgcggc gtgccggaat atggctgcgt ggtgaacctg 2700
cgcaaaaccg tggtgaactt tccggtggaa gatgaagcgc tgggcggcac cgcgtttgtg 2760
cagctgccgg cgcatggcct gtttccgtgg tgcggcctgc tgctggatac ccgcaccctg 2820
gaagtgcaga gcgattatag cagctatgcg cgcaccagca ttcgcgcgag cctgaccttt 2880
aaccgcggct ttaaagcggg ccgcaacatg cgccgcaaac tgtttggcgt gctgcgcctg 2940
aaatgccata gcctgtttct ggatctgcag gtgaacagcc tgcagaccgt gtgcaccaac 3000
atttataaaa ttctgctgct gcaggcgtat cgctttcatg cgtgcgtgct gcagctgccg 3060
tttcatcagc aggtgtggaa aaacccgacc ttttttctgc gcattattag cgataccgcg 3120
agcctgtgct atagcattct gaaagcgaaa aacgcgggca tgagcctggg cgcgaaaggc 3180
gcggcgggcc cgctgccgag cgaagcgatg cagtggctgt gccatcaggc gtttctgctg 3240
aaactgaccc gccatcgcgt gacctatgtg ccgctgctgg gcagcctgcg caccgcgcag 3300
acccagctga gccgcaaact gccgggcacc accctgagcg cgctggaagc ggcggcgaac 3360
ccggcgctgc cgagcgattt taaaaccatt ctggat 3396

<210> 22
<211> 807
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)
<400> 22

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15
His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

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

340 345 350

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Ser
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Gln Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Leu Arg Pro Val Pro
755 760 765
Gly Asp Pro Ala Gly Leu His Pro Val His Ala Ala Leu Gln Pro Val
770 775 780
Leu Arg Arg His Gly Glu Gln Ala Val Cys Gly Asp Ser Ala Gly Arg
785 790 795 800
Ala Ala Pro Ala Phe Gly Gly
805

<210> 23
<211> 2421
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 23

atgccgcgcg cgccgcgctg ccgcgcggtg cgcagcctgc tgcgcagcca ttatcgcgaa 60
gtgctgccgc tggcgacctt tgtgcgccgc ctgggcccgc agggctggcg cctggtgcag 120
cgcggcgatc cggcggcgtt tcgcgcgctg gtggcgcagt gcctggtgtg cgtgccgtgg 180
gatgcgcgcc cgccgccggc ggcgccgagc tttcgccagg tgagctgcct gaaagaactg 240
gtggcgcgcg tgctgcagcg cctgtgcgaa cgcggcgcga aaaacgtgct ggcgtttggc 300
tttgcgctgc tggatggcgc gcgcggcggc ccgccggaag cgtttaccac cagcgtgcgc 360
agctatctgc cgaacaccgt gaccgatgcg ctgcgcggca gcggcgcgtg gggcctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgatga tgtgctggtg catctgctgg cgcgctgcgc gctgtttgtg 480
ctggtggcgc cgagctgcgc gtatcaggtg tgcggcccgc cgctgtatca gctgggcgcg 540
gcgacccagg cgcgcccgcc gccgcatgcg agcggcccgc gccgccgcct gggctgcgaa 600
cgcgcgtgga accatagcgt gcgcgaagcg ggcgtgccgc tgggcctgcc ggcgccgggc 660
gcgcgccgcc gcggcggcag cgcgagccgc agcctgccgc tgccgaaacg cccgcgccgc 720

ggcgcggcgc cggaaccgga acgcaccccg gtgggccagg gcagctgggc gcatccgggc 780
cgcacccgcg gcccgagcga tcgcggcttt tgcgtggtga gcccggcgcg cccggcggaa 840
gaagcgacca gcctggaagg cgcgctgagc ggcacccgcc atagccatcc gagcgtgggc 900
cgccagcatc atgcgggccc gccgagcacc agccgcccgc cgcgcccgtg ggataccccg 960
tgcccgccgg tgtatgcgga aaccaaacat tttctgtata gcagcggcga taaagaacag 1020
ctgcgcccga gctttctgct gagcagcctg cgcccgagcc tgaccggcgc gcgccgcctg 1080
gtggaaacca tttttctggg cagccgcccg tggatgccgg gcaccccgcg ccgcctgccg 1140
cgcctgccgc agcgctattg gcagatgcgc ccgctgtttc tggaactgct gggcaaccat 1200
gcgcagtgcc cgtatggcgt gctgctgaaa acccattgcc cgctgcgcgc ggcggtgacc 1260
ccggcggcgg gcgtgtgcgc gcgcgaaaaa ccgcagggca gcgtggcggc gccggaagaa 1320
gaagataccg atccgcgccg cctggtgcag ctgctgcgcc agcatagcag cccgtggcag 1380
gtgtatggct ttgtgcgcgc gtgcctgcgc cgcctggtgc cgccgggcct gtggggcagc 1440
cgccataacg aacgccgctt tctgcgcaac accaaaaaat ttattagcct gggcaaacat 1500
gcgaaactga gcctgcagga actgacctgg aaaatgagcg tgcgcgattg cgcgtggctg 1560
cgccgcagcc cgggcgtggg cagcgtgccg gcggcggaac atcgcctgcg cgaagaaatt 1620
ctggcgaaat ttctgcattg gctgatgagc gtgtatgtgg tggaactgct gcgcagcttt 1680
ttttatgtga ccgaaaccac ctttcagaaa aaccgcctgt ttttttatcg caaaagcgtg 1740
tggagcaaac tgcagagcat tggcattcgc cagcatctga aacgcgtgca gctgcgcgaa 1800
ctgagcgaag cggaagtgcg ccagcatcag gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc 1860
ctgcgcttta ttccgaaacc ggatggcctg cgcccgattg tgaacatgga ttatgtggtg 1920
ggcgcgcgca cctttcgccg cgaaaaacgc gcggaacgcc tgaccagccg cgtgaaagcg 1980
ctgtttagcg tgctgaacta tgaacgcgcg cgccgcccgg gcctgctggg cgcgagcgtg 2040
ctgggcctgg atgatattca tcgcgcgtgg cgcacctttg tgctgcgcgt gcgcgcgcag 2100
gatccgccgc cggaactgta ttttgtgaaa gtggatgtga ccggcgcgta tgataccatt 2160
ccgcaggatc gcctgaccga agtgattgcg agcattatta aaccgcagaa cacctattgc 2220
gtgcgccgct atgcggtggt gcagaaagcg gcgcatggcc atgtgcgcaa agcgtttaaa 2280
agccatgtgc tgcgcccggt gccgggcgat ccggcgggcc tgcatccggt gcatgcggcg 2340
ctgcagccgg tgctgcgccg ccatggcgaa caggcggtgt gcggcgatag cgcgggccgc 2400
gcggcgccgg cgtttggcgg c 2421

<210> 24
<211> 1069
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)
<400> 24

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15
His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30
Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg

35 40 45

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

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

660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg

675 680 685

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

690 695 700

Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile

705 710 715 720

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

725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His

740 745 750

Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp

755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser

770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Ile Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu

785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Val Cys Arg His

805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro

820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp

835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu

850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala

865 870 875 880

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

885 890 895

Phe Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe

900 905 910

Gly Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val

915 920 925

Asn Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu

930 935 940

Gln Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln

945 950 955 960

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Ile Ile Ser Asp Thr

965 970 975

Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser
980 985 990
Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Met Gln
995 1000 1005
Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg
1010 1015 1020
Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr
1025 1030 1035
Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Ser Ala Leu Glu
1040 1045 1050
Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu
1055 1060 1065
Asp

<210> 25
<211> 3207
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 25

atgccgcgcg cgccgcgctg ccgcgcggtg cgcagcctgc tgcgcagcca ttatcgcgaa 60
gtgctgccgc tggcgacctt tgtgcgccgc ctgggcccgc agggctggcg cctggtgcag 120
cgcggcgatc cggcggcgtt tcgcgcgctg gtggcgcagt gcctggtgtg cgtgccgtgg 180
gatgcgcgcc cgccgccggc ggcgccgagc tttcgccagg tgagctgcct gaaagaactg 240
gtggcgcgcg tgctgcagcg cctgtgcgaa cgcggcgcga aaaacgtgct ggcgtttggc 300
tttgcgctgc tggatggcgc gcgcggcggc ccgccggaag cgtttaccac cagcgtgcgc 360
agctatctgc cgaacaccgt gaccgatgcg ctgcgcggca gcggcgcgtg gggcctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgatga tgtgctggtg catctgctgg cgcgctgcgc gctgtttgtg 480
ctggtggcgc cgagctgcgc gtatcaggtg tgcggcccgc cgctgtatca gctgggcgcg 540
gcgacccagg cgcgcccgcc gccgcatgcg agcggcccgc gccgccgcct gggctgcgaa 600
cgcgcgtgga accatagcgt gcgcgaagcg ggcgtgccgc tgggcctgcc ggcgccgggc 660
gcgcgccgcc gcggcggcag cgcgagccgc agcctgccgc tgccgaaacg cccgcgccgc 720
ggcgcggcgc cggaaccgga acgcaccccg gtgggccagg gcagctgggc gcatccgggc 780
cgcacccgcg gcccgagcga tcgcggcttt tgcgtggtga gcccggcgcg cccggcggaa 840
gaagcgacca gcctggaagg cgcgctgagc ggcacccgcc atagccatcc gagcgtgggc 900
cgccagcatc atgcgggccc gccgagcacc agccgcccgc cgcgcccgtg ggataccccg 960
tgcccgccgg tgtatgcgga aaccaaacat tttctgtata gcagcggcga taaagaacag 1020
ctgcgcccga gctttctgct gagcagcctg cgcccgagcc tgaccggcgc gcgccgcctg 1080
gtggaaacca tttttctggg cagccgcccg tggatgccgg gcaccccgcg ccgcctgccg 1140

cgcctgccgc agcgctattg gcagatgcgc ccgctgtttc tggaactgct gggcaaccat 1200
gcgcagtgcc cgtatggcgt gctgctgaaa acccattgcc cgctgcgcgc ggcggtgacc 1260
ccggcggcgg gcgtgtgcgc gcgcgaaaaa ccgcagggca gcgtggcggc gccggaagaa 1320
gaagataccg atccgcgccg cctggtgcag ctgctgcgcc agcatagcag cccgtggcag 1380
gtgtatggct ttgtgcgcgc gtgcctgcgc cgcctggtgc cgccgggcct gtggggcagc 1440
cgccataacg aacgccgctt tctgcgcaac accaaaaaat ttattagcct gggcaaacat 1500
gcgaaactga gcctgcagga actgacctgg aaaatgagcg tgcgcgattg cgcgtggctg 1560
cgccgcagcc cgggcgtggg cagcgtgccg gcggcggaac atcgcctgcg cgaagaaatt 1620
ctggcgaaat ttctgcattg gctgatgagc gtgtatgtgg tggaactgct gcgcagcttt 1680
ttttatgtga ccgaaaccac ctttcagaaa aaccgcctgt ttttttatcg caaaagcgtg 1740
tggagcaaac tgcagagcat tggcattcgc cagcatctga aacgcgtgca gctgcgcgaa 1800
ctgagcgaag cggaagtgcg ccagcatcag gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc 1860
ctgcgcttta ttccgaaacc ggatggcctg cgcccgattg tgaacatgga ttatgtggtg 1920
ggcgcgcgca cctttcgccg cgaaaaacgc gcggaacgcc tgaccagccg cgtgaaagcg 1980
ctgtttagcg tgctgaacta tgaacgcgcg cgccgcccgg gcctgctggg cgcgagcgtg 2040
ctgggcctgg atgatattca tcgcgcgtgg cgcacctttg tgctgcgcgt gcgcgcgcag 2100
gatccgccgc cggaactgta ttttgtgaaa gtggatgtga ccggcgcgta tgataccatt 2160
ccgcaggatc gcctgaccga agtgattgcg agcattatta aaccgcagaa cacctattgc 2220
gtgcgccgct atgcggtggt gcagaaagcg gcgcatggcc atgtgcgcaa agcgtttaaa 2280
agccatgtga gcaccctgac cgatctgcag ccgtatatgc gccagtttgt ggcgcatctg 2340
caggaaacca gcccgctgcg cgatgcggtg attattgaac agagcagcag cctgaacgaa 2400
gcgagcagcg gcctgtttga tgtgtttctg cgctttgtgt gccgccatgc ggtgcgcatt 2460
cgcggcaaaa gctatgtgca gtgccagggc attccgcagg gcagcattct gagcaccctg 2520
ctgtgcagcc tgtgctatgg cgatatggaa aacaaactgt ttgcgggcat tcgccgcgat 2580
ggcctgctgc tgcgcctggt ggatgatttt ctgctggtga ccccgcatct gacccatgcg 2640
aaagcgtttc tgagctatgc gcgcaccagc attcgcgcga gcctgacctt taaccgcggc 2700
tttaaagcgg gccgcaacat gcgccgcaaa ctgtttggcg tgctgcgcct gaaatgccat 2760
agcctgtttc tggatctgca ggtgaacagc ctgcagaccg tgtgcaccaa catttataaa 2820
attctgctgc tgcaggcgta tcgctttcat gcgtgcgtgc tgcagctgcc gtttcatcag 2880
caggtgtgga aaaacccgac ctttttctg cgcattatta gcgataccgc gagcctgtgc 2940
tatagcattc tgaaagcgaa aaacgcgggc atgagcctgg gcgcgaaagg cgcggcgggc 3000
ccgctgccga gcgaagcgat gcagtggctg tgccatcagg cgtttctgct gaaactgacc 3060
cgccatcgcg tgacctatgt gccgctgctg ggcagcctgc gcaccgcgca gacccagctg 3120
agccgcaaac tgccgggcac caccctgagc gcgctggaag cggcggcgaa cccggcgctg 3180
ccgagcgatt ttaaaaccat tctggat 3207

<210> 26
<211> 795
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)

<400> 26

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

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

610 615 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile
705 710 715 720
Ile Lys Pro Gln Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln
725 730 735
Lys Ala Ala His Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Leu
740 745 750
Arg Pro Val Pro Gly Asp Pro Ala Gly Leu His Pro Val His Ala Ala
755 760 765
Leu Gln Pro Val Leu Arg Arg His Gly Glu Gln Ala Val Cys Gly Asp
770 775 780
Ser Ala Gly Arg Ala Ala Pro Ala Phe Gly Gly
785 790 795

<210> 27
<211> 2385
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 27

atgccgcgcg cgccgcgctg ccgcgcggtg cgcagcctgc tgcgcagcca ttatcgcgaa 60
gtgctgccgc tggcgacctt tgtgcgccgc ctgggcccgc agggctggcg cctggtgcag 120
cgcggcgatc cggcggcgtt tcgcgcgctg gtggcgcagt gcctggtgtg cgtgccgtgg 180
gatgcgcgcc cgccgccggc ggcgccgagc tttcgccagg tgagctgcct gaaagaactg 240
gtggcgcgcg tgctgcagcg cctgtgcgaa cgcggcgcga aaaacgtgct ggcgtttggc 300
tttgcgctgc tggatggcgc gcgcggcggc ccgccggaag cgtttaccac cagcgtgcgc 360
agctatctgc cgaacaccgt gaccgatgcg ctgcgcggca gcggcgcgtg gggcctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgatga tgtgctggtg catctgctgg cgcgctgcgc gctgtttgtg 480
ctggtggcgc cgagctgcgc gtatcaggtg tgcggcccgc cgctgtatca gctgggcgcg 540

gcgacccagg cgcgcccgcc gccgcatgcg agcggcccgc gccgccgcct gggctgcgaa 600
cgcgcgtgga accatagcgt gcgcgaagcg ggcgtgccgc tgggcctgcc ggcgccgggc 660
gcgcgccgcc gcggcggcag cgcgagccgc agcctgccgc tgccgaaacg cccgcgccgc 720
ggcgcggcgc cggaaccgga acgcaccccg gtgggccagg gcagctgggc gcatccgggc 780
cgcacccgcg gcccgagcga tcgcggcttt tgcgtggtga gcccggcgcg cccggcggaa 840
gaagcgacca gcctggaagg cgcgctgagc ggcacccgcc atagccatcc gagcgtgggc 900
cgccagcatc atgcgggccc gccgagcacc agccgcccgc cgcgcccgtg ggataccccg 960
tgcccgccgg tgtatgcgga aaccaaacat tttctgtata gcagcggcga taaagaacag 1020
ctgcgcccga gctttctgct gagcagcctg cgcccgagcc tgaccggcgc gcgccgcctg 1080
gtggaaacca tttttctggg cagccgcccg tggatgccgg gcaccccgcg ccgcctgccg 1140
cgcctgccgc agcgctattg gcagatgcgc ccgctgtttc tggaactgct gggcaaccat 1200
gcgcagtgcc cgtatggcgt gctgctgaaa acccattgcc cgctgcgcgc ggcggtgacc 1260
ccggcggcgg gcgtgtgcgc gcgcgaaaaa ccgcagggca gcgtggcggc gccggaagaa 1320
gaagataccg atccgcgccg cctggtgcag ctgctgcgcc agcatagcag cccgtggcag 1380
gtgtatggct ttgtgcgcgc gtgcctgcgc cgcctggtgc cgccgggcct gtggggcagc 1440
cgccataacg aacgccgctt tctgcgcaac accaaaaaat ttattagcct gggcaaacat 1500
gcgaaactga gcctgcagga actgacctgg aaaatgagcg tgcgcgattg cgcgtggctg 1560
cgccgcagcc cgggcgtggg cagcgtgccg gcggcggaac atcgcctgcg cgaagaaatt 1620
ctggcgaaat ttctgcattg gctgatgagc gtgtatgtgg tggaactgct gcgcagcttt 1680
ttttatgtga ccgaaaccac ctttcagaaa aaccgcctgt ttttttatcg caaaagcgtg 1740
tggagcaaac tgcagagcat tggcattcgc cagcatctga aacgcgtgca gctgcgcgaa 1800
ctgagcgaag cggaagtgcg ccagcatcag gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc 1860
ctgcgcttta ttccgaaacc ggatggcctg cgcccgattg tgaacatgga ttatgtggtg 1920
ggcgcgcgca cctttcgccg cgaaaaacgc gcggaacgcc tgaccagccg cgtgaaagcg 1980
ctgtttagcg tgctgaacta tgaacgcgcg cgccgcccgg gcctgctggg cgcgagcgtg 2040
ctgggcctgg atgatattca tcgcgcgtgg cgcacctttg tgctgcgcgt gcgcgcgcag 2100
gatccgccgc cggaactgta ttttgtgaaa gatcgcctga ccgaagtgat tgcgagcatt 2160
attaaaccgc agaacaccta ttgcgtgcgc cgctatgcgg tggtgcagaa agcggcgcat 2220
ggccatgtgc gcaaagcgtt taaaagccat gtgctgcgcc cggtgccggg cgatccggcg 2280
ggcctgcatc cggtgcatgc ggcgctgcag ccggtgctgc gccgccatgg cgaacaggcg 2340
gtgtgcggcg atagcgcggg ccgcgcggcg ccggcgtttg gcggc 2385

<210> 28
<211> 1086
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)
<400> 28

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15
His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly

20 25 30

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

Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385 390 395 400
Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430
Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445
Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460
Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480
Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495
Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510
Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Ser
515 520 525
Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540
Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560
Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575
Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590
Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605
His Gln Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser

645 650 655
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
725 730 735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765
Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780
Pro Leu Arg Asp Ala Val Ile Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800
Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Val Cys Arg His
805 810 815
Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830
Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845
Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880
Lys Ala Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895
Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910
Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Leu Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925
Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940
Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975
Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990
Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Ile Ile Ser Asp
1025 1030 1035
Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Ala
1040 1045 1050
Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Ser Ala
1055 1060 1065
Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr
1070 1075 1080
Ile Leu Asp
1085

