



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118251238 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 25

(21) 申请号 202280050965.4

(22) 申请日 2022.06.17

(30) 优先权数据

63/212,816 2021.06.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.01.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/033956 2022.06.17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/271543 EN 2022.12.29

(71) 申请人 达因疗法公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 罗梅什·R·苏布拉马尼亚

科迪·A·德雅尔丹

奥克萨娜·别斯克洛夫纳亚

蒂莫西·威登

穆罕默德·T·卡塔纳尼

布伦丹·奎因 约翰·纳吉姆

维克托·科特利安斯基

邓肯·布朗

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

专利代理师 张福誉 韩晓帆

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

C12N 15/113 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

权利要求书4页 说明书95页

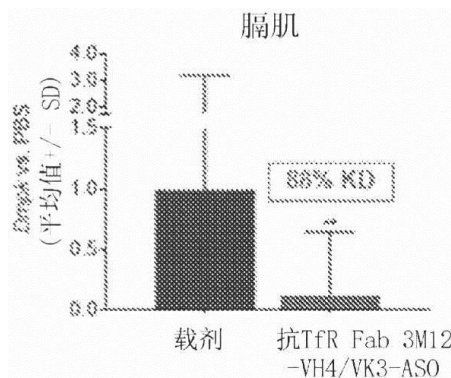
序列表108页 附图3页

## (54) 发明名称

肌肉靶向复合物及其用于治疗弗里德赖希共济失调的用途

## (57) 摘要

本申请涉及被设计为靶向FXN的寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸,例如间隔聚体)和涉及用于将该寡核苷酸递送至细胞(例如,肌细胞)的靶向复合物,及其用途,特别是与疾病治疗相关的用途。在一些实施方案中,所述肌肉靶向剂与肌细胞上的内化细胞表面受体特异性结合。在一些实施方案中,所述分子载荷提高包含疾病相关重复的FXN等位基因的表达或活性。



1. 复合物,其包含与被配置成用于提高FXN表达的寡核苷酸共价连接的肌肉靶向剂,其中所述寡核苷酸包含FXN RNA的重复区的互补区,其中所述重复区包含SEQ ID NO:162至164中任一者所示的靶序列,并且其中所述互补区的长度为至少12个核苷酸。

2. 权利要求1所述的复合物,其中所述肌肉靶向剂是抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体。

3. 权利要求1或权利要求2所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的至少16个连续核苷酸,其中每个U任选且独立地是T,任选地其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的核苷酸序列,并且其中每个U任选且独立地是T。

4. 权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中

X包含3至5个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;

Y包含6至14个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且

Z包含3至5个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。

5. 权利要求4所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,其中X包含5个连接的核苷,并且X中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,并且Z中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

6. 权利要求4所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,其中X包含5个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

7. 权利要求4所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:171至173中任一者的核苷酸序列,其中X包含3个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含14个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

8. 权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,并且其中所述寡核苷酸的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

9. 权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,并且其中所述寡核苷酸中的每个T是LNA核苷,并且所述寡核苷酸中的每个C是5-甲基-脱氧胞苷。

10. 权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:174至176中任一者的核苷酸序列,并且其中所述寡核苷酸中的每个C是LNA核苷,并且每个T是脱氧胸苷。

11. 权利要求1至9中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸包含一个或多个硫代磷酸酯核苷间键联,任选地其中所述寡核苷酸中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

12. 权利要求1至4中任一项所述的复合物,其中所述寡核苷酸选自:

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 165)

oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO:166)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO:167)

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO:168)

oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO:169)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO:170)

+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO:171)

+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO:172)

+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO:173)

+C\*+U\*+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO:165)

+U\*+U\*+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO:166)

+U\*+C\*+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO:167)

xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U (SEQ ID NO:168)

+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U (SEQ ID NO:169)

+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC (SEQ ID NO:170)

+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT (SEQ ID NO:174)

dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT (SEQ ID NO:175)

dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C (SEQ ID NO:176)

其中“xdC”表示5-甲基-脱氧胞苷；“dN”表示2’-脱氧核糖核苷；“+N”表示LNA核苷；“oN”表示2’-MOE修饰的核糖核苷；“oC”表示5-甲基-2’-MOE-胞苷；“+C”表示5-甲基-2’-4’-双环-胞苷(2’-4’亚甲基桥)；“oU”表示5-甲基-2’-MOE-尿苷；“+U”表示5-甲基-2’-4’-双环-尿苷(2’-4’亚甲基桥)；“\*”表示硫代磷酸酯核苷间键联。

13. 权利要求2至12中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体包含表2中列出的任

何抗TfR1抗体的重链互补决定区1(CDR-H1)、重链互补决定区2(CDR-H2)、重链互补决定区3(CDR-H3)、轻链互补决定区1(CDR-L1)、轻链互补决定区2(CDR-L2)、轻链互补决定区3(CDR-L3)。

14. 权利要求2至13中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体包含表3中列出的任何抗TfR1抗体的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)。

15. 权利要求2至13中任一项所述的复合物,其中所述抗TfR1抗体是Fab,任选地其中所述Fab包含表5中列出的任何抗TfR1 Fab的重链和轻链。

16. 权利要求1至15中任一项所述的复合物,其中所述肌肉靶向剂与所述寡核苷酸通过接头共价连接,任选地其中所述接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列。

17. 权利要求1至16中任一项所述的复合物,其中所述FXN RNA包含疾病相关的扩增的GAA重复。

18. 提高肌细胞中FXN表达的方法,所述方法包括使所述肌细胞与有效量的用于促进寡核苷酸内化到所述肌细胞中的权利要求1至17中任一项所述的复合物接触。

19. 治疗弗里德赖希共济失调(FA)的方法,所述方法包括向有此需要的对象施用有效量的权利要求1至17中任一项所述的复合物,其中所述对象具有包含疾病相关GAA重复的突变体FXN等位基因。

20. 权利要求18或权利要求19所述的方法,其中所述复合物导致FXN蛋白水平提高。

21. 寡核苷酸,其选自以下:

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 165)

oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 166)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO: 167)

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 168)

oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 169)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO: 170)

+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 171)

+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO: 172)

+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 173)

+C\*+U\*+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 165)

+U\*+U\*+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C\*+U\*+U (SEQ ID

NO:166)

+U\*+C\*+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 167)

xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U (SEQ ID NO:168)

+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U (SEQ ID NO:169)

+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC (SEQ ID NO:170)

+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT (SEQ ID NO: 174)

dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT (SEQ ID NO: 175)

dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C (SEQ ID NO: 176)

其中“xdC”表示5-甲基-脱氧胞苷;“dN”表示2'-脱氧核糖核苷;“+N”表示LNA核苷;“oN”表示2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”表示5-甲基-2'-MOE-胞苷;“+C”表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥);“oU”表示5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”表示5-甲基-2'-4'-双环-尿苷(2'-4'亚甲基桥);“\*”表示硫代磷酸酯核苷间键联。

22. 组合物,其包含钠盐形式的权利要求21所述的寡核苷酸。

## 肌肉靶向复合物及其用于治疗弗里德赖希共济失调的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35U.S.C.§119(e) 要求2021年6月21日提交的题为“MUSCLE-TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING FRIEDREICH’ S ATAXIA”的美国临时申请 No.63/212,816的优先权,其内容通过引用整体并入本文。

[0003] 引用通过EFS-WEB作为文本文件提交的序列列表

[0004] 本申请包含已通过EFS-Web以ASCII格式提交并且在此通过引用整体并入的序列列表。在2022年6月17日创建的所述ASCH副本被命名为D082470049W000-SEQ-ZJG并且大小为191,024字节。

### 技术领域

[0005] 本申请涉及被设计为靶向FXN RNA的寡核苷酸和涉及用于将该寡核苷酸递送至细胞(例如,肌细胞)的靶向复合物,及其用途,特别是与疾病治疗相关的用途。

### 背景技术

[0006] 弗里德赖希共济失调(Friedreich’ s ataxia)是一种罕见的常染色体隐性疾病,其导致肌肉组织和神经系统的进行性损伤。该疾病的标志包括严重的心脏病,例如肥厚型心肌病、心肌纤维化和心力衰竭,以及脊髓和周围神经系统中的神经纤维变性。弗里德赖希共济失调是由编码共济蛋白(frataxin)的FXN基因中的突变引起的,共济蛋白是被提出在铁稳态中发挥作用的蛋白质。特别地,患有该疾病的对象具有扩增的三核苷酸GAA序列,其导致降低的共济蛋白水平。弗里德赖希共济失调是遗传性共济失调的最常见形式,患病率为每50,000人中约1人。在最严重的情况下,患有该疾病的对象可能到10至20岁以后无法自由行走,并且许多对象具有缩短的预期寿命。在弗里德赖希共济失调中,FXN表达的降低可能归因于表观遗传沉默和/或剪接掉包含扩增的GAA重复的FXN前体mRNA的第一个内含子的能力降低。除了减轻(combat)疾病症状的支持性护理之外,目前没有可用于弗里德赖希共济失调的有效治疗。

### 发明内容

[0007] 根据一些方面,本公开内容提供了被设计为靶向FXN RNA的寡核苷酸。在一些实施方案中,本公开内容提供了与FXN RNA互补的寡核苷酸,所述FXN RNA可用于通过阻断包含扩增的GAA重复的FXN RNA来提高功能性FXN的水平,例如在患有或怀疑患有弗里德赖希共济失调的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导的包含扩增的GAA重复的FXN RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为抑制包含扩增的GAA重复的FXN RNA与染色体DNA形成RNA环(R-环)。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为通过抑制包含扩增的GAA重复的FXN RNA与染色体DNA之间的RNA环(R-环)的形成来增强FXN蛋白水平。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸

酸被设计为具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0008] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸与其他分子(例如,靶向剂,例如,肌肉靶向剂)缀合。因此,在一些方面中,本公开内容提供了靶向特定细胞类型以用于将寡核苷酸递送至那些细胞的复合物。例如,在一些实施方案中,本公开内容提供了靶向肌细胞以用于将寡核苷酸递送至肌细胞的复合物。在一些实施方案中,本文中提供的复合物对于递送分子载荷特别有用,所述分子载荷通过降低包含扩增的疾病相关重复的FXN RNA的水平来提高功能性FXN蛋白的表达或活性,例如,在患有或怀疑患有弗里德赖希共济失调的对象中。在一些实施方案中,本文中提供的复合物包含与肌细胞表面上的受体特异性结合以用于将分子载荷递送至肌细胞的肌肉靶向剂(例如,肌肉靶向抗体)。在一些实施方案中,复合物通过受体介导的内化被摄取到细胞中,然后分子载荷可被释放以在细胞内部执行功能。例如,经工程化以递送寡核苷酸的复合物可释放该寡核苷酸,使得该寡核苷酸可阻断肌细胞中的突变体FXN。在一些实施方案中,通过对连接复合物的寡核苷酸和肌肉靶向剂的共价接头进行内体切割而释放该寡核苷酸。

[0009] 本公开的内容一些方面提供了复合物,所述复合物包含与配置成用于提高FXN表达的寡核苷酸共价连接的肌肉靶向剂,其中所述寡核苷酸包含与包含疾病相关的扩增GAA重复的FXN RNA的重复区的互补区,其中所述重复区包含如SEQ ID NO:162至164中任一者所示的靶序列,并且其中所述互补区的长度为至少12个核苷酸。

[0010] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体。

[0011] 在一些实施方案中,所述寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的至少16个连续核苷酸,其中每个U任选且独立地是T。在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的核苷酸序列,并且其中每个U任选且独立地是T。

[0012] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷;Y包含6至14个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3至5个连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷。

[0013] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,其中X包含5个连接的核苷,并且X中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,并且Z中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

[0014] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,其中X包含5个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

[0015] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:171至173中任一者的核苷酸序列,其中X包含3个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含14个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

[0016] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,

并且其中寡核苷酸的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

[0017] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,并且其中寡核苷酸中的每个T是LNA核苷,并且寡核苷酸中的每个C是5-甲基-脱氧胞苷。

[0018] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:174至176中任一者的核苷酸序列,并且其中寡核苷酸中的每个C是LNA核苷,并且每个T是脱氧胸苷。

[0019] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0020] 在一些实施方案中,寡核苷酸选自:

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 165)  
oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 166)  
oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO: 167)  
oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 168)  
oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 169)  
oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 170)  
+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 171)  
+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO: 172)  
+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 173)  
+C\*+U\*+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 165)  
+U\*+U\*+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO: 166)  
+U\*+C\*+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 167)  
xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U (SEQ ID NO: 168)  
+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U (SEQ ID NO: 169)  
+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC (SEQ ID NO: 170)  
+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT (SEQ ID NO: 174)  
dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT (SEQ ID NO: 175)  
dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C (SEQ ID NO: 176)

[0021] 其中“xdC”表示5-甲基-脱氧胞苷;“dN”表示2'-脱氧核糖核苷;“+N”表示LNA核苷;“oN”表示2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”表示5-甲基-2'-MOE-胞苷;“+C”表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥);“oU”表示5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”表示5-甲基-2'-4'-双环-尿苷(2'-4'亚甲基桥);“\*”表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0022] 在一些实施方案中,抗TtR1抗体包含表2中列出的任何抗TfR1抗体的重链互补决定区1(heavy chain complementarity determining region 1,CDR-H1)、重链互补决定区2(heavy chain complementarity determining region 2,CDR-H2)、重链互补决定区3(heavy chain complementarity determining region 3,CDR-H3)、轻链互补决定区1(light chain complementarity determining region 1,CDR-L1)、轻链互补决定区2(light chain complementarity determining region 2,CDR-L2)、轻链互补决定区3(light chain complementarity determining region 3,CDR-L3)。

[0023] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含表3中列出的任何抗TfR1抗体的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)。在一些实施方案中,抗TfR1抗体是Fab。在一些实施方案中,Fab包含表5中列出的任何抗TfR1 Fab的重链和轻链。

[0024] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂和寡核苷酸通过接头共价连接。在一些实施方案

中,接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列。

[0026] 本公开内容的一些方面提供了提高肌细胞中FXN表达的方法,所述方法包括使所述肌细胞与有效量的用于促进所述寡核苷酸内化到所述肌细胞中的本文中所述的复合物接触。

[0027] 本公开内容的一些方面提供了治疗弗里德赖希共济失调 (FA) 的方法,所述方法包括向有此需要的对象施用有效量的本文中所述复合物,其中所述对象具有包含疾病相关GAA重复的突变体FXN等位基因。

[0028] 在一些实施方案中,施用所述复合物导致FXN蛋白水平提高。

[0029] 本公开内容的一些方面提供了选自以下的寡核苷酸:

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 165)

[0030] oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 166)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC (SEQ ID NO: 167)

oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU (SEQ ID NO: 168)

oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 169)

oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU\*oU\*oC\*oU\*oU (SEQ ID NO: 170)

+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 171)

+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO: 172)

+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 173)

+C\*+U\*+U\*+C\*+U\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+C\*+U\*+U\*+C\*+U (SEQ ID NO: 165)

[0031] +U\*+U\*+C\*+U\*+U\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*+U\*+U\*+C\*+U\*+U (SEQ ID NO: 166)

+U\*+C\*+U\*+U\*+C\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*xdC\*dT\*dT\*+U\*+C\*+U\*+U\*+C (SEQ ID NO: 167)

xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U (SEQ ID NO: 168)

+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U (SEQ ID NO: 169)

+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC\*+U\*+U\*xdC (SEQ ID NO: 170)

+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT (SEQ ID NO: 174)

dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT (SEQ ID NO: 175)

dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C\*dT\*dT\*+C (SEQ ID NO: 176)

[0032] 其中“xdC”表示5-甲基-脱氧胞苷;“dN”表示2'-脱氧核糖核苷;“+N”表示LNA核苷;“oN”表示2'-MOE修饰的核糖核苷;“oC”表示5-甲基-2'-MOE-胞苷;“+C”表示5-甲基-2'-4'-双环-胞苷(2'-4'亚甲基桥);“oU”表示5-甲基-2'-MOE-尿苷;“+U”表示5-甲基-2'-4'-双环-尿苷(2'-4'亚甲基桥);“\*”表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0033] 还提供了组合物,其包含钠盐形式的本文中所述的寡核苷酸。

## 附图说明

[0034] 图1A至1H示出了具有与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab的缀合物在表达人TfR1的小鼠模型中的多种肌肉组织中降低了小鼠DMPK表达。DMPK靶向寡核苷酸与抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3缀合。图1A示出了缀合物将胫骨前肌中的小鼠野生型Dmpk降低了79%。图1B示出了缀合物将腓肠肌中的小鼠野生型Dmpk降低了76%。图1C示出了缀合物将心脏中的小鼠野生型Dmpk降低了70%。图1D示出了缀合物将膈肌中的小鼠野生型Dmpk降低了88%。图1E至1H示出了胫骨前肌(图1E)、腓肠肌(图1F)、心脏(图1G)和膈肌(图1H)中的寡核苷酸分布。与载体对照相比,所有组织均显示寡核苷酸水平提高。

## 具体实施方式

[0035] 根据一些方面,本公开内容提供了被设计为靶向FXN RNA的寡核苷酸。在一些实施方案中,本公开内容提供了与FXN RNA互补的寡核苷酸,所述FXN RNA可用于通过阻断包含扩增的GAA重复的FXN RNA来提高功能性FXN的水平,例如,在患有或怀疑患有弗里德赖希共济失调的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为指导RNA酶H介导包含扩增的GAA重复的FXN RNA的降解。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为抑制包含扩增的GAA重复的FXN RNA与染色体DNA形成RNA环(R-环)。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的生物利用度和/或血清稳定性特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的结合亲和力特性。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有期望的毒性特征。在一些实施方案中,寡核苷酸被设计为具有低补体激活和/或细胞因子诱导特性。

[0036] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸与其他分子(例如,靶向剂,例如,肌肉靶向剂)缀合。因此,在一些方面中,本公开内容提供了靶向特定细胞类型以用于将寡核苷酸递送至那些细胞的复合物。例如,在一些实施方案中,本公开内容提供了靶向肌细胞以用于将寡核苷酸递送至肌细胞的复合物。在一些实施方案中,本文中提供的复合物对于递送分子载荷特别有用,所述分子载荷通过降低包含扩增的疾病相关重复的FXN RNA的水平来提高功能性FXN蛋白的表达或活性,例如,在患有或怀疑患有弗里德赖希共济失调的对象中。在一些实施方案中,本文中提供的复合物包含与肌细胞表面上的受体特异性结合以用于将分子载荷递送至肌细胞的肌肉靶向剂(例如,肌肉靶向抗体)。在一些实施方案中,复合物通过受体介导的内化被摄取到细胞中,然后分子载荷可被释放以在细胞内部执行功能。例如,经工程化以递送寡核苷酸的复合物可释放该寡核苷酸,使得该寡核苷酸可阻断肌细胞中的突变体FXN。在一些实施方案中,通过对连接复合物的寡核苷酸和肌肉靶向剂的共价接头进行内体切割而释放该寡核苷酸。

[0037] 作为一个实例,寡核苷酸可靶向具有GAA重复扩增的FXN的R-环部分,以提高共济蛋白表达。在一些实施方案中,抑制R-环形成(例如用能够与扩增的GAA重复结合的分子载荷)可使得FXN基因正常表达并治疗该疾病。在一些实施方案中,本文中提供的复合物可包含分子载荷,例如反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO),其能够靶向FXN的疾病相关重复GAA序列处的序列或其附近的序列。下面提供了本公开内容的另一些方面,包括对限定的术语的描述。

[0038] I. 定义

[0039] 施用:本文中使用的术语“施用”意指以生理和/或(例如,和)药理学上可用的方式向对象提供复合物(例如,以治疗对象中的病症)。

[0040] 大约:本文中使用的术语“大约”或“约”,如应用于一个或更多个目的值时,是指类似于陈述的参考值的值。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”是指落入陈述的参考值的任一方向上(大于或小于)15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或更小以内的值的范围,除非另有说明或在其他情况下从上下文中可以明显看出(除非这样的数字超过可能值的100%)。

[0041] 抗体:本文中使用的术语“抗体”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域或至少一个抗原决定簇(例如,与抗原特异性结合的互补位(paratope))的多肽。在一些实施方案中,抗体是全长抗体。在一些实施方案中,抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中,抗体是人源

化抗体。然而,在一些实施方案中,抗体是Fab片段、Fab'片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fv片段或scFv片段。在一些实施方案中,抗体是来源于骆驼科抗体的纳米抗体或来源于鲨鱼抗体的纳米抗体。在一些实施方案中,抗体是双抗体。在一些实施方案中,抗体包含具有人种系序列的框架。在另一个实施方案中,抗体包含选自IgG、IgG1、IgG2、IgG2A、IgG2B、IgG2C、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgM和IgE恒定结构域的重链恒定结构域。在一些实施方案中,抗体包含重(H)链可变区(在本文中简称为VH)和/或(例如,和)轻(L)链可变区(在本文中简称为VL)。在一些实施方案中,抗体包含恒定结构域,例如Fc区。免疫球蛋白恒定结构域是指重链或轻链恒定结构域。人IgG重链和轻链恒定结构域氨基酸序列及其功能变异是已知的。关于重链,在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可以是alpha( $\alpha$ )、delta( $\Delta$ )、epsilon( $\epsilon$ )、gamma( $\gamma$ )或mu( $\mu$ )重链。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的重链可包含人alpha( $\alpha$ )、delta( $\Delta$ )、epsilon( $\epsilon$ )、gamma( $\gamma$ )或mu( $\mu$ )重链。在一个具体实施方案中,本文中所述的抗体包含人 $\gamma$ 1CH1、CH2和/或(例如,和)CH3结构域。在一些实施方案中,VH结构域的氨基酸序列包含人gamma( $\gamma$ )重链恒定区的氨基酸序列,例如本领域已知的任何。人恒定区序列的非限制性实例已在本领域中描述,例如,参见美国专利No.5,693,780和Kabat E A et al., (1991)同上。在一些实施方案中,VH结构域包含与本文中提供的任何可变链恒定区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化(sumoylation)和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化(phosphoglycosylation)与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,抗体是包含多肽的构建体,所述多肽包含与接头多肽或免疫球蛋白恒定结构域连接的一个或多个本公开内容的抗原结合片段。接头多肽包含通过肽键连接的两个或多个氨基酸残基,并且用于连接一个或多个抗原结合部分。接头多肽的一些实例已有报道(参见,例如,Holliger,P.,et al. (1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak,R.J.,et al. (1994)Structure2:1121-1123)。另外,抗体可以是更大的免疫黏附分子的一部分,免疫黏附分子通过抗体或抗体部分与一个或多个其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合而形成。这样的免疫黏附分子的一些实例包括使用链霉亲和素核心区域来制备四聚体scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1995)Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101),以及使用半胱氨酸残基、标记肽和C端多组氨酸标签来制备二价和生物素化的scFv分子(Kipriyanov,S.M.,et al. (1994)Mol.Immunol.31:1047-1058)。