<210> 29
<211> 3258
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 29

atgccgcgcg cgccgcgctg ccgcgcggtg cgcagcctgc tgcgcagcca ttatcgcgaa 60
gtgctgccgc tggcgacctt tgtgcgccgc ctgggcccgc agggctggcg cctggtgcag 120
cgcggcgatc cggcggcgtt tcgcgcgctg gtggcgcagt gcctggtgtg cgtgccgtgg 180
gatgcgcgcc cgccgccggc ggcgccgagc tttcgccagg tgagctgcct gaaagaactg 240
gtggcgcgcg tgctgcagcg cctgtgcgaa cgcggcgcga aaaacgtgct ggcgtttggc 300
tttgcgctgc tggatggcgc gcgcggcggc ccgccggaag cgtttaccac cagcgtgcgc 360
agctatctgc cgaacaccgt gaccgatgcg ctgcgcggca gcggcgcgtg gggcctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgatga tgtgctggtg catctgctgg cgcgctgcgc gctgtttgtg 480
ctggtggcgc cgagctgcgc gtatcaggtg tgcggcccgc cgctgtatca gctgggcgcg 540
gcgacccagg cgcgcccgcc gccgcatgcg agcggcccgc gccgccgcct gggctgcgaa 600
cgcgcgtgga accatagcgt gcgcgaagcg ggcgtgccgc tgggcctgcc ggcgccgggc 660
gcgcgccgcc gcggcggcag cgcgagccgc agcctgccgc tgccgaaacg cccgcgccgc 720
ggcgcggcgc cggaaccgga acgcaccccg gtgggccagg gcagctgggc gcatccgggc 780
cgcacccgcg gcccgagcga tcgcggcttt tgcgtggtga gcccggcgcg cccggcggaa 840

gaagcgacca gcctggaagg cgcgctgagc ggcacccgcc atagccatcc gagcgtgggc 900
cgccagcatc atgcgggccc gccgagcacc agccgcccgc cgcgcccgtg ggataccccg 960
tgcccgccgg tgtatgcgga aaccaaacat tttctgtata gcagcggcga taaagaacag 1020
ctgcgcccga gctttctgct gagcagcctg cgcccgagcc tgaccggcgc gcgccgcctg 1080
gtggaaacca tttttctggg cagccgcccg tggatgccgg gcaccccgcg ccgcctgccg 1140
cgcctgccgc agcgctattg gcagatgcgc ccgctgtttc tggaactgct gggcaaccat 1200
gcgcagtgcc cgtatggcgt gctgctgaaa acccattgcc cgctgcgcgc ggcggtgacc 1260
ccggcggcgg gcgtgtgcgc gcgcgaaaaa ccgcagggca gcgtggcggc gccggaagaa 1320
gaagataccg atccgcgccg cctggtgcag ctgctgcgcc agcatagcag cccgtggcag 1380
gtgtatggct ttgtgcgcgc gtgcctgcgc cgcctggtgc cgccgggcct gtggggcagc 1440
cgccataacg aacgccgctt tctgcgcaac accaaaaaat ttattagcct gggcaaacat 1500
gcgaaactga gcctgcagga actgacctgg aaaatgagcg tgcgcgattg cgcgtggctg 1560
cgccgcagcc cgggcgtggg cagcgtgccg gcggcggaac atcgcctgcg cgaagaaatt 1620
ctggcgaaat ttctgcattg gctgatgagc gtgtatgtgg tggaactgct gcgcagcttt 1680
ttttatgtga ccgaaaccac ctttcagaaa aaccgcctgt ttttttatcg caaaagcgtg 1740
tggagcaaac tgcagagcat tggcattcgc cagcatctga aacgcgtgca gctgcgcgaa 1800
ctgagcgaag cggaagtgcg ccagcatcag gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc 1860
ctgcgcttta ttccgaaacc ggatggcctg cgcccgattg tgaacatgga ttatgtggtg 1920
ggcgcgcgca cctttcgccg cgaaaaacgc gcggaacgcc tgaccagccg cgtgaaagcg 1980
ctgtttagcg tgctgaacta tgaacgcgcg cgccgcccgg gcctgctggg cgcgagcgtg 2040
ctgggcctgg atgatattca tcgcgcgtgg cgcacctttg tgctgcgcgt gcgcgcgcag 2100
gatccgccgc cggaactgta ttttgtgaaa gtggatgtga ccggcgcgta tgataccatt 2160
ccgcaggatc gcctgaccga agtgattgcg agcattatta aaccgcagaa cacctattgc 2220
gtgcgccgct atgcggtggt gcagaaagcg gcgcatggcc atgtgcgcaa agcgtttaaa 2280
agccatgtga gcaccctgac cgatctgcag ccgtatatgc gccagtttgt ggcgcatctg 2340
caggaaacca gcccgctgcg cgatgcggtg attattgaac agagcagcag cctgaacgaa 2400
gcgagcagcg gcctgtttga tgtgtttctg cgctttgtgt gccgccatgc ggtgcgcatt 2460
cgcggcaaaa gctatgtgca gtgccagggc attccgcagg gcagcattct gagcaccctg 2520
ctgtgcagcc tgtgctatgg cgatatggaa aacaaactgt ttgcgggcat tcgccgcgat 2580
ggcctgctgc tgcgcctggt ggatgatttt ctgctggtga ccccgcatct gacccatgcg 2640
aaagcgtttc tgcgcaccct ggtgcgcggc gtgccggaat atggctgcgt ggtgaacctg 2700
cgcaaaaccg tggtgaactt tccggtggaa gatgaagcgc tgggcggcac cgcgtttgtg 2760
cagctgccgg cgcatggcct gtttccgtgg tgcggcctgc tgctggatac ccgcaccctg 2820
gaagtgcaga gcgattatag cagctatgcg cgcaccagca ttcgcgcgag cctgaccttt 2880
aaccgcggct ttaaagcggg ccgcaacatg cgccgcaaac tgtttggcgt gctgcgcctg 2940
aaatgccata gcctgtttct ggatctgcag gtgaacagcc tgcagaccgt gtgcaccaac 3000
atttataaaa ttctgctgct gcaggcgtat cgctttcatg cgtgcgtgct gcagctgccg 3060
tttcatcagc aggtgtggaa aaacccgacc ttttttctgc gcattattag cgataccgcg 3120
agcctgtgct atagcattct gaaagcgaaa aacgcggcgc agacccagct gagccgcaaa 3180

ctgccgggca ccaccctgag cgcgctggaa gcggcggcga acccggcgct gccgagcgat 3240
tttaaaacca ttctggat 3258

<210> 30
<211> 3399
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 30

atgccgcgcg ctccccgctg ccgagccgtg cgctccctgc tgcgcagcca ctaccgcgag 60
gtgctgccgc tggccacgtt cgtgcggcgc ctggggcccc agggctggcg gctggtgcag 120
cgcggggacc cggcggcttt ccgcgcgctg gtggcccagt gcctggtgtg cgtgccctgg 180
gacgcacggc cgcccccccgc cgccccctcc ttccgccagg tgtcctgcct gaaggagctg 240
gtggcccgag tgctgcagag gctgtgcgag cgcggcgcga agaacgtgct ggccttcggc 300
ttcgcgctgc tggacggggc ccgcgggggc ccccccgagg ccttcaccac cagcgtgcgc 360
agctacctgc ccaacacggt gaccgacgca ctgcgggggа gcggggcgtg ggggctgctg 420
ctgcgccgcg tgggcgacga cgtgctggtt cacctgctgg cacgctgcgc gctctttgtg 480
ctggtggctc ccagctgcgc ctaccaggtg tgcgggccgc cgctgtacca gctcggcgct 540
gccactcagg cccggccccc gccacacgct agtggacccc gaaggcgtct gggatgcgaa 600
cgggcctgga accatagcgt cagggaggcc ggggtccccc tgggcctgcc agccccgggt 660
gcgaggaggc gcgggggcag tgccagccga agtctgccgt tgcccaagag gcccaggcgt 720
ggcgctgccc ctgagccgga gcggacgccc gttgggcagg ggtcctgggc ccacccgggc 780
aggacgcgtg gaccgagtga ccgtggtttc tgtgtggtgt cacctgccag acccgccgaa 840
gaagccacct ctttggaggg tgcgctctct ggcacgcgcc actcccaccc atccgtgggc 900
cgccagcacc acgcgggccc cccatccaca tcgcggccac cacgtccctg ggacacgcct 960
tgtcccccgg tgtacgccga gaccaagcac ttcctctact cctcaggcga caaggagcag 1020
ctgcggccct ccttcctact cagctctctg aggcccagcc tgactggcgc tcggaggctc 1080
gtggagacca tctttctggg ttccaggccc tggatgccag ggactccccg caggttgccc 1140
cgcctgcccc agcgctactg gcaaatgcgg cccctgtttc tggagctgct tgggaaccac 1200
gcgcagtgcc cctacggggt gctcctcaag acgcactgcc cgctgcgagc tgcggtcacc 1260
ccagcagccg gtgtctgtgc ccgggagaag ccccagggct ctgtggcggc ccccgaggag 1320
gaggacacag acccccgtcg cctggtgcag ctgctccgcc agcacagcag cccctggcag 1380
gtgtacggct tcgtgcgggc ctgcctgcgc cggctggtgc ccccaggcct ctggggctcc 1440
aggcacaacg aacgccgctt cctcaggaac accaagaagt tcatctccct ggggaagcat 1500
gccaagctct cgctgcagga gctgacgtgg aagatgagcg tgcgggactg cgcttggctg 1560
cgcaggagcc caggggttgg ctgtgttccg gccgcagagc accgtctgcg tgaggagatc 1620
ctggccaagt tcctgcactg gctgatgagt gtgtacgtcg tcgagctgct caggtctttc 1680
ttttatgtca cggagaccac gtttcaaaag aacaggctct ttttctaccg gaagagtgtc 1740
tggagcaagt tgcaaagcat tggaatcaga cagcacttga agagggtgca gctgcgggag 1800
ctgtcggaag cagaggtcag gcagcatcgg gaagccaggc ccgccctgct gacgtccaga 1860
ctccgcttca tccccaagcc tgacgggctg cggccgattg tgaacatgga ctacgtcgtg 1920

ggagccagaa cgttccgcag agaaaagagg gccgagcgtc tcacctcgag ggtgaaggca 1980
ctgttcagcg tgctcaacta cgagcgggcg cggcgccccg gcctcctggg cgcctctgtg 2040
ctgggcctgg acgatatcca cagggcctgg cgcaccttcg tgctgcgtgt gcgggcccag 2100
gacccgccgc ctgagctgta ctttgtcaag gtggatgtga cgggcgcgta cgacaccatc 2160
ccccaggaca ggctcacgga ggtcatcgcc agcatcatca aaccccagaa cacgtactgc 2220
gtgcgtcggt atgccgtggt ccagaaggcc gcccatgggc acgtccgcaa ggccttcaag 2280
agccacgtct ctaccttgac agacctccag ccgtacatgc gacagttcgt ggctcacctg 2340
caggagacca gcccgctgag ggatgccgtc gtcatcgagc agagctcctc cctgaatgag 2400
gccagcagtg gcctcttcga cgtcttccta cgcttcatgt gccaccacgc cgtgcgcatc 2460
aggggcaagt cctacgtcca gtgccagggg atcccgcagg gctccatcct ctccacgctg 2520
ctctgcagcc tgtgctacgg cgacatggag aacaagctgt ttgcggggat tcggcgggac 2580
gggctgctcc tgcgtttggt ggatgatttc ttgttggtga cacctcacct cacccacgcg 2640
aaaaccttcc tcaggaccct ggtccgaggt gtccctgagt atggctgcgt ggtgaacttg 2700
cggaagacag tggtgaactt ccctgtagaa gacgaggccc tgggtggcac ggcttttgtt 2760
cagatgccgg cccacggcct attcccctgg tgcggcctgc tgctggatac ccggaccctg 2820
gaggtgcaga gcgactactc cagctatgcc cggacctcca tcagagccag tctcaccttc 2880
aaccgcggct tcaaggctgg gaggaacatg cgtcgcaaac tctttggggt cttgcggctg 2940
aagtgtcaca gcctgtttct ggatttgcag gtgaacagcc tccagacggt gtgcaccaac 3000
atctacaaga tcctcctgct gcaggcgtac aggtttcacg catgtgtgct gcagctccca 3060
tttcatcagc aagtttggaa gaaccccaca tttttcctgc gcgtcatctc tgacacggcc 3120
tccctctgct actccatcct gaaagccaag aacgcaggga tgtcgctggg ggccaagggc 3180
gccgccggcc ctctgccctc cgaggccgtg cagtggctgt gccaccaagc attcctgctc 3240
aagctgactc gacaccgtgt cacctacgtg ccactcctgg ggtcactcag gacagcccag 3300
acgcagctga gtcggaagct cccggggacg acgctgactg ccctggaggc cgcagccaac 3360
ccggcactgc cctcagactt caagaccatc ctggactga 3399

<210> 31
<211> 3369
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 31

atgacccgcg ctcctcgttg ccccgcggtg cgctctctgc tgcgcagccg ataccgggag 60
gtgtggccgc tggcaacctt tgtgcggcgc ctggggcccg agggcaggcg gcttgtgcaa 120
cccggggacc cgaagatcta ccgcactttg gttgcccaat gcctagtgtg catgcactgg 180
ggctcacagc ctccacctgc cgacctttcc ttccaccagg tgtcatccct gaaagagctg 240
gtggccaggg ttgtgcagag actctgcgag cgcaacgaga gaaacgtgct ggcttttggc 300
tttgagctgc ttaacgaggc cagaggcggg cctcccatgg ccttcactag tagcgtgcgt 360
agctacttgc ccaacactgt tattgagacc ctgcgtgtca gtggtgcatg gatgctactg 420
ttgagccgag tgggcgacga cctgctggtc tacctgctgg cacactgtgc tctttatctt 480
ctggtgcccc ccagctgtgc ctaccaggtg tgtgggtctc ccctgtacca aatttgtgcc 540

accacggata tctggccctc tgtgtccgct agttacaggc ccacccgacc cgtgggcagg 600
aatttcacta accttaggtt cttacaacag atcaagagca gtagtcgcca ggaagcaccg 660
aaacccctgg ccttgccatc tcgaggtaca aagaggcatc tgagtctcac cagtacaagt 720
gtgccttcag ctaagaaggc cagatgctat cctgtcccga gagtggagga gggaccccac 780
aggcaggtgc taccaacccc atcaggcaaa tcatgggtgc caagtcctgc tcggtccccc 840
gaggtgccta ctgcagagaa agatttgtct tctaaaggaa aggtgtctga cctgagtctc 900
tctgggtcgg tgtgctgtaa acacaagccc agctccacat ctctgctgtc accacccccgc 960
caaaatgcct ttcagctcag gccatttatt gagaccagac atttccttta ctccagggga 1020
gatggccaag agcgtctaaa cccctcattc ctactcagca acctccagcc taacttgact 1080
ggggccagga gactggtgga gatcatcttt ctgggctcaa ggcctaggac atcaggacca 1140
ctctgcagga cacaccgtct atcgcgtcga tactggcaga tgcggcccct gttccaacag 1200
ctgctggtga accatgcaga gtgccaatat gtcagactcc tcaggtcaca ttgcaggttt 1260
cgaacagcaa accaacaggt gacagatgcc ttgaacacca gcccaccgca cctcatggat 1320
ttgctccgcc tgcacagcag tccctggcag gtatatggtt ttcttcgggc ctgtctctgc 1380
aaggtggtgt ctgctagtct ctggggtacc aggcacaatg agcgccgctt ctttaagaac 1440
ttaaagaagt tcatctcgtt ggggaaatac ggcaagctat cactgcagga actgatgtgg 1500
aagatgaaag tagaggattg ccactggctc cgcagcagcc cggggaagga ccgtgtcccc 1560
gctgcagagc accgtctgag ggagaggatc ctggctacgt tcctgttctg gctgatggac 1620
acatacgtgg tacagctgct taggtcattc ttttacatca cagagagcac attccagaag 1680
aacaggctct tcttctaccg taagagtgtg tggagcaagc tgcagagcat tggagtcagg 1740
caacaccttg agagagtgcg gctacgggag ctgtcacaag aggaggtcag gcatcaccag 1800
gacacctggc tagccatgcc catctgcaga ctgcgcttca tccccaagcc caacggcctg 1860
cggcccattg tgaacatgag ttatagcatg ggtaccagag ctttgggcag aaggaagcag 1920
gcccagcatt tcacccagcg tctcaagact ctcttcagca tgctcaacta tgagcggaca 1980
aaacatcctc accttatggg gtcttctgta ctgggtatga atgacatcta caggacctgg 2040
cgggcctttg tgctgcgtgt gcgtgctctg gaccagacac ccaggatgta ctttgttaag 2100
gcagatgtga ccggggccta tgatgccatc ccccagggta agctggtgga ggttgttgcc 2160
aatatgatca ggcactcgga gagcacgtac tgtatccgcc agtatgcagt ggtccggaga 2220
gatagccaag gccaagtcca caagtccttt aggagacagg tcaccaccct ctctgacctc 2280
cagccataca tgggccagtt ccttaagcat ctgcaggatt cagatgccag tgcactgagg 2340
aactccgttg tcatcgagca gagcatctct atgaatgaga gcagcagcag cctgtttgac 2400
ttcttcctgc acttcctgcg tcacagtgtc gtaaagattg gtgacaggtg ctatacgcag 2460
tgccagggca tcccccaggg ctccagccta tccaccctgc tctgcagtct gtgtttcgga 2520
gacatggaga acaagctgtt tgctgaggtg cagcgggatg ggttgctttt acgttttgtt 2580
gatgactttc tgttggtgac gcctcacttg gaccaagcaa aaaccttcct cagcaccctg 2640
gtccatggcg ttcctgagta tgggtgcatg ataaacttgc agaagacagt ggtgaacttc 2700
cctgtggagc ctggtaccct gggtggtgca gctccatacc agctgcctgc tcactgcctg 2760
tttccctggt gtggcttgct gctggacact cagactttgg aggtgttctg tgactactca 2820
ggttatgccc agacctcaat taagacgagc ctcaccttcc agagtgtctt caaagctggg 2880

aagaccatgc ggaacaagct cctgtcggtc ttgcggttga agtgtcacgg tctatttcta 2940
gacttgcagg tgaacagcct ccagacagtc tgcatcaata tatacaagat cttcctgctt 3000
caggcctaca ggttccatgc atgtgtgatt cagcttccct ttgaccagcg tgttaggaag 3060
aacctcacat tctttctggg catcatctcc agccaagcat cctgctgcta tgctatcctg 3120
aaggtcaaga atccaggaat gacactaaag gcctctggct cctttcctcc tgaagccgca 3180
cattggctct gctaccaggc cttcctgctc aagctggctg ctcattctgt catctacaaa 3240
tgtctcctgg gacctctgag gacagcccaa aaactgctgt gccggaagct cccagaggcg 3300
acaatgacca tccttaaagc tgcagctgac ccagccctaa gcacagactt tcagaccatt 3360
ttggactaa 3369

<210> 32
<211> 102
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 32
ttaagctgcc ttctgcgggg cttgccttct ggccatgccc ttcttctctc ccttgcacct 60
gtacctcttg gtctttgaat aaagcctgag taggaagtct ag 102

<210> 33
<211> 144
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 33
caattggctc gctttcttgc tgtccaattt ctattaaagg ttcctttgtt ccctaagtcc 60
aactactaaa ctgggggata ttatgaaggg ccttgagcat ctggattctg cctaataaaa 120
aacatttatt ttcattgcga attc 144

<210> 34
<211> 145
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>
<223> 合成
<400> 34
caattggctc gctttcttgc tgtccaattt ctattaaagg ttcctttgt tccctaagtc 60
caactactaa actgggggat attatgaagg gccttgagca tctggattct gcctaataaa 120
aaacatttct tttcattgcg aattc 145

<210> 35
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工(Artificial)
<220>