[0042] CDR:本文中使用的术语“CDR”是指抗体可变序列内的互补决定区。典型的抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其通常参与抗原结合。VH区和VL区可进一步细分为高变区,也称为“互补决定区”(“complementarity determining region,CDR”),其中散布有更保守的称为“框架区”(“framework region,FR”)的区域。每个VH和VL通常由三个CDR和四个FR构成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、

FR4。可使用本领域已知的方法,例如通过Kabat定义、IMGT定义、Chothia定义、AbM定义和/或(例如,和)接触定义(所有这些都是本领域公知的)来精确鉴定框架区和CDR的范围。参见,例如Kabat,E.A.,et al.(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;**IMGT®**,the international ImMunoGeneTics information **system®** [www.imgt.org](http://www.imgt.org),Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,27:209-212 (1999);Ruiz,M.et al.,Nucleic Acids Res.,28:219-221 (2000);Lefranc,M.-P.,Nucleic Acids Res.,29:207-209 (2001);Lefranc,M.-P.,Nucleic Acids Res.,31:307-310 (2003);Lefranc,M.-P.et al.,In Silico Biol.,5,0006 (2004) [Epub],5:45-60 (2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,33:D593-597 (2005);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,37:D1006-1012 (2009);Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,43:D413-422 (2015);Chothia et al.,(1989) Nature 342:877;Chothia,C.et al.(1987) J.Mol.Biol.196:901-917;Al-lazikani et al(1997) J.Molec.Biol.273:927-948;以及Almagro,J.Mol.Recognit.17:132-143 (2004)。还参见hgmp.mrc.ac.uk和bioinf.org.uk/abs。本文中使用的CDR可以是指由本领域已知的任何方法定义的CDR。具有相同CDR的两种抗体意指这两种抗体的该CDR的氨基酸序列相同,如通过相同的方法(例如IMGT定义)确定的。

[0043] 重链和轻链的每个可变区中有三个CDR,对于每个可变区分别称为CDR1、CDR2和CDR3。本文中使用的术语“CDR组”是指出现在单个可变区内的能够结合抗原的三个CDR的组。这些CDR的确切边界已根据不同的系统进行了不同的定义。Kabat描述的系统(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987) and (1991))不仅提供了适用于抗体的任何可变区的明确的残基编号系统,而且还提供了定义三个CDR的精确残基边界。这些CDR可被称为Kabat CDR。CDR的子部分可被指定为L1、L2和L3或H1、H2和H3,其中“L”和“H”分别指定轻链和重链区域。这些区域可称为Chothia CDR,其具有与Kabat CDR重叠的边界。Padlan(FASEB J.9:133-139 (1995))和MacCallum(J Mol Biol 262(5):732-45(1996))已经描述了定义与Kabat CDR重叠的CDR的其他边界。另一些CDR边界定义可能并不严格遵循上述系统之一,但仍与Kabat CDR重叠,尽管可根据预测或者根据特定残基或残基的组或甚至整个CDR不会显著影响抗原结合的实验发现来缩短或延长它们。本文中使用的可利用根据这些系统中的任何一个定义的CDR。表1中提供了CDR定义系统的一些实例。

[0044] 表1.CDR定义

[0045]

|        | IMGT <sup>1</sup> | Kabat <sup>2</sup> | Chothia <sup>3</sup> |
|--------|-------------------|--------------------|----------------------|
| CDR-H1 | 27-38             | 31-35              | 26-32                |
| CDR-H2 | 56-65             | 50-65              | 53-55                |
| CDR-H3 | 105-116/117       | 95-102             | 96-101               |
| CDR-L1 | 27-38             | 24-34              | 26-32                |
| CDR-L2 | 56-65             | 50-56              | 50-52                |
| CDR-L3 | 105-116/117       | 89-97              | 91-96                |

[0046] <sup>1</sup>IMGT®,the international ImMunoGeneTics information **system®**,[imgt.org](http://imgt.org),

Lefranc,M.-P.et al.,Nucleic Acids Res.,27:209-212(1999)

[0047] <sup>2</sup>Kabat et al.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services.NIH Publication No.91-3242

[0048] <sup>3</sup>Chothia et al.,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))

[0049] CDR接枝抗体(CDR-grafted antibody):术语“CDR接枝抗体”是指包含来自一个物种的重链和轻链可变区序列但是其中VH和/或(例如,和)VL的一个或更多个CDR区的序列被来自另一物种的CDR序列替代的抗体,例如具有鼠重链和轻链可变区并且其中一个或更多个鼠CDR(例如,CDR3)已被人CDR序列替代的抗体。

[0050] 嵌合抗体:术语“嵌合抗体”是指包含来自一个物种的重链和轻链可变区序列和来自另一物种的恒定区序列的抗体,例如具有与人恒定区连接的鼠重链和轻链可变区的抗体。

[0051] 互补:本文中使用的术语“互补”是指在两个核苷或两组核苷之间精确配对的能力。特别地,互补是表征氢键配对引起两个核苷或两组核苷之间结合的程度的术语。例如,如果寡核苷酸的一个位置处的碱基能够与靶核酸(例如,mRNA)的相应位置处的碱基进行氢键合,则认为在该位置处碱基彼此互补。碱基配对可包括规范的沃森-克里克碱基配对和非沃森-克里克碱基配对(例如,Wobble碱基配对和Hoogsteen碱基配对)二者。例如,在一些实施方案中,对于互补碱基配对,腺苷型碱基(A)与胸苷型碱基(T)或尿嘧啶型碱基(U)互补,胞嘧啶型碱基(C)与鸟苷型碱基(G)互补,并且通用碱基如3-硝基吡咯或5-硝基吡咯可与任何A、C、U或T杂交并被认为是互补的。肌苷(I)在本领域中也被认为是通用碱基,并且被认为与任何A、C、U或T互补。

[0052] 保守氨基酸替换:本文中使用的“保守氨基酸替换”是指不改变进行氨基酸替换的蛋白质的相对电荷或尺寸特征的氨基酸替换。可以根据本领域普通技术人员已知的用于改变多肽序列的方法来制备变体,所述方法例如可以在汇编这样的方法的参考文献中找到:例如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,J.Sambrook,et al.,eds.,Fourth Edition,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,2012,或Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel,et al.,eds.,John Wiley& Sons,Inc.,New York。氨基酸的保守替换包括在以下组内的氨基酸之间进行的替换:(a)M、I、L、V;(b)F、Y、W;(c)K、R、H;(d)A、G;(e)S、T;(f)Q、N;和(g)E、D。

[0053] 共价连接:本文中使用的术语“共价连接”是指两个或更多个分子通过至少一个共价键连接在一起的特征。在一些实施方案中,两个分子可以通过充当分子之间的接头的单键例如二硫键或二硫桥共价连接在一起。然而,在一些实施方案中,两个或更多个分子可以通过充当接头的分子共价连接在一起,该接头通过多个共价键将两个或更多个分子连接在一起。在一些实施方案中,接头可以是可切割接头。然而,在一些实施方案中,接头可以是不可切割接头。

[0054] 交叉反应性:如本文中使用的以及在靶向剂(例如,抗体)的情况下,术语“交叉反应性”是指物质能够以相似亲和力或亲合力与相似类型或类别的超过一种抗原(例如,多个同源物、旁系同源物或直系同源物的抗原)特异性结合的性质。例如,在一些实施方案中,对相似类型或类别的人和灵长类抗原(例如,人转铁蛋白受体和灵长类转铁蛋白受体)

具有交叉反应性的抗体能够以相似亲和力或亲合力与人抗原和非人灵长类抗原结合。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的人抗原和啮齿动物抗原具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的啮齿动物抗原和非人灵长类抗原具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体对相似类型或类别的人抗原、非人灵长类抗原和啮齿动物抗原具有交叉反应性。

[0055] 疾病相关重复:本文中使用的术语“疾病相关重复”是指在基因组位置处的重复核苷酸序列,其中重复核苷酸序列的单元的数目与遗传疾病相关和/或者(例如,和)直接或间接促成或造成遗传疾病。疾病相关重复的每个重复单元的长度可以是2、3、4、5个或更多个核苷酸。例如,在一些实施方案中,疾病相关重复是二核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是三核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是四核苷酸重复。在一些实施方案中,疾病相关重复是五核苷酸重复。在一些实施方案中,一些实施方案,疾病相关重复包含GAA重复、或其任何的核苷酸互补序列。在一些实施方案中,疾病相关重复在基因的非编码部分中。然而,在一些实施方案中,疾病相关重复在基因的编码区。在一些实施方案中,疾病相关重复从正常状态扩增至直接或间接促成或造成遗传疾病的长度。在一些实施方案中,疾病相关重复在RNA(例如,RNA转录物)中。在一些实施方案中,疾病相关重复在DNA(例如,染色体、质粒)中。在一些实施方案中,疾病相关重复在生殖细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关重复在体细胞的染色体中扩增。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与疾病的先天性发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与儿童期疾病发作相关的重复单元数目。在一些实施方案中,疾病相关重复扩增至与成年疾病发作相关的重复单元数目。

[0056] 框架:本文中使用的术语“框架”或“框架序列”是指可变区减去CDR的剩余序列。由于CDR序列的确切定义可通过不同的系统确定,因此框架序列的含义相应地具有不同解释。六个CDR(轻链的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3和重链的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)也将轻链和重链上的框架区分为每条链上的四个子区域(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1和FR2之间,CDR2位于FR2和FR3之间,并且CDR3位于FR3和FR4之间。在未将特定子区域指定为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,其他人提到的框架区代表单个天然存在的免疫球蛋白链的可变区内的组合的FR。如本文所使用的,FR代表四个子区域之一,并且FRs代表构成框架区的四个子区域中的两个或更多个。人重链和轻链受体序列是本领域已知的。在一个实施方案中,本领域已知的受体序列可用于本文中公开的抗体中。

[0057] 弗里德赖希共济失调:本文中使用的术语“弗里德赖希共济失调”是指由FXN基因中的突变引起的常染色体隐性遗传疾病,并且其特征在于肌肉组织和神经系统的进行性损伤。弗里德赖希共济失调与导致FXN的表达下降的FXN基因中GAA三核苷酸重复的扩增相关。位于第一个内含子内的扩增的GAA三核苷酸重复形成R-环,其可干扰正常转录过程以降低FXN基因表达。健康个体中的FXN等位基因包含<36个GAA重复,而在FRDA患者中,70至1700个GAA重复的GAA扩增导致FXN mRNA缺乏和随后的共济蛋白(对生命而言必需的核编码的线粒体蛋白)水平降低(参见,例如,Silva et al.,“Expanded GAA repeats impair FXN gene expression and reposition the FXN locus to the nuclear lamina in single cells.” Hum.Molec.Genet.,2015,Vol.24,No.123457-3471)。弗里德赖希共济失调、该疾病的遗传基础和相关症状在本领域中进行了描述(参见,例如,Montermini,L.et al.“The

Friedreich's ataxia GAA triplet repeat:premutation and normal alleles.”’ Hum.Molec.Genet.,1997,6:1261-1266.;Filla,A.et al.“The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich's ataxia.”’ Am.J.Hum.Genet.1996,59:554-560.;Pandolfo,M.Friedreich's ataxia:the clinical picture.J.Neurol.2009,256,3-8) 弗里德赖希共济失调与在线人类孟德尔遗传 (Online Mendelian Inheritance in Man,OMIM)Entry#229300相关。

[0058] FXN:本文中使用的术语“FXN”是指编码共济蛋白的基因,共济蛋白是涉及铁稳态的蛋白质。在一些实施方案中,FXN可以是人基因(基因ID:2395)、非人灵长类基因(例如,基因ID:737660)或啮齿动物基因(例如,基因ID:14297,基因ID:499335)。在人中,FXN第一内含子中的GAA重复扩增与弗里德赖希共济失调相关。另外,已经表征了编码不同蛋白质同工型的多种人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号进行注释:NM\_000144.4和NM\_181425.2)。

[0059] FXN等位基因:本文中使用的术语“FXN等位基因”是指FXN基因的替代形式(例如,野生型或突变型)中的任一种。在一些实施方案中,FXN等位基因可编码保留其正常和典型功能的野生型共济蛋白。在一些实施方案中,FXN等位基因可包含一个或更多个疾病相关重复扩增。在一些实施方案中,正常对象具有两个包含少于36个GAA三核苷酸重复单元的FXN等位基因。在一些实施方案中,正常对象具有两个包含8至33个GAA三核苷酸重复单元的FXN等位基因。在一些实施方案中,患有弗里德赖希共济失调的对象的FXN等位基因中的GAA重复单元的数目为约70至约1700。在一些实施方案中,患有弗里德赖希共济失调的对象的FXN等位基因中的GAA重复单元的数目为约90至约1300,重复数目越高,导致疾病严重性越高。在一些实施方案中,轻度受影响的弗里德赖希共济失调对象具有至少一个具有90至150个重复单元的FXN等位基因。在一些实施方案中,患有典型弗里德赖希共济失调的对象具有至少一个具有90至1,000个或更多个重复单元的FXN等位基因。

[0060] 人抗体:本文中使用的术语“人抗体”旨在包括具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本公开内容的人抗体可包含不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中,特别是在CDR3中。然而,本文中使用的术语“人抗体”不意图包括其中来源于另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已接枝到人框架序列上的抗体。

[0061] 人源化抗体:术语“人源化抗体”是指包含来自非人物种(例如,小鼠)的重链和轻链可变区序列但是其中VH和/或(例如,和)VL序列的至少一部分已被改变为更加“人样”(即,更类似于人种系可变序列)的抗体。一种类型的人源化抗体是CDR接枝抗体,其中人CDR序列被引入非人VH和VL序列中以替代相应的非人CDR序列。在一个实施方案中,提供了人源化抗转铁蛋白受体(TfR1)抗体和抗原结合部分。这样的抗体可以通过使用传统的杂交瘤技术获得鼠抗转铁蛋白受体(TfR1)单克隆抗体随后使用体外基因工程化进行人源化来产生,例如在Kasaian et al的PCT公开No.WO 2005/123126A2中公开的那些。

[0062] 内化细胞表面受体:本文中使用的术语“内化细胞表面受体”是指例如在外部刺激(例如,配体与受体结合)下被细胞内化的细胞表面受体。在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过内吞作用内化。在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过网格蛋白介导的内吞作用内化。然而,在一些实施方案中,内化细胞表面受体通过不依赖于网格蛋白的途径内

化,所述途径例如如吞噬作用、巨胞饮作用、小窝和筏介导的摄取或组成型网格蛋白非依赖性内吞作用。在一些实施方案中,内化细胞表面受体包含胞内结构域、跨膜结构域和/或(例如,和)胞外结构域,其可任选地还包含配体结合结构域。在一些实施方案中,细胞表面受体在配体结合后被细胞内化。在一些实施方案中,配体可以是肌肉靶向剂或肌肉靶向抗体。在一些实施方案中,内化细胞表面受体是转铁蛋白受体。

[0063] 分离的抗体:本文中使用的“分离的抗体”旨在指代基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合转铁蛋白受体的分离的抗体基本上不含特异性结合转铁蛋白受体以外的抗原的抗体)。然而,特异性结合转铁蛋白受体复合物的分离的抗体可能与其他抗原(例如来自其他物种的转铁蛋白受体分子)具有交叉反应性。此外,分离的抗体可基本上不含其他细胞材料和/或(例如,和)化学物质。

[0064] Kabat编号:术语“Kabat编号”、“Kabat定义和“Kabat标记”在本文中可互换使用。在本领域中公认的这些术语是指对抗体或其抗原结合部分的重链和轻链可变区中的比其他氨基酸残基更加可变(即高变)的氨基酸残基进行编号的系统(Kabat et al. (1971) Ann.NY Acad.Sci.190:382-391以及,Kabat,E.A.,etal. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)。对于重链可变区,CDR1的高变区为第31至35位氨基酸,CDR2的高变区为第50至65位氨基酸,并且CDR3的高变区为第95至102位氨基酸。对于轻链可变区,CDR1的高变区为第24至34位氨基酸,CDR2的高变区为第50至56位氨基酸,并且CDR3的高变区为第89至97位氨基酸。

[0065] 分子载荷:本文中使用的术语“分子载荷”是指发挥调节生物学结局作用的分子或物质。在一些实施方案中,分子载荷与肌肉靶向剂连接或以其他方式缔合。在一些实施方案中,分子载荷与肌肉靶向剂共价连接。在一些实施方案中,分子载荷是小分子、蛋白质、肽、核酸或寡核苷酸。在一些实施方案中,分子载荷发挥调节DNA序列的转录、调节蛋白质的表达或调节蛋白质的活性的作用。在一些实施方案中,分子载荷是寡核苷酸,其包含具有靶基因的互补区的链。

[0066] 肌肉靶向剂:本文中使用的术语“肌肉靶向剂”是指与肌细胞上表达的抗原特异性结合的分子。肌细胞内或其上的抗原可以是膜蛋白,例如整合膜蛋白或外周膜蛋白。通常来说,肌肉靶向剂与肌细胞上的抗原特异性结合,这有助于将肌肉靶向剂(和任何缔合的分子载荷)内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与肌肉上的内化细胞表面受体特异性结合,并且能够通过受体介导的内化而内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是小分子、蛋白质、肽、核酸(例如,适配体)、或抗体。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷连接。

[0067] 肌肉靶向抗体:本文中使用的术语“肌肉靶向抗体”是指为与存在于肌细胞内或其上的抗原特异性结合的抗体的肌肉靶向剂。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体与肌细胞上的抗原特异性结合,这有助于将肌肉靶向抗体(和任何缔合的分子载荷)内化到肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体与存在于肌细胞上的内化细胞表面受体特异性结合。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是与转铁蛋白受体特异性结合的抗体。

[0068] 寡核苷酸:本文中使用的术语“寡核苷酸”是指长度长至200个核苷酸的寡聚核酸化合物。寡核苷酸的一些实例包括但不限于RNAi寡核苷酸(例如,siRNA、shRNA)、微RNA、间

隔聚体、混合聚体、磷酸二酰胺吗啉代、肽核酸、适配体、指导核酸(例如,Cas9指导RNA)等。寡核苷酸可以是单链或双链。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷(例如,2'-O-甲基糖修饰、嘌呤或嘧啶修饰)。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸可包含一个或更多个硫代磷酸酯键联,其可为Rp或Sp立体化学构型。

[0069] 重组抗体:本文中使用的术语“重组人抗体”旨在包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,例如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(在本公开内容中更详细地描述),从重组、组合人抗体文库分离的抗体(Hoogenboom H.R., (1997) TIB Tech.15:62-70;Azzazy H.,and Highsmith W.E., (2002) Clin.Biochem.35:425-445; Gavilondo J.V.,and Larrick J.W. (2002) BioTechniques 29:128-145;Hoogenboom H., and Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378),从人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如,小鼠)分离的抗体(参见例如Taylor,L.D.,et al. (1992) Nucl.Acids Res.20: 6287-6295;Kellermann S-A.,and Green L.L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597;Little M.et al (2000) Immunology Today 21:364-370),或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他方式制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组人抗体具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,对这样的重组人抗体进行体外诱变(或当使用人Ig序列转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列,尽管其来源于人种系VH和VL序列并与之相关,但可能不是体内人抗体种系库中天然存在的。本公开内容的一个实施方案提供了能够结合人转铁蛋白受体的完全人抗体,其可使用本领域公知的技术产生,例如但不限于使用人Ig噬菌体文库,例如Jermutus et al.的PCT公开No.WO 2005/007699 A2中公开的那些。

[0070] 互补区:本文中使用的术语“互补区”是指与例如靶核酸的同源核苷酸序列充分互补的例如寡核苷酸的核苷酸序列,使得两个核苷酸序列能够在生理条件下(例如,在细胞中)彼此退火。在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列完全互补。然而,在一些实施方案中,互补区与靶核酸的同源核苷酸序列部分互补(例如,至少80%、90%、95%或99%互补)。在一些实施方案中,与靶核酸的同源核苷酸序列相比,互补区包含1、2、3或4个错配。

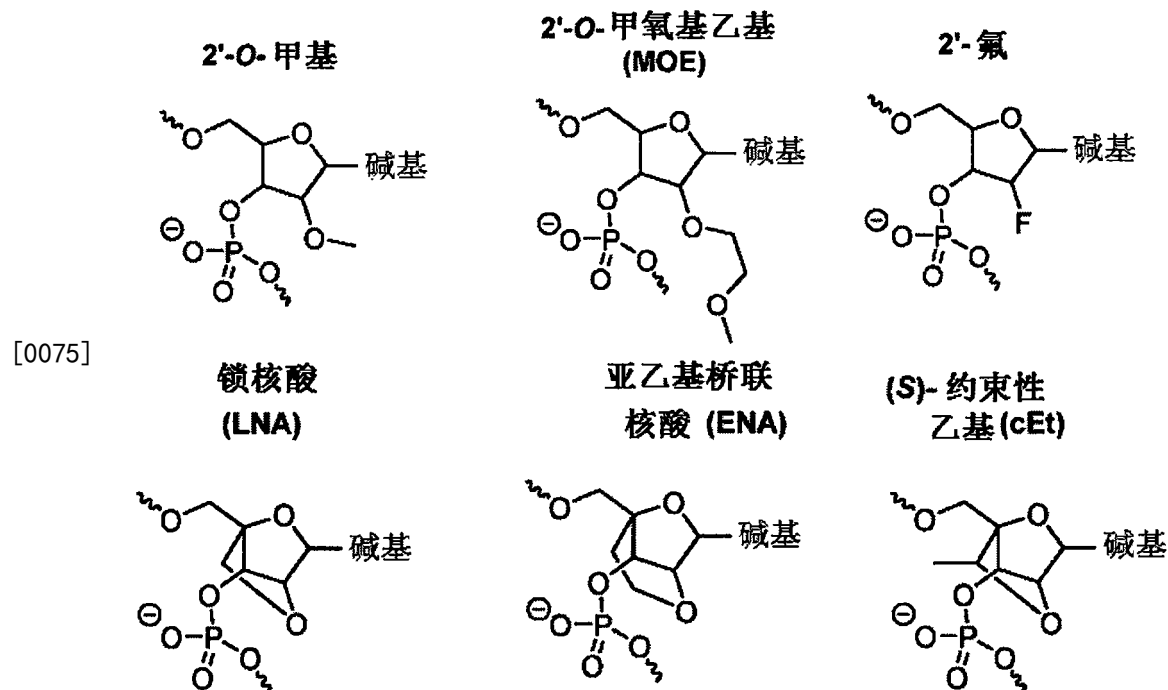
[0071] 特异性结合:本文中使用的术语“特异性结合”是指分子以一定程度的亲和力或亲合力与结合伴侣结合的能力,该亲和力或亲合力使得分子能够用于在结合测定或其他结合环境中将结合伴侣与合适的对照区分开。关于抗体,术语“特异性结合”是指与合适的一种或更多种参考抗原相比,抗体以一定程度的亲和力或亲合力与特异性抗原结合的能力,该亲和力或亲合力使得抗体能够用于将特异性抗原与其他抗原区分开,例如至允许通过与如本文中所述的抗原结合而优先靶向某些细胞(例如,肌细胞)的程度。在一些实施方案中,如果抗体与靶标结合的 $K_D$ 为至少约 $10^{-4}M$ 、 $10^{-5}M$ 、 $10^{-6}M$ 、 $10^{-7}M$ 、 $10^{-8}M$ 、 $10^{-9}M$ 、 $10^{-10}M$ 、 $10^{-11}M$ 、 $10^{-12}M$ 、 $10^{-13}M$ 或更小,则抗体与靶标特异性结合。在一些实施方案中,抗体与转铁蛋白受体(例如,转铁蛋白受体的顶端结构域(apical domain)的表位)特异性结合。