<223> 合成

<400> 35

aggaaataag agagaaaaga agagtaagaa gaaatataag agccacc 47

<210> 36

<211> 57

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 36

ggacatttgc ttctgacaca actgtgttca ctagcaacct caaacaacta gtacacc 57

<210> 37

<211> 3723

<212> DNA

<213> 小家鼠(Mus musculus)

<400> 37

gggacatttg cttctgacac aactgtgttc actagcaacc tcaaacaacc ggtacaccat 60
gacccgcgct cctcgttgcc ccgcggtgcg ctctctgctg cgcagccgat accgggaggt 120
gtggccgctg gcaacctttg tgcggcgcct ggggcccgag ggcaggcggc ttgtgcaacc 180
cggggacccg aagatctacc gcactttggt tgcccaatgc ctagtgtgca tgcactgggg 240
ctcacagcct ccacctgccg acctttcctt ccaccaggtg tcatccctga aagagctggt 300
ggccagggtt gtgcagagac tctgcgagcg caacgagaga aacgtgctgg cttttggctt 360
tgagctgctt aacgaggcca gaggcgggcc tcccatggcc ttcactagta gcgtgcgtag 420
ctacttgccc aacactgtta ttgagaccct gcgtgtcagt ggtgcatgga tgctactgtt 480
gagccgagtg ggcgacgacc tgctggtcta cctgctggca cactgtgctc tttatcttct 540
ggtgcccccc agctgtgcct accaggtgtg tgggtctccc ctgtaccaaa tttgtgccac 600
cacggatatc tggccctctg tgtccgctag ttacaggccc acccgacccg tgggcaggaa 660
tttcactaac cttaggttct tacaacagat caagagcagt agtcgccagg aagcaccgaa 720
acccctggcc ttgccatctc gaggtacaaa gaggcatctg agtctcacca gtacaagtgt 780
gccttcagct aagaaggcca gatgctatcc tgtcccgaga gtggaggagg gaccccacag 840
gcaggtgcta ccaaccccat caggcaaatc atgggtgcca agtcctgctc ggtcccccga 900
ggtgcctact gcagagaaag atttgtcttc taaaggaaag gtgtctgacc tgagtctctc 960
tgggtcggtg tgctgtaaac acaagcccag ctccacatct ctgctgtcac caccccgcca 1020
aaatgccttt cagctcaggc catttattga gaccagacat ttcctttact ccaggggaga 1080
tggccaagag cgtctaaacc cctcattcct actcagcaac ctccagccta acttgactgg 1140
ggccaggaga ctggtggaga tcatctttct gggctcaagg cctaggacat caggaccact 1200
ctgcaggaca caccgtctat cgcgtcgata ctggcagatg cggcccctgt tccaacagct 1260
gctggtgaac catgcagagt gccaatatgt cagactcctc aggtcacatt gcaggtttcg 1320
aacagcaaac caacaggtga cagatgcctt gaacaccagc ccaccgcacc tcatggattt 1380
gctccgcctg cacagcagtc cctggcaggt atatggtttt cttcgggcct gtctctgcaa 1440
ggtggtgtct gctagtctct ggggtaccag gcacaatgag cgccgcttct ttaagaactt 1500

aaagaagttc atctcgttgg ggaaatacgg caagctatca ctgcaggaac tgatgtggaa 1560
gatgaaagta gaggattgcc actggctccg cagcagcccg gggaaggacc gtgtccccgc 1620
tgcagagcac cgtctgaggg agaggatcct ggctacgttc ctgttctggc tgatggacac 1680
atacgtggta cagctgctta ggtcattctt ttacatcaca gagagcacat tccagaagaa 1740
caggctcttc ttctaccgta agagtgtgtg gagcaagctg cagagcattg gagtcaggca 1800
acaccttgag agagtgcggc tacgggagct gtcacaagag gaggtcaggc atcaccagga 1860
cacctggcta gccatgccca tctgcagact gcgcttcatc cccaagccca acggcctgcg 1920
gcccattgtg aacatgagtt atagcatggg taccagagct ttgggcagaa ggaagcaggc 1980
ccagcatttc acccagcgtc tcaagactct cttcagcatg ctcaactatg agcggacaaa 2040
acatcctcac cttatggggt cttctgtact gggtatgaat gacatctaca ggacctggcg 2100
ggcctttgtg ctgcgtgtgc gtgctctgga ccagacaccc aggatgtact ttgttaaggc 2160
agatgtgacc ggggcctatg atgccatccc ccagggtaag ctggtggagg ttgttgccaa 2220
tatgatcagg cactcggaga gcacgtactg tatccgccag tatgcagtgg tccggagaga 2280
tagccaaggc caagtccaca agtcctttag gagacaggtc accaccctct ctgacctcca 2340
gccatacatg ggccagttcc ttaagcatct gcaggattca gatgccagtg cactgaggaa 2400
ctccgttgtc atcgagcaga gcatctctat gaatgagagc agcagcagcc tgtttgactt 2460
cttcctgcac ttcctgcgtc acagtgtcgt aaagattggt gacaggtgct atacgcagtg 2520
ccagggcatc ccccagggct ccagcctatc caccctgctc tgcagtctgt gtttcggaga 2580
catggagaac aagctgtttg ctgaggtgca gcgggatggg ttgcttttac gttttgttga 2640
tgactttctg ttggtgacgc ctcacttgga ccaagcaaaa accttcctca gcaccctggt 2700
ccatggcgtt cctgagtatg ggtgcatgat aaacttgcag aagacagtgg tgaacttccc 2760
tgtggagcct ggtaccctgg gtggtgcagc tccataccag ctgcctgctc actgcctgtt 2820
tccctggtgt ggcttgctgc tggacactca gactttggag gtgttctgtg actactcagg 2880
ttatgcccag acctcaatta agacgagcct caccttccag agtgtcttca aagctgggaa 2940
gaccatgcgg aacaagctcc tgtcggtctt gcggttgaag tgtcacggtc tatttctaga 3000
cttgcaggtg aacagcctcc agacagtctg catcaatata tacaagatct tcctgcttca 3060
ggcctacagg ttccatgcat gtgtgattca gcttcccttt gaccagcgtg ttaggaagaa 3120
cctcacattc tttctgggca tcatctccag ccaagcatcc tgctgctatg ctatcctgaa 3180
ggtcaagaat ccaggaatga cactaaaggc ctctggctcc tttcctcctg aagccgcaca 3240
ttggctctgc taccaggcct tcctgctcaa gctggctgct cattctgtca tctacaaatg 3300
tctcctggga cctctgagga cagcccaaaa actgctgtgc cggaagctcc cagaggcgac 3360
aatgaccatc cttaaagctg cagctgaccc agccctaagc acagactttc agaccatttt 3420
ggactaacaa ttggctcgct ttcttgctgt ccaatttcta ttaaaggttc cttttgttcc 3480
ctaagtccaa ctactaaact gggggatatt atgaagggcc ttgagcatct ggattctgcc 3540
taataaaaaa catttctttt cattgcgaat tcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720
aaa 3723

〈210〉 38

<211> 3601
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)
<400> 38

aggaaataag agagaaaaga agagtaagaa gaaatataag agccaccatg acccgcgctc 60
ctcgttgccc cgcggtgcgc tctctgctgc gcagccgata ccgggaggtg tggccgctgg 120
caacctttgt gcggcgcctg gggcccgagg gcaggcggct tgtgcaaccc ggggacccga 180
agatctaccg cactttggtt gcccaatgcc tagtgtgcat gcactggggc tcacagcctc 240
cacctgccga cctttccttc caccaggtgt catccctgaa agagctggtg gccagggttg 300
tgcagagact ctgcgagcgc aacgagagaa acgtgctggc ttttggcttt gagctgctta 360
acgaggccag aggcgggcct cccatggcct tcactagtag cgtgcgtagc tacttgccca 420
acactgttat tgagaccctg cgtgtcagtg gtgcatggat gctactgttg agccgagtgg 480
gcgacgacct gctggtctac ctgctggcac actgtgctct ttatcttctg gtgccccca 540
gctgtgccta ccaggtgtgt gggtctcccc tgtaccaaat ttgtgccacc acggatatct 600
ggccctctgt gtccgctagt tacaggccca cccgacccgt gggcaggaat ttcactaacc 660
ttaggttctt acaacagatc aagagcagta gtcgccagga agcaccgaaa cccctggcct 720
tgccatctcg aggtacaaag aggcatctga gtctcaccag tacaagtgtg ccttcagcta 780
agaaggccag atgctatcct gtcccgagag tggaggaggg accccacagg caggtgctac 840
caaccccatc aggcaaatca tgggtgccaa gtcctgctcg gtcccccgag gtgcctactg 900
cagagaaaga tttgtcttct aaaggaaagg tgtctgacct gagtctctct gggtcggtgt 960
gctgtaaaca caagcccagc tccacatctc tgctgtcacc accccgccaa aatgcctttc 1020
agctcaggcc atttattgag accagacatt tcctttactc caggggagat ggccaagagc 1080
gtctaaaccc ctcattccta ctcagcaacc tccagcctaa cttgactggg gccaggagac 1140
tggtggagat catctttctg ggctcaaggc ctaggacatc aggaccactc tgcaggacac 1200
accgtctatc gcgtcgatac tggcagatgc ggcccctgtt ccaacagctg ctggtgaacc 1260
atgcagagtg ccaatatgtc agactcctca ggtcacattg caggtttcga acagcaaacc 1320
aacaggtgac agatgccttg aacaccagcc caccgcacct catggatttg ctccgcctgc 1380
acagcagtcc ctggcaggta tatggttttc ttcgggcctg tctctgcaag gtggtgtctg 1440
ctagtctctg gggtaccagg cacaatgagc gccgcttctt taagaactta aagaagttca 1500
tctcgttggg gaaatacggc aagctatcac tgcaggaact gatgtggaag atgaaagtag 1560
aggattgcca ctggctccgc agcagcccgg ggaaggaccg tgtccccgct gcagagcacc 1620
gtctgaggga gaggatcctg gctacgttcc tgttctggct gatggacaca tacgtggtac 1680
agctgcttag gtcattcttt tacatcacag agagcacatt ccagaagaac aggctcttct 1740
tctaccgtaa gagtgtgtgg agcaagctgc agagcattgg agtcaggcaa caccttgaga 1800
gagtgcggct acgggagctg tcacaagagg aggtcaggca tcaccaggac acctggctag 1860
ccatgcccat ctgcagactg cgcttcatcc ccaagcccaa cggcctgcgg cccattgtga 1920
acatgagtta tagcatgggt accagagctt tgggcagaag gaagcaggcc cagcatttca 1980
cccagcgtct caagactctc ttcagcatgc tcaactatga gcggacaaaa catcctcacc 2040
ttatggggtc ttctgtactg ggtatgaatg acatctacag gacctggcgg gcctttgtgc 2100

tgcgtgtgcg tgctctggac cagacaccca ggatgtactt tgttaaggca gatgtgaccg 2160
gggcctatga tgccatcccc cagggtaagc tggtggaggt tgttgccaat atgatcaggc 2220
actcggagag cacgtactgt atccgccagt atgcagtggt ccggagagat agccaaggcc 2280
aagtccacaa gtcctttagg agacaggtca ccaccctctc tgacctccag ccatacatgg 2340
gccagttcct taagcatctg caggattcag atgccagtgc actgaggaac tccgttgtca 2400
tcgagcagag catctctatg aatgagagca gcagcagcct gtttgacttc ttcctgcact 2460
tcctgcgtca cagtgtcgta aagattggtg acaggtgcta tacgcagtgc cagggcatcc 2520
cccagggctc cagcctatcc accctgctct gcagtctgtg tttcggagac atggagaaca 2580
agctgtttgc tgaggtgcag cgggatgggt tgcttttacg ttttgttgat gactttctgt 2640
tggtgacgcc tcacttggac caagcaaaaa ccttcctcag caccctggtc catggcgttc 2700
ctgagtatgg gtgcatgata aacttgcaga agacagtggt gaacttccct gtggagcctg 2760
gtaccctggg tggtgcagct ccataccagc tgcctgctca ctgcctgttt ccctggtgtg 2820
gcttgctgct ggacactcag actttggagg tgttctgtga ctactcaggt tatgcccaga 2880
cctcaattaa gacgagcctc accttccaga gtgtcttcaa agctgggaag accatgcgga 2940
acaagctcct gtcggtcttg cggttgaagt gtcacggtct atttctagac ttgcaggtga 3000
acagcctcca gacagtctgc atcaatatat acaagatctt cctgcttcag gcctacaggt 3060
tccatgcatg tgtgattcag cttccctttg accagcgtgt taggaagaac ctcacattct 3120
ttctgggcat catctccagc caagcatcct gctgctatgc tatcctgaag gtcaagaatc 3180
caggaatgac actaaaggcc tctggctcct ttcctcctga agccgcacat tggctctgct 3240
accaggcctt cctgctcaag ctggctgctc attctgtcat ctacaaatgt ctcctgggac 3300
ctctgaggac agcccaaaaa ctgctgtgcc ggaagctccc agaggcgaca atgaccatcc 3360
ttaaagctgc agctgaccca gccctaagca cagactttca gaccattttg gactaataat 3420
taagctgcct tctgcggggc ttgccttctg gccatgccct tcttctctcc cttgcacctg 3480
tacctcttgg tctttgaata aagcctgagt aggaagtcta gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600
a 3601

<210> 39
<211> 3753
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 39

gggacatttg cttctgacac aactgtgttc actagcaacc tcaaacaact agtacaccat 60
gccgcgcgct ccccgctgcc gagccgtgcg ctccctgctg cgcagccact accgcgaggt 120
gctgccgctg gccacgttcg tgcggcgcct ggggccccag ggctggcggc tggtgcagcg 180
cggggacccg gcggctttcc gcgcgctggt ggcccagtgc ctggtgtgcg tgccctggga 240
cgcacggccg ccccccgccg cccctcctt ccgccaggtg tcctgcctga aggagctggt 300
ggcccgagtg ctgcagaggc tgtgcgagcg cggcgcgaag aacgtgctgg ccttcggctt 360
cgcgctgctg gacggggccc gcgggggccc ccccgaggcc ttcaccacca gcgtgcgcag 420
ctacctgccc aacacggtga ccgacgcact gcgggggagc ggggcgtggg ggctgctgct 480

gcgccgcgtg ggcgacgacg tgctggttca cctgctggca cgctgcgcgc tctttgtgct 540
ggtggctccc agctgcgcct accaggtgtg cgggccgccg ctgtaccagc tcggcgctgc 600
cactcaggcc cggcccccgc cacacgctag tggaccccga aggcgtctgg gatgcgaacg 660
ggcctggaac catagcgtca gggaggccgg ggtccccctg ggcctgccag ccccgggtgc 720
gaggaggcgc gggggcagtg ccagccgaag tctgccgttg cccaagaggc ccaggcgtgg 780
cgctgccccct gagccggagc ggacgcccgt tgggcagggg tcctgggccc acccgggcag 840
gacgcgtgga ccgagtgacc gtggtttctg tgtggtgtca cctgccagac ccgccgaaga 900
agccacctct ttggagggtg cgctctctgg cacgcgccac tcccacccat ccgtgggccg 960
ccagcaccac gcgggccccc catccacatc gcggccacca cgtccctggg acacgccttg 1020
tcccccggtg tacgccgaga ccaagcactt cctctactcc tcaggcgaca aggagcagct 1080
gcggccctcc ttcctactca gctctctgag gcccagcctg actggcgctc ggaggctcgt 1140
ggagaccatc tttctgggtt ccaggccctg gatgccaggg actccccgca ggttgccccg 1200
cctgccccag cgctactggc aaatgcggcc cctgtttctg gagctgcttg ggaaccacgc 1260
gcagtgcccc tacggggtgc tcctcaagac gcactgcccg ctgcgagctg cggtcacccc 1320
agcagccggt gtctgtgccc gggagaagcc ccagggctct gtggcggccc ccgaggagga 1380
ggacacagac ccccgtcgcc tggtgcagct gctccgccag cacagcagcc cctggcaggt 1440
gtacggcttc gtgcgggcct gcctgcgccg gctggtgccc ccaggcctct ggggctccag 1500
gcacaacgaa cgccgcttcc tcaggaacac caagaagttc atctccctgg ggaagcatgc 1560
caagctctcg ctgcaggagc tgacgtggaa gatgagcgtg cgggactgcg cttggctgcg 1620
caggagccca ggggttggct gtgttccggc cgcagagcac cgtctgcgtg aggagatcct 1680
ggccaagttc ctgcactggc tgatgagtgt gtacgtcgtc gagctgctca ggtctttctt 1740
ttatgtcacg gagaccacgt ttcaaaagaa caggctcttt ttctaccgga agagtgtctg 1800
gagcaagttg caaagcattg gaatcagaca gcacttgaag agggtgcagc tgcgggagct 1860
gtcggaagca gaggtcaggc agcatcggga agccaggccc gccctgctga cgtccagact 1920
ccgcttcatc cccaagcctg acgggctgcg gccgattgtg aacatggact acgtcgtggg 1980
agccagaacg ttccgcagag aaaagagggc cgagcgtctc acctcgaggg tgaaggcact 2040
gttcagcgtg ctcaactacg agcgggcgcg gcgcccggc ctcctgggcg cctctgtgct 2100
gggcctggac gatatccaca gggcctggcg caccttcgtg ctgcgtgtgc gggcccagga 2160
cccgccgcct gagctgtact ttgtcaaggt ggatgtgacg ggcgcgtacg acaccatccc 2220
ccaggacagg ctcacggagg tcatcgccag catcatcaaa ccccagaaca cgtactgcgt 2280
gcgtcggtat gccgtggtcc agaaggccgc ccatgggcac gtccgcaagg ccttcaagag 2340
ccacgtctct accttgacag acctccagcc gtacatgcga cagttcgtgg ctcacctgca 2400
ggagaccagc ccgctgaggg atgccgtcgt catcgagcag agctcctccc tgaatgaggc 2460
cagcagtggc ctcttcgacg tcttcctacg cttcatgtgc caccacgccg tgcgcatcag 2520
gggcaagtcc tacgtccagt gccaggggat cccgcagggc tccatcctct ccacgctgct 2580
ctgcagcctg tgctacggcg acatggagaa caagctgttt gcggggattc ggcgggacgg 2640
gctgctcctg cgtttggtgg atgatttctt gttggtgaca cctcacctca cccacgcgaa 2700
aaccttcctc aggaccctgg tccgaggtgt ccctgagtat ggctgcgtgg tgaacttgcg 2760
gaagacagtg gtgaacttcc ctgtagaaga cgaggccctg ggtggcacgg cttttgttca 2820

gatgccggcc cacggcctat tcccctggtg cggcctgctg ctggataccc ggaccctgga 2880
ggtgcagagc gactactcca gctatgcccg gacctccatc agagccagtc tcaccttcaa 2940
ccgcggcttc aaggctggga ggaacatgcg tcgcaaactc tttggggtct tgcggctgaa 3000
gtgtcacagc ctgtttctgg atttgcaggt gaacagcctc cagacggtgt gcaccaacat 3060
ctacaagatc ctcctgctgc aggcgtacag gtttcacgca tgtgtgctgc agctcccatt 3120
tcatcagcaa gtttggaaga accccacatt tttcctgcgc gtcatctctg acacggcctc 3180
cctctgctac tccatcctga aagccaagaa cgcagggatg tcgctggggg ccaagggcgc 3240
cgccggccct ctgccctccg aggccgtgca gtggctgtgc caccaagcat tcctgctcaa 3300
gctgactcga caccgtgtca cctacgtgcc actcctgggg tcactcagga cagcccagac 3360
gcagctgagt cggaagctcc cggggacgac gctgactgcc ctggaggccg cagccaaccc 3420
ggcactgccc tcagacttca agaccatcct ggactgacaa ttggctcgct ttcttgctgt 3480
ccaatttcta ttaaaggttc cttttgttcc ctaagtccaa ctactaaact gggggatatt 3540
atgaagggcc ttgagcatct ggattctgcc taataaaaaa catttctttt cattgcgaat 3600
tcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3753