[0072] 对象:本文中使用的术语“对象”是指哺乳动物。在一些实施方案中,对象是非人灵长类或啮齿动物。在一些实施方案中,对象是人。在一些实施方案中,对象是患者,例如患有

或怀疑患有疾病的人患者。在一些实施方案中,对象是患有或怀疑患有由疾病相关重复扩增(例如,在FXN等位基因中)引起的疾病的人患者。

[0073] 转铁蛋白受体:本文中使用的术语“转铁蛋白受体”(也称为TFRC、CD71、p90、TFR或TFR1)是指结合转铁蛋白以促进通过内吞作用摄取铁的内化细胞表面受体。在一些实施方案中,转铁蛋白受体可以是人来源的(NCBI基因ID 7037)、非人灵长类来源的(例如,NCBI基因ID 711568或NCBI基因ID 102136007)或啮齿动物来源的(例如,NCBI基因ID 22042)。另外,已经表征了编码受体的不同同种型的多种人转录物变体(例如,如以下GenBank RefSeq登录号注释的:NP\_001121620.1、NP\_003225.2、NP\_001300894.1和NP\_001300895.1)。

[0074] 2'-经修饰核苷:本文中使用的术语“2'-经修饰核苷”和“2'-经修饰核糖核苷”可互换使用,并且是指在2'位置具有经修饰糖部分的核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷,其中糖的2'和4'位置是桥联的(例如,通过亚甲基、亚乙基或(S)-约束性乙基桥联)。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是非双环的2'-经修饰核苷,例如,其中糖部分的2'位置被取代。2'-经修饰核苷的一些非限制性实例包括:2'-脱氧、2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA)、锁核酸(LNA,亚甲基桥联核酸)、亚乙基桥联核酸(ENA)和(S)-约束性乙基桥联核酸(cEt)。在一些实施方案中,本文中所述的2'-经修饰核苷是高亲和力的经修饰核苷和寡核苷酸,其包含相对于未经修饰的寡核苷酸而对靶序列具有提高的亲合力的2'-经修饰核苷。下面提供了2'-经修饰核苷之结构的一些实例:



[0076] 这些实例显示带有磷酸基团,但是任何核苷间键联都考虑在2'-经修饰核苷之间。

[0077] II. 复合物

[0078] 本文中还提供了包含与分子载荷共价连接的靶向剂(例如,抗体)的复合物。在一

些实施方案中,复合物包含与寡核苷酸共价连接的肌肉靶向抗体。复合物可包含特异性结合单个抗原位点或结合可存在于相同或不同抗原上的至少两个抗原位点的抗体。

[0079] 复合物可用于调节至少一种基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的活性或功能。在一些实施方案中,存在于复合物内的分子载荷负责基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的调节。分子载荷可以是能够调节细胞中基因、蛋白质和/或(例如,和)核酸的活性或功能的小分子、蛋白质、核酸、寡核苷酸或任何分子实体。在一些实施方案中,分子载荷是靶向肌细胞中疾病相关重复的寡核苷酸。

[0080] 在一些实施方案中,复合物包含与分子载荷(例如,靶向疾病相关重复(例如,FXN等位基因)的反义寡核苷酸)共价连接的肌肉靶向剂,例如抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体。

[0081] A.肌肉靶向剂

[0082] 本公开内容的一些方面提供了肌肉靶向剂,例如用于将分子载荷递送至肌细胞。在一些实施方案中,这样的肌肉靶向剂能够例如通过与肌细胞上的抗原特异性结合而与肌细胞结合,并且将缔合的分子载荷递送至肌细胞。在一些实施方案中,分子载荷与肌肉靶向剂结合(例如,共价结合),并且在肌肉靶向剂与肌细胞上的抗原结合后内化到肌细胞中,例如通过内吞作用。应理解,根据本公开内容可以使用多种类型的肌肉靶向剂。应理解,根据本公开内容可使用多种类型的肌肉靶向剂,并且任何肌肉靶标(例如,肌肉表面蛋白)都可被本文中所述的任何类型的肌肉靶向剂靶向。例如,肌肉靶向剂可包含小分子、核酸(例如,DNA或RNA)、肽(例如,抗体)、脂质(例如,微泡(microvesicle))或糖部分(例如,多糖),或者由其组成。示例性的肌肉靶向剂在本文中进一步详细描述,然而,应理解,本文中提供的示例性肌肉靶向剂并不意味着是限制性的。

[0083] 本公开内容的一些方面提供了与肌肉(例如骨骼肌、平滑肌或心肌)上的抗原特异性结合的肌肉靶向剂。在一些实施方案中,本文中提供的任何肌肉靶向剂均与骨骼肌细胞、平滑肌细胞和/或(例如,和)心肌细胞上的抗原结合(例如,与之特异性结合)。

[0084] 通过与肌肉特异性细胞表面识别元件(例如,细胞膜蛋白)相互作用,可实现组织定位和选择性摄取到肌细胞中二者。在一些实施方案中,作为肌肉摄取转运体之底物的分子可用于将分子载荷递送到肌肉组织中。与肌肉表面识别元件结合之后是胞吞作用,其可允许甚至大分子(例如,抗体)进入肌细胞。作为另一个实例,与转铁蛋白或抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体缀合的分子载荷可通过与转铁蛋白受体结合而被肌细胞摄取,然后可例如通过网格蛋白介导的内吞作用被内吞。

[0085] 肌肉靶向剂的使用可用于将分子载荷(例如,寡核苷酸)集中在肌肉中,同时降低与其他组织中的作用相关的毒性。在一些实施方案中,与对象内的另一种细胞类型相比,肌肉靶向剂将结合的分子载荷集中在肌细胞中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂将结合的分子载荷以是非肌细胞(例如,肝、神经元、血液或脂肪细胞)中的量的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90或100倍高的量集中在肌细胞(例如,骨骼肌、平滑肌或心肌细胞)中。在一些实施方案中,当分子载荷在与肌肉靶向剂结合时递送至对象时,其在对象中的毒性降低至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%或95%。

[0086] 在一些实施方案中,为了实现肌肉选择性,可能需要肌肉识别元件(例如,肌细胞抗原)。作为一个实例,肌肉靶向剂可以是肌肉特异性摄取转运体之底物的小分子。作为

另一个实例,肌肉靶向剂可以是通过转运体介导的内吞作用进入肌细胞的抗体。作为另一个实例,肌肉靶向剂可以是与肌细胞上的细胞表面受体结合的配体。应理解,尽管基于转运体的方法为细胞进入提供了直接途径,但是基于受体的靶向可能涉及刺激的胞吞作用以达到期望的作用部位。

[0087] i.肌肉靶向抗体

[0088] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是抗体。通常来说,抗体对其靶抗原的高特异性提供了用于选择性靶向肌细胞(例如,骨骼肌、平滑肌和/或(例如,和)心肌细胞)的潜力。这种特异性也可以限制脱靶毒性。能够靶向肌细胞表面抗原的抗体的一些实例已经报道并且在本公开内容的范围内。例如,靶向肌细胞表面的抗体在以下中有描述:Arahata K.,et al. “Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide” Nature 1988;333:861-3;Song K.S., et al. “Expression of caveolin-3 in skeletal, cardiac, and smooth muscle cells. Caveolin-3 is a component of the sarcolemma and co-fractionates with dystrophin and dystrophin-associated glycoproteins” J Biol Chem 1996;271:15160-5;以及Weisbart R.H.et al., “Cell type specific targeted intracellular delivery into muscle of a monoclonal antibody that binds myosin IIb” Mol Immunol. 2003 Mar, 39(13):78309;其各自的全部内容均通过引用并入本文。

[0089] a.抗转铁蛋白受体1(TfR1)抗体

[0090] 本公开内容的一些方面是基于这样的认识:与转铁蛋白受体结合的物质(例如,抗转铁蛋白受体抗体)能够靶向肌细胞。转铁蛋白受体是内化细胞表面受体,其转运转铁蛋白穿过细胞膜并参与胞内铁水平的调节和稳态。本公开内容的一些方面提供了能够与转铁蛋白受体结合的转铁蛋白受体结合蛋白。因此,本公开内容的一些方面提供了与转铁蛋白受体结合的结合蛋白(例如,抗体)。在一些实施方案中,与转铁蛋白受体结合的结合蛋白与任何结合的分子载荷一起被内化到肌细胞中。本文中使用的与转铁蛋白受体结合的抗体可以可互换地称为转铁蛋白受体抗体、抗转铁蛋白受体抗体或抗TfR1抗体。与转铁蛋白受体结合(例如,特异性结合)的抗体可在与转铁蛋白受体结合后例如通过受体介导的内吞作用而被内化到细胞中。

[0091] 应理解,可使用数种已知的方法(例如使用噬菌体展示的文库设计)来产生、合成和/或(例如,和)衍生抗TfR1抗体。示例性方法已经在本领域中表征并且通过引用并入(Díez, P. et al. “High-throughput phage-display screening in array format”, Enzyme and Microb Technol, 2015, 79, 34-41.; Hammers C M. and Stanley, J.R., “Antibody Phage Display: Technique and Applications” J Invest Dermatol. 2014, 134:2.; Engleman, Edgar (Ed.) “Human Hybridomas and Monoclonal Antibodies.” 1985, Springer)。在另一些实施方案中,抗TfR1抗体先前已被表征或公开。与转铁蛋白受体特异性结合的抗体是本领域中已知的(参见,例如1979年12月4日提交的美国专利No. 4,364,934, “Monoclonal antibody to a human early thymocyte antigen and methods for preparing same”; 2006年6月14日提交的美国专利No. 8,409,573, “Anti-CD71 monoclonal antibodies and uses thereof for treating malignant tumor cells”; 2014年5月20日提交的美国专利No. 9,708,406, “Anti-transferrin receptor antibodies and methods

of use”;2014年12月19日提交的US 9,611,323,“Low affinity blood brain barrier receptor antibodies and uses therefor”;2014年12月24日提交的W0 2015/098989,“Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”;Schneider C.et al.“Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9.” J Biol Chem.1982,257:14,8516-8522.;Lee et al.“Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse” 2000,J Pharmacol.Exp.Ther.,292:1048-1052)。

[0092] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体以高特异性和亲和力与转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与转铁蛋白受体的任何胞外表位或暴露于抗体的表位特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的抗TfR1抗体与来自人、非人灵长类、小鼠、大鼠等的转铁蛋白受体特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的抗TfR1抗体与人转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与人或非人灵长类转铁蛋白受体的氨基酸区段(如SEQ ID NO:105至108中提供的)结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与这样的氨基酸区段结合:对应于人转铁蛋白受体(如SEQ ID NO:105中所示)的第90至96位氨基酸,其不在转铁蛋白受体的顶端结构域中。

[0093] 对应于NCBI序列NP\_003225.2(转铁蛋白受体蛋白1同种型1,智人(Homo sapiens))的示例性人转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

**MMDQARSFAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLAVDEEENADNNTKANVT  
KPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPA  
ARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENS YVPREAGSQKDENLALYVENQFREF  
KLSKVWRDQHFKIQVKDS AQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLV  
HANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEK VANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNA  
ELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFP PSRSSGLPNIPVQTISR AAAEKLFGNMEGD CP  
SDWKT DSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGV IKG FVEPDHYVVVGAQRDAW  
[0094] GPGA AKSGVGTALLLKL AQMFSDMVLK DGFQPSRSIIFASWSAGDFGSV GATEWLEGY  
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWA  
SKVEKLTL DNAAF PFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARA  
AAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARG  
DFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSG  
SHTLPALLENLKL RKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF  
(SEQ ID NO: 105).**

[0095] 对应于NCBI序列NP\_001244232.1(转铁蛋白受体蛋白1,恒河猴(Macaca mulatta))的示例性非人灵长类转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

[0096]

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLGVD E EENTDNNTKPNGT  
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA  
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK  
LSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVH  
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD  
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSQSSGLPNIPVQTISR AAAEKLFGNMEGDCPS  
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW  
GPGA AKSSVGTALLL KLAQMFS DMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFG SVGATEWLEGY  
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDV KHPVTGRSLYQDSNWA  
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR  
AAAEVAGQFVIKLT HDTELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSA

RGDFFRATSRLTTDFRNAEK RDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWG  
SGSHTLSALLES LKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF  
(SEQ ID NO: 106)

[0097] 对应于NCBI序列XP\_005545315.1 (转铁蛋白受体蛋白1, 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)) 的示例性非人灵长类转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

[0098]

MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLGVD E EENTDNNTKANGT  
KPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPA  
APRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQFREFK  
LSKVWRDQH FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVH  
ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKAD  
LSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSQSSGLPNIPVQTISR AAAEKLFGNMEGDCPS  
DWKTDSTCKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAW  
GPGA AKSSVGTALLL KLAQMFS DMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFG SVGATEWLEGY  
LSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDV KHPVTGRSLYQDSNWA  
SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVAR  
AAAEVAGQFVIKLT HDTELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYSA  
RGDFFRATSRLTTDFRNAEK RDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWG  
SGSHTLSALLES LKLRRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF  
(SEQ ID NO: 107).

[0099] 对应于NCBI序列NP\_001344227.1 (转铁蛋白受体蛋白1, 小家鼠 (*Mus musculus*)) 的示例性小鼠转铁蛋白受体氨基酸序列如下:

[0100] MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHSHVEMKLAADDEENADNNMKASV  
RKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLG YCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETE  
DVPTSSRLYWADLKTLLSEKLSNIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFH  
EFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVSGKLV  
HANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAAQSFNAIGVLIYMDKNKFPVVE  
ADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAELFGKMEGS  
CPARWNIDSSCKLELSQNNQVKNVKNVLEKERRILNIFGVIKGYEEDRYVVVGAQRDA  
LGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFSMDISKDGRPSRSIIFASWTAGDFGAVGATEWLEG  
YLSSLHLKAFTYINLDKVVLTGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSN  
WISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQM  
VRTAAEVAGQLIKLTHDVELNLDYEMYNKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWLYS  
ARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRFMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPFRHIFWG  
SGSHTLSALVENLKLRLQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF

(SEQ ID NO: 108)

[0101] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体与如下的受体氨基酸区段结合:

FVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFE  
DLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFHGAHLG  
[0102] TGDYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAELFGNMEGDCPSDWKTDSTCR  
MVTSESKNVKLTVS NVLKE (SEQ ID NO: 109)

[0103] 并且不抑制转铁蛋白受体与转铁蛋白和/或(例如,和)人血色素沉着蛋白(human hemochromatosis protein,也称为HFE)之间的结合相互作用。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体不与SEQ ID NO:109中的表位结合。

[0104] 可使用适当的方法来获得和/或(例如,和)产生抗体、抗体片段或抗原结合剂,例如,通过使用重组DNA方案。在一些实施方案中,也可通过杂交瘤的产生来产生抗体(参见,例如,Kohler,G and Milstein,C.“Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity” Nature,1975,256:495-497)。目的抗原可以以任何形式或实体(例如,重组或天然存在的形式或实体)用作免疫原。使用标准方法(例如ELISA筛选)筛选杂交瘤,以发现至少一种产生靶向特定抗原之抗体的杂交瘤。也可通过筛选表达抗体的蛋白质表达文库(例如,噬菌体展示文库)来产生抗体。在一些实施方案中,也可使用噬菌体展示文库设计(参见,例如,1991年3月1日提交的美国专利No 5,223,409,“Directed evolution of novel binding proteins”;1992年4月10日提交的W0 1992/18619,“Heterodimeric receptor libraries using phagemids”;1991年5月1日提交的W0 1991/17271,“Recombinant library screening methods”;1992年5月15日提交的W0 1992/20791,“Methods for producing members of specific binding pairs”;1992年2月28日提交的W0 1992/15679,“Improved epitope displaying phage”)。在一些实施方案中,目的抗原可用于对非人动物,例如啮齿动物或山羊进行免疫接种。在一些实施方案中,然后从非人动物获得抗体,并且可任选地使用多种方法(例如,使用重组DNA技术)对其进行

修饰。抗体产生的其他实例和方法是本领域已知的(参见,例如Harlow et al. “Antibodies:A Laboratory Manual”, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988.)。

[0105] 在一些实施方案中,对抗体进行修饰,例如,通过糖基化、磷酸化、SUMO化和/或(例如,和)甲基化进行修饰。在一些实施方案中,抗体是与一个或多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化(GPI锚定附着)和/或(例如,和)磷酸糖基化与抗体缀合。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中,一个或多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中,存在约1至10、约1至5、约5至10、约1至4、约1至3或约2个糖分子。在一些实施方案中,糖基化抗体是完全或部分糖基化的。在一些实施方案中,通过化学反应或通过酶促手段使抗体糖基化。在一些实施方案中,抗体在体外或细胞内被糖基化,其可任选地缺少N-或O-糖基化途径中的酶,例如糖基转移酶。在一些实施方案中,用糖或碳水化合物分子对抗体进行官能化,如2014年5月1日公开的标题为“Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof”的国际专利申请公开W02014065661中所述。

[0106] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含选自表2至7中任一项的任一种抗TfR1抗体的VL结构域和/或(例如,和) VH结构域,并且包含恒定区,所述恒定区包含IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子的任何类别(例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或任何亚类(例如, IgG2a和IgG2b)的恒定区的氨基酸序列。本领域中描述了人恒定区的一些非限制性实例,例如参见上文Kabat E A et al., (1991)。

[0107] 在一些实施方案中,与转铁蛋白受体结合的物质,例如抗TfR1抗体,能够靶向肌细胞和/或(例如,和)介导物质穿过血脑屏障的转运。转铁蛋白受体是将转铁蛋白转运通过细胞膜并参与胞内铁水平的调节和稳态的内化细胞表面受体。本公开内容的一些方面提供了能够结合转铁蛋白受体的转铁蛋白受体结合蛋白。与转铁蛋白受体结合(例如,特异性结合)的抗体可在与转铁蛋白受体结合之后被内化至细胞中,例如通过受体介导的胞吞作用而被内化至细胞中。

[0108] 在一些方面中,本文中提供了以高特异性和亲和力与转铁蛋白受体结合的人源化抗体。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与转铁蛋白受体的任何胞外表位或暴露于抗体的表位特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的人源化抗TfR1抗体与来自人、非人灵长类、小鼠、大鼠等的转铁蛋白受体特异性结合。在一些实施方案中,本文中提供的人源化抗TfR1抗体与人转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与如SEQ ID NO:105至108中提供的人或非人灵长类转铁蛋白受体的氨基酸区段结合。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与这样的氨基酸区段结合:对应于如SEQ ID NO:105中所示的人转铁蛋白受体的第90至96位氨基酸,其不在转铁蛋白受体的顶端结构域中。在一些实施方案中,本文中所述的人源化抗TfR1抗体与TfR1结合但与不TfR2结合。

[0109] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的抗TfR1克隆8)结合TfR1中的表位,其中所述表位包含SEQ ID NO:105的第214至241位氨基酸和/或第354至

381位氨基酸中的残基。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含SEQ ID NO: 105的第214至241位氨基酸和第354至381位氨基酸中的残基的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含如SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的一个或更多个残基Y222、T227、K231、H234、T367、S368、S370、T376和S378的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体结合包含如SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的残基Y222、T227、K231、H234、T367、S368、S370、T376和S378的表位。

[0110] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其人源化变体)结合TfR1中的表位,其中所述表位包含SEQ ID NO:105的第258至291位氨基酸和/或第358至381位氨基酸中的残基。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其人源化变体)结合包含SEQ ID NO:105的第258至291位氨基酸和第358至381位氨基酸中的残基的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其人源化变体)结合包含如SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的一个或更多个残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370和K371的表位。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体(例如,下表2中的3M12及其人源化变体)结合包含如SEQ ID NO:105中所示的人TfR1的残基K261、S273、Y282、T362、S368、S370和K371的表位。

[0111] 在一些实施方案中,抗TFR1抗体以至少约 $10^{-4}$ M、 $10^{-5}$ M、 $10^{-6}$ M、 $10^{-7}$ M、 $10^{-8}$ M、 $10^{-9}$ M、 $10^{-10}$ M、 $10^{-11}$ M、 $10^{-12}$ M、 $10^{-13}$ M或更小的结合亲和力(例如,如Kd所示)特异性结合TfR1(例如,人或非人灵长类TfR1)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体以亚纳摩范围的KD与TfR1结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体选择性地与转铁蛋白受体1(TfR1)结合但不与转铁蛋白受体2(TfR2)结合。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体与人TfR1和食蟹猴TfR1结合(例如,Kd为 $10^{-7}$ M、 $10^{-8}$ M、 $10^{-9}$ M、 $10^{-10}$ M、 $10^{-11}$ M、 $10^{-12}$ M、 $10^{-13}$ M或更小),但不与小鼠TfR1结合。抗TfR1抗体的亲和力和结合动力学可使用任何合适的方法测试,包括但不限于生物传感器技术(例如,OCTET或BIAcore)。在一些实施方案中,本文中所述的任一种抗TfR1抗体的结合不竞争或抑制转铁蛋白与TfR1的结合。在一些实施方案中,本文中所述的任一种抗TfR1抗体的结合不竞争或抑制HFE- $\beta$ -2-微球蛋白与TfR1的结合。

[0112] 表2中提供了抗TfR1抗体的非限制性实例。

[0113] 表2. 抗TfR1抗体的一些实例

[0114]

| Ab            | 编号系统   | IMGT                                                                                                                                    | Kabat                              | Chothia                      |
|---------------|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| 3-A4          | CDR-H1 | GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)                                                                                                                 | DDYMY (SEQ ID NO: 7)               | GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)      |
|               | CDR-H2 | IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)                                                                                                                 | WIDPENGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 8)  | ENG (SEQ ID NO: 13)          |
|               | CDR-H3 | TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)                                                                                                               | WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)            | LRRGLD (SEQ ID NO: 14)       |
|               | CDR-L1 | KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)                                                                                                              | RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)   | SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15) |
|               | CDR-L2 | RMS (SEQ ID NO: 5)                                                                                                                      | RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)            | RMS (SEQ ID NO: 5)           |
|               | CDR-L3 | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)                                                                                                                | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)           | HLEYPF (SEQ ID NO: 16)       |
|               | VH     | EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQSSLTSED TAVYYCTLWLRRGLDYWGQGTSVTVS S (SEQ ID NO: 17) |                                    |                              |
|               | VL     | DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFLQRPQSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)        |                                    |                              |
| 3-A4<br>N54T* | CDR-H1 | GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)                                                                                                                 | DDYMY (SEQ ID NO: 7)               | GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)      |
|               | CDR-H2 | IDPETGDT (SEQ ID NO: 19)                                                                                                                | WIDPETGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 20) | ETG (SEQ ID NO: 21)          |
|               | CDR-H3 | TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)                                                                                                               | WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)            | LRRGLD (SEQ ID NO: 14)       |
|               | CDR-L1 | KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)                                                                                                              | RSSKSLLSHNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)   | SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 15) |

[0115]

|               |        |                                                                                                                                          |                                    |                              |
|---------------|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
|               | CDR-L2 | RMS (SEQ ID NO: 5)                                                                                                                       | RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)            | RMS (SEQ ID NO: 5)           |
|               | CDR-L3 | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)                                                                                                                 | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)           | HLEYPF (SEQ ID NO: 16)       |
|               | VH     | EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWIGWIDPETGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCTLWLRRLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 22)   |                                    |                              |
|               | VL     | DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)         |                                    |                              |
| 3-A4<br>N54S* | CDR-H1 | GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)                                                                                                                  | DDYMY (SEQ ID NO: 7)               | GFNIKDD (SEQ ID NO: 12)      |
|               | CDR-H2 | IDPESGDT (SEQ ID NO: 23)                                                                                                                 | WIDPESGDT EYASKFQD (SEQ ID NO: 24) | ESG (SEQ ID NO: 25)          |
|               | CDR-H3 | TLWLRRLDY (SEQ ID NO: 3)                                                                                                                 | WLRRGLDY (SEQ ID NO: 9)            | LRRGLD (SEQ ID NO: 14)       |
|               | CDR-L1 | KSLHLSNGYTY (SEQ ID NO: 4)                                                                                                               | RSSKSLHLSNGYTYLF (SEQ ID NO: 10)   | SKSLHLSNGYTY (SEQ ID NO: 15) |
|               | CDR-L2 | RMS (SEQ ID NO: 5)                                                                                                                       | RMSNLAS (SEQ ID NO: 11)            | RMS (SEQ ID NO: 5)           |
|               | CDR-L3 | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)                                                                                                                 | MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)           | HLEYPF (SEQ ID NO: 16)       |
|               | VH     | EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWIGWIDPESGDT EYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCTLWLRRLDYWGQGTSTVTS S (SEQ ID NO: 26)   |                                    |                              |
|               | VL     | DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)         |                                    |                              |
| 3-M12         | CDR-H1 | GYSITSGYY (SEQ ID NO: 27)                                                                                                                | SGYYWN (SEQ ID NO: 33)             | GYSITSGY (SEQ ID NO: 38)     |
|               | CDR-H2 | ITFDGAN (SEQ ID NO: 28)                                                                                                                  | YITFDGANNYNPSLKN (SEQ ID NO: 34)   | FDG (SEQ ID NO: 39)          |
|               | CDR-H3 | TRSSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 29)                                                                                                            | SSYDYDVL DY (SEQ ID NO: 35)        | SYDYDVL DY (SEQ ID NO: 40)   |
|               | CDR-L1 | QDISNF (SEQ ID NO: 30)                                                                                                                   | RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 36)        | SQDISNF (SEQ ID NO: 41)      |
|               | CDR-L2 | YTS (SEQ ID NO: 31)                                                                                                                      | YTSRLHS (SEQ ID NO: 37)            | YTS (SEQ ID NO: 31)          |
|               | CDR-L3 | QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)                                                                                                                | QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 32)          | GHTLPY (SEQ ID NO: 42)       |
|               | VH     | DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYISITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDGAN NYNPSLKNRISITRDTSKNQFLKLTSTEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWGQGTTLTV SS (SEQ ID NO: 43) |                                    |                              |
|               | VL     | DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLN WYQQRPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 44)            |                                    |                              |
| 5-H12         | CDR-H1 | GYSFTDYC (SEQ ID NO: 45)                                                                                                                 | DYCIN (SEQ ID NO: 51)              | GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)      |

[0116]

|                |        |                                                                                                                                         |                                   |                             |
|----------------|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
|                | CDR-H2 | IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)                                                                                                                | WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52) | GSG (SEQ ID NO: 57)         |
|                | CDR-H3 | AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)                                                                                                           | EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)       | DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)   |
|                | CDR-L1 | ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)                                                                                                              | RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)   | SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59) |
|                | CDR-L2 | RAS (SEQ ID NO: 49)                                                                                                                     | RASNLES (SEQ ID NO: 55)           | RAS (SEQ ID NO: 49)         |
|                | CDR-L3 | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)                                                                                                               | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)         | SSEDPW (SEQ ID NO: 60)      |
|                | VH     | QIQLQQSGPELVIRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVSS (SEQ ID NO: 61) |                                   |                             |
|                | VL     | DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)         |                                   |                             |
| 5-H12<br>C33Y* | CDR-H1 | GYSFTDYY (SEQ ID NO: 63)                                                                                                                | DYYIN (SEQ ID NO: 64)             | GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)     |
|                | CDR-H2 | IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)                                                                                                                | WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52) | GSG (SEQ ID NO: 57)         |
|                | CDR-H3 | AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)                                                                                                           | EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)       | DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)   |
|                | CDR-L1 | ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)                                                                                                              | RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)   | SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59) |
|                | CDR-L2 | RAS (SEQ ID NO: 49)                                                                                                                     | RASNLES (SEQ ID NO: 55)           | RAS (SEQ ID NO: 49)         |
|                | CDR-L3 | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)                                                                                                               | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)         | SSEDPW (SEQ ID NO: 60)      |
|                | VH     | QIQLQQSGPELVIRPGASVKISCKASGYSFTDYYINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVSS (SEQ ID NO: 65) |                                   |                             |
|                | VL     | DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 62)         |                                   |                             |
| 5-H12<br>C33D* | CDR-H1 | GYSFTDYD (SEQ ID NO: 66)                                                                                                                | DYDIN (SEQ ID NO: 67)             | GYSFTDY (SEQ ID NO: 56)     |
|                | CDR-H2 | IYPGSGNT (SEQ ID NO: 46)                                                                                                                | WIYPGSGNTRYSERFKG (SEQ ID NO: 52) | GSG (SEQ ID NO: 57)         |
|                | CDR-H3 | AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 47)                                                                                                           | EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 53)       | DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 58)   |
|                | CDR-L1 | ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 48)                                                                                                              | RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 54)   | SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 59) |
|                | CDR-L2 | RAS (SEQ ID NO: 49)                                                                                                                     | RASNLES (SEQ ID NO: 55)           | RAS (SEQ ID NO: 49)         |
|                | CDR-L3 | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)                                                                                                               | QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 50)         | SSEDPW (SEQ ID NO: 60)      |

[0117]

|                   |            |                                                                                                                                                   |                                      |                                 |
|-------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
|                   | VH         | QIQLQQSGPELVVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRY<br>SERFKGKATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGQGTSTVTV<br>SS (SEQ ID NO: 68) |                                      |                                 |
|                   | VL         | DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESDVDYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLES<br>GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQSSSEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:<br>62)            |                                      |                                 |
| 抗<br>TfR1<br>克隆 8 | CDR-<br>H1 | GYSFTSYW (SEQ ID<br>NO: 138)                                                                                                                      | SYWIG (SEQ ID NO: 144)               | GYSFTSY (SEQ ID NO:<br>149)     |
|                   | CDR-<br>H2 | IYPGDSDT (SEQ ID NO:<br>139)                                                                                                                      | IYPGDSDTYSPSFQGG<br>(SEQ ID NO: 145) | GDS (SEQ ID NO: 150)            |
|                   | CDR-<br>H3 | ARFPYDSSGYYSFDY<br>(SEQ ID NO: 140)                                                                                                               | FPYDSSGYYSFDY (SEQ ID<br>NO: 146)    | PYDSSGYYSFD (SEQ ID<br>NO: 151) |
|                   | CDR-<br>L1 | QSISSY (SEQ ID NO:<br>141)                                                                                                                        | RASQSISSYLN (SEQ ID NO:<br>147)      | SQSISSY (SEQ ID NO: 152)        |
|                   | CDR-<br>L2 | AAS (SEQ ID NO: 142)                                                                                                                              | AASSLQS (SEQ ID NO: 148)             | AAS (SEQ ID NO: 142)            |
|                   | CDR-<br>L3 | QSYSTPLT (SEQ ID<br>NO: 143)                                                                                                                      | QSYSTPLT (SEQ ID NO:<br>143)         | SYSTPL (SEQ ID NO: 153)         |

[0118] \*突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0119] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是表2中提供的任一种抗TfR1抗体的人源化变体。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表2中提供的任一种抗TfR1抗体中的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且包含人源化重链可变区和/或(例如,和)人源化轻链可变区。

[0120] 表3中提供了本文中所述的抗TfR1抗体的氨基酸序列的一些实例。

[0121] 表3.抗TfR1抗体的可变区

[0122]

| 抗体                     | 可变区氨基酸序列**                                                                                                                                             |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3A4<br>VH3 (N54T*)/VK4 | VH:<br>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSVCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP<br>ETGDTHEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLD<br>YWGQGTILTVSS (SEQ ID NO: 69) |
|                        | VL:<br>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSNGYTYLFWFQQRPQGSPRLLIYR<br>MSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTK<br>VEIK (SEQ ID NO: 70)        |
| 3A4<br>VH3 (N54S*)/VK4 | VH:<br>EVQLVQSGSELKKPGASVKVSVCTASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP<br>ESGDTHEYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRGLD<br>YWGQGTILTVSS (SEQ ID NO: 71) |
|                        | VL:<br>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSNGYTYLFWFQQRPQGSPRLLIYR<br>MSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGGGTK<br>VEIK (SEQ ID NO: 70)        |
| 3A4                    | VH:                                                                                                                                                    |

[0123]

| 抗体                      | 可变区氨基酸序列**                                                                                                                                               |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VH3 /Vκ4                | EVQLVQSGSELKKPGASVKVSC TASGFNIKDDYMYWVRQPPGKGLEWIGWIDP<br>ENGDT EYASKFQDRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRLD<br>YWGQGT LTVSS (SEQ ID NO: 72)           |
|                         | VL:<br>DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLLSNGYTYLFWFQQRPGQSPRLLIYR<br>MSNLA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFGGGTK<br>VEIK (SEQ ID NO: 70)           |
| 3M12<br>VH3/Vκ2         | VH:<br>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF<br>DGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DY<br>WGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 73)   |
|                         | VL:<br>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN WYQKPGQPVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (SEQ<br>ID NO: 74)                 |
| 3M12<br>VH3/Vκ3         | VH:<br>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWMGYITF<br>DGANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DY<br>WGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 73)   |
|                         | VL:<br>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN WYQKPGQPVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (SEQ<br>ID NO: 75)                 |
| 3M12<br>VH4/Vκ2         | VH:<br>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD<br>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYW<br>GQGT TTVSS (SEQ ID NO: 76)   |
|                         | VL:<br>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN WYQKPGQPVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (SEQ<br>ID NO: 74)                 |
| 3M12<br>VH4/Vκ3         | VH:<br>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYITFD<br>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYW<br>GQGT TTVSS (SEQ ID NO: 76)   |
|                         | VL:<br>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNFLN WYQKPGQPVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGHTLPYTFGQGTKLEIK (SEQ<br>ID NO: 75)                 |
| 5H12<br>VH5 (C33Y*)/Vκ3 | VH:<br>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWII<br>PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYII<br>GMDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO: 77) |
|                         | VL:<br>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSFMHWYQKPGQPPKLLIFR<br>ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVAVYYCQSSSEDPWTFGQGTKL<br>EIK (SEQ ID NO: 78)              |
| 5H12<br>VH5 (C33D*)/Vκ4 | VH:<br>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWII<br>PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYH<br>GMDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO: 79)  |
|                         | VL:<br>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSFMHWYQKPGQPPKLLIFR<br>ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQSSSEDPWTFGQGTKL<br>EIK (SEQ ID NO: 80)              |
| 5H12<br>VH5 (C33Y*)/Vκ4 | VH:<br>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYSFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWII<br>PGSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREDYYPYH<br>GMDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO: 77)  |

| 抗体                        | 可变区氨基酸序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           | <b>VL:</b><br><b>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESV DGYDNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFR</b><br><b>ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSSEDPWTFGQGTKL</b><br><b>EIK (SEQ ID NO: 80)</b>                                                                                                                                                                                        |
| [0124]<br><br>抗 TfR1 克隆 8 | <b>VH:</b><br><b>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIITP</b><br><b>GDS DTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARFPYDSSGYY</b><br><b>SFDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 154)</b><br><b>VL:</b><br><b>DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ</b><br><b>SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGTKVEIK (SEQ</b><br><b>ID NO: 155)</b> |

[0125] \*突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0126] \*\*根据Kabat编号系统的CDR被加粗

[0127] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VH,所述VH包含表3中提供的任一种抗TfR1抗体的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,并且与表3中提供的相应人源化VH相比,在框架区中包含一个或更多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)氨基酸变异。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含VL,所述VL包含表3中提供的任一种抗TfR1抗体的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且与表3中提供的相应人源化VL相比,在框架区中包含一个或更多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)氨基酸变异。

[0128] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VH,所述VH包含表3中提供的任一种抗TfR1抗体的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,并且与表3中提供的相应VH相比在框架区中包含具有至少70%(例如,至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%)同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含VL,所述VL包含表3中提供的任一种抗TfR1抗体的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且与表3中提供的相应VL相比包含具有框架区中的至少70%(例如,至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%)同一性的氨基酸序列。

[0129] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0130] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0131] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。

[0132] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。

[0133] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

[0134] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。

[0135] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。

[0136] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的VL。

[0137] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。

[0138] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。

[0139] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的VL。

[0140] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是全长IgG,其可包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链可包含重链恒定区(CH)或其一部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可具有任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自人IgG例如IgG1、IgG2或IgG4( $\gamma$ 重链)。以下给出了人IgG1恒定区的一个实例:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

[0142] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链包含突变体人IgG1恒定区。例如,已知在人IgG1的CH2结构域中引入LALA突变(来源于mAb b12的突变体,其已突变以用Ala234和Ala235替换较低的铰链残基Leu234 Leu235)降低了Fc  $\gamma$  受体结合(Bruhns, P., et al. (2009) 和 Xu, D. et al. (2000))。以下提供了突变体人IgG1恒定区(突变加粗并带有下划线):

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)

[0144] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的轻链可还包含轻链恒定区(CL),其可以是本领域已知的任何CL。在一些实例中,CL是 $\kappa$ 轻链。在另一些实例中,CL是 $\lambda$ 轻链。在一些实施方案中,CL是 $\kappa$ 轻链,以下提供了其序列:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

[0146] 其他抗体重链和轻链恒定区是本领域公知的,例如在IMGT数据库([www.imgt.org](http://www.imgt.org))或[www.vbase2.org/vbstat.php](http://www.vbase2.org/vbstat.php).中提供的那些,二者均通过引用并入本文。

[0147] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中所列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:82具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中所列出的任一种VH或其任意变体以及与

SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:82相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中所列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:81中所示的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中所列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:82中所示的重链恒定区。

[0148] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及SEQ ID NO:83中所示的轻链恒定区。

[0149] 下表4中提供了所述抗TfR1抗体的IgG重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列的一些实例。

[0150] 表4.抗TfR1 IgG的实例的重链序列和轻链序列

[0151]

| 抗体                     | IgG重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3A4<br>VH3 (N54T*)/VK4 | 重链(具有野生型人IgG1恒定区)<br><u>EVOLVOSGSELKKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE</u><br><u>TGDEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDIAVYYCTLWLRRLDYW</u><br><u>GQGTLYTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br>CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br>SLSPGK (SEQ ID NO: 84) |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)<br><u>DIVMTOSPLSLPVTGPASISCRSSKSLHNSGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br><u>NLASGVDPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPTFTGGGKVEIK</u><br><u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u><br>VTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ<br>ID NO: 85)                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 3A4<br>VH3 (N54S*)/VK4 | 重链(具有野生型人IgG1恒定区)<br><u>EVOLVOSGSELKKPGASVKVSTASGFNIKDDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE</u><br><u>SGDEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDIAVYYCTLWLRRLDYW</u><br><u>GQGTLYTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br>CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN                                                                                                                                                                                                           |

[0152]

| 抗体              | IgG重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 | <p>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br/>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br/>SLSPGK (SEQ ID NO: 86)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/><u>DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLHNSGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br/><u>NLASGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPTFGGGTKVEIK</u><br/>RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br/>VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ<br/>ID NO: 85)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 3A4<br>VH3/Vκ4  | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/><u>EVOLVQSGSELKKGASVKVSC TASGFNIKDDYMYWVROP PGKGLEWIGWIDPE</u><br/><u>NGDTEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRLDYW</u><br/><u>GOGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br/>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br/>CDKHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN<br/>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br/>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br/>SLSPGK (SEQ ID NO: 87)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/><u>DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLHNSGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br/><u>NLASGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPTFGGGTKVEIK</u><br/>RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br/>VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ<br/>ID NO: 85)</p> |
| 3M12<br>VH3/Vκ2 | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/><u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSITSGYYWNWIROP PGKGLEWMGYITFD</u><br/><u>GANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWG</u><br/><u>OGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br/>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br/>CDKHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN<br/>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br/>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br/>SLSPGK (SEQ ID NO: 88)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRASODISNFLNWOOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/><u>GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAAP</u><br/>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK<br/>DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)</p>       |
| 3M12<br>VH3/Vκ3 | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/><u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTSVTGYSITSGYYWNWIROP PGKGLEWMGYITFD</u><br/><u>GANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWG</u><br/><u>OGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br/>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br/>CDKHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN<br/>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br/>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br/>SLSPGK (SEQ ID NO: 88)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRASODISNFLNWOOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/><u>GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAAP</u><br/>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:<br/>90)</p>  |
| 3M12<br>VH4/Vκ2 | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/><u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSGYYWNWIROP PGKGLEWIGYITFDG</u><br/><u>ANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVL DYWG</u><br/><u>GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br/>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS<br/>CDKHTCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN<br/>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP<br/>APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ<br/>PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL<br/>SLSPGK (SEQ ID NO: 88)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

[0153]

| 抗体                      | IgG重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | <p>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD<br/>           KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW<br/>           YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA<br/>           PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br/>           ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS<br/>           LSPGK (SEQ ID NO: 91)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASODISNFLNWWYQOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAAP</u><br/>           SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK<br/>           DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 3M12<br>VH4/Vκ3         | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/> <u>QVLOESGPGVLKPSOTLSLTCTVTGYSITSGYYWNWIROPKGLIEWIGYITFDG</u><br/> <u>ANNYNPSLKNRVSISRDTSKNQFSLKLSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLVDYWGQ</u><br/> <u>GTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u><br/>           GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD<br/>           KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW<br/>           YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA<br/>           PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP<br/>           ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS<br/>           LSPGK (SEQ ID NO: 91)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASODISNFLNWWYQOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/> <u>GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAA</u><br/>           PSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>           KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:<br/>           90)</p>        |
| 5H12<br>VH5 (C33Y*)/Vκ3 | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/> <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYSFTDYYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u><br/> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDATVYYCAREDYPPYHGM</u><br/> <u>DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br/>           SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br/>           EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE<br/>           VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br/>           KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br/>           SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT<br/>           QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVGDYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRAS</u><br/> <u>NLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEADVAVYYCQOSSEDPWTFGOGTKLEIKR</u><br/>           TVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT<br/>           EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID<br/>           NO: 93)</p> |
| 5H12<br>VH5 (C33D*)/Vκ4 | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区)<br/> <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYSFTDYYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u><br/> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDATVYYCAREDYPPYHGM</u><br/> <u>DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br/>           SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br/>           EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE<br/>           VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br/>           KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br/>           SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT<br/>           QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 94)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVGDYDNSFMHWYQOKPGOPPKLLIFRA</u><br/> <u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQOSSEDPWTFGOGTKLEIK</u><br/>           RTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br/>           VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ<br/>           ID NO: 95)</p> |
| 5H12                    | 重链 (具有野生型人IgG1恒定区)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

[0154]

| 抗体              | IgG重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VH5 (C33Y*)/Vκ4 | <p><b><u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFDYYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u></b><br/> <b><u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDDYYPYHGM</u></b><br/> <b><u>DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u></b><br/> <b><u>SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV</u></b><br/> <b><u>EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE</u></b><br/> <b><u>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u></b><br/> <b><u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE</u></b><br/> <b><u>SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT</u></b><br/> <b><u>QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 92)</u></b></p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <b><u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSDGYDNSFMHWYQOKPGQPPKLLIFRA</u></b><br/> <b><u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLLOAEDVAVYYCOOSSEDPWTFGOGTKLEIK</u></b><br/> <b><u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKNHKNALQSGNSQES</u></b><br/> <b><u>VTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ</u></b><br/> <b><u>ID NO: 95)</u></b></p>                        |
| 抗 TfR1 克隆 8     | <p>重链 (具有野生型人IgG1恒定区):<br/> <b><u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSTSYWIGWVROMPGKGLEWMGIIYPG</u></b><br/> <b><u>DSDTRYSPSFOGOVTISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYCARFPYDSSGYYSF</u></b><br/> <b><u>DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u></b><br/> <b><u>SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV</u></b><br/> <b><u>EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE</u></b><br/> <b><u>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN</u></b><br/> <b><u>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE</u></b><br/> <b><u>SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT</u></b><br/> <b><u>QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 156)</u></b></p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区):<br/> <b><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS</u></b><br/> <b><u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLLOPEDFATYYCOOSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAP</u></b><br/> <b><u>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u></b><br/> <b><u>DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:</u></b><br/> <b><u>157)</u></b></p> |

[0155] \*突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0156] \*\*根据Kabat编号系统的CDR被加粗;VH/VL序列带有下列线

[0157] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链,所述重链与SEQ ID NO: 84、86、87、88、91、92、94和156中任一者所示的重链相比,包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链与SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中任一者所示的轻链相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0158] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO: 84、86、87、88、91、92、94和156中的任一个具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中的任一个具有至少75% (例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 84、86、87、88、91、92、94和156中任一者的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中任一者的氨基酸序列的轻链。

[0159] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 84的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO: 85的氨基酸序列的轻链。

[0160] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO: 86的氨基酸序

列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0161] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0162] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0163] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0164] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0165] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0166] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。

[0167] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0168] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0169] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0170] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体是完整抗体(全长抗体)的Fab片段、Fab'片段或F(ab')<sub>2</sub>片段。完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段可以通过常规方法制备(例如,重组地制备或通过使用酶如木瓜蛋白酶消化全长IgG的重链恒定区来制备)。例如,F(ab')<sub>2</sub>片段可通过胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化抗体分子产生,并且Fab片段可通过还原F(ab')<sub>2</sub>片段的二硫桥产生。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体的Fab片段中的重链恒定区包含以下氨基酸序列:

**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS**

[0171] **SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 96)**

[0172] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中所列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:96具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及与SEQ ID NO:96相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的重链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含重链,所述重链包含表3中列出的任一种VH或其任意变体以及SEQ ID NO:96中所示的重链恒定区。

[0173] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含

轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及与SEQ ID NO:83相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的轻链恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体包含轻链,所述轻链包含表3中所列出的任一种VL或其任意变体以及SEQ ID NO:83中所示的轻链恒定区。

[0174] 下表5中提供了所述抗TfR1抗体的Fab重链和轻链氨基酸序列的一些实例。

[0175] 表5.抗TfR1 Fab实例的重链和轻链序列

| 抗体                     | Fab重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3A4<br>VH3 (N54T*)/Vk4 | 重链(具有部分人IgG1恒定区)<br><u>EVOLVOSGSELKKPGASVKVSC</u> <u>TASGFNIKDDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE</u><br><u>TGDTEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRLDYLW</u><br><u>GOGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br><u>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u><br><u>CDKTHT</u> (SEQ ID NO: 97) |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)<br><u>DIVMTQSPFLSLPVTGPGEFASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br><u>NLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTFGGGTKVEIK</u><br><u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u><br><u>VTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 85)                            |
| 3A4<br>VH3 (N54S*)/Vk4 | 重链(具有部分人IgG1恒定区)<br><u>EVOLVOSGSELKKPGASVKVSC</u> <u>TASGFNIKDDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE</u><br><u>SGDTEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRLDYLW</u><br><u>GOGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br><u>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u><br><u>CDKTHT</u> (SEQ ID NO: 98) |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)<br><u>DIVMTQSPFLSLPVTGPGEFASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br><u>NLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTFGGGTKVEIK</u><br><u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u><br><u>VTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 85)                            |
| 3A4<br>VH3 /Vk4        | 重链(具有部分人IgG1恒定区)<br><u>EVOLVOSGSELKKPGASVKVSC</u> <u>TASGFNIKDDYMYWVROPPGKGLEWIGWIDPE</u><br><u>NGDTEYASKFODRVTVTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCTLWLRRLDYLW</u><br><u>GOGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u><br><u>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u><br><u>CDKTHT</u> (SEQ ID NO: 99) |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)<br><u>DIVMTQSPFLSLPVTGPGEFASISCRSSKSLLSHNGYTYLFWFOORPGOSPRLLIYRMS</u><br><u>NLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMOHLEYPFTFGGGTKVEIK</u><br><u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u><br><u>VTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 85)                            |
| 3M12<br>VH3/Vk2        | 重链(具有部分人IgG1恒定区)<br><u>QVOLOESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSTSGYYWNWIROPPGKGLEWMGYITFD</u><br><u>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNOFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWG</u><br><u>OGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><br><u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</u><br><u>DKTHT</u> (SEQ ID NO: 100)        |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)<br><u>DIOMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASODISNFLNWIYQOKPGOPVKLLIYYTSRLIIS</u><br><u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAAP</u><br><u>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u><br><u>DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 89)                                   |
| 3M12<br>VH3/Vk3        | 重链(具有部分人IgG1恒定区)<br><u>QVOLOESGPGLVKPSQTLSTCSVTGYSTSGYYWNWIROPPGKGLEWMGYITFD</u><br><u>GANNYNPSLKNRVSISRDTSKNOFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLDYWG</u><br><u>OGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT</u><br><u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC</u><br><u>DKTHT</u> (SEQ ID NO: 100)        |
|                        | 轻链(具有κ轻链恒定区)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

[0176]

| 抗体                      | Fab重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | <p><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASODISNFLNWYOOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLLOPEDFATYYCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAA</u><br/>           PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>           KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 3M12<br>VH4/Vκ2         | <p>重链 (具有部分人IgG1恒定区)<br/> <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKGLWIGWYITFDG</u><br/> <u>ANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLVDYWGQ</u><br/> <u>GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u><br/>           GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD<br/>           KTHT (SEQ ID NO: 101)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASODISNFLNWYOOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLLOPEDFATYYCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAA</u><br/>           PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK<br/>           DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 89)</p>     |
| 3M12<br>VH4/Vκ3         | <p>重链 (具有部分人IgG1恒定区)<br/> <u>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSTSGYYWNWIROPKGLWIGWYITFDG</u><br/> <u>ANNYNPSLKNRVISIRDTSKNQFSLKLSSVTAEDTATYYCTRSSYDYDVLVDYWGQ</u><br/> <u>GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u><br/>           GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD<br/>           KTHT (SEQ ID NO: 101)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASODISNFLNWYOOKPGOPVKLLIYYTSRLHS</u><br/> <u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLLOPEDFATYYCOOGHTLPYTFGOGTKLEIKRTVAA</u><br/>           PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>           KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)</p>     |
| 5H12<br>VH5 (C33Y*)/Vκ3 | <p>重链 (具有部分人IgG1恒定区)<br/> <u>QVOLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTDYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u><br/> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYHGM</u><br/> <u>DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br/>           SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br/>           EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSFMHWYOOKPGOPPKLLIFRAS</u><br/> <u>NLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLLOAEDVAVYYCOOSSEDPWTFGOGTKLEIKR</u><br/>           TVAAPSDFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV<br/>           EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 93)</p>   |
| 5H12<br>VH5 (C33D*)/Vκ4 | <p>重链 (具有部分人IgG1恒定区)<br/> <u>QVOLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTDYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u><br/> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYHGM</u><br/> <u>DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br/>           SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br/>           EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 103)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)<br/> <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESDGYDNSFMHWYOOKPGOPPKLLIFRA</u><br/> <u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLLOAEDVAVYYCOOSSEDPWTFGOGTKLEIK</u><br/>           RTVAAPSDFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br/>           VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 95)</p> |
| 5H12<br>VH5 (C33Y*)/Vκ4 | <p>重链 (具有部分人IgG1恒定区)<br/> <u>QVOLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTDYINWVROAPGOGLEWMGWIYP</u><br/> <u>GSGNTRYSERFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREDYYPYHGM</u><br/> <u>DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br/>           SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br/>           EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 102)</p> <p>轻链 (具有κ轻链恒定区)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

[0177]

[0178]

| 抗体                  | Fab重链/轻链序列**                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | <u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESV</u> <u>DGYDNSFMHWYQOKPGQPPKLLIFRA</u><br><u>SNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLOAEDVAVYYCOOSSEDPWTFQGGTKLEIK</u><br>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br>VTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ<br>ID NO: 95)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 抗 Tfr1 克隆 8<br>形式 1 | 重链 (具有部分人IgG1恒定区):<br><u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGIIYPG</u><br><u>DSDTRYSPSFQGOVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF</u><br><u>DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br>SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br>EPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 158)<br><br>轻链 (具有κ轻链恒定区):<br><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS</u><br><u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAP</u><br>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK<br>DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:<br>157) |
| 抗 Tfr1 克隆 8<br>形式 2 | 重链 (具有部分人IgG1恒定区):<br><u>QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGIIYPG</u><br><u>DSDTRYSPSFQGOVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARFPYDSSGYYSF</u><br><u>DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN</u><br>SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br>EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 159)<br><br>轻链 (具有κ轻链恒定区):<br><u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYAASSLOS</u><br><u>GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAP</u><br>SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK<br>DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:<br>157)   |

[0179] \*突变位置根据包含突变的相应VH序列的Kabat编号

[0180] \*\*根据Kabat编号系统的CDR被加粗;VH/VL序列带有下列线

[0181] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含重链,所述重链与SEQ ID NO: 97至103、158和159中的任一个中所示的重链相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗Tfr1抗体包含轻链,所述轻链与SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中的任一个中所示的轻链相比不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0182] 在一些实施方案中,本文中所述的抗Tfr1抗体包含重链,所述重链包含与SEQ ID NO: 97至103、158和159中的任一个具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗Tfr1抗体包含轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中的任一个具有至少75%(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文中所述的抗Tfr1抗体包含重链,所述重链包含SEQ ID NO: 97至103、158和159中任一者的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗Tfr1抗体包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO: 85、89、90、93、95和157中任一者的氨基酸序列。

[0183] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含含有SEQ ID NO: 97的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO: 85的氨基酸序列的轻链。

[0184] 在一些实施方案中,本公开内容的抗Tfr1抗体包含含有SEQ ID NO: 98的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO: 85的氨基酸序列的轻链。

[0185] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。

[0186] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0187] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0188] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。

[0189] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。

[0190] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。

[0191] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0192] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。

[0193] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0194] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。

[0195] 其他已知的抗TfR1抗体

[0196] 本领域中已知的任何其他合适的抗TfR1抗体均可用作本文中公开的复合物中的肌肉靶向剂。表6中列出了已知抗TfR1抗体的实例,包括相关参考文献和结合表位。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含本文中提供的任何抗TfR1抗体(例如表6中列出的抗TfR1抗体)的互补决定区(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3)。

[0197] 表6-抗TfR1抗体克隆的列表,包括相关参考文献和结合表位信息。

|        | 抗体克隆名称 | 参考文献                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 表位/注释                                                           |
|--------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| [0198] | OKT9   | <p>1979 年 12 月 4 日提交的美国专利 No. 4,364,934, 标题为“MONOCLONAL ANTIBODY TO A HUMAN EARLY THYMOCYTE ANTIGEN AND METHODS FOR PREPARING SAME”</p> <p>Schneider C. et al. “Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9.” J Biol Chem. 1982, 257:14, 8516-8522.</p> | TfR 的顶端结构域(人 TfR 序列 XM_052730.3 的第 305 至 366 位残基,可在 GenBank 获得) |

[0199]

|                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| (来自 JCR)<br><br>克隆 M11<br>克隆 M23<br>克隆 M27<br>克隆 B84                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>2014 年 12 月 24 日提交的 WO 2015/098989, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”</li> <li>2014 年 12 月 24 日提交的美国专利 No. 9,994,641, “Novel anti-Transferrin receptor antibody that passes through blood-brain barrier”</li> </ul>                                        | 顶端结构域 (TfR 的第 230 至 244 位和第 326 至 347 位残基) 和蛋白酶样结构域 (第 461 至 473 位残基) |
| (来自 Genentech)<br><br>7A4、8A2、15D2、<br>10D11、7B10、15G11、<br>16G5、13C3、 | <ul style="list-style-type: none"> <li>2016 年 5 月 26 日提交的 WO 2016/081643, 标题为 “ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE”</li> </ul>                                                                                                                                                                                                 | 顶端结构域和非顶端区                                                            |
| 16G4、16F6、7G7、4C2、<br>1B12 和 13D4                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>2014 年 5 月 20 日提交的美国专利 No. 9,708,406, “Anti-transferrin receptor antibodies and methods of use”</li> </ul>                                                                                                                                                                                                  |                                                                       |
| (来自 Armagen)<br><br>8D3                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>Lee et al. “Targeting Rat Anti-Mouse Transferrin Receptor Monoclonal Antibodies through Blood-Brain Barrier in Mouse” 2000, J Pharmacol. Exp. Ther., 292: 1048-1052.</li> <li>2008 年 9 月 11 日提交的美国专利申请 2010/077498, 标题为 “COMPOSITIONS AND METHODS FOR BLOOD-BRAIN BARRIER DELIVERY IN THE MOUSE”</li> </ul> |                                                                       |

[0200]

|                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| OX26                                                                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Haobam, B. et al. 2014. Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion. Cellular microbiology. 16: 1806-21.</li> </ul> |                                                                    |
| DF1513                                                                                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ortiz-Zapater E et al. Trafficking of the human transferrin receptor in plant cells: effects of tyrphostin A23 and brefeldin A. Plant J 48:757-70 (2006)..</li> </ul>                          |                                                                    |
| 1A1B2 、 66IG10 、 MEM-189 、 JF0956 、 29806 、 1A1B2 、 TFRC/1818 、 1E6 、 66Ig10、 TFRC/1059、 Q1/71、 23D10、 13E4、 TFRC/1149、 ER-MP21、 YTA74.4、 BU54、 2B6、 RI7 217 | <ul style="list-style-type: none"> <li>市售抗转铁蛋白受体抗体。</li> </ul>                                                                                                                                                                        | Novus Biologicals<br>8100 Southpark Way, A-8<br>Littleton CO 80120 |
| (来自 INSERM)<br>BA120g                                                                                                                                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>2005 年 6 月 15 日提交的美国专利申请 2011/0311544A1, 标题为“ANTI-CD71 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF FOR TREATING MALIGNANT TUMOR CELLS”</li> </ul>                                                   | 不与 OKT9 竞争                                                         |
| LUC A31                                                                                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>2004 年 6 月 7 日提交的美国专利 No. 7,572,895 , 标题为“TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES”</li> </ul>                                                                                                          | “LUCA31 表位”                                                        |
| (Salk Institute)<br>B3/25<br>T58/3O                                                                                                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>Trowbridge, I.S. et al. “Anti-transferrin receptor monoclonal antibody and toxin-antibody conjugates affect growth of human tumour cells.” Nature, 1981, 第 294 卷, 第 171 至 173 页</li> </ul>     |                                                                    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                    |                                                                                          |      |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| R17 217.1.3、<br>5E9C11、<br>OKT9（BE0023 克隆）                                                                                                                                                                                                                                | ● 市售抗转铁蛋白受体抗体。                                                                                                                                                     | BioXcell<br><br>10 Technology Dr., Suite<br>2B<br><br>West Lebanon, NH<br>03784-1671 USA |      |      |
| BK19.9、B3/25、T56/14<br>和 T58/1                                                                                                                                                                                                                                            | ● Gatter, K.C. et al. “Transferrin receptors<br>in human tissues: their distribution and<br>possible clinical relevance.” J Clin<br>Pathol. 1983 May;36(5):539-45. |                                                                                          |      |      |
| 抗 TfR1 抗体<br><br>CDRH1（SEQ ID NO: 177）<br><br>CDRH2（SEQ ID NO: 178）<br><br>CDRH3（SEQ ID NO: 179）<br><br>CDRL1（SEQ ID NO: 180）<br><br>CDRL2（SEQ ID NO: 181）<br><br>CDRL3（SEQ ID NO: 182）<br><br>VH（SEQ ID NO: 183）<br><br>VL（SEQ ID NO: 184）<br><br>另外的抗 TfR1 抗体 SEQ ID NO |                                                                                                                                                                    |                                                                                          |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                           | VH/<br>VL                                                                                                                                                          | CDR1                                                                                     | CDR2 | CDR3 |
| VH1                                                                                                                                                                                                                                                                       | 193                                                                                                                                                                | 185                                                                                      | 186  | 179  |
| VH2                                                                                                                                                                                                                                                                       | 194                                                                                                                                                                | 185                                                                                      | 187  | 179  |
| VH3                                                                                                                                                                                                                                                                       | 195                                                                                                                                                                | 185                                                                                      | 188  | 179  |
| VH4                                                                                                                                                                                                                                                                       | 196                                                                                                                                                                | 185                                                                                      | 187  | 179  |
| VL1                                                                                                                                                                                                                                                                       | 197                                                                                                                                                                | 180                                                                                      | 181  | 115  |
| VL2                                                                                                                                                                                                                                                                       | 198                                                                                                                                                                | 180                                                                                      | 181  | 115  |
| VL3                                                                                                                                                                                                                                                                       | 199                                                                                                                                                                | 180                                                                                      | 190  | 182  |
| VL4                                                                                                                                                                                                                                                                       | 200                                                                                                                                                                | 191                                                                                      | 192  | 182  |

[0201]

[0202]

[0203] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含来自选自表6的任一种抗TfR1抗体的一个或更多个CDR-H(例如,CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含如针对选自表6的任一种抗TfR1抗体所提供的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含如针对选自表6的任一种抗TfR1抗体所提供的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0204] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包括包含任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变结构域和/或(例如,和)轻链可变结构域的任何抗体。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包括包含任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变和轻链可变对的任何抗体。

[0205] 本公开内容的一些方面提供了抗TfR1抗体,其具有与本文中所述的那些中的任何同源的重链可变(VH)和/或(例如,和)轻链可变(VL)结构域氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TfR1抗体包含与任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的重链可变序列和/或任何轻链可变序列具有至少75%(例如80%、85%、90%、95%、98%或99%)同一性的重链可变序列或轻链可变序列。在一些实施方案中,同源重链可变和/或(例如,和)轻链可变氨基酸序列在本文中提供的任何CDR序列内均不变化。例如,在一些实施方案中,序列变异的程度(例如,75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)可发生在不包括本文中提供的任何CDR序列的重链可变和/或(例如,和)轻链可变序列中。在一些实施方案中,本文中提供的任何抗TfR1抗体包含重链可变序列和轻链可变序列,其包含与任何抗TfR1抗体(例如选自表6的任一种抗TfR1抗体)的框架序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%同一性的框架序列。

[0206] 根据本公开内容可使用的转铁蛋白受体抗体的实例描述于国际申请公开W0 2016/081643中,其通过引用并入本文。该抗体的氨基酸序列在表7中提供。

[0207] 表7. 已知的抗TfR1抗体的实例的重链和轻链CDR

[0208]

| 序列类型   | Kabat                                                                                                                                 | Chothia                      | Contact                        |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| CDR-H1 | SYWMH (SEQ ID NO: 110)                                                                                                                | GYTFTSY (SEQ ID NO: 116)     | TSYWMH (SEQ ID NO: 118)        |
| CDR-H2 | EINPTNGRTNYIE<br>KFKS (SEQ ID NO: 111)                                                                                                | NPTNGR (SEQ ID NO: 117)      | WIGELNPTNGRTN (SEQ ID NO: 119) |
| CDR-H3 | GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)                                                                                                              | GTRAYHY (SEQ ID NO: 112)     | ARGTRA (SEQ ID NO: 120)        |
| CDR-L1 | RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113)                                                                                                          | RASDNLYSNLA (SEQ ID NO: 113) | YSNLAWY (SEQ ID NO: 121)       |
| CDR-L2 | DATNLAD (SEQ ID NO: 114)                                                                                                              | DATNLAD (SEQ ID NO: 114)     | LLVYDATNLA (SEQ ID NO: 122)    |
| CDR-L3 | QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)                                                                                                            | QHFWGTPLT (SEQ ID NO: 115)   | QHFWGTPL (SEQ ID NO: 123)      |
| 鼠 VH   | QVQLQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGEINPTNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 124) |                              |                                |

[0209]

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 鼠 VL             | DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNL<br>ADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHFHWGTPLTFGAGTKLELK<br>(SEQ ID NO: 125)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 人源化 VH           | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEIN<br>PTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHY<br>WGQGTMTVTSS (SEQ ID NO: 128)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 人源化 VL           | DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNL<br>ADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKEIK<br>(SEQ ID NO: 129)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 嵌合全长<br>IgG1的HC  | QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKRPGQGLEWIGEINP<br>TNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYW<br>GQGTSTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG<br>ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE<br>PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE<br>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br>SNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV<br>EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 132) |
| 嵌合全长<br>IgG1的LC  | DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASDNLYSNLAWYQQKQKSPQLLVYDATNL<br>ADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHFHWGTPLTFGAGTKLELKR<br>TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES<br>VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC<br>(SEQ ID NO: 133)                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 完全人全长<br>IgG1的HC | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEIN<br>PTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHY<br>WGQGTMTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS<br>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br>EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP<br>EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK<br>VSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA<br>VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 134) |
| 完全人全长<br>IgG1的LC | DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASDNLYSNLAWYQQKPGKSPKLLVYDATNL<br>ADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFHWGTPLTFGQGTKEIKRT<br>VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV<br>TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC<br>(SEQ ID NO: 135)                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 嵌合Fab的HC         | QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKRPGQGLEWIGEINP<br>TNGRTNYIEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAYHYW<br>GQGTSTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG<br>ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE<br>PKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 136)                                                                                                                                                                                                                                           |
| 完全人Fab的HC        | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEIN<br>PTNGRTNYIEKFKSRATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTRAYHY<br>WGQGTMTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS<br>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV<br>EPKSCDKTHTCP (SEQ ID NO: 137)                                                                                                                                                                                                                                           |

[0210] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7中所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7所示的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3相同的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0211] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含CDR-L3,其与表7中所示的CDR-L3相比包含不超过3个氨基酸变异(例如,不超过3、2或1个氨基酸变异)。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含CDR-L3,其与表7中所示的CDR-L3相比包含一个氨基酸变异。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含QHFAGTPLT(SEQ ID NO:126)的CDR-L3(根据Kabat和Chothia定义系统)或QHFAGTPL(SEQ ID NO:127)的CDR-L3(根据Contact定义系统)。在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含与表7中所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3相同的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1和CDR-L2,并且包含QHFAGTPLT(SEQ ID NO:126)的CDR-L3(根据Kabat和Chothia定义系统)或QHFAGTPL(SEQ ID NO:127)的CDR-L3

(根据Contact定义系统)。

[0212] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含重链CDR,其共同与表7中所示的重链CDR具有至少80% (例如,80%、85%、90%、95%或98%) 同一性。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含轻链CDR,其共同与表7所示的轻链CDR具有至少80% (例如,80%、85%、90%、95%或98%) 同一性。

[0213] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的VH。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL。

[0214] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的VH。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VL。

[0215] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体包含VH,所述VH与SEQ ID NO:128中所示的VH相比包含不超过25个氨基酸变异(例如,不超过25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。作为替代或补充(例如,补充),本公开内容的抗TfR1抗体包含VL,所述VL与SEQ ID NO:129中所示的VL相比包含不超过15个氨基酸变异(例如,不超过20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)。

[0216] 在一些实施方案中,本公开内容的抗TfR1抗体是全长IgG1抗体,其可包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的重链可包含重链恒定区(CH)或其一部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可具有任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自人IgG例如IgG1、IgG2或IgG4( $\gamma$ 重链)。以下给出了人IgG1恒定区的一个实例:

**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)**

[0218] 在一些实施方案中,本文中所述的任何抗TfR1抗体的轻链还包含轻链恒定区(CL),其可以是本领域已知的任何CL。在一些实例中,CL是 $\kappa$ 轻链。在另一些实例中,CL是 $\lambda$ 轻链。在一些实施方案中,CL是 $\kappa$ 轻链,以下提供了其序列:

**RTVAAPSVEFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)**

[0220] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是嵌合抗体,其包含含有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的轻链。

[0221] 在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是包含重链的完全人抗体,所述重链包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1

抗体包含含有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的轻链。

[0222] 在一些实施方案中,抗TfR1抗体是完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段(Fab)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:136的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的重链。作为替代或补充(例如,补充),本文中所述的抗TfR1 Fab包含含有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的轻链。

[0223] 本文中所述的抗TfR1抗体可为任何抗体形式,包括但不限于完整(即,全长)抗体、其抗原结合片段(例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv)、单链抗体、双特异性抗体或纳米抗体。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是scFv。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是scFv-Fab(例如,与恒定区的一部分融合的scFv)。在一些实施方案中,本文中所述的抗TfR1抗体是与恒定区(例如,SEQ ID NO:81中所示的人IgG1恒定区)融合的scFv。