<210> 40
<211> 3665
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 40

aggaaataag agagaaaaga agagtaagaa gaaatataag agccaccatg ccgcgcgctc 60
cccgctgccg agccgtgcgc tccctgctgc gcagccacta ccgcgaggtg ctgccgctgg 120
ccacgttcgt gcggcgcctg gggccccagg gctggcggct ggtgcagcgc ggggacccgg 180
cggctttccg cgcgctggtg gcccagtgcc tggtgtgcgt gccctgggac gcacggccgc 240
cccccgccgc cccctccttc cgccaggtgt cctgcctgaa ggagctggtg gcccgagtgc 300
tgcagaggct gtgcgagcgc ggcgcgaaga acgtgctggc cttcggcttc gcgctgctgg 360
acggggcccg cgggggcccc cccgaggcct tcaccaccag cgtgcgcagc tacctgccca 420
acacggtgac cgacgcactg cgggggagcg gggcgtgggg gctgctgctg cgccgcgtgg 480
gcgacgacgt gctggttcac ctgctggcac gctgcgcgct ctttgtgctg gtggctccca 540
gctgcgccta ccaggtgtgc gggccgccgc tgtaccagct cggcgctgcc actcaggccc 600
ggcccccgcc acacgctagt ggaccccgaa ggcgtctggg atgcgaacgg gcctggaacc 660
atagcgtcag ggaggccggg gtccccctgg gcctgccagc cccgggtgcg aggaggcgcg 720
ggggcagtgc cagccgaagt ctgccgttgc ccaagaggcc caggcgtggc gctgccctg 780
agccggagcg gacgcccgtt gggcaggggt cctgggccca cccgggcagg acgcgtggac 840
cgagtgaccg tggtttctgt gtggtgtcac ctgccagacc cgccgaagaa gccacctctt 900
tggagggtgc gctctctggc acgcgccact cccacccatc cgtgggccgc cagcaccacg 960
cgggcccccc atccacatcg cggccaccac gtccctggga cacgccttgt cccccggtgt 1020
acgccgagac caagcacttc ctctactcct caggcgacaa ggagcagctg cggccctcct 1080

tcctactcag ctctctgagg cccagcctga ctggcgctcg gaggctcgtg gagaccatct 1140
ttctgggttc caggccctgg atgccaggga ctccccgcag gttgccccgc ctgccccagc 1200
gctactggca aatgcggccc ctgtttctgg agctgcttgg gaaccacgcg cagtgcccct 1260
acggggtgct cctcaagacg cactgcccgc tgcgagctgc ggtcacccca gcagccggtg 1320
tctgtgcccg ggagaagccc cagggctctg tggcggcccc cgaggaggag gacacagacc 1380
cccgtcgcct ggtgcagctg ctccgccagc acagcagccc ctggcaggtg tacggcttcg 1440
tgcgggcctg cctgcgccgg ctggtgcccc caggcctctg gggctccagg cacaacgaac 1500
gccgcttcct caggaacacc aagaagttca tctccctggg gaagcatgcc aagctctcgc 1560
tgcaggagct gacgtggaag atgagcgtgc gggactgcgc ttggctgcgc aggagcccag 1620
gggttggctg tgttccggcc gcagagcacc gtctgcgtga ggagatcctg gccaagttcc 1680
tgcactggct gatgagtgtg tacgtcgtcg agctgctcag gtctttcttt tatgtcacgg 1740
agaccacgtt tcaaaagaac aggctctttt tctaccggaa gagtgtctgg agcaagttgc 1800
aaagcattgg aatcagacag cacttgaaga gggtgcagct gcgggagctg tcggaagcag 1860
aggtcaggca gcatcgggaa gccaggcccg ccctgctgac gtccagactc cgcttcatcc 1920
ccaagcctga cgggctgcgg ccgattgtga acatggacta cgtcgtggga gccagaacgt 1980
tccgcagaga aaagagggcc gagcgtctca cctcgagggt gaaggcactg ttcagcgtgc 2040
tcaactacga gcgggcgcgg cgcccggcc tcctgggcgc ctctgtgctg ggcctggacg 2100
atatccacag ggcctggcgc accttcgtgc tgcgtgtgcg ggcccaggac ccgccgcctg 2160
agctgtactt tgtcaaggtg gatgtgacgg gcgcgtacga caccatcccc caggacaggc 2220
tcacggaggt catcgccagc atcatcaaac cccagaacac gtactgcgtg cgtcggtatg 2280
ccgtggtcca gaaggccgcc catgggcacg tccgcaaggc cttcaagagc cacgtctcta 2340
ccttgacaga cctccagccg tacatgcgac agttcgtggc tcacctgcag gagaccagcc 2400
cgctgaggga tgccgtcgtc atcgagcaga gctcctccct gaatgaggcc agcagtggcc 2460
tcttcgacgt cttcctacgc ttcatgtgcc accacgccgt gcgcatcagg ggcaagtcct 2520
acgtccagtg ccaggggatc ccgcagggct ccatcctctc cacgctgctc tgcagcctgt 2580
gctacggcga catggagaac aagctgtttg cggggattcg gcgggacggg ctgctcctgc 2640
gtttggtgga tgatttcttg ttggtgacac ctcacctcac ccacgcgaaa accttcctca 2700
ggaccctggt ccgaggtgtc cctgagtatg gctgcgtggt gaacttgcgg aagacagtgg 2760
tgaacttccc tgtagaagac gaggccctgg gtggcacggc ttttgttcag atgccggccc 2820
acggcctatt cccctggtgc ggcctgctgc tggatacccg gaccctggag gtgcagagcg 2880
actactccag ctatgcccgg acctccatca gagccagtct caccttcaac cgcggcttca 2940
aggctgggag gaacatgcgt cgcaaactct ttggggtctt gcggctgaag tgtcacagcc 3000
tgtttctgga tttgcaggtg aacagcctcc agacggtgtg caccaacatc tacaagatcc 3060
tcctgctgca ggcgtacagg tttcacgcat gtgtgctgca gctcccattt catcagcaag 3120
tttggaagaa ccccacattt ttcctgcgcg tcatctctga cacggcctcc ctctgctact 3180
ccatcctgaa agccaagaac gcagggatgt cgctgggggc caagggcgcc gccggccctc 3240
tgccctccga ggccgtgcag tggctgtgcc accaagcatt cctgctcaag ctgactcgac 3300
accgtgtcac ctacgtgcca ctcctggggt cactcaggac agcccagacg cagctgagtc 3360
ggaagctccc ggggacgacg ctgactgccc tggaggccgc agccaacccg gcactgccct 3420

cagacttcaa gaccatcctg gactgataat taagctgcct tctgcggggc ttgccttctg 3480
gccatgccct tcttctctcc cttgcacctg tacctcttgg tctttgaata aagcctgagt 3540
aggaagaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660
aaaaa 3665

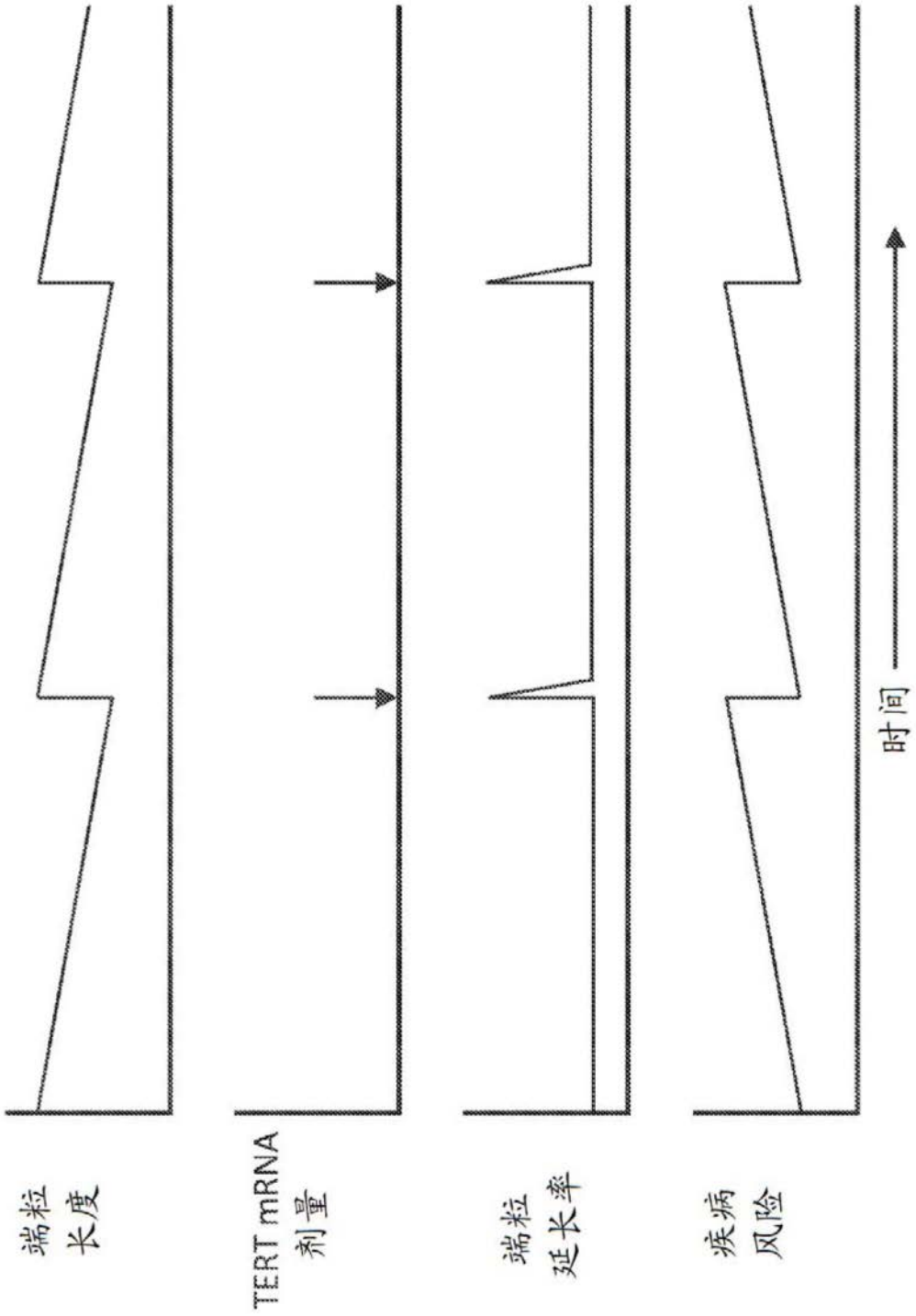


图1

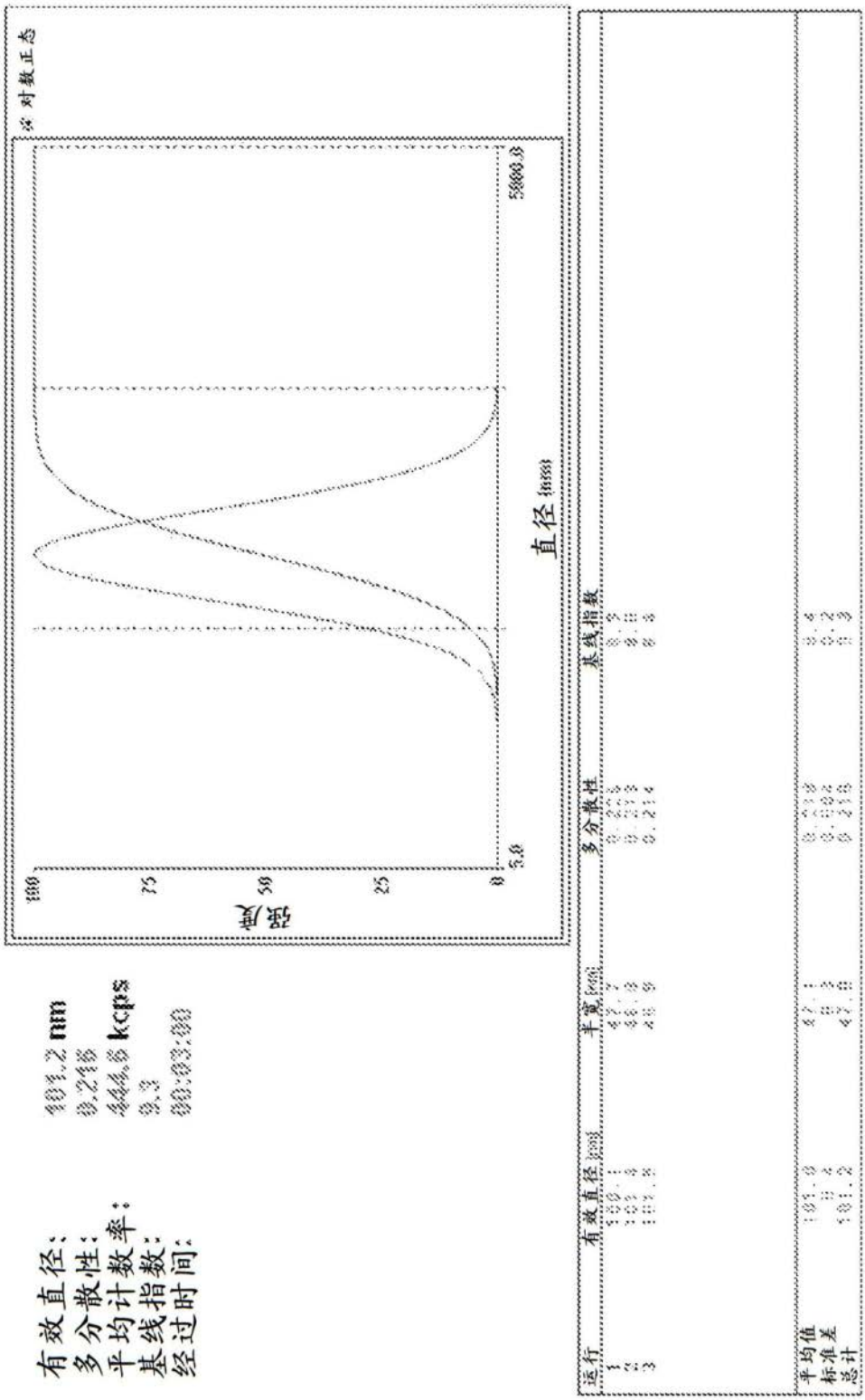

对数正态
强度
直径 (nm)
有效直径:
多分散性:
平均计数率:
基线指数:
经过时间:
运行
有效直径 (nm)
半宽 (nm)
多分散性
基线指数
平均值
标准差
总计

图2

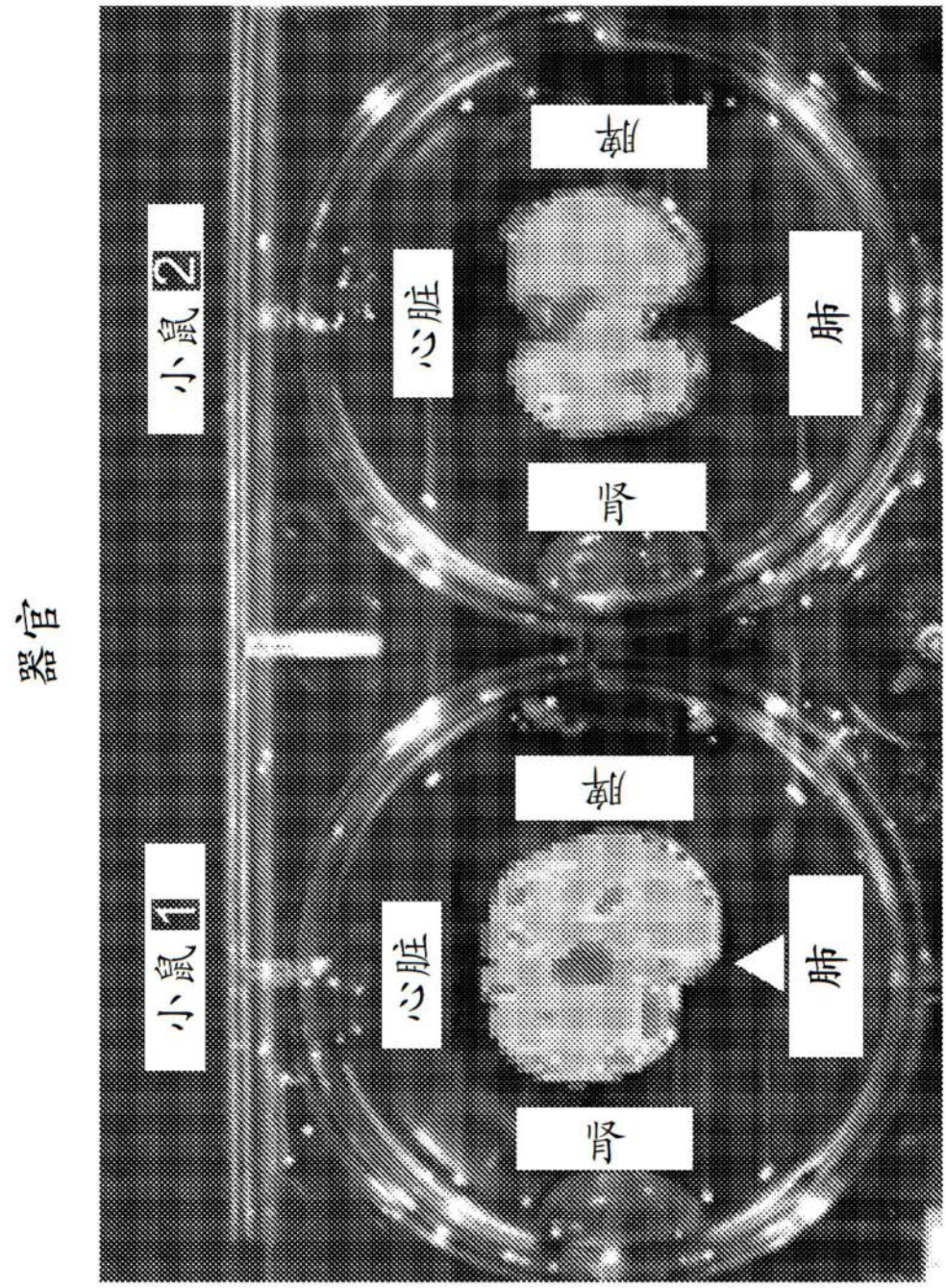


图3

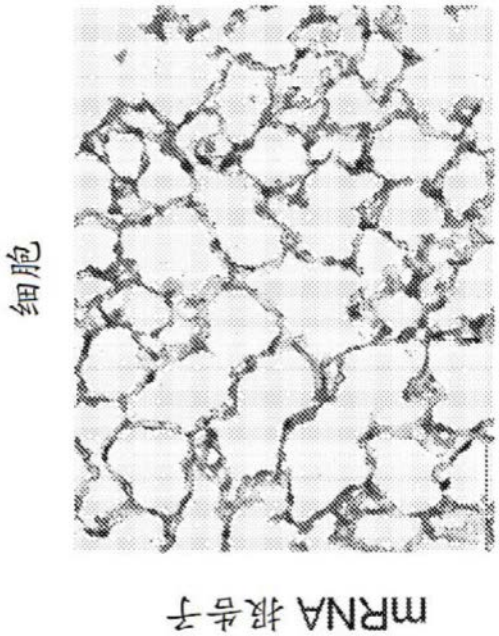


图4A

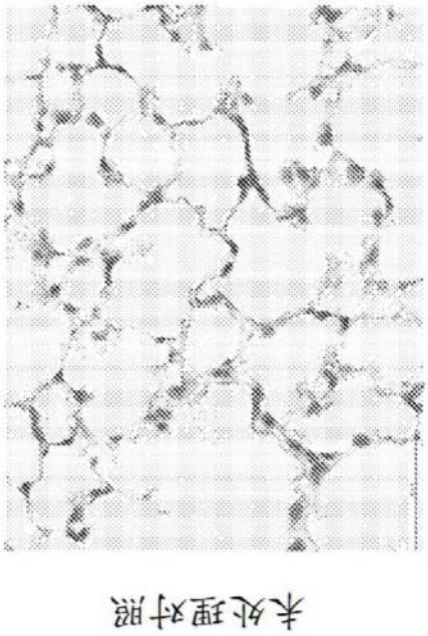


图4B

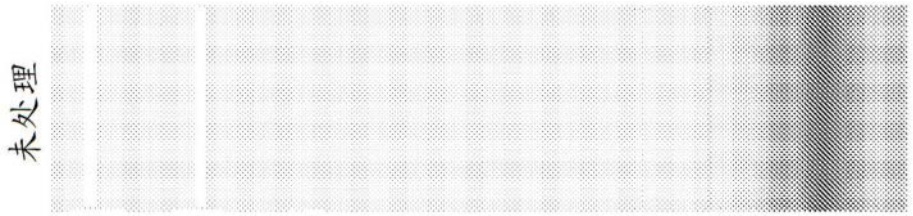

未处理

图5A

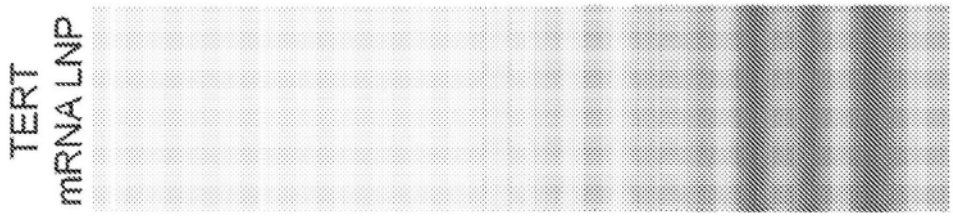

TERT
mRNA LNP

图5B

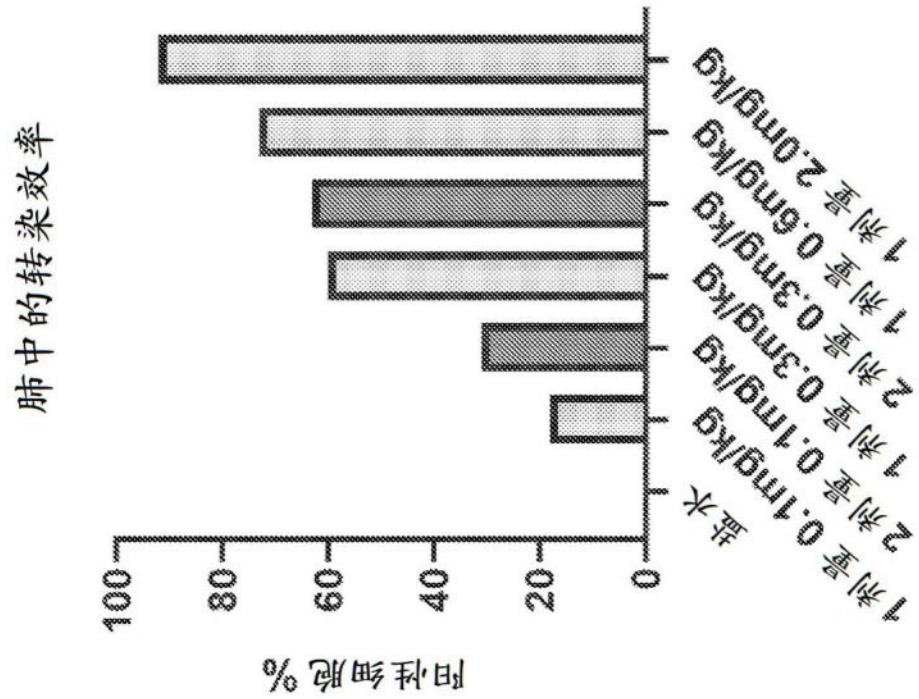

肺中的转染效率
阳性细胞 %
0
20
40
60
80
100
盐水
1 剂量 0.1mg/kg
2 剂量 0.1mg/kg
1 剂量 0.3mg/kg
2 剂量 0.3mg/kg
1 剂量 0.6mg/kg
1 剂量 2.0mg/kg

图6A

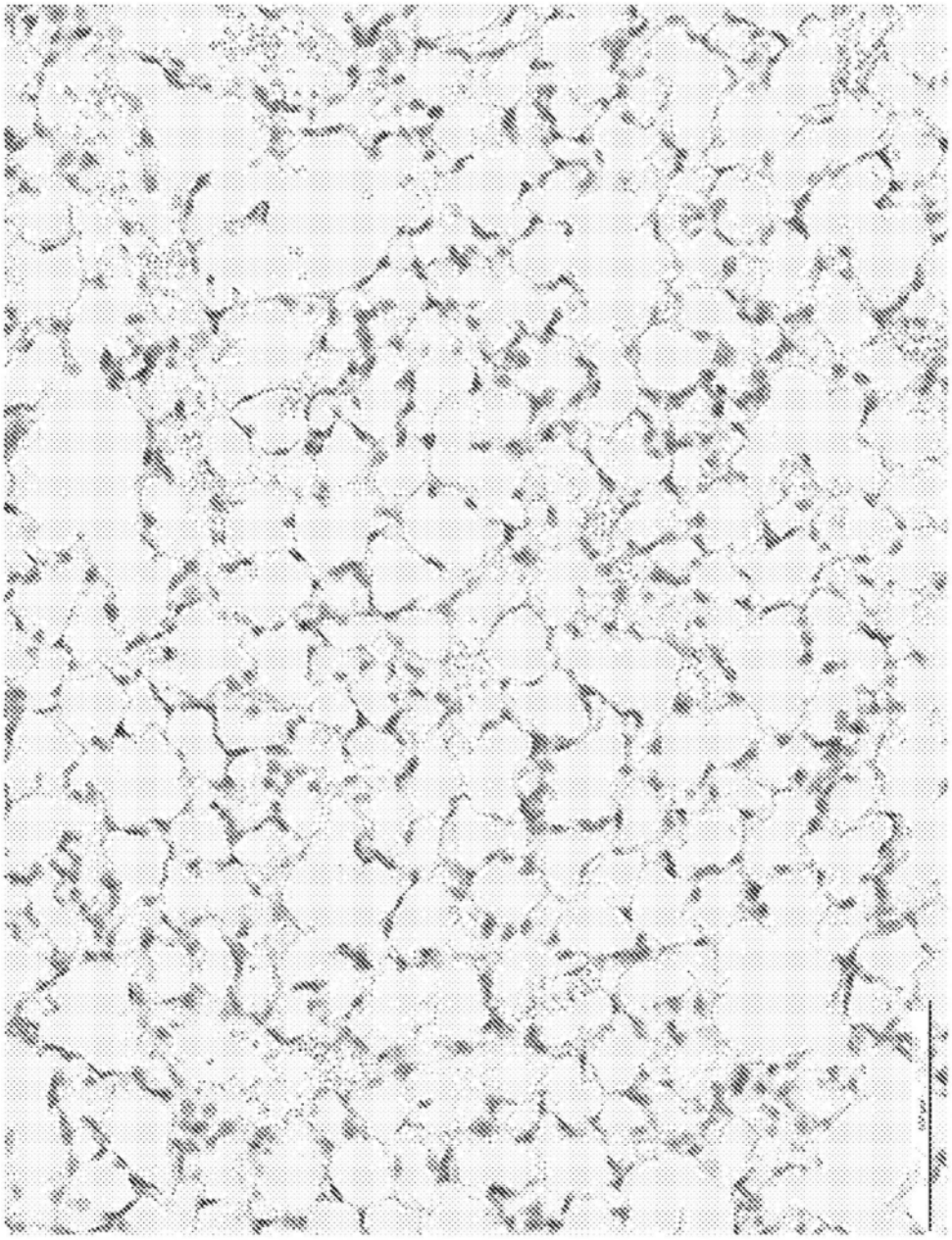
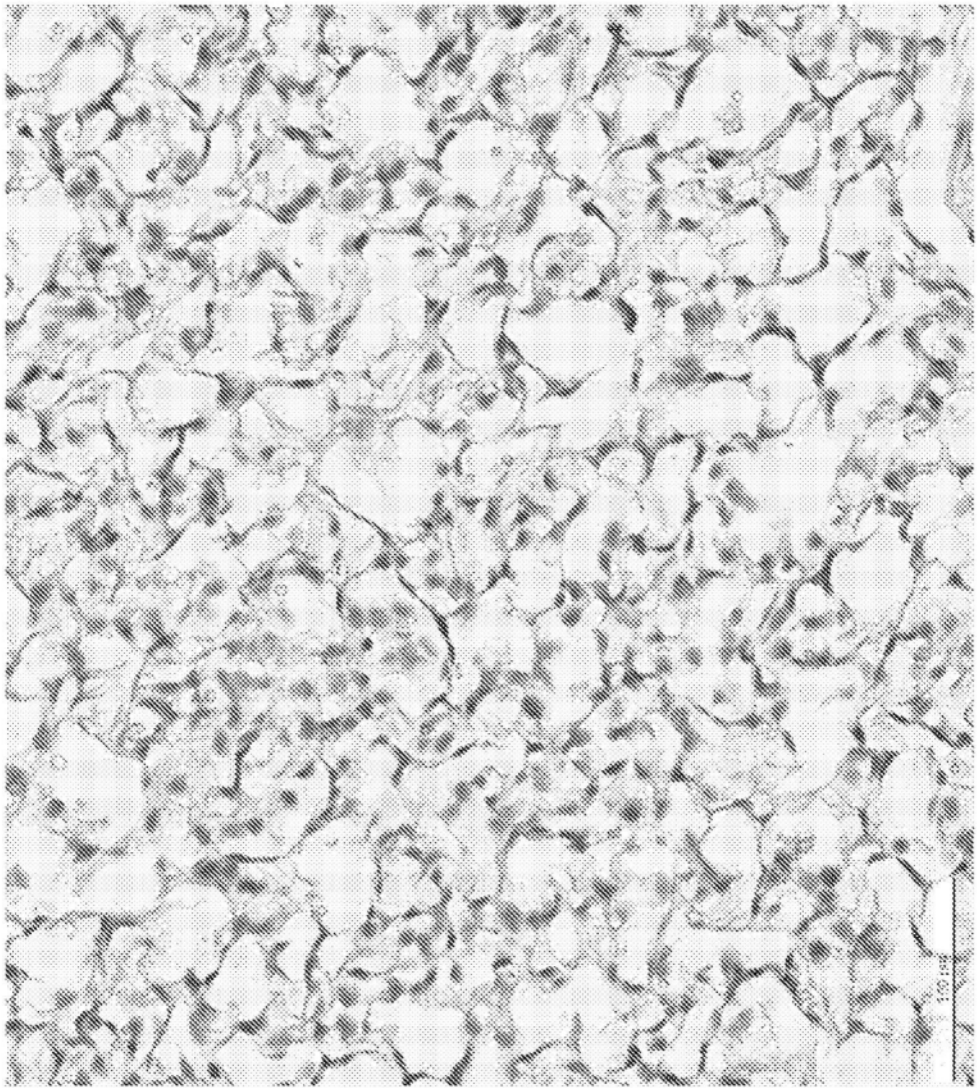


图6B



0.1 mg/kg

图6C

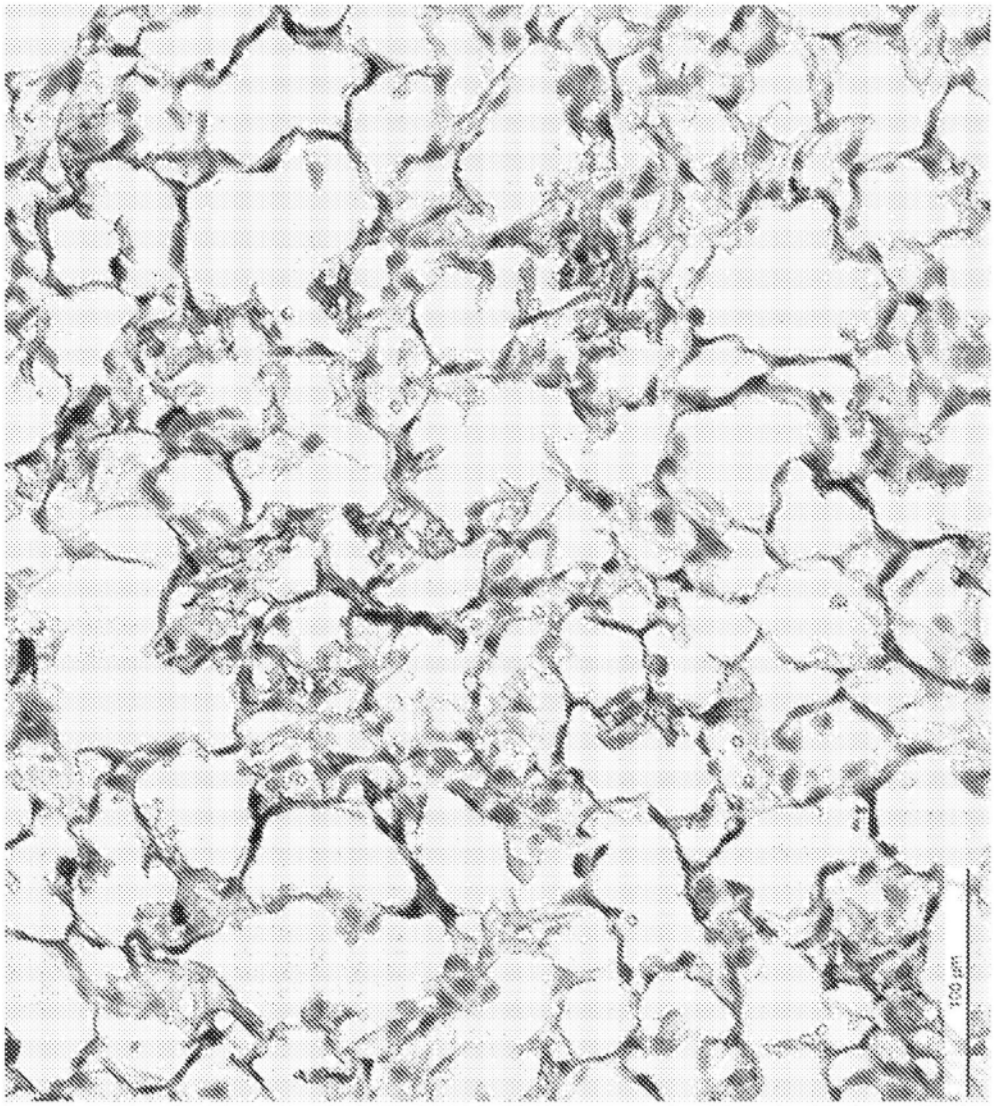


图6D

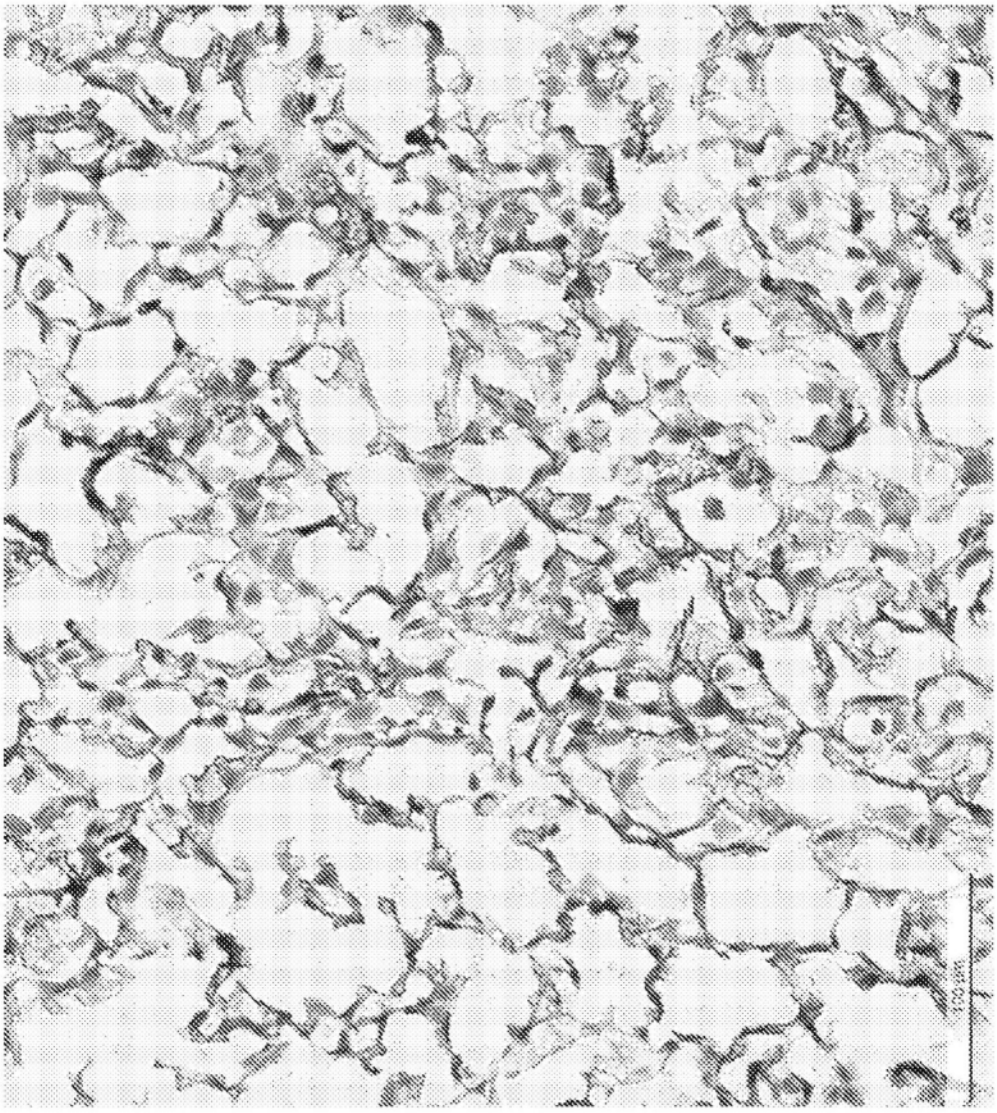
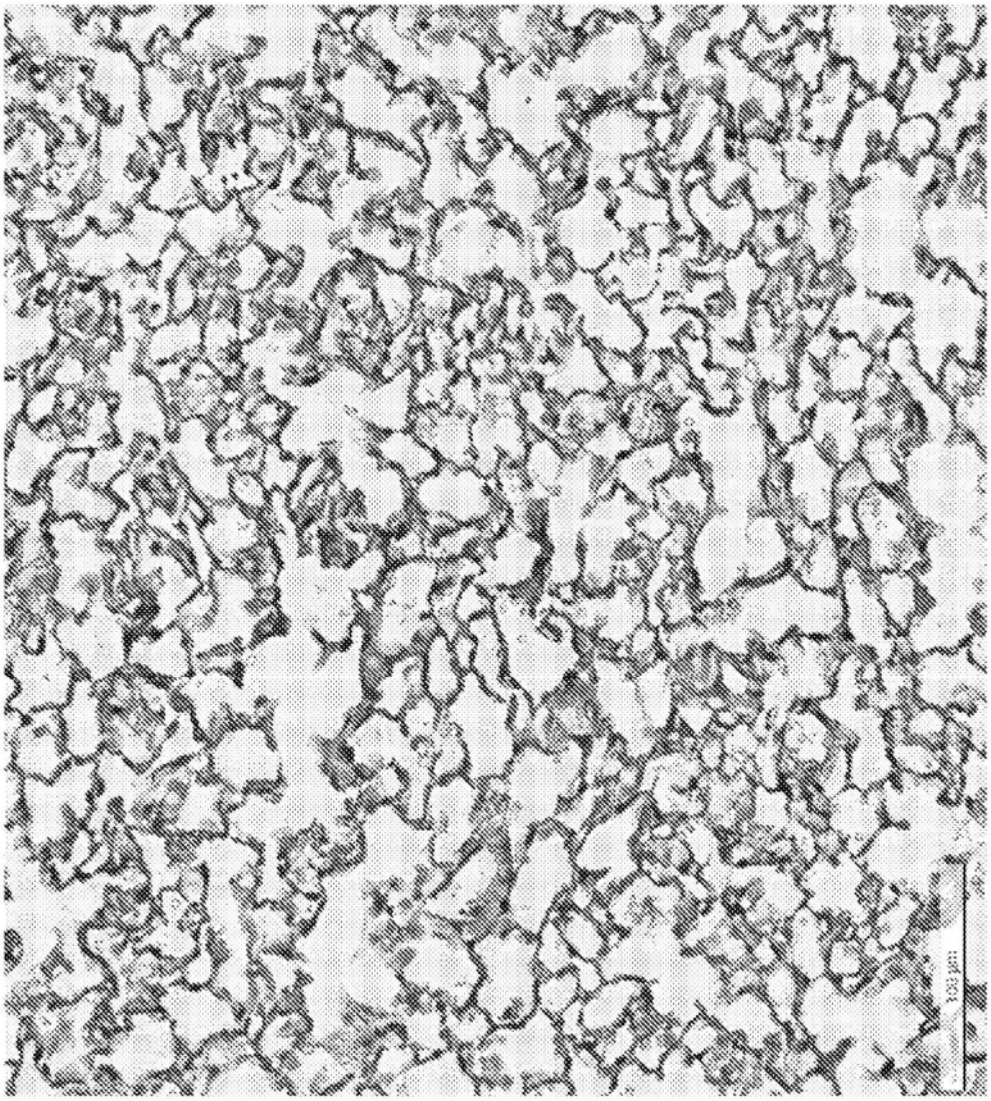