[0224] 在一些实施方案中,可在残基不太可能参与与靶抗原(例如,转铁蛋白受体)相互作用的位置(例如,如基于晶体结构确定的)处将保守突变引入抗体序列(例如,CDR或框架序列)中。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入本文中所述的抗TfR1抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以改变抗体的一种或更多种功能特性,例如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或(例如,和)抗原依赖性细胞毒性。

[0225] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入Fc区(CH1结构域)的铰链区中,使得铰链区中的半胱氨酸残基的数目改变(例如,增加或减少),如例如美国专利No.5,677,425中所述。可改变CH1结构域的铰链区中半胱氨酸残基的数目,例如以促进轻链和重链的组装,或改变(例如,提高或降低)抗体的稳定性或促进接头缀合。

[0226] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以提高或降低抗体对效应细胞表面上Fc受体(例如,激活的Fc受体)的亲合力。降低或提高抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc区中突变以及将这样的突变引入Fc受体或其片段的技术是本领域技术人员已知的。可被进行以改变抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc受体中突变的一些实例描述于以下中:例如Smith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186,美国专利No.6,737,056,以及国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289、和WO 97/34631,其通过引用并入本文。

[0227] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期。参见例如国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631,以及美国专利No.5,869,046、6,121,022、6,277,375和6,165,745,例如将改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期的突变。

[0228] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以降低体内抗

TfR1抗体的半衰期。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以提高抗体在体内的半衰期。在一些实施方案中,抗体可在第二恒定(CH2)结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)第三恒定(CH3)结构域(人IgG1的第341至447位残基)(根据Kabat中的EU索引(Kabat E A et al., (1991)同上)编号)中具有一个或更多个氨基酸突变(例如,替换)。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的IgG1的恒定区包含在第252位处的甲硫氨酸(M)至酪氨酸(Y)替换,在第254位处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)替换,以及在第256位处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。参见美国专利No.7,658,921,其通过引用并入本文。这种类型的突变体IgG(称为“YTE突变体”)已显示出与同一抗体的野生型形式相比半衰期提高4倍(参见Dall’Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24)。在一些实施方案中,抗体包含IgG恒定结构域,该结构域包含在第251至257、285至290、308至314、385至389和428至436位处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。

[0229] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸替换引入IgG恒定结构域Fc区中,以改变抗TfR1抗体的效应子功能。对其的亲和力被改变的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。该方法在美国专利No.5,624,821和5,648,260中有更详细的描述。在一些实施方案中,恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他方式)可降低循环抗体的Fc受体结合,从而提高肿瘤定位。对于使恒定结构域缺失或失活从而提高肿瘤定位的突变的描述,参见例如美国专利No.5,585,097和8,591,886。在一些实施方案中,可将一个或更多个氨基酸替换引入本文中所述的抗体的Fc区中,以去除Fc区上潜在的糖基化位点,这可降低Fc受体结合(参见,例如Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604)。

[0230] 在一些实施方案中,可将本文中所述的抗TfR1抗体的恒定区中的一个或更多个氨基酸替换为不同的氨基酸残基,使得抗体具有改变的C1q结合和/或(例如,和)降低或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。这种方法在美国专利No.6,194,551(Idsogie et al)中有更详细的描述。在一些实施方案中,改变本文中所述的抗体的CH2结构域的N端区域中的一个或更多个氨基酸残基,从而改变抗体的固定补体的能力。这种方法在国际公开No.WO 94/29351中有进一步描述。在一些实施方案中,对本文中所述的抗体的Fc区进行修饰以提高抗体的介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或(例如,和)提高抗体对Fc $\gamma$ 受体的亲和力。这种方法在国际公开No.WO 00/42072中有进一步描述。

[0231] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体的重链和/或(例如,和)轻链可变结构域序列可用于产生例如CDR接枝、嵌合、人源化或复合的人抗体或抗原结合片段,如本文中其他地方所述。如本领域普通技术人员所理解的,来源于本文中提供的任何抗体的任何变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)可用于本文中所述的组合物和方法中,并将保持特异性结合转铁蛋白受体的能力,从而使得相对于其所来源原始抗体,变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更多的与转铁蛋白受体的结合。

[0232] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体包含赋予抗体以期望性质的突变。例如,为了避免归因于已知与天然IgG4mAb发生的Fab臂交换而引起的潜在并发症,本文中提供的抗体可包含稳定性‘Adair’突变(Angal S., et al., “A single amino acid substitution

abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody,” Mol Immunol 30,105-108;1993), 其中第228位 (EU编号, 根据Kabat编号为第241位残基) 丝氨酸转化为脯氨酸, 从而产生了IgG1样铰链序列。因此, 任何抗体都可包含稳定性 ‘Adair’ 突变。

[0233] 在一些实施方案中, 对抗体进行修饰, 例如, 通过糖基化、磷酸化、SUMO化和/或 (例如, 和) 甲基化进行修饰。在一些实施方案中, 抗体是与一个或多个糖或碳水化合物分子缀合的糖基化抗体。在一些实施方案中, 一个或多个糖或碳水化合物分子通过N-糖基化、O-糖基化、C-糖基化、糖基磷脂酰肌醇化 (GPI锚定附着) 和/或 (例如, 和) 磷酸糖基化与抗体缀合。在一些实施方案中, 一个或多个糖或碳水化合物分子是单糖、二糖、寡糖或聚糖。在一些实施方案中, 一个或多个糖或碳水化合物分子是支化的寡糖或支化的聚糖。在一些实施方案中, 一个或多个糖或碳水化合物分子包含甘露糖单元、葡萄糖单元、N-乙酰葡萄糖胺单元、N-乙酰半乳糖胺单元、半乳糖单元、岩藻糖单元或磷脂单元。在一些实施方案中, 存在约1至10、约1至5、约5至10、约1至4、约1至3或约2个糖分子。在一些实施方案中, 糖基化抗体是完全或部分糖基化的。在一些实施方案中, 通过化学反应或通过酶促手段使抗体糖基化。在一些实施方案中, 抗体在体外或细胞内被糖基化, 其可任选地缺少N-或O-糖基化途径中的酶, 例如糖基转移酶。在一些实施方案中, 用糖或碳水化合物分子对抗体进行官能化, 如2014年5月1日公开的标题为 “Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof” 的国际专利申请公开W02014065661中所述。

[0234] 在一些实施方案中, 本文中所述的任一种抗TfR1抗体可在重链序列和/或 (例如, 和) 轻链序列中包含信号肽 (例如, N端信号肽)。在一些实施方案中, 本文中所述的抗TfR1抗体包含VH和VL序列中的任一种、IgG重链序列和轻链序列中的任一种、或者本文中所述的F(ab') 重链序列和轻链序列中的任一种, 并且还包含信号肽 (例如, N端信号肽)。在一些实施方案中, 信号肽包含氨基酸序列MGWSCIIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:104)。

[0235] 在一些实施方案中, 本文中提供的抗体可具有一种或更多种翻译后修饰。在一些实施方案中, 也称为焦谷氨酸形成 (pyro-Glu) 的N端环化可在产生期间在抗体中发生。在一些实施方案中, 焦谷氨酸形成在产生期间在抗体N端谷氨酸 (Glu) 和/或谷氨酰胺 (Gln) 残基处发生。因此, 应理解指定为具有包含N端谷氨酸或谷氨酰胺残基的序列的抗体涵盖已经历由翻译后修饰引起的焦谷氨酸形成的抗体。在一些实施方案中, 焦谷氨酸形成发生在重链序列中。在一些实施方案中, 焦谷氨酸形成发生在轻链序列中。

[0236] b. 其他肌肉靶向抗体

[0237] 在一些实施方案中, 肌肉靶向抗体是特异性结合血幼素 (hemoiuvelin)、小窝蛋白-3、迪谢内肌营养不良肽 (Duchenne muscular dystrophy peptide)、肌球蛋白IIb或CD63的抗体。在一些实施方案中, 肌肉靶向抗体是特异性结合肌原性前体蛋白的抗体。一些示例性的肌原性前体蛋白包括但不限于ABCG2、M-钙黏着蛋白/钙黏着蛋白-15、小窝蛋白-1、CD34、FoxK1、整联蛋白 $\alpha 7$ 、整联蛋白 $\alpha 7\beta 1$ 、MYF-5、MyoD、肌细胞生成蛋白、NCAM-1/CD56、Pax3、Pax7和Pax9。在一些实施方案中, 肌肉靶向抗体是特异性结合骨骼肌蛋白的抗体。一些示例性的骨骼肌蛋白包括但不限于 $\alpha$ -肌聚糖蛋白 ( $\alpha$ -Sarcoglycan)、 $\beta$ -肌聚糖蛋白、钙蛋白酶抑制剂、肌酸激酶MM/CKMM、eIF5A、烯醇化酶2/神经元特异性烯醇化酶、 $\epsilon$ -肌聚糖蛋白、FABP3/H-FABP、GDF-8/肌生成抑制蛋白、GDF-11/GDF-8、整联蛋白 $\alpha 7$ 、整联蛋白 $\alpha 7\beta 1$ 、整联蛋白 $\beta 1$ /CD29、MCAM/CD146、MyoD、肌细胞生成蛋白、肌球蛋白轻链激酶抑制剂、NCAM-1/

CD56和肌钙蛋白I。在一些实施方案中,肌肉靶向抗体是特异性结合平滑肌蛋白的抗体。一些示例性的平滑肌蛋白包括但不限于 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白、VE-钙黏着蛋白、钙调蛋白结合蛋白/CALD1、钙调蛋白1、结蛋白(Desmin)、组胺H2R、胃动素R/GPR38、转凝蛋白/TAGLN、和波形蛋白。然而,应当理解,针对其他靶标的抗体在本公开内容的范围内,并且本文中提供的靶标的示例性列表并不意味着是限制性的。

[0238] c. 抗体特征/改变

[0239] 在一些实施方案中,可在残基不太可能参与与靶抗原(例如,转铁蛋白受体)相互作用的位置(例如,如基于晶体结构确定的)处将保守突变引入抗体序列(例如,CDR或框架序列)中。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以改变抗体的一种或更多种功能特性,例如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或(例如,和)抗原依赖性细胞毒性。

[0240] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入Fc区(CH1结构域)的铰链区中,使得铰链区中的半胱氨酸残基的数目改变(例如,增加或减少),例如如美国专利No.5,677,425中所述。可改变CH1结构域的铰链区中半胱氨酸残基的数目,例如以促进轻链和重链的组装,或改变(例如,提高或降低)抗体的稳定性或促进接头缀合。

[0241] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸替换)引入本文中所述的肌肉靶向抗体的Fc区(例如,在CH2结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)CH3结构域(人IgG1的第341至447位残基)和/或(例如,和)铰链区中,根据Kabat编号系统(例如,Kabat中的EU索引)编号),以提高或降低抗体对效应细胞表面上Fc受体(例如,激活的Fc受体)的亲和力。降低或提高抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc区中突变以及将这样的突变引入Fc受体或其片段的技术是本领域技术人员已知的。可被进行以改变抗体对Fc受体的亲和力的抗体Fc受体中突变的一些实例描述于以下中:例如Smith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186,美国专利No.6,737,056,以及国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289、和WO 97/34631,其通过引用并入本文。

[0242] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期。参见例如国际公开No.WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631,以及美国专利No.5,869,046、6,121,022、6,277,375;和6,165,745,例如将改变(例如,降低或提高)抗体在体内的半衰期的突变。

[0243] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以降低体内抗转铁蛋白受体抗体的半衰期。在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,替换、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地,Fc或铰链-Fc结构域片段)中以提高抗体在体内的半衰期。在一些实施方案中,抗体可在第二恒定(CH2)结构域(人IgG1的第231至340位残基)和/或(例如,和)第三恒定(CH3)结构域(人IgG1的第341至447位残基)(根据Kabat中的EU索引(Kabat E A et al., (1991) 同上)编号)中具有一个或更多个氨基酸突变(例如,替换)。在一些实施方案中,本文中所述的抗体的IgG1的恒定区包含在第

252位处的甲硫氨酸(M)至酪氨酸(Y)替换,在第254位处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)替换,以及在第256位处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。参见美国专利No.7,658,921,其通过引用并入本文。这种类型的突变体IgG(称为“YTE突变体”)已显示出与同一抗体的野生型形式相比半衰期提高4倍(参见Dall’Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24)。在一些实施方案中,抗体包含IgG恒定结构域,该结构域包含在第251至257、285至290、308至314、385至389和428至436位处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸替换,所述位置根据Kabat中的EU索引编号。

[0244] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸替换引入IgG恒定结构域Fc区中,以改变抗转铁蛋白受体抗体的效应子功能。对其的亲和力被改变的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。该方法在美国专利No.5,624,821和5,648,260中有更详细的描述。在一些实施方案中,恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他方式)可降低循环抗体的Fc受体结合,从而提高肿瘤定位。对于使恒定结构域缺失或失活从而提高肿瘤定位的突变的描述,参见例如美国专利No.5,585,097和8,591,886。在一些实施方案中,可将一个或更多个氨基酸替换引入本文中所述的抗体的Fc区中,以去除Fc区上潜在的糖基化位点,这可降低Fc受体结合(参见,例如Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-604)。

[0245] 在一些实施方案中,可将本文中所述的肌肉靶向抗体的恒定区中的一个或更多个氨基酸替换为不同的氨基酸残基,使得抗体具有改变的C1q结合和/或者(例如,和)降低或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。这种方法在美国专利No.6,194,551(Idusogie et al)中有更详细的描述。在一些实施方案中,改变本文中所述的抗体的CH2结构域的N端区域中的一个或更多个氨基酸残基,从而改变抗体的固定补体的能力。这种方法在国际公开No.WO 94/29351中有进一步描述。在一些实施方案中,对本文中所述的抗体的Fc区进行修饰以提高抗体的介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或(例如,和)提高抗体对Fc $\gamma$ 受体的亲和力。这种方法在国际公开No.WO 00/42072中有进一步描述。

[0246] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体的重链和/或(例如,和)轻链可变结构域序列可用于产生例如CDR接枝、嵌合、人源化或复合的人抗体或抗原结合片段,如本文中其他地方所述。如本领域普通技术人员所理解的,来源于本文中提供的任何抗体的任何变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)可用于本文中所述的组合物和方法中,并将保持特异性结合转铁蛋白受体的能力,从而使得相对于其所来源原始抗体,变体(CDR接枝、嵌合、人源化或复合的抗体)具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更多的与转铁蛋白受体的结合。

[0247] 在一些实施方案中,本文中提供的抗体包含赋予抗体以期望性质的突变。例如,为了避免归因于已知与天然IgG4 mAb发生的Fab臂交换而引起的潜在并发症,本文中提供的抗体可包含稳定性‘Adair’突变(Angal S., et al., “A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4) antibody,” Mol Immunol 30,105-108;1993),其中第228位(EU编号,根据Kabat编号为第241位残基)丝氨酸转化为脯氨酸,从而产生了IgG1样铰链序列。因此,任何抗体都可包含稳定性‘Adair’突变。

[0248] 如本文中所提供,本公开内容的抗体可任选地包含恒定区或其一部分。例如,VL结构域可在其C端连接至轻链恒定结构域,如C $\kappa$ 或C $\lambda$ 。类似地,VH结构域或其一部分可连接至

如IgA、IgD、IgE、IgG和IgM(以及任何同种型亚类)的重链的全部或一部分。抗体可包括合适的恒定区(参见,例如,Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md. (1991))。因此,在本公开内容范围内的抗体可包含与任何合适的恒定区组合的VH和VL结构域或其抗原结合部分。

[0249] ii. 肌肉靶向肽

[0250] 本公开内容的一些方面提供了肌肉靶向肽作为肌肉靶向剂。已描述了与特定细胞类型结合的短肽序列(例如,长度为5至20个氨基酸的肽序列)。例如,细胞靶向肽已在以下中进行了描述:Vines e., et al., A. “Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery” Biochim Biophys Acta 2008, 1786:126-38; Jarver P., et al., “In vivo biodistribution and efficacy of peptide mediated delivery” Trends Pharmacol Sci 2010; 31:528-35; Samoylova T.I., et al., “Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening” Muscle Nerve 1999; 22:460-6; 美国专利No. 6,329,501, 其于2001年12月11日授权, 标题为“METHODS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING COMPOUNDS TO MUSCLE”; 以及Samoylov A.M., et al., “Recognition of cell-specific binding of phage display derived peptides using an acoustic wave sensor.” Biomol Eng 2002; 18:269-72; 其各自的全部内容均通过引用并入本文。通过设计肽与特定的细胞表面抗原(例如,受体)相互作用, 可实现对所期望组织例如肌肉的选择性。已研究了骨骼肌靶向并且能够递送一系列分子载荷。这些方法可对肌肉组织具有高度选择性, 而没有大的抗体或病毒颗粒的许多实际缺点。因此, 在一些实施方案中, 肌肉靶向剂是长度为4至50个氨基酸的肌肉靶向肽。在一些实施方案中, 肌肉靶向肽的长度为4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50个氨基酸。可使用数种方法中的任一种(例如噬菌体展示)来产生肌肉靶向肽。

[0251] 在一些实施方案中, 肌肉靶向肽可与和某些其他细胞相比在肌细胞中过表达或相对高地表达的内化细胞表面受体, 例如转铁蛋白受体结合。在一些实施方案中, 肌肉靶向肽可靶向转铁蛋白受体(例如, 与之结合)。在一些实施方案中, 靶向转铁蛋白受体的肽可包含天然存在配体(例如转铁蛋白)的区段。在一些实施方案中, 靶向转铁蛋白受体的肽如2000年11月30日提交的美国专利No. 6,743,893, “RECEPTOR-MEDIATED UPTAKE OF PEPTIDES THAT BIND THE HUMAN TRANSFERRIN RECEPTOR” 中所述。在一些实施方案中, 靶向转铁蛋白受体的肽如Kawamoto, M. et al., “A novel transferrin receptor-targeted hybrid peptide disintegrates cancer cell membrane to induce rapid killing of cancer cells.” BMC Cancer. 2011 Aug 18; 11:359 中所述。在一些实施方案中, 靶向转铁蛋白受体的肽如2011年5月20日提交的美国专利No. 8,399,653, “TRANSFERRIN/TRANSFERRIN RECEPTOR-MEDIATED SIRNA DELIVERY” 中所述。

[0252] 如上所讨论, 已报道了肌肉靶向肽的一些实例。例如, 使用呈递表面七肽的噬菌体展示文库鉴定了肌肉特异性肽。作为一个实例, 具有氨基酸序列ASSLNIA (SEQ ID NO:130) 的肽在体外与C2C12鼠肌管结合, 并且在体内与小鼠肌肉组织结合。因此, 在一些实施方案中, 肌肉靶向剂包含氨基酸序列ASSLNIA (SEQ ID NO:130)。该肽在小鼠中进行静脉内注射

之后展示出提高的与心脏和骨骼肌组织结合的特异性,以及降低的与肝、肾和脑的结合。使用噬菌体展示已鉴定了另外的肌肉特异性肽。例如,通过噬菌体展示文库鉴定了12个氨基酸的肽用于在DMD治疗的情况下进行肌肉靶向。参见Yoshida D., et al., “Targeting of salicylate to skin and muscle following topical injections in rats.” *Int J Pharm* 2002;231:177-84;其全部内容在此通过引用并入。在此,鉴定了具有序列SKTFNTHPQSTP (SEQ ID NO:131)的12个氨基酸的肽,并且该肌肉靶向肽相对于ASSLNIA (SEQ ID NO:130)肽显示出提高的与C2C12细胞的结合。

[0253] 用于鉴定相对于其他细胞类型而对肌肉(例如,骨骼肌)具有选择性的肽的另一方法包括体外选择,这已在Ghosh D., et al., “Selection of muscle-binding peptides from context-specific peptide-presenting phage libraries for adenoviral vector targeting” *J Virol* 2005;79:13667-72中进行了描述;其全部内容通过引用并入本文。通过将随机的12聚体(12-mer)肽噬菌体展示文库与非肌细胞类型的混合物预孵育选择出了非特异性细胞结合物。在数轮选择之后,12个氨基酸的肽TARGEHKEELI (SEQ ID NO:189)最频繁地出现。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂包含氨基酸序列TARGEHKEELI (SEQ ID NO:189)。

[0254] 肌肉靶向剂可以是含氨基酸的分子或肽。肌肉靶向肽可对应于优先与肌细胞中发现的蛋白质受体结合的蛋白质序列。在一些实施方案中,肌肉靶向肽包含高倾向性的疏水性氨基酸,例如缬氨酸,使得该肽优先靶向肌细胞。在一些实施方案中,肌肉靶向肽是先前未表征或公开过的。可使用数种方法中的任一种(例如噬菌体展示肽文库、单珠单化合物肽文库或位置扫描合成肽组合文库)来构思、产生、合成和/或(例如,和)衍生这些肽。示例性方法已在本领域中表征并通过引用并入(Gray, B.P. and Brown, K.C. “Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides” *Chem Rev.* 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. “Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening.” *Muscle Nerve*, 1999, 22:4. 460-6.). 在一些实施方案中,先前已公开了肌肉靶向肽(参见,例如Writer M.J. et al. “Targeted gene delivery to human airway epithelial cells with synthetic vectors incorporating novel targeting peptides selected by phage display.” *J. Drug Targeting*. 2004;12:185; Cai, D. “BDNF-mediated enhancement of inflammation and injury in the aging heart.” *Physiol Genomics*. 2006, 24:3, 191-7.; Zhang, L. “Molecular profiling of heart endothelial cells.” *Circulation*, 2005, 112:11, 1601-11.; McGuire, M.J. et al. “In vitro selection of a peptide with high selectivity for cardiomyocytes in vivo.” *J Mol Biol.* 2004, 342:1, 171-82.). 示例性的肌肉靶向肽包含以下组的氨基酸序列:CQAQGQLVC (SEQ ID NO:201), CSERSMNFC (SEQ ID NO:202), CPKTRRVPC (SEQ ID NO:203), WLSEAGPVVTVRALRGTSW (SEQ ID NO:204), ASSLNIA (SEQ ID NO:130), CMQHSMRVC (SEQ ID NO:205), 和DDTRHWG (SEQ ID NO:206)。在一些实施方案中,肌肉靶向肽可包含约2至25个氨基酸、约2至20个氨基酸、约2至15个氨基酸、约2至10个氨基酸或约2至5个氨基酸。肌肉靶向肽可包含天然存在的氨基酸例如半胱氨酸、丙氨酸或者非天然存在或经修饰氨基酸。非天然存在的氨基酸包括 $\beta$ -氨基酸、高氨基酸(homo-amino acid)、脯氨酸衍生物、3-经取代的丙氨酸衍生物、线性核心氨基酸、N-甲基氨基酸和本领域中已知的其他氨基酸。在一些

实施方案中,肌肉靶向肽可以是线性的;在另一些实施方案中,肌肉靶向肽可以是环状的,例如双环的(参见,例如Silvana,M.G.et al.Mol.Therapy,2018,26:1,132-147.)。

[0255] iii.肌肉靶向受体配体

[0256] 肌肉靶向剂可以是配体,例如与受体蛋白结合的配体。肌肉靶向配体可以是蛋白质,例如与由肌细胞表达的内化细胞表面受体结合的转铁蛋白。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂是转铁蛋白或与转铁蛋白受体结合的转铁蛋白衍生物。肌肉靶向配体可替代地是小分子,例如相对于其他细胞类型而优先靶向肌细胞的亲脂性小分子。可靶向肌细胞的一些示例性亲脂性小分子包括包含以下的化合物:胆固醇、胆固醇基、硬脂酸、棕榈酸、油酸、油烯基、亚麻烯(linolen)、亚油酸、肉豆蔻酸、甾醇类、二氢睾酮、睾酮衍生物、甘油、烷基链、三苯甲基类和烷氧基酸。

[0257] iv.肌肉靶向适配体

[0258] 肌肉靶向剂可以是适配体,例如RNA适配体,其相对于其他细胞类型而优先靶向肌细胞。在一些实施方案中,肌肉靶向适配体是先前未表征或公开过的。可使用数种方法中的任一种(例如通过指数富集的配体的系统进化)来构思、产生、合成和/或(例如,和)衍生这些适配体。示例性方法已在本领域中表征并通过引用并入(Yan,A.C.and Levy,M.“Aptamers and aptamer targeted delivery” RNA biology,2009,6:3,316-20.;Germer,K.et al.“RNA aptamers and their therapeutic and diagnostic applications.” Int.J.Biochem.Mol.Biol.2013;4:27-40.)。在一些实施方案中,先前已公开了肌肉靶向适配体(参见,例如Phillippou,S.et al.“Selection and Identification of Skeletal-Muscle-Targeted RNA Aptamers.” Mol Ther Nucleic Acids.2018,10:199-214.;Thiel,W.H.et al.“Smooth Muscle Cell-targeted RNA Aptamer Inhibits Neointimal Formation.” Mol Ther.2016,24:4,779-87.)。示例性的肌肉靶向适配体包括A01B RNA适配体和RNA Apt 14。在一些实施方案中,适配体是基于核酸的适配体、寡核苷酸适配体或肽适配体。在一些实施方案中,适配体可以是约5kDa至15kDa、约5kDa至10kDa、约10kDa至15kDa、约1至5Da、约1至3kDa或更小。

[0259] v.其他肌肉靶向剂

[0260] 用于靶向肌细胞(例如,骨骼肌细胞)的一种策略是使用肌转运体蛋白(例如在肌膜上表达的转运体蛋白)的底物。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是对肌肉组织具有特异性的流入转运体的底物。在一些实施方案中,流入转运体对骨骼肌组织具有特异性。两类主要的转运体在骨骼肌肌膜上表达:(1)三磷酸腺苷(ATP)结合盒(ABC)超家族,其促进从骨骼肌组织流出和(2)溶质运载体(SLC)超家族,其可促进底物流入骨骼肌中。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是与转运体的ABC超家族或SLC超家族结合的底物。在一些实施方案中,与转运体的ABC或SLC超家族结合的底物是天然存在的底物。在一些实施方案中,与转运体的ABC或SLC超家族结合的底物是非天然存在的底物,例如,与转运体的ABC或SLC超家族结合的其合成衍生物。

[0261] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是本文中所述的靶向转运体的SLC超家族的任何肌肉靶向剂(例如,抗体、核酸、小分子、肽、适配体、脂质、糖部分)。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是转运体的SLC超家族的底物。SLC转运体是平衡型的,或者使用跨膜而产生的质子或钠离子梯度来驱动底物的转运。具有高骨骼肌表达的示例性SLC转运体包括但不限于

SATT转运体 (ASCT1;SLC1A4)、GLUT4转运体 (SLC2A4)、GLUT7转运体 (GLUT7;SLC2A7)、ATRC2转运体 (CAT-2;SLC7A2)、LAT3转运体 (KIAA0245;SLC7A6)、PHT1转运体 (PTR4;SLC15A4)、OATP-J转运体 (OATP5A1;SLC21A15)、OCT3转运体 (EMT;SLC22A3)、OCTN2转运体 (FLJ46769;SLC22A5)、ENT转运体 (ENT1;SLC29A1和ENT2;SLC29A2)、PAT2转运体 (SLC36A2)和SAT2转运体 (KIAA1382;SLC38A2)。这些转运体可促进底物流入骨骼肌中,为肌肉靶向提供机会。

[0262] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是平衡型核苷转运体2 (equilibrative nucleoside transporter 2,ENT2) 转运体的底物。相对于其他转运体,ENT2在骨骼肌中具有最高的mRNA表达之一。虽然人ENT2 (hENT2) 在大多数身体器官例如脑、心脏、胎盘、胸腺、胰腺、前列腺和肾中表达,但其在骨骼肌中特别丰富。人ENT2根据其浓度梯度促进其底物的吸收。ENT2通过转运广泛范围的嘌呤和嘧啶核苷碱基在维持核苷稳态中发挥作用。hENT2转运体对除肌苷之外的所有核苷(腺苷、鸟苷、尿苷、胸苷和胞苷) 均具有低的亲和力。因此,在一些实施方案中,肌肉靶向剂是ENT2底物。示例性的ENT2底物包括但不限于肌苷、2',3'-二脱氧肌苷和氯法拉滨 (calofarabine)。在一些实施方案中,本文中提供的任何肌肉靶向剂均与分子载荷(例如,寡核苷酸载荷) 缔合。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂与分子载荷非共价连接。

[0263] 在一些实施方案中,肌肉靶向剂是有机阳离子/肉碱转运体 (OCTN2) 的底物,所述有机阳离子/肉碱转运体是钠离子依赖性的高亲和力肉碱转运体。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是肉碱、米屈肼 (mildronate)、乙酰肉碱或与OCTN2结合的其任意衍生物。在一些实施方案中,肉碱、米屈肼、乙酰肉碱或其衍生物与分子载荷(例如,寡核苷酸载荷) 共价连接。

[0264] 肌肉靶向剂可以是蛋白质,该蛋白质是以靶向肌细胞的至少一种可溶性形式存在的蛋白质。在一些实施方案中,肌肉靶向蛋白可以是血幼素(也称为排斥性导向分子C或血色素沉着症2型蛋白),所述血幼素是参与铁超负荷和稳态的蛋白。在一些实施方案中,血幼素可以是全长或片段,或者与功能性血幼素蛋白具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的突变体。在一些实施方案中,血幼素突变体可以是可溶性片段,可缺乏N端信号传导,和/或(例如,和) 缺乏C端锚定结构域。在一些实施方案中,血幼素可以以GenBank RefSeq登录号NM\_001316767.1、NM\_145277.4、NM\_202004.3、NM\_213652.3或NM\_213653.3进行注释。应当理解,血幼素可以是人、非人灵长类或啮齿动物来源的。

[0265] B. 分子载荷

[0266] 本公开内容的一些方面提供了分子载荷,例如用于调节生物学结局(例如,DNA序列的转录、蛋白质的表达或蛋白质的活性) 的分子载荷。在一些实施方案中,分子载荷与分子载荷共价连接或以其他方式相关联。在一些实施方案中,这样的分子载荷能够靶向肌细胞,例如在通过相关联的肌肉靶向剂递送至肌细胞之后通过与肌细胞中的核酸或蛋白质特异性结合。应理解,根据本公开内容,可使用多种类型的肌肉靶向剂。例如,分子载荷可包含以下或由以下组成:寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸)、肽(例如,结合肌细胞中与疾病相关的核酸或蛋白质的肽)、蛋白质(例如,结合肌细胞中与疾病相关的核酸或蛋白质的蛋白质) 或小分子(例如,调节肌细胞中与疾病相关的核酸或蛋白质之功能的小分子)。在一些实施方案中,分子载荷是包含具有FXN(例如,GAA重复) 之互补区的链的寡核苷酸。本文中另外详细描述了示例性分子载荷,然而,应理解,本文中提供的示例性分子载荷并不意味着是限制性

的。

[0267] i. 寡核苷酸

[0268] 如本文中所述的,任何合适的寡核苷酸均可用作分子载荷。在一些实施方案中,寡核苷酸可被设计为引起mRNA的降解(例如,寡核苷酸可以是引起降解的间隔聚体、siRNA、核酶或适配体)。在一些实施方案中,寡核苷酸可被设计为阻断mRNA的翻译(例如,寡核苷酸可以是阻断翻译的混合聚体、siRNA或适配体)。在一些实施方案中,寡核苷酸可被设计为阻断包含扩增的GAA重复的FXN RNA与染色体DNA之间R-环的形成。在一些实施方案中,所述寡核苷酸与FXN RNA互补,并且所述寡核苷酸可用于通过阻断包含扩增的GAA重复的FXN RNA来提高功能性FXN的水平,例如,在患有或怀疑患有弗里德赖希共济失调的对象中。在一些实施方案中,寡核苷酸可被设计为引起mRNA的降解并阻断mRNA的翻译。在一些实施方案中,寡核苷酸可以是用于指导酶(例如,基因编辑酶)活性的指导核酸(例如,指导RNA)。本文中提供了寡核苷酸的其他实例。应理解,在一些实施方案中,可以通过将功能序列(例如,反义链序列)从一种格式并入另一种格式来使一种格式的寡核苷酸(例如,反义寡核苷酸)适当地适应于另一种格式(例如,siRNA寡核苷酸)。

[0269] 可用于靶向FXN和/或以其他方式补偿共济蛋白缺乏的寡核苷酸的实例提供在以下中:Li, L. et al. “Activating frataxin expression by repeat-targeted nucleic acids” Nat. Comm. 2016, 7:10606.; WO 2016/094374, 2016年6月16日公开, “Compositions and methods for treatment of Friedreich’s ataxia.”; WO 2015/020993, 2015年2月12日公开, “RNAi COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATMENT OF FRIEDREICH’S ATAXIA”; WO 2017/186815, 2017年11月2日公开, “Antisense oligonucleotides for enhanced expression of frataxin”; WO 2008/018795, 2008年2月14日公开, “Methods and means for treating DNA repeat instability associated genetic disorders”; 美国专利申请2018/0028557, 2018年2月1日公开, “Hybrid oligonucleotides and uses thereof”; WO 2015/023975, 2015年2月19日公开, “Compositions and methods for modulating RNA”; WO 2015/023939, 2015年2月19日公开, “Compositions and methods for modulating expression of frataxin”; 美国专利申请2017/0281643, 2017年10月5日公开, “Compounds and methods for modulating frataxin expression”; Li L. et al., “Activating frataxin expression by repeat-targeted nucleic acids” Nature Communications, 2016年2月4日公开; 以及Li L. et al. “Activation of Frataxin Protein Expression by Antisense Oligonucleotides Targeting the Mutant Expanded Repeat” Nucleic Acid Ther. 2018 Feb; 28(1): 23-33, 其各自的内容以其整体并入本文。

[0270] 在一些实施方案中,寡核苷酸载荷被配置成(例如,作为间隔聚体或RNAi寡核苷酸)用于抑制天然反义转录物的表达,所述转录物抑制FXN表达,例如如下公开的:美国专利No. 9,593,330, 2011年6月9日提交, “Treatment of frataxin (FXN) related diseases by inhibition of natural antisense transcript to FXN”, 其内容通过引用整体并入本文。

[0271] 用于促进FXN基因编辑的寡核苷酸的一些实例包括WO 2016/094845, 2016年6月16日公开, “Compositions and methods for editing nucleic acids in cells utilizing oligonucleotides”; WO 2015/089354, 2015年6月18日公开, “Compositions and methods

of use of CRISPR-Cas systems in nucleotide repeat disorders”;WO 2015/139139, 2015年9月24日公开,“CRISPR-based methods and products for increasing frataxin levels and uses thereof”;和WO 2018/002783,2018年1月4日公开,“Materials and methods for treatment of Friedreich’s ataxia and other related disorders”,其各自的内容以其整体并入本文。

[0272] 用于通过靶向非FXN基因(例如,FXN的表观遗传调节物)来促进FXN基因表达的寡核苷酸的实例包括WO 2015/023938,2015年2月19日公开,“Epigenetic regulators of frataxin”,其内容以其整体并入本文。

[0273] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有针对如下所示序列的互补区:来自人的FXN基因(基因ID 2395;NC\_000009.12)和/或来自小鼠的FXN基因(基因ID 14297;NC\_000085.6)。在一些实施方案中,寡核苷酸可具有与FXN的突变体形式互补的区域,例如如以下中报道的:例如Montermini,L.et al.“The Friedreich’s ataxia GAA triplet repeat: premutation and normal alleles.” Hum.Molec.Genet.,1997,6:1261-1266.;Filla,A.et al.“The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich’s ataxia.” Am.J.Hum.Genet.1996,59:554-560.; Pandolfo,M.Friedreich’s ataxia:the clinical picture.J.Neurol.2009,256,3-8.;其各自的内容通过引用以其整体并入本文。

[0274] 对应于基因ID 2395、NM\_000144.5的示例性人FXN基因核苷酸序列如下:

```
AGGGCGGAGCGGGCGGCAGACCCGGAGCAGCATGTGGACTCTCGGGCGCCGCGCAGTAGCCGGCCTC
CTGGCGTCACCCAGCCCAGCCCAGGCCAGACCCTACCCGGGTCCCGCGGCCGCGCAGAGTTGGCCC
CACTCTGCGGCCGCCGTGGCCTGCGCACCGACATCGATGCGACCTGCACGCCCCGCCGCGCAAGTTCG
AACCAACGTGGCCTCAACCAGATTTGGAATGTCAAAAAGCAGAGTGTCTATTTGATGAATTTGAGGA
AATCTGGAACCTTTGGGCCACCCAGGCTCTCTAGATGAGACCACCTATGAAAGACTAGCAGAGGAAAC
GCTGGACTCTTTAGCAGAGTTTTTTGAAGACCTTGCAGACAAGCCATACACGTTTGAGGACTATGATG
TCTCCTTTGGGAGTGGTGTCTTAAGTGTCAAAGTGGGTGGAGATCTAGGAACCTATGTGATCAACAAG
CAGACGCCAAACAAGCAAATCTGGCTATCTTCTCCATCCAGTGGACCTAAGCGTTATGACTGGACTGG
GAAAAAAGTGGGTGTACTCCACGACGGCGTGTCCCTCCATGAGCTGCTGGCCGCGAGAGCTCACTAAA
GCCTTAAAAACCAAACTGGACTTGTCTTCCTTGGCCTATTCGGAAAAGATGCTTGATGCCAGCCCC
GTTTTAAGGACATTAAAAGCTATCAGGCCAAGACCCAGCTTCATTATGCAGCTGAGGCTGTGTTTTT
GTTGTTGTTGTTGTTTATTTTTTTTATTCCTGCTTTTGAGGACAGTTGGGCTATGTGTCACAGCTCTGTA
GAAAGAATGTGTTGCCTCCTACCTTGCCCCCAAGTTCGTGATTTTAATTTCTATGGAAGATTTTTTGGA
TTGTCGGATTTCTCCCTCACATGATACCCCTTATCTTTTATAATGTCTTATGCCTATACCTGAATATAA
CAACCTTTAAAAAAGCAAAATAATAAGAAGGAAAAAATTCAGGAGGGAAAAATGAATTGTCTTCACTC
TTCATTCTTTGAAGGATTTACTGCAAGAAGTACATGAAGAGCAGCTGGTCAACCTGCTCACTGTTCTA
TCTCCAAATGAGACACATTAAAGGGTAGCCTACAAATGTTTTTCAGGCTTCTTTCAAAGTGTAAGCACT
TCTGAGCTCTTTAGCAATTGAAGTGTGCAAGCAACTCACACGGGAAGATCATTTCTTATTTGTGCTCTG
TGACTGCCAAGGTGTGGCCTGCACTGGGTTGTCCAGGGAGACCTAGTGCTGTTTCTCCACATATTCA
CATACGTGTCTGTGTGTATATATATTTTTTCAATTTAAAGGTTAGTATGGAATCAGCTGCTACAAGAAT
GCAAAAAATCTTCCAAAGACAAGAAAAAGAGGAAAAAAGCCGTTTTTCATGAGCTGAGTGATGTAGCG
TAACAAACAAAATCATGGAGCTGAGGAGGTGCCTTGTAACATGAAGGGGCAGATAAAGGAAGGAG
ATACTCATGTTGATAAAGAGAGCCCTGGTCCTAGACATAGTTCAGCCACAAAGTAGTTGTCCCTTTGT
```

[0275]

[0276]

GGACAAGTTTCCCAAATTCCTGGACCTCTGCTTCCCATCTGTAAATGAGAGAATAGAGTATGGTT  
GATTTCCAGCATTTCAGTGGTCCTGTCAAGCAACCTAACAGGCTAGTTCTAATTCCCTATTGGGTAGAT  
GAGGGGATGACAAAGAACAGTTTTTAAGCTATATAGGAAACATTGTTATTGGTGTGGCCCTATCGTGA  
TTTCAGTTGAATTCATGTGAAAATAATAGCCATCCTTGGCCTGGCGCGGTGGCTCACACCTGTAATCC  
CAGCACTTTTGGAGGCCAAGGTGGGTGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAAC  
ATGATGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCATGATGGCAGGTGCCTGTAAT  
CCCAGCTACTTGGGAGGCTGAAGCGGAAGAATCGCTTGAACCCAGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCG  
AGATCGTGCCATTGCACTGTAACCTGGGTGACTGAGCAAACTCTGTCTCAAAATAATAATAACAATA  
TAATAATAATAATAGCCATCCTTTATTGTACCCTTACTGGGTAAATCGTATTATACCACATTACCTCAT  
TTTAATTTTTACTGACCTGCACCTTATACAAAGCAACAAGCCTCCAGGACATTAAAATTCATGCAAAG  
TTATGCTCATGTTATATTATTTCTTACTTAAAGAAGGATTTATTAGTGGCTGGGCATGGTGGCGTGCA  
CCTGTAATCCCAGGTACTCAGGAGGCTGAGACGGGAGAATTGCTTGACCCAGGCGGAGGAGGTTAC  
AGTGAGTCGAGATCGTACCTGAGCGACAGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAGGAGGGT  
TTATTAATGAGAAGTTTGTATTAATATGTAGCAAAGGCTTTTCCAATGGGTGAATAAAAAACACATTCC  
ATTAAGTCAAGCTGGGAGCAGTGGCATATACCTATAGTCCCAGCTGCACAGGAGGCTGAGACAGGAG  
GATTGCTTGAAGCCAGGAATTGGAGATCAGCCTGGGCAACACAGCAAGATCCTATCTCTTAAAAAAA  
GAAAAAAAAACCTATTAATAATAAACAGTATAAACAAAAGCTAAATAGGTAAAAATTTTTTCTGA  
AATAAAATTATTTTTGAGTCTGATGGAATGTTTAAAGTGCAGTAGGCCAGTGCCAGTGAGAAAATAA  
ATAACATCATACATGTTTGTATGTGTTGCATCTTGCTTCTACTGAAAGTTTCAGTGCACCCCACTTAC  
TTAGAACTCGGTGACATGATGTACTCCTTATCTGGGACACAGCACAAAAGAGGTATGCAGTGGGGCT  
GCTCTGACATGAAAGTGGAAGTTAAGGAATCTGGGCTCTTATGGGGTCCTTGTGGGCCAGCCCTTCAG  
GCCTATTTTACTTTTACATTTACATATAGCTCTAATTTGGTTTGATTATCTCGTTCCCAAGGCAGTGGGAG  
ATCCCCATTTAAGGAAAGAAAAGGGGCTGGCACAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGG  
AGGCTGAGGCAAGTGTATCACCTGAGGTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAATCC  
CGTCTCTACTAAAAATATTAAAAAATTTGGCTGGGCGTGGTGGTTCGTGCCTATAATTTTCAGCTACTCA  
GGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTGTAACCTGGGGGGTGGAGGTTGCAGTGAGACGAGATCATGCCA  
CTTCACTCCAGCCTGGCCAACAGAGCCATACTCCGTCTCAAATAAATAAATAAATAAATAAAGGGACT  
TCAAACACATGAACAGCAGCCAGGGGAAGAATCAAATCATATTCTGTCAAGCAAACTGGAAAAGTA  
CCACTGTGTGTACCAATAGCCTCCCCACCACAGACCTGGGAGCATCGCCTCATTTATGGTGTGGTCC  
AGTCATCCATGTGAAGGATGAGTTTCCAGGAAAAGGTTATTAAATATTCAGTGAACATACTGGAGGA  
GGTGAGGAATTGCATAATACAATCTTAGAAAACTTTTTTTTCCCCCTTTCTATTTTTTGAGACAGGATCT  
CACTTTGGCACTCAGGCTGGAGGACAGTGGTACAATCAAAGCTCATGGCAGCCTCGACCTCCCTGGGC  
TTGGGCAATCCTCCACAGGTGTGCACCTCCATAGCTGGCTAATTTGTGTATTTTTGTAGAGATGGGG  
TTTACCATGTTGCCCAGGCTGGTCTTAACACTTAGGCTCAAGTGATCCACCTGCCTCGTCTCCCAA  
GATGCTGGGATTACAGGTGTGTGCCACAGGTGTTTCATCAGAAAGCTTTTTCTATTATTTTACCTTCTT  
GAGTGGGTAGAACCTCAGCCACATAGAAAATAAAATGTTCTGGCATGACTTATTTAGCTCTCTGGAAT  
TACAAAGAAGGAATGAGGTGTGTAAAAGAGAACCTGGGTTTTTGAATCACAAATTTAGAATTTAATC  
GAAACTCTGCCTCTTACTTGTGTGTAGACACTGACAGTGGCCTCATGTTTTTTTTTTTTTAATCTATAA  
AATGGAGATATCTAACATGTTGAGCCTGGGCCCACAGGCAAGCACAAATCCTGATGTGAGAAGTACT  
CAGTTCATGACAACTGTTGTTCTCACATGCATAGCATAATTTTCATATTCACATTGGAGGACTTCTCCCA  
AAATATGGATGACGTTCCCTACTCAACCTTGAACCTAATCAAATACTCAGTTTACTTAACTTCGTATT  
AGATTCTGATTCCTGGAACCATTTATCGTGTGCCTTACCATGCTTATATTTTACTTGATCTTTTGCATA

[0277]