图6E



2.0 mg/kg

图6F

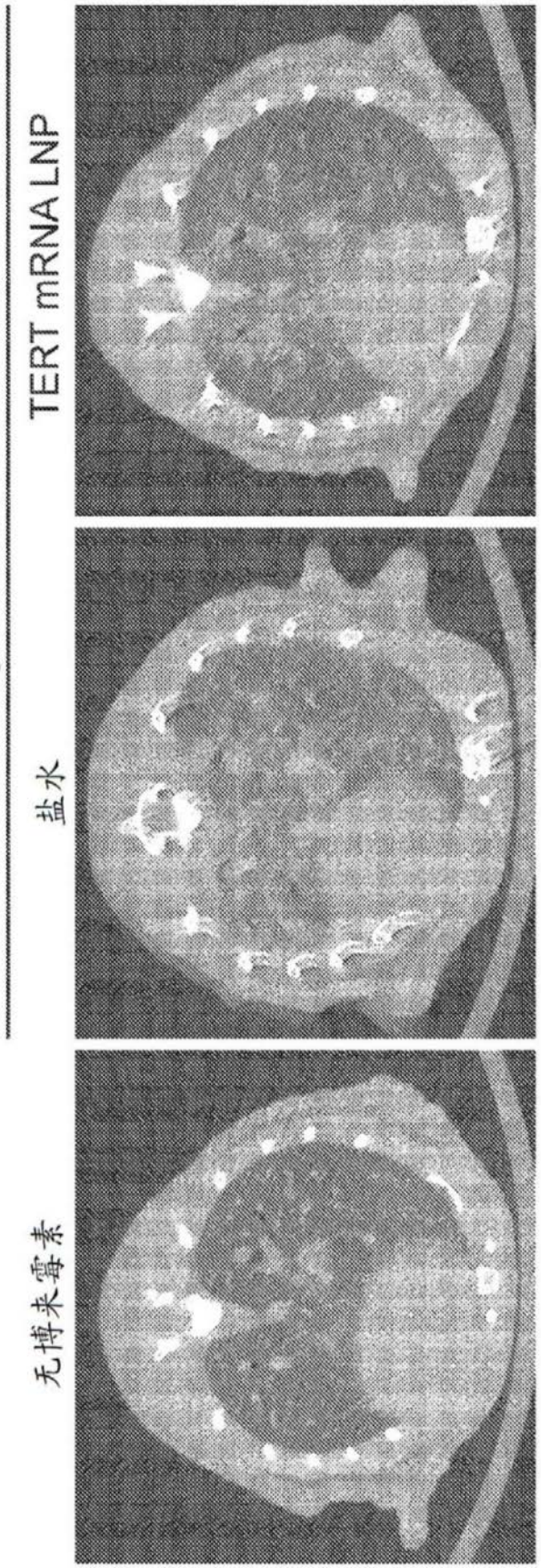


图 7A 图 7B 图 7C

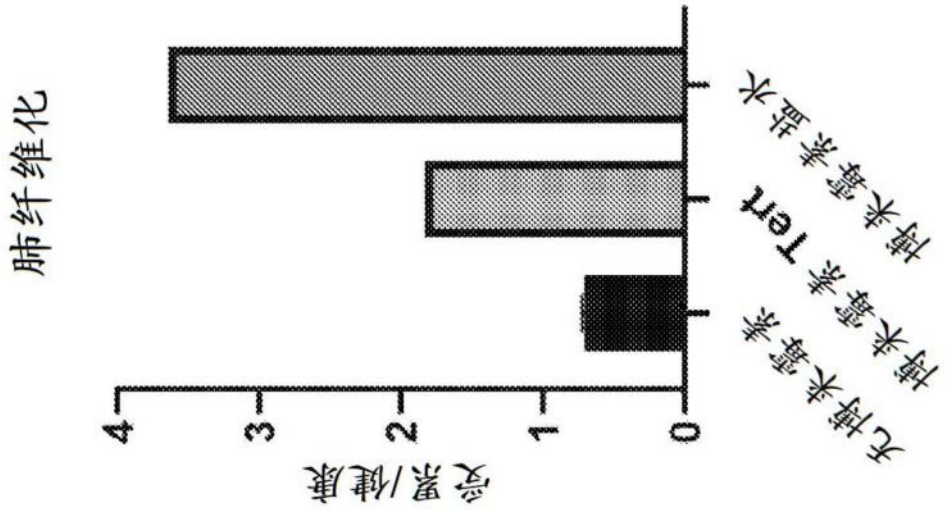


图7D

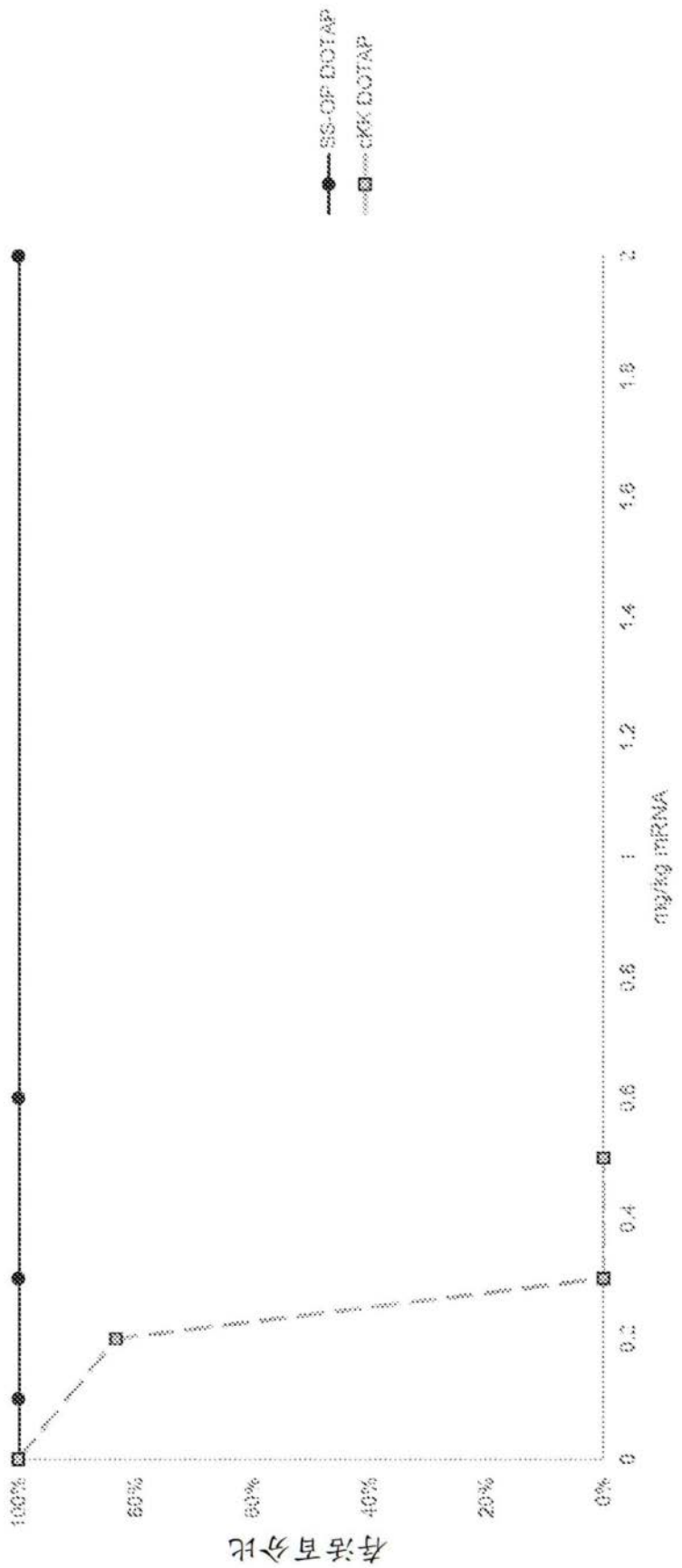

SS-OP DOTAP
cRK DOTAP
存活百分比
100%
80%
60%
40%
20%
0%
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
1.6
1.8
2
ug/kg mRNA

图8

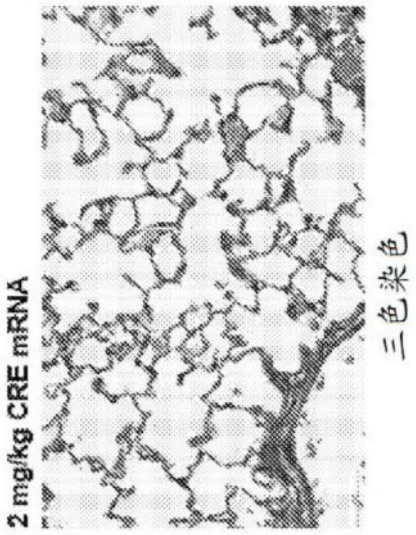


图9A

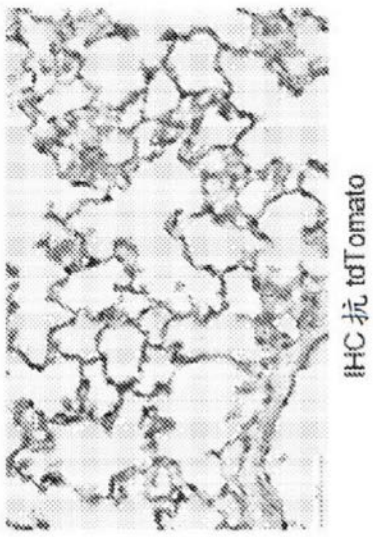


图9B



图9C

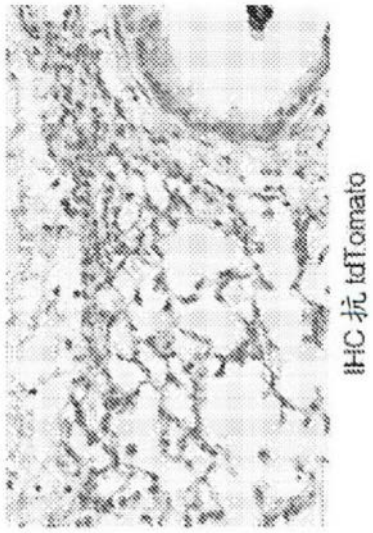


图9D

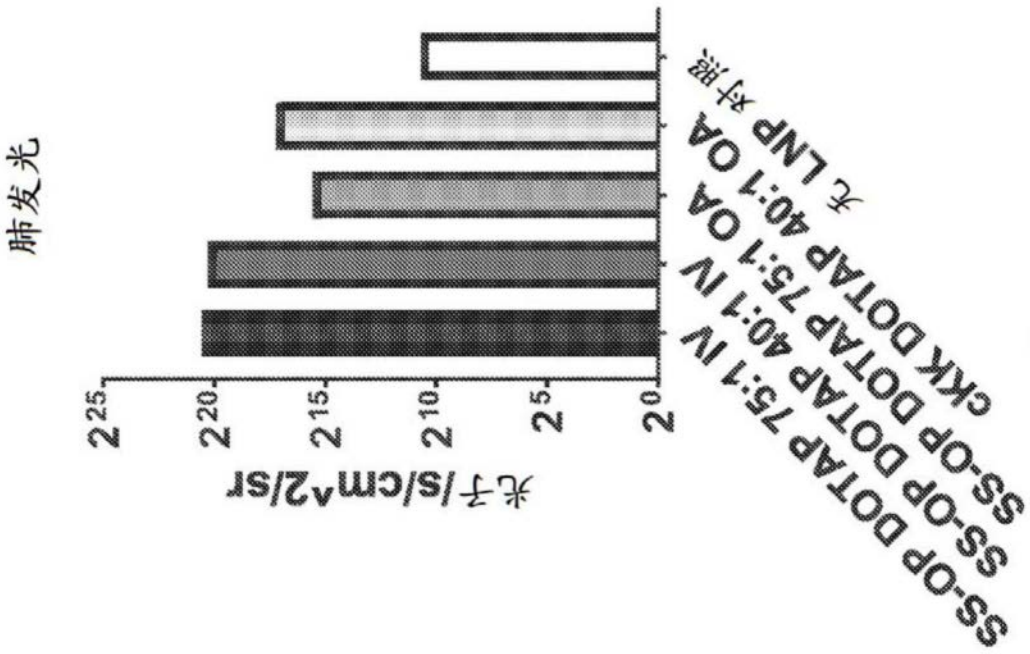

肺发光
光子/s/cm^2/sr
2^{25}
2^{20}
2^{15}
2^{10}
2^{5}
2^{0}
SS-OP DOTAP 75:1 IV
SS-OP DOTAP 40:1 IV
SS-OP DOTAP 75:1 OA
SS-OP DOTAP 40:1 OA
cKK DOTAP 40:1 OA
无 LNP 对照

图10

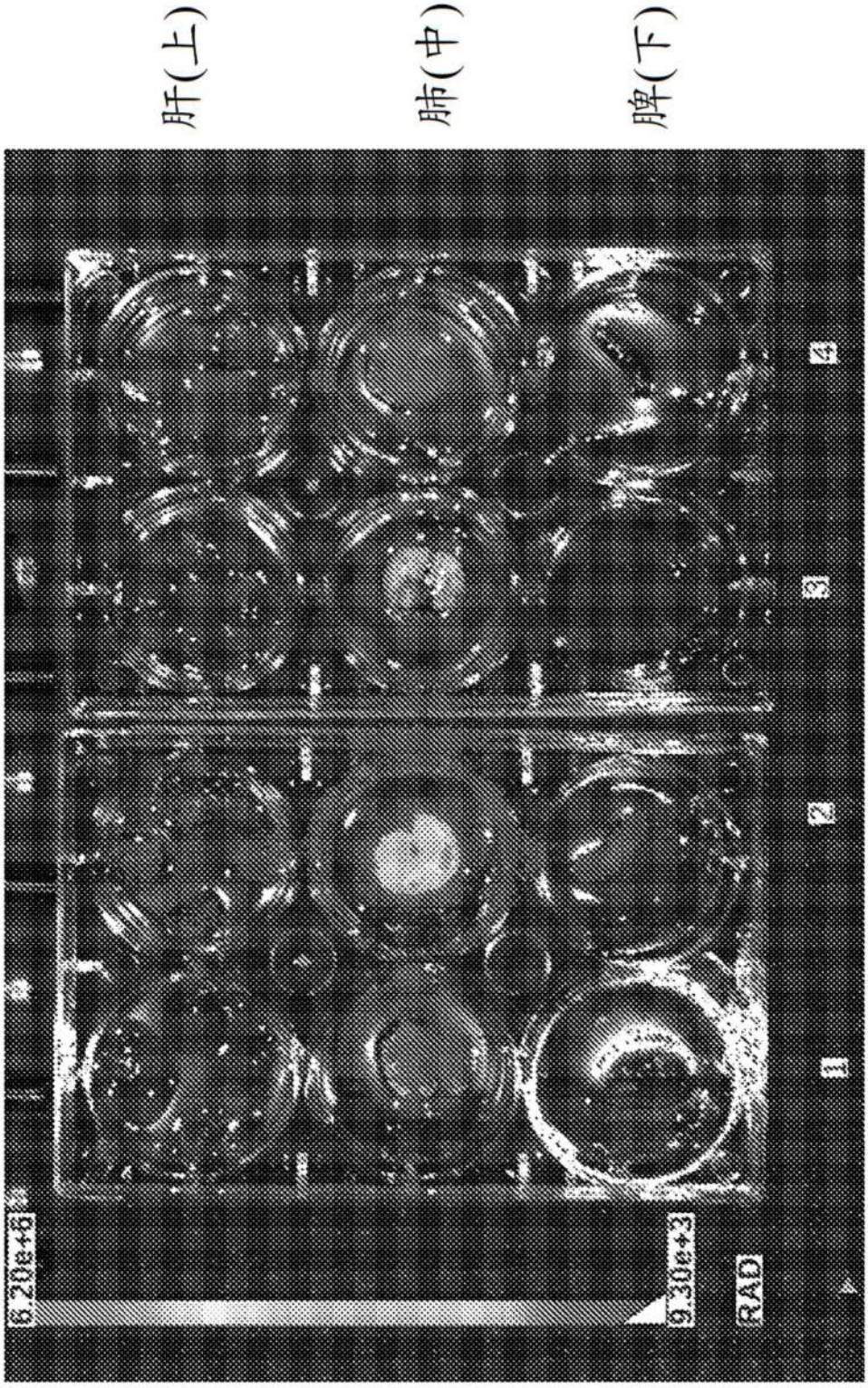


图11

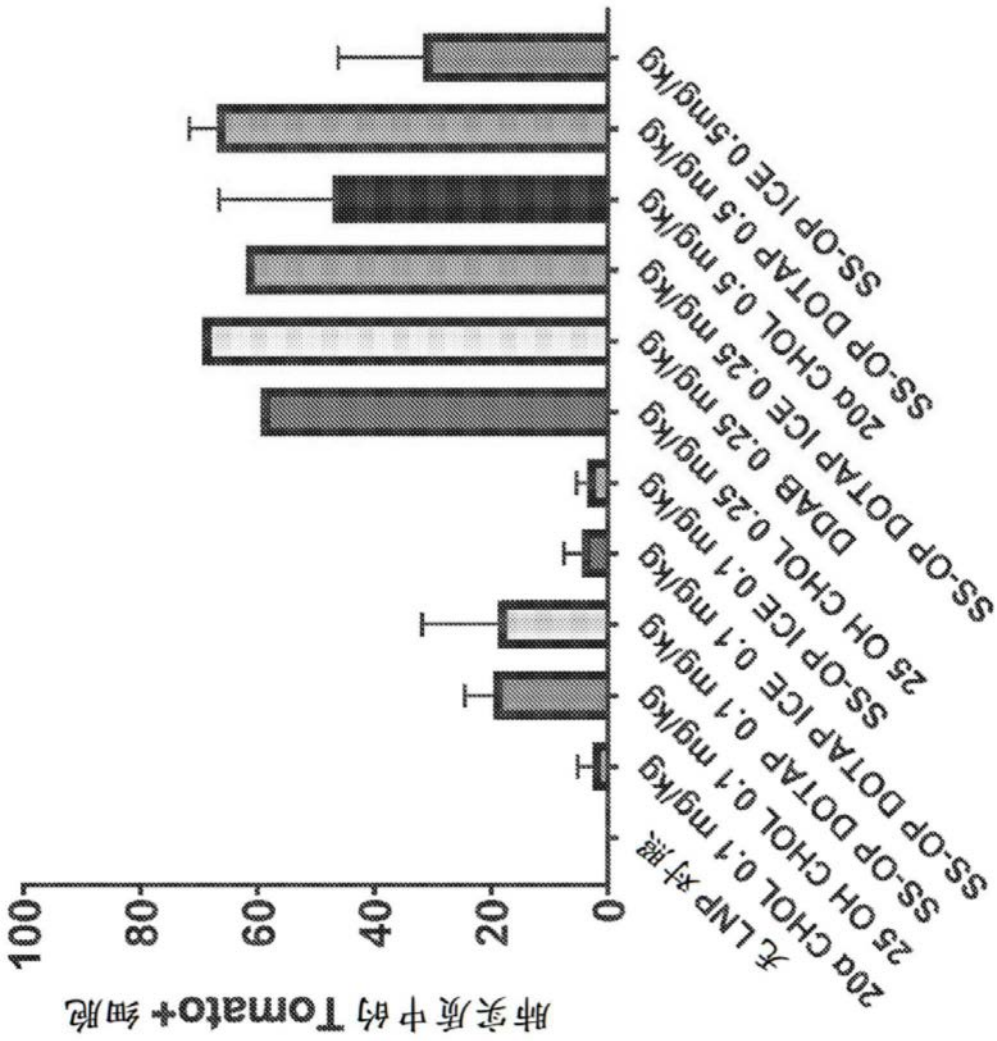

肺实质中的 Tomato+ 细胞
100
80
60
40
20
0
无 LNP 对照
20α CHOL 0.1 mg/kg
25 OH CHOL 0.1 mg/kg
SS-OP DOTAP 0.1 mg/kg
SS-OP ICE 0.1 mg/kg
25 OH CHOL 0.25 mg/kg
DDAB 0.25 mg/kg
SS-OP DOTAP ICE 0.25 mg/kg
20α CHOL 0.5 mg/kg
SS-OP DOTAP 0.5 mg/kg
SS-OP ICE 0.5mg/kg

图12

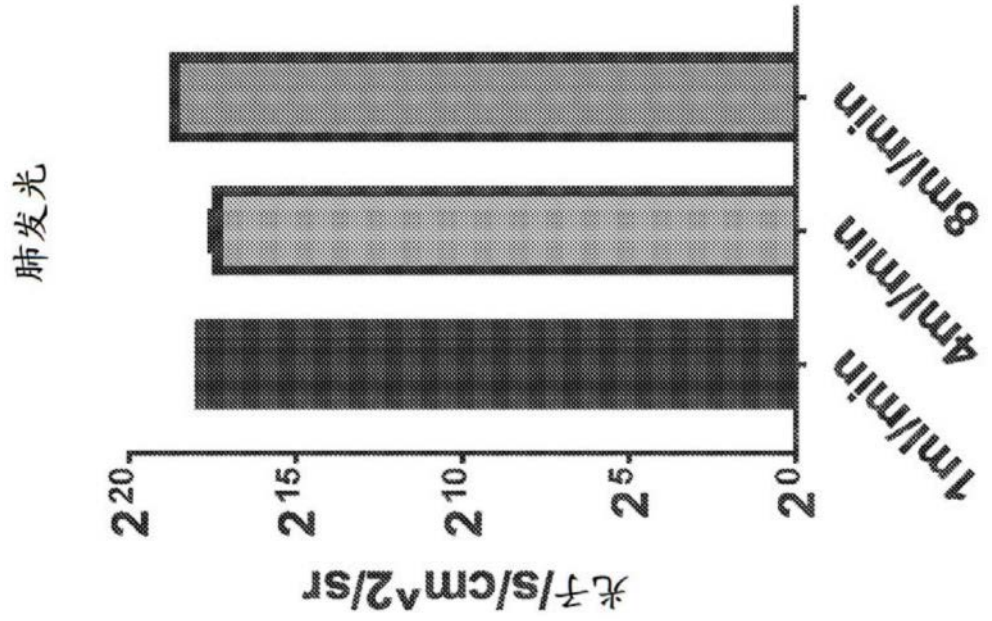

肺发光
光子/s/cm^2/sr
2^{20}
2^{15}
2^{10}
2^{5}
2^{0}
1ml/min
4ml/min
8ml/min

图13

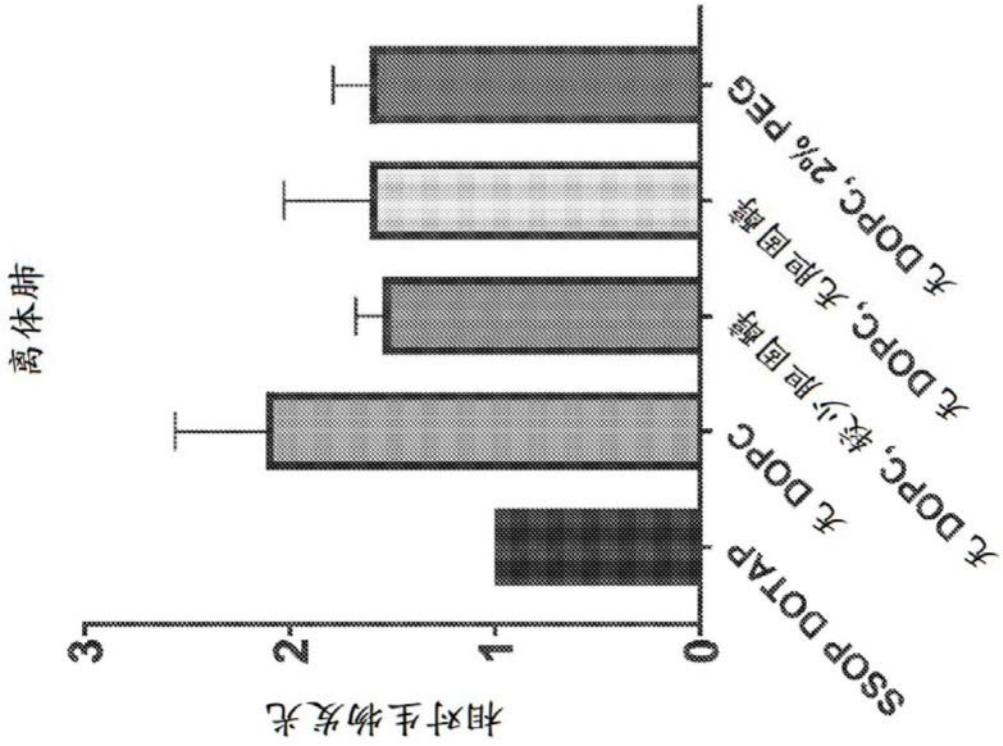

离体肺
相对生物发光
0
1
2
3
SSOP DOTAP
无 DOPC
无 DOPC，长沙胆固醇
无 DOPC，无胆固醇
无 DOPC，2% PEG

图14

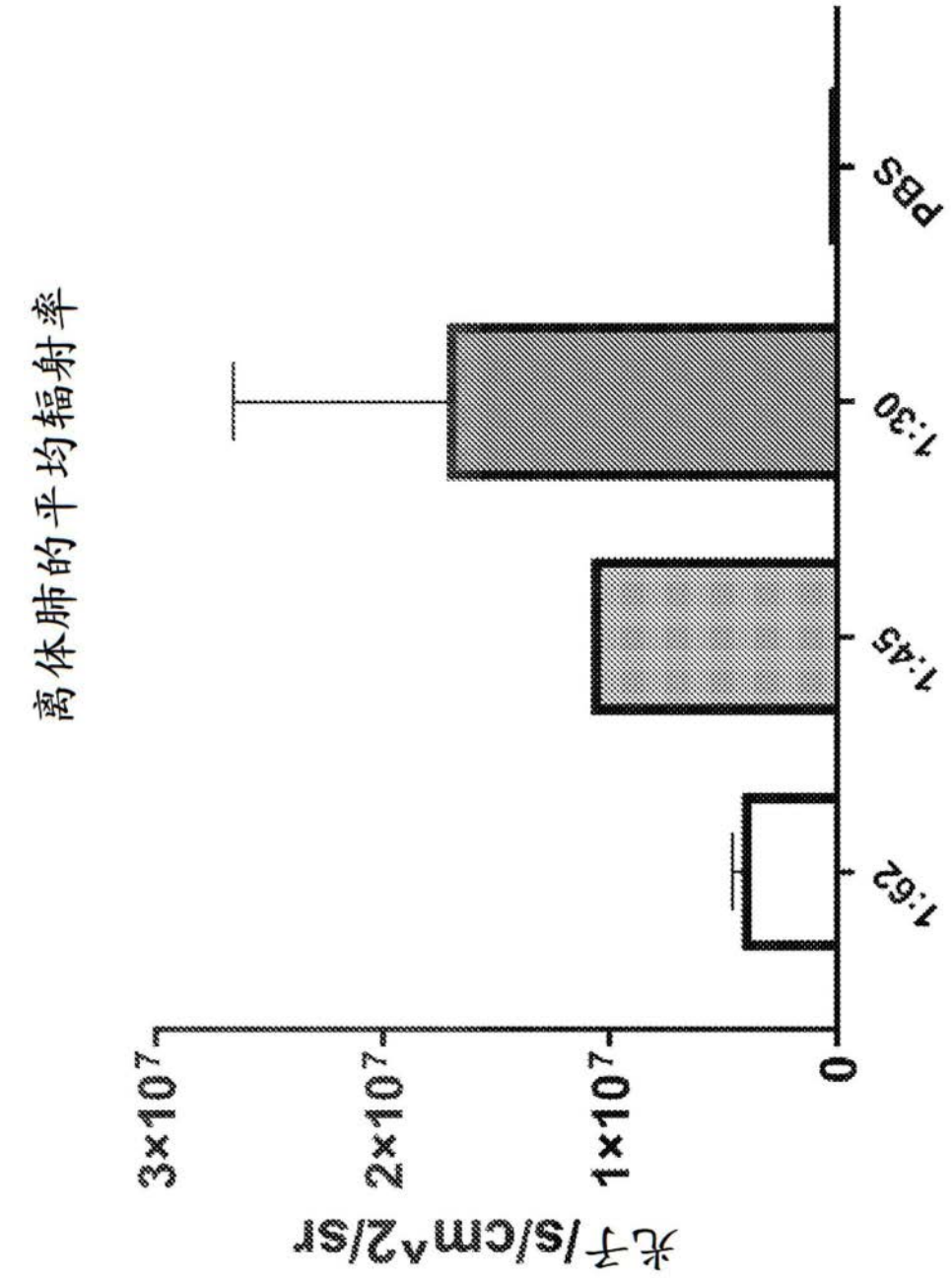


图15

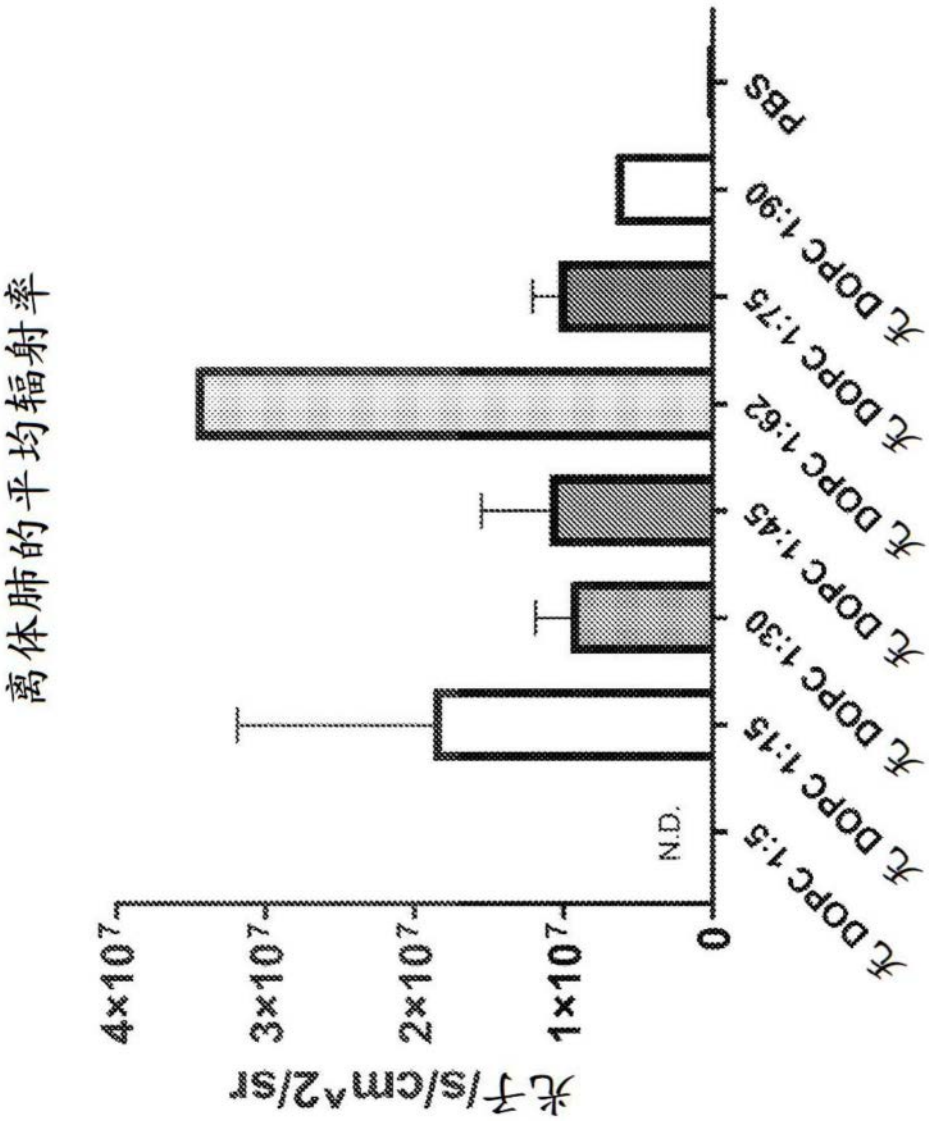

离体肺的平均辐射率
光子/s/cm^2/sr
4×10^7
3×10^7
2×10^7
1×10^7
0
N.D.
无 DOPC 1:5
无 DOPC 1:15
无 DOPC 1:30
无 DOPC 1:45
无 DOPC 1:62
无 DOPC 1:75
无 DOPC 1:90
PBS

图16

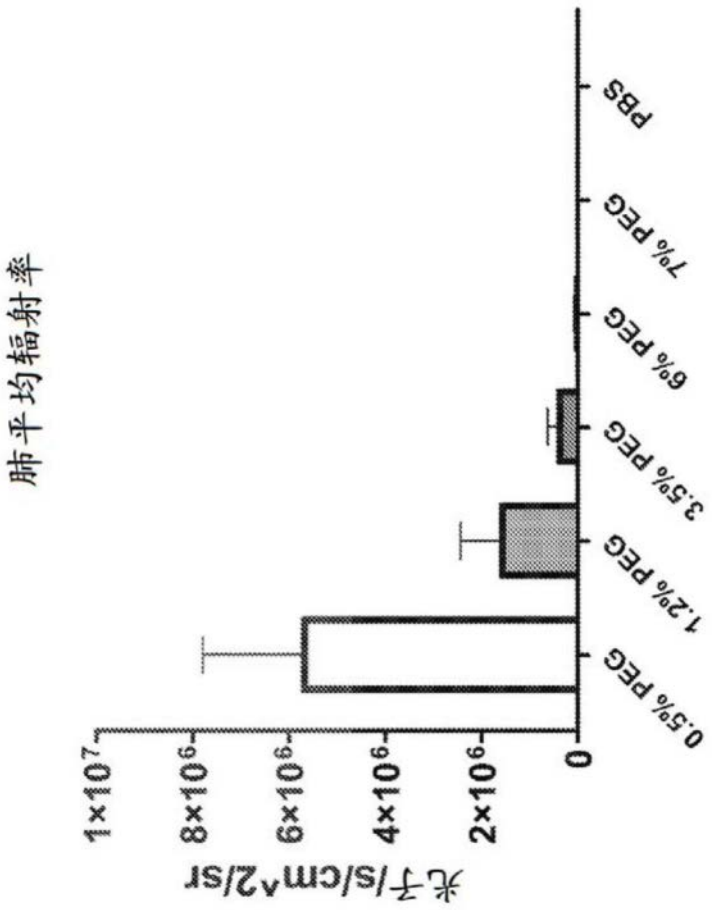

肺平均辐射率
光子/s/cm^2/sr
1×10^7
8×10^6
6×10^6
4×10^6
2×10^6
0
0.5% PEG
1.2% PEG
3.5% PEG
6% PEG
7% PEG
PBS

图17A

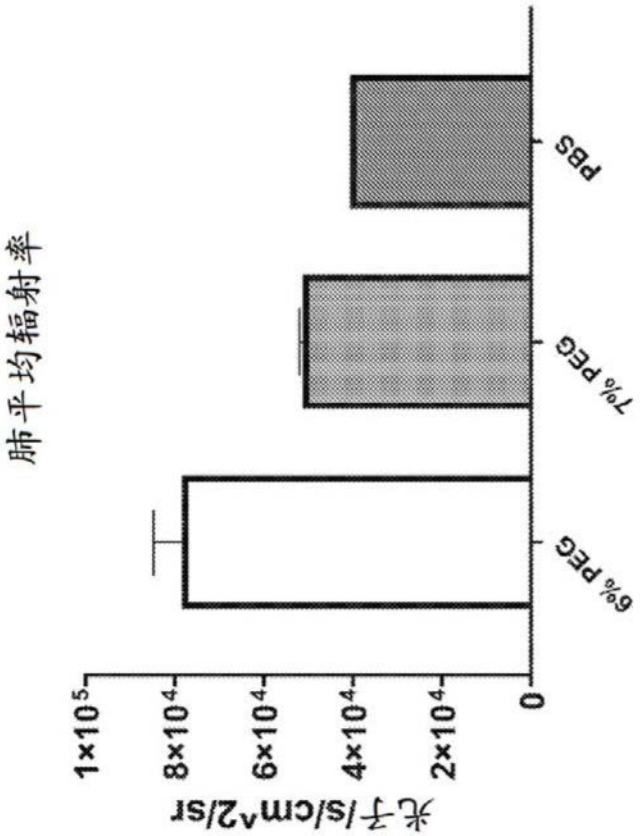


图17B

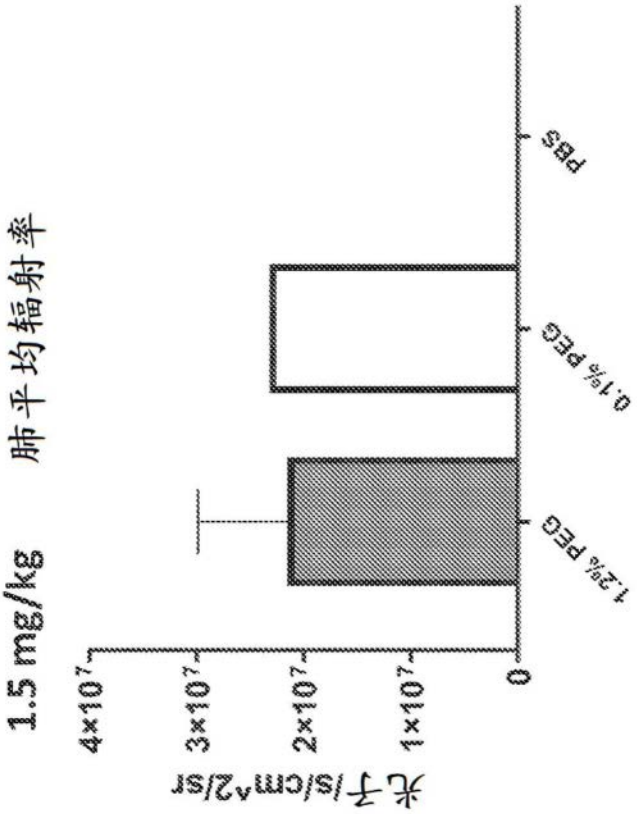

1.5 mg/kg 肺平均辐射率
光子/s/cm^2/sr
4×10^7
3×10^7
2×10^7
1×10^7
0
PBS
0.1% PEG
1.2% PEG

图18A

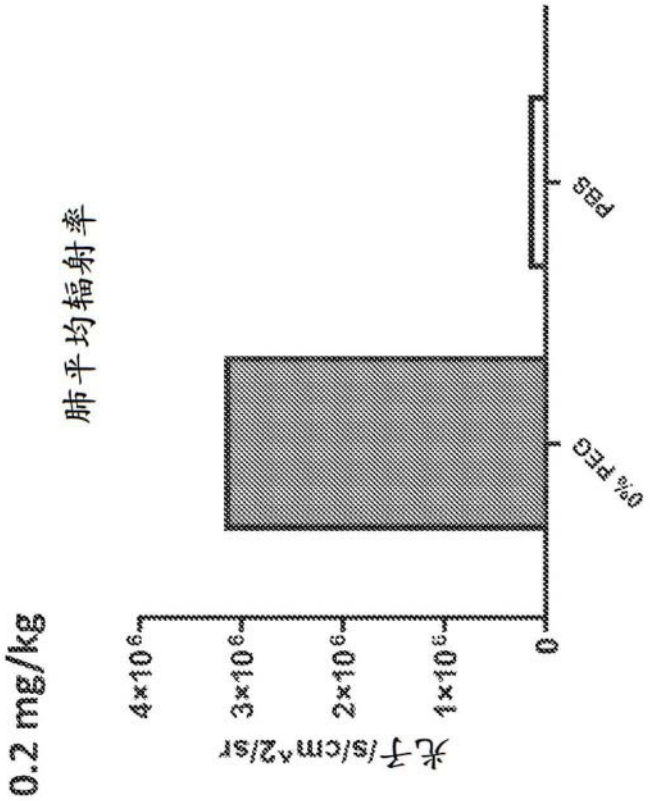


图18B

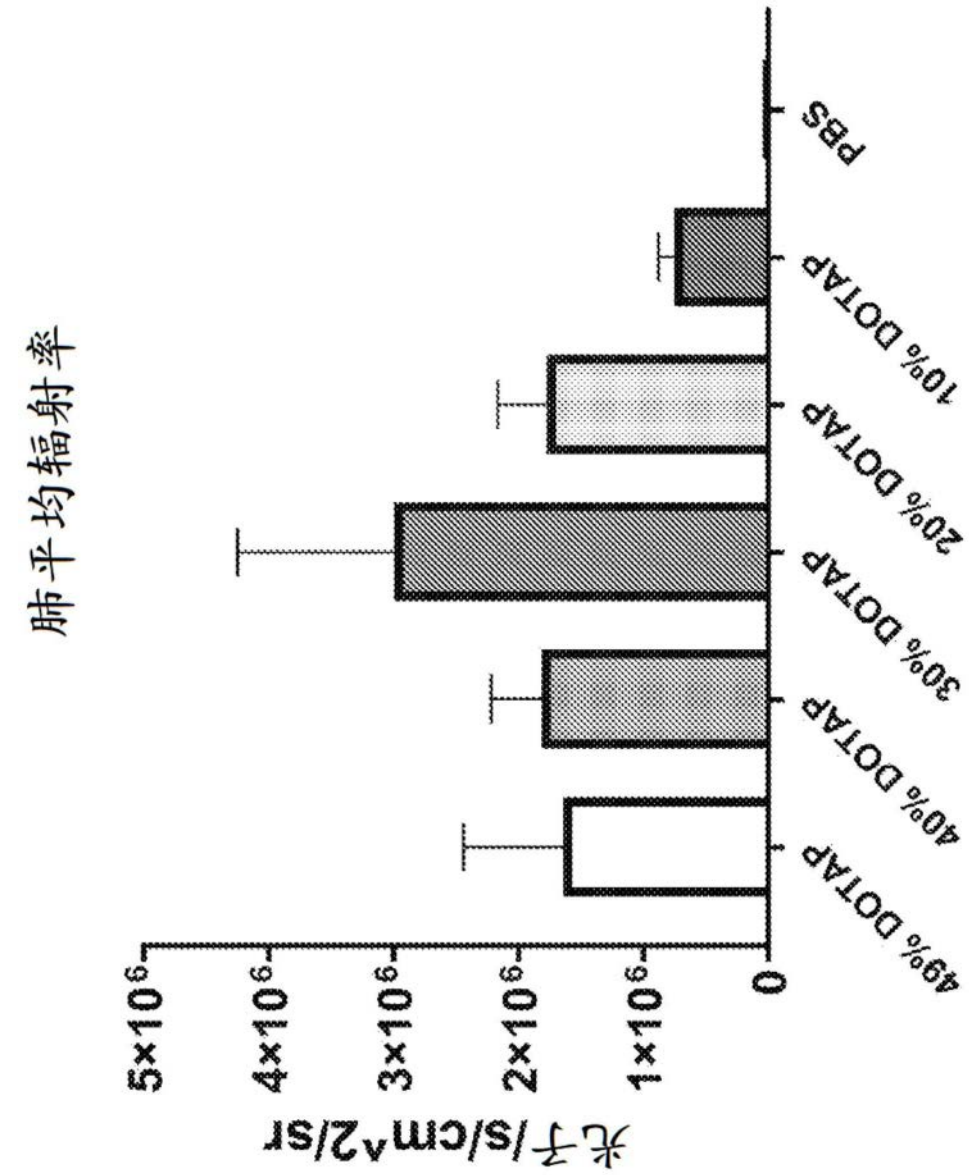

肺平均辐射率
光子/s/cm^2/sr
5×10^6
4×10^6
3×10^6
2×10^6
1×10^6
0
PBS
10% DOTAP
20% DOTAP
30% DOTAP
40% DOTAP
49% DOTAP

图19

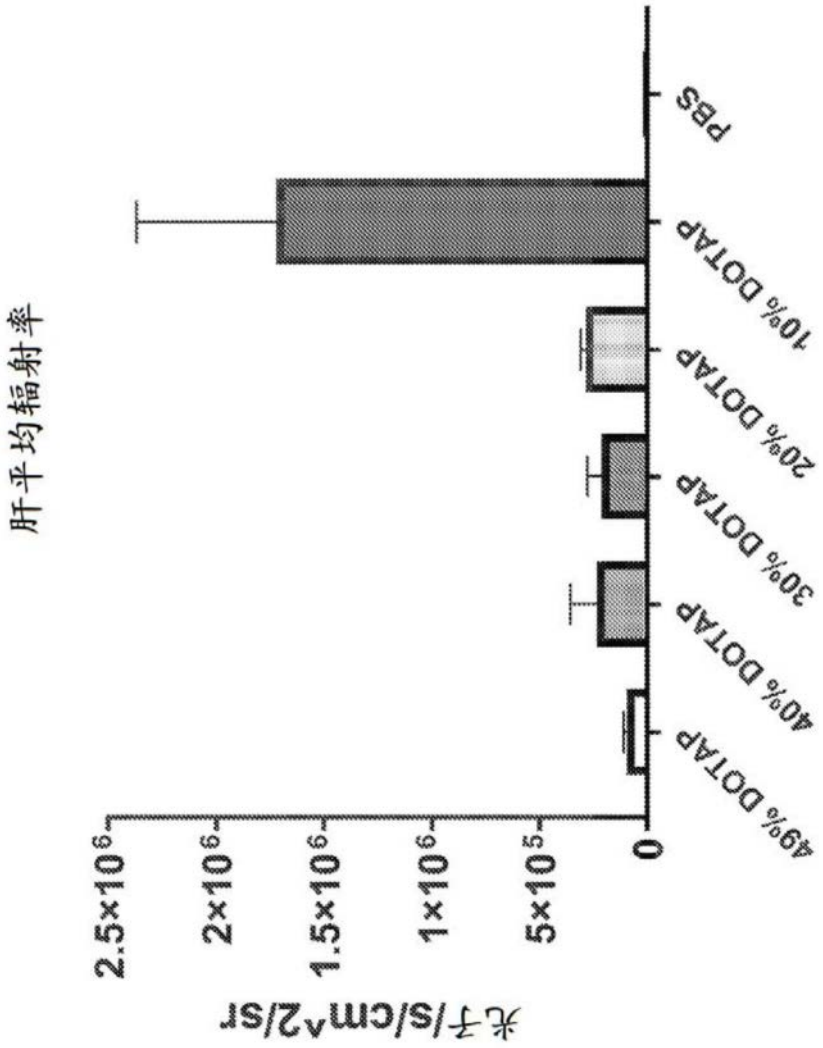

肝平均辐射率
光子/s/cm^2/sr
2.5×10^6
2×10^6
1.5×10^6
1×10^6
5×10^5
0
PBS
10% DOTAP
20% DOTAP
30% DOTAP
40% DOTAP
49% DOTAP

图20A

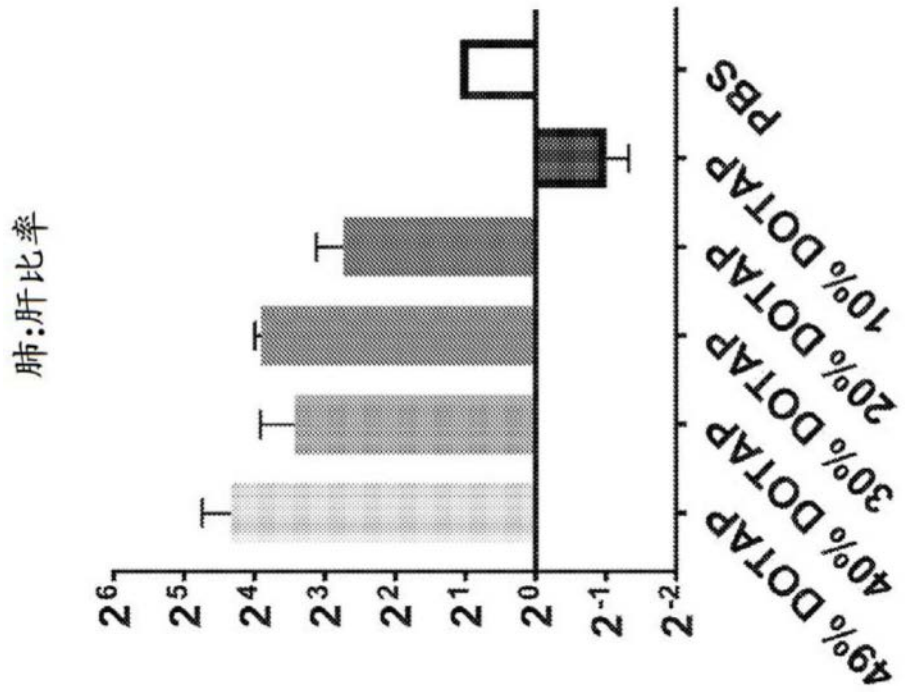

肺:肝比率
2^6
2^5
2^4
2^3
2^2
2^1
2^0
2^{-1}
2^{-2}
49% DOTAP
40% DOTAP
30% DOTAP
20% DOTAP
10% DOTAP
PBS

图20B

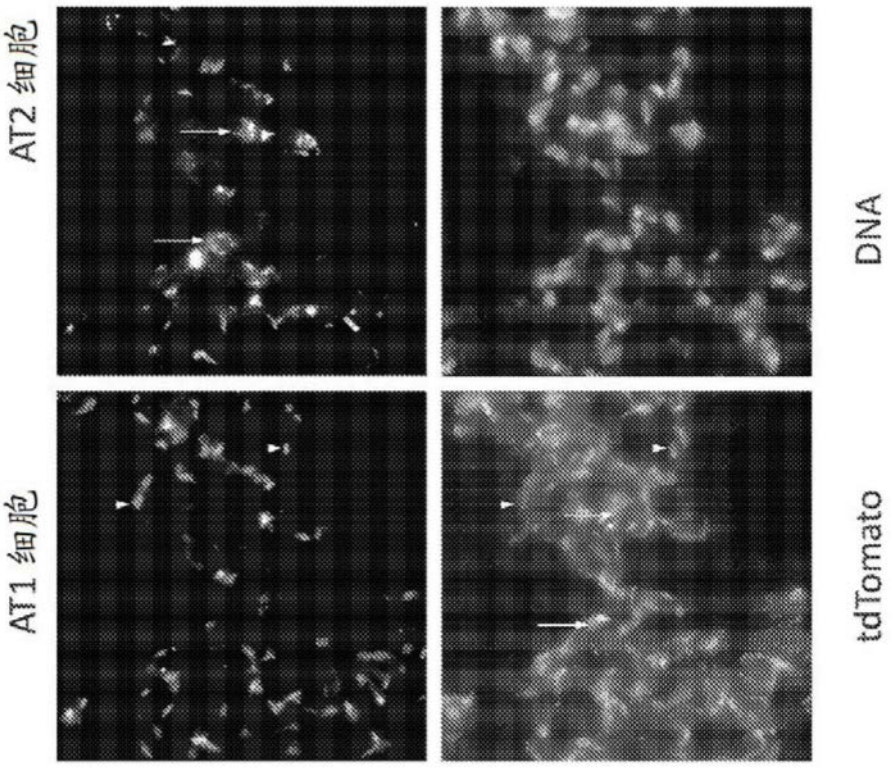

AT2 细胞
AT1 细胞
DNA
tdTomato

图21A

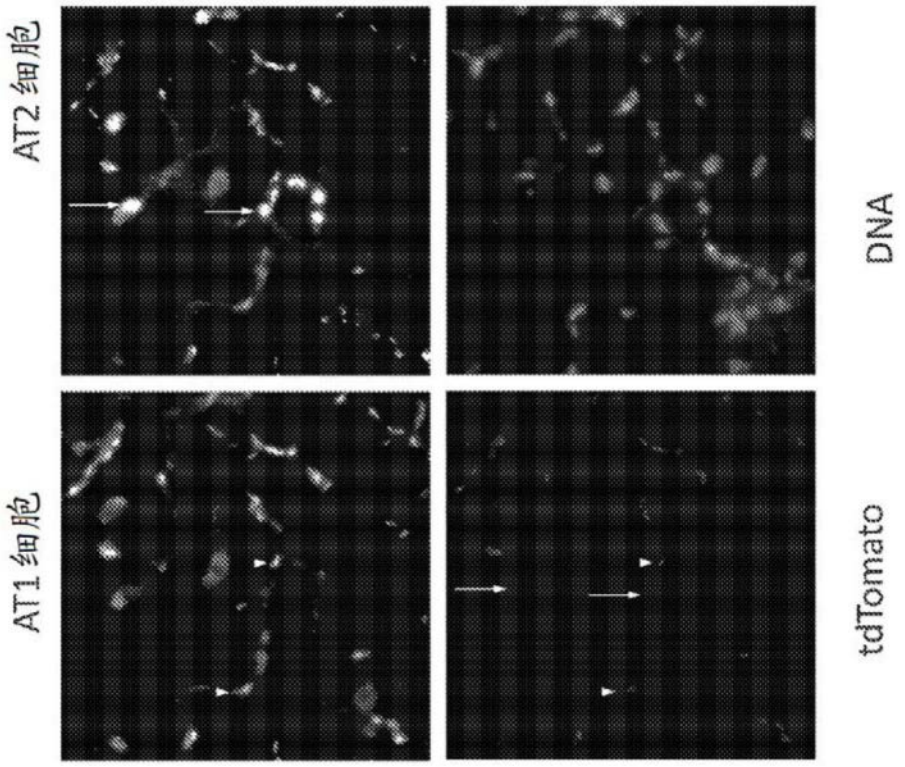


图21B

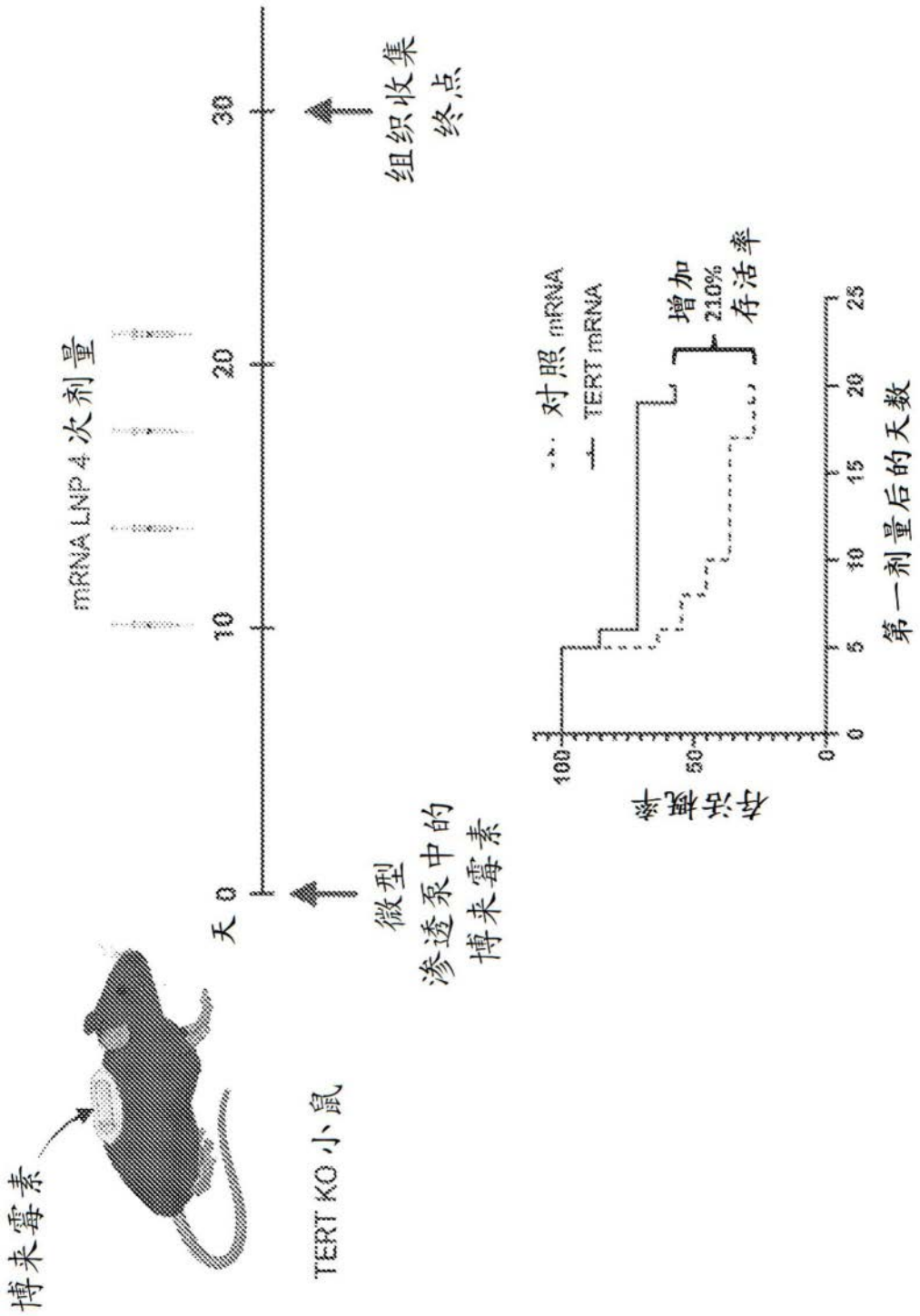

博来霉素
TERT KO小鼠
天 0
微型
渗透泵中的
博来霉素
mRNA LNP 4次剂量
10
20
30
组织收集
终点
对照 mRNA
TERT mRNA
增加
210%
存活率
存活概率
100
50
0
0
5
10
15
20
25
第一剂量后的天数

图22