CCTTCTAAAAC TATTTTAGCCAATTTAAATTTGACAGTTTGCATTAAATTATAGGTTTACAATATGCT  
TTATCCAGCTATACCTGCCCCAAATTCTGACAGATGCTTTTGCCACCTCTAAAGGAAGACCCATGTTCA  
TAGTGATGGAGTTTGTGTGGACTAACCATGCAAGGTTGCCAAGGAAAAATCGCTTTACGCTTCCAAGG  
TACACACTAAGATGAAAGTAATTTTAGTCCGTGTCCAGTTGGATTCTTGGCACATAGTTATCTTCTGCT  
AGAACAACTAAAAACAGCTACATGCCAGCAAGGGAGAAAAGGGGAAGGAGGGGCAAAGTTTTGAAAT  
TTCATGTAAATTTATGCTGTTCAAAACGACGAGTTCATGACTTTGTGTATAGAGTAAGAAATGCCTTTT  
CTTTTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACGATCTGGGCTCACTAC  
AACCTCCGCCTCTCGGGTTCAAGCAATTCTCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGTGCC  
TGCCACCACACCCGGCTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCATCATGGCCAGGCTGGT  
CTTGAACCTCTGACCTAGTAATCCACCTGCCTCCGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCC  
ACTGCACCCAGCCAGAAATGCCTTCTAATCTTTGGTTTATCTTAATTAGCCAGGACACTTGAGTGCAT  
CCCGAAGTACCTGATCAGTGGCCCCCTTGGAATGTGTAAAACTCAGCTCACTTATATCCCTGCATCCG  
CTACAGAGACAGAATCCAAGCTCATATGTTCCATCTTCTCTGGCTGTATAGTTTAAGGAATGGAAGGC  
ACCAGAACAGATTTATTGAAATGTTTATTAGCTGAAGATTTATTTAGACAGTTGAGGAAAACATCAGC  
ACCCAGCAGTAAAATTGGCTCTCAAAGATTTTCTTCTCCTGTGGAAAGTCAGACCTCTGAGGCCCCAT  
CCAGGTAGAAGTACTAGTGCAAGAAGGGCCTCTGCTGTCCACTTGTGTTTCTGTGATCTGTGGGAACA  
TTGTTAACGCCACATCTTGACCTCAAATTGTTTAGCTCCTGGCCAGACACGGTGGCTCACACCTGTAAT  
CCCAGCACTTTGAGAGGCTGAGGCAGGTGGATCACCTGAGGTTAGGAGTTCGAGGCCAGCCTGGTCA  
ACATGGTAAAACCCCGCCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTGGCCGTAGTGGCGCACGCCTGTTAT  
CCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAACCTGGGTGGTGGAGGTTGCAGTGAGCC  
GAGATTACACCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAAGAGGGAACTCCATTAAAAAAATGTAAATTCCC  
GTGTCTGCCATCTTAAGTGTAAGGTGGCTAAATTATATAGAAAAATAAGACAATATCATTTCCCAAT  
TACATTCCTTTCCTACCGCACTCTATGATGCTAGCTGAGATTTTTCCAAAAGAAAAATGGCTTAAATAAA  
ACCCTAAGAGAAAAGAAAACTTTAAATCCCTCCAAAGCTCAAAGTAATAGAAACAGATGAGTTTGG  
AGTCAGGATTTCTCTGTAAGATTGCCTAGGCTGTGTACTGCACATCTCCAGGTGCCACTGTTGACAGA  
GATTATACTACAATGTGAAGTGAATGGTGCCACTGACAGTTATGCAAACCGTCCAGAGCATAGCCA  
CCTGATCTCTGCTGGGATTCTCTTGCCAGTCCATCAGCAGTTCCCTTGAAAAGTTTACCAAACATCCC  
TTAAATCTGCCCTCTCCTGCCCCTCCCCAGTGGAGGTCCTCATCATTTTTACCTGCATTTTGCAGGA  
GCTTTCTTATATCCACCTTCCTCTTTCTCTCAGCCATCATCTAGCTACACAGTCTCCAGGGTAAGCT  
TTCAGAAAGGCAATCTCTTGCTGTGTAACCTAAGCAGGACCAAGGCCAAGTTTCTTAGCCTGAAAAA  
TGTGCTTTTCTGACTGAACTGTTTCAAGGCACTGACTCTACATATAATTATGCTTTTCTACCCCTCACACT  
CAACACTTTGACTCCAGCAATCCCCAAATCCCCAGATCCCTAAGTGTGCTGTGCTATTTTCACGTGGCTC  
TCAGACTTGCCAGTGCTGTTTCCATTTTGGTCTTTATTCCCCACATCTCTGCCTGGGGGGTAGATTCT  
ACCTGAAAAATGTTCTTGGCACAGCCTTGCAAACCTCCTCCTCCACTCAGCCTCTGCCTGGATGCCCTT  
GATTGTTCCATGTCCTCAGCATAACCATGTTTGTCTTTCCAGCACTGACCTACCATGTGTACCCCTGC  
TTGGCTGTACCTTCCATGAGGCTAGGACTATGTGTCTCCTTTGTTGACTGCTGTTGCCCTAGCATCTTG  
CACAGTTCCTTGACACAATTAGAGCTCTATAAATGTCAAATAAATGTGTTATAATTATATGTTTAAAG  
ATAGTTGTTCAAATAAACTCTAAATAACCCCAA (SEQ ID NO: 160)

[0278] 对应于基因ID 2395、NM\_008044.3的示例性小鼠FXN基因核苷酸序列如下：

[0279]

GGAGCGGCCGCGGAGCTGGAGTAGCATGTGGGCGTTTCGGAGGTCGCGCAGCCGTGGGCTTGCTGCCC  
CGGACGGCGTCCCGGGCCTCCGCTGGGTTCGGGAACCCGCGCTGGAGGGAACCGATCGTAACCTGCG  
GCCGCCGAGGCTACATGTCACAGTCAACGCCGGCGCCACCCGCCACGCCCATTGTAACCTCCACTAC  
CTCCAGATTCTGAACATCAAAAAGCAGAGCGTCTGCGTGGTGCAATTGAGGAACTTGGGGACATTGG  
ACAACCCAAGCTCTCTAGACGAGACAGCGTATGAAAGACTGGCGGAAGAGACCTGGACTCCCTGGC  
CGAGTTCTTTGAAGACCTCGCAGACAAGCCCTATACCTGGAGGACTACGATGTCTCTTTGGGGATG  
GCGTGCTCACCATTAAAGCTGGGCGGGGATCTAGGGACCTACGTGATCAACAAGCAGACCCCAAACAA  
GCAAACTCTGGCTGTCTTCTCCTTCCAGCGGCCCAAGCGCTATGACTGGACCGGAAGAACTGGGTGT  
ACTCTCATGACGGCGTGTCTCTGCATGAGCTGCTGGCCAGGGAGCTGACTAAAGCTTTAAACACCAAA  
CTGGACTTGTCTTCATTGGCCTATTCTGGAAAAAGGCACTTGACTGCCAGCCAGATTCCAAGACATTAA  
ACACTGTACAGGTGAAGACCCCGAGCTCCTCCTGTAGCTGAATGTCTGCCCTCCCATACCTGCTCCTGA  
AGATAGTCACACCGTGTGTGACAGCTCTGTGAAAAAAGTGTGTTCCCTCCCACCTGTCCCGGACCT  
GGCTCTTCATTTCTACAGACATTTGTTAGGATTATGTCAATTGCTCCCAACCTGAGACCTCTGGTCTC  
TTAGAAAGTCTTATATGCTGGGCAGTGGTGGCGCACGCCTTAATCCCAGCACTCGGGAGGCAGAGGC  
AGGCGGATTTCTGAGTTCGAGGCCAGCCTGGTCTACAGAGTGAGTTCAGGACAGCCAGGACTACAC  
AGAGAAACCCGTGCTCGAAAAAAGAAAGAAAGAAAGTCTTACACCACAAGTGTG  
TCCATGATATAACAGCCTCAAAATGTCTTACACTGTGTGTGCTAATAACCTACACCATGTGTGCTAAT  
AACCTCCTGAAAAGGAAAAAGGCTCAGAGGGAGACATGAGTCGTTCCACTCTTCCATTGTCTCTGAA  
AAGATACTCTAAAAGTAACCTCTAAATGTACCCAAGACTCCAAGTATGTACACTTCTGAGTCTGAGC  
AGCAAAGAGTCAAAAGAAACCATCTTAAATGCCCTTTCGTGCTTTGTACCTACACTCGGTACCCAG  
GACCTGGTGTCTATTAACCTGTGCCTTCATAGTGGGGGTCAATTTACACAGTTGGCAGCTACGACATGG  
ACCTGAGATGTCTGAAAATTTGAAAATTGAGCTGGGCATGGTGGGGCATGCCTTTAATCCCAGCAAT  
CAGGTGGCAGAGGCATGCAGATATCTCGGTGAGTTTGAGGCCAGCCTGGTCTATAAATCCAGGAGAG  
TCAGGCCAATTACACAGAGAAACCCGTGCTAAGGAAAAATACGAAGAAAATTTGAGCTGGAGAGATCA  
CTTAGTCCACACAAGCATGAAGACTCAAGTTTGATCCTAGGCGTCCACGTTTAAAGCCCAGGCATATT  
CTTCACTCGGAAAGTGGAGATGAGGGGCTTGACGCCTCAGCAGTAAGCCTGGGGTCTCTGAGAAACA  
CTATTTCAAAGAAGGAAACTTGCCCTGGCTTCAGTTGACCTGTCTTACACATATGTGCACATGCACTAG  
TATAGACATAAATCATGCACACAAATTCACACATGTTAAATAAATGCAGAAATAACTACAGGCAAGGA  
GGACAGACAAAAATCCCTACCATAAACCAAAGAACTAAACAGTGTGATGGAGCCGAGGTCTCGGTTA  
TCCATGAGAGAGATGTCTGTACTGGTACAGAGAGCCCGGCCCTTCATTTCCAATCTACTCAGGGAGAG  
GGTAGAATATAGCTGATACCTGACATCCAGTGGAGTGGACCTATCAGGCCATCCACAAAGCTCTCCTT  
GTTCCCACTGGGTAGGTGGAAGAAATGGTATTGTTCTTGCTACTGCTCTGTAGAAATTCAGATGAATT  
CCTAGGGAGCTAGCAGCTGCCCCTTGCTCTCTGCTGAATCCGGAGCACCATTGCCCTGCCTTAAAGT  
GTGACAGGCTGCGCTTTGTACTGGAAGCAACACAGCTCCAGAACACCCACACGGAGCAACTCTAAAC  
TCGGGTTTGTTCGGGTCAGTTCGTTTCTAACTGAAGGAAAATTGAGAGCAGGGACTCTAGCCCAGT  
GTGAAGGCTTGCTAGCATGCAGAAGGGCCCTAAAGTTCCATCCCCACACTACAAAGGGCTGAGAGA  
TTTGTCACTGACAACCTTTATGCAAATGCCAGCAGAGGCTATGCAGGGTGAAGTGAACACATTACAT  
CATAGACAAAACAATGGAACAGTGTAAACAGGCTAAGTGACTATTTAAGATATTTCTTCTTCAAT  
TTTTTTTTTAGTCTGGTGGAAATTTTGTAGTGGTGTAAAGTCGGTGCTAGAGAGATAATAAATAGGACC  
ATGTGTGGACATGCCTATGGGTGTCCCTTTGTCTTCTTATGAAAGACACACACACACCCACACCCCG  
CTTGACCTTATCAGACCTTCAGAAATGTGCACAGGGCGCGTTCTGAATGTGTATGGACGTTAGGGAGT  
CAGATGTTATGGGCTCCTCCTGGACCAAGTTTTTGGACTTCTTAACCTTCACTTTATGTATTTCTTGACT

GGGTTTCAAGGCAGCCTCGATCACACTTAAGAGAGAGTATGAACACTGTGTTGTGTGAGTCAAGTCAT  
TCTGAACTCCAGGCATGGGGATGCTCTTCTGTAGTCTTGGCACTTTGAACTCCAAGGCTCAAAGGTAA  
AAGAAGGATGGAAGTTTGGACTTGA (SEQ ID NO: 161)

[0280]

a. 寡核苷酸大小/序列

[0281]

寡核苷酸可具有多种不同的长度,例如,取决于格式。在一些实施方案中,寡核苷

酸的长度为7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、75或更多个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸的长度为8至50个核苷酸、长度为8至40个核苷酸、长度为8至30个核苷酸、长度为10至15个核苷酸、长度为10至20个核苷酸、长度为15至25个核苷酸、长度为21至23个核苷酸、长度为20至25个核苷酸等。

[0282] 在一些实施方案中,当用于本公开内容目的的寡核苷酸的核酸序列可与靶核酸特异性杂交时,其与靶核酸“互补”。在一些实施方案中,与靶核酸(例如,mRNA或前体mRNA分子)杂交的寡核苷酸导致靶标的活性或表达的调节(例如,mRNA翻译降低、前体mRNA剪接改变、外显子跳读、靶mRNA降解等)。在一些实施方案中,寡核苷酸的核酸序列与其靶核酸具有足够程度的互补性,使得其在需要避免非特异性结合的条件下,例如在生理条件下,不与非靶序列杂交。因此,在一些实施方案中,寡核苷酸可与靶核酸的连续核苷酸至少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100%互补。在一些实施方案中,互补核苷酸序列不需要与其靶标100%互补来与靶核酸可特异性地杂交或对靶核酸具有特异性。在某些实施方案中,寡核苷酸包含一个或更多个相对于靶核酸错配的核碱基。在某些实施方案中,与靶标相关的活性因这样的错配而降低,但与非靶标相关的活性降低的量更大(即,对靶核酸的选择性提高并且脱靶效应降低)。

[0283] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含核苷酸序列,所述核苷酸序列包含与靶区域互补的区域,所述靶区域包含SEQ ID NO:160或SEQ ID NO:161中的至少10个连续核苷酸(例如,至少10个、至少12个、至少14个、至少16个、至少18个、至少20个或更多个连续核苷酸)。在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含含有靶区域之互补区的核苷酸序列,所述靶区域包含GAA三核苷酸重复。在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含含有扩增的GAA三核苷酸重复之互补区的核苷酸序列。在一些实施方案中,互补区与靶核酸的至少8个连续核苷酸互补。在一些实施方案中,与靶核酸的连续核苷酸部分相比,寡核苷酸可包含1、2或3个碱基错配。在一些实施方案中,寡核苷酸在15个碱基上可具有至多3个错配,或在10个碱基上具有至多2个错配。

[0284] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:165至176中任一者的序列的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:165至176中任一者的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:165至176中任一者的至少12个或至少15个连续核苷酸共享至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或97%序列同一性的序列。

[0285] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含SEQ ID NO:162至164中任一者所示的核苷酸序列的互补区。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:162至164中任一者所示的核苷酸序列互补的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸(例如,连续核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:162至164中任一者的至少12个或至少15个连续核苷酸具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%互补性的序列。

[0286] 在一些实施方案中,寡核苷酸与本文中提供的任一种寡核苷酸(例如,表8中列出的寡核苷酸)的靶序列互补(例如,至少85%、至少90%、至少95%或100%互补)。在一些实施方案中,这样的靶序列与表8中列出的寡核苷酸100%互补。

[0287] 在一些实施方案中,应理解在C5位处核碱基尿嘧啶的甲基化形成胸腺嘧啶。因此,

在一些实施方案中,具有C5甲基化尿嘧啶(或5-甲基-尿嘧啶)的核苷酸或核苷可以等同地鉴定为胸腺嘧啶核苷酸或核苷。

[0288] 在一些实施方案中,本文中提供的任一种寡核苷酸(例如,表8列出的寡核苷酸)中的任意一个或更多个胸腺嘧啶碱基(T)可任选地是尿嘧啶碱基(U),和/或者任意一个或更多个U可任选地是T。

#### [0289] b. 寡核苷酸修饰

[0290] 本文中所述的寡核苷酸可被修饰,例如,包含经修饰糖部分、经修饰核苷间键联、经修饰核苷酸或核苷和/或者(例如,和)其组合。另外,在一些实施方案中,寡核苷酸可表现出以下特性中的一种或更多种:不介导选择性剪接;不是免疫刺激性的;具有核酸酶抗性;与未经修饰寡核苷酸相比具有提高的细胞摄取;对细胞或哺乳动物无毒;提高了在细胞中内部排出内体;使TLR刺激最小化;或避免模式识别受体。本文中所述的寡核苷酸的任何经修饰的化学组成(chemistry)或形式可彼此组合。例如,同一寡核苷酸内可包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种不同类型的修饰。

[0291] 在一些实施方案中,可使用某些核苷酸或核苷修饰,所述核苷酸修饰使并入它们的寡核苷酸比天然寡脱氧核苷酸或寡核糖核苷酸分子对核酸酶消化更具抗性;这些经修饰寡核苷酸比未经修饰寡核苷酸完整存活更长的时间。经修饰寡核苷酸的一些具体实例包括含有经修饰的主链(backbone)的那些,例如经修饰核苷间键联,例如硫代磷酸酯键联、磷酸三酯键联、甲基膦酸酯键联、短链烷基键联或环烷基糖间键联或短链杂原子键联或杂环糖间键联。因此,本公开内容的寡核苷酸可例如通过并入修饰例如核苷酸或核苷修饰而稳定化以抵抗溶核降解。

[0292] 在一些实施方案中,寡核苷酸的长度可以是多至50个或多至100个核苷酸,其中寡核苷酸的2至10、2至15、2至16、2至17、2至18、2至19、2至20、2至25、2至30、2至40、2至45或更多个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。寡核苷酸的长度可以是8至30个核苷酸,其中寡核苷酸的2至10、2至15、2至16、2至17、2至18、2至19、2至20、2至25、2至30个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。寡核苷酸的长度可以是8至15个核苷酸,其中寡核苷酸的2至4、2至5、2至6、2至7、2至8、2至9、2至10、2至11、2至12、2至13、2至14个核苷酸或核苷是经修饰核苷酸/核苷。任选地,寡核苷酸可具有除1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个经修饰核苷酸/核苷之外的每个核苷酸或核苷。寡核苷酸修饰在本文中进一步描述。

#### [0293] c. 经修饰核苷

[0294] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含在糖的2'位置处经修饰的至少一个核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,寡核苷酸中的所有核苷均是2'-经修饰核苷。

[0295] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含一个或更多个非双环2'-经修饰核苷,例如2'-脱氧、2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)或2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA)修饰的核苷。

[0296] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含一个或更多个2'-4'双环核苷,其中核糖环包含连接环中的两个原子的桥联部分,例如,通过亚甲基(LNA)桥联、亚乙基(ENA)

桥联或(S)-约束性乙基(cEt)桥联将2'-O原子与4'-C原子连接。LNA的一些实例描述于国际专利申请公开W0/2008/043753中,其于2008年4月17日公开,并且标题为“RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9”,其内容通过引用整体并入本文。ENA的一些实例在以下中提供:国际专利公开No.WO 2005/042777,其于2005年5月12日公开,并且标题为“APP/ENA Antisense”;Morita et al.,Nucleic Acid Res.,增刊1:241-242,2001;Surono et al.,Hum.Gene Ther.,15:749-757,2004;Koizumi,Curr.Opin.Mol.Ther.,8:144-149,2006以及Horie et al.,NucleicAcids Symp.Ser(Oxf),49:171-172,2005;其公开内容通过引用整体并入本文。cEt的一些实例在以下中提供:美国专利7,101,993、7,399,845和7,569,686,其各自通过引用整体并入本文。

[0297] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含在以下美国专利或专利申请公开之一中公开的经修饰核苷:美国专利7,399,845,其于2008年7月15日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,741,457,其于2010年6月22日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利8,022,193,其于2011年9月20日授权,并且标题为“6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,569,686,其于2009年8月4日授权,并且标题为“Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs”;美国专利7,335,765,其于2008年2月26日授权,并且标题为“Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues”;美国专利7,314,923,其于2008年1月1日授权,并且标题为“Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues”;美国专利7,816,333,其于2010年10月19日授权,并且标题为“Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same”和美国公开号2011/0009471,现在为美国专利8,957,201,其于2015年2月17日授权,并且标题为“Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same”,其各自的全部内容出于所有目的通过引用并入本文。

[0298] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个经修饰核苷,其导致所述寡核苷酸与不具有至少一个经修饰核苷的寡核苷酸相比,T<sub>m</sub>提高1°C、2°C、3°C、4°C或5°C。寡核苷酸可具有多个经修饰核苷,其导致所述寡核苷酸与不具有经修饰核苷的寡核苷酸相比,T<sub>m</sub>总体提高2°C、3°C、4°C、5°C、6°C、7°C、8°C、9°C、10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C或更高。

[0299] 寡核苷酸可包含不同种类的核苷的混合物。例如,寡核苷酸可包含2'-脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-氟修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含2'-氟修饰核苷和2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含桥接的核苷和2'-氟或2'-O-甲基修饰核苷酸的混合物。寡核苷酸可包含非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-O-MOE)和2'-4'-双环核苷(例如,LNA、ENA、cEt)的混合物。寡核苷酸可包含2'-氟修饰核苷和2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含2'-4'双环核苷和2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me修饰核苷的混合物。寡核苷酸可包含非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如,LNA、ENA、cEt)的混合物。

[0300] 寡核苷酸可包含不同种类的替代核苷。例如,寡核苷酸可包含替代的2'-脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-氟修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的脱氧核糖核苷或核糖核苷和2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的2'-氟修饰核苷和2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包

含替代的桥联核苷和2'-氟或2'-O-甲基修饰的核苷酸。寡核苷酸可包含替代的非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-O-MOE)和2'-4'-双环核苷(例如,LNA、ENA、cEt)。寡核苷酸可包含替代的2'-4'双环核苷和2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me修饰核苷。寡核苷酸可包含替代的非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE、2'-氟或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如,LNA、ENA、cEt)。

[0301] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸包含5'-乙烯基磷酸酯修饰、一个或更多个无碱基残基和/或一个或更多个倒置无碱基残基。

[0302] d. 核苷间键联/主链

[0303] 在一些实施方案中,寡核苷酸可包含硫代磷酸酯键联或其他经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸在至少两个核苷之间包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸在所有核苷之间均包含硫代磷酸酯核苷间键联。例如,在一些实施方案中,寡核苷酸在核苷酸序列的5'或3'末端的第一、第二和/或(例如,和)第三核苷间键联处包含经修饰核苷间键联。

[0304] 可使用的含磷的键联包括但不限于:硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基磷酸酯和包含3'亚烷基磷酸酯的其他烷基磷酸酯、以及手性磷酸酯、次磷酸酯、包含3'-氨基磷酰胺酯和氨基烷基磷酰胺酯的磷酰胺酯、硫羰基磷酰胺酯、硫羰基烷基磷酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯和具有正常3'-5'键联的硼烷磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物、以及其中相邻的核苷单元对连接在3'-5'到5'-3'或2'-5'到5'-2'的具有相反极性的那些;参见美国专利no:3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,196;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,306;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;和5,625,050。

[0305] 在一些实施方案中,寡核苷酸可具有杂原子主链,例如亚甲基(甲基亚氨基)或MMI主链;酰胺主链(参见De Mesmaeker et al. *Ace. Chem. Res.* 1995, 28:366-374);吗啉代主链(参见Summerton and Weller, 美国专利No. 5,034,506);或肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)主链(其中寡核苷酸的磷酸二酯主链被聚酰胺主链替换,核苷酸与聚酰胺主链的氮杂氮原子直接或间接结合,参见Nielsen et al., *Science* 1991, 254, 1497)。

[0306] e. 立体特异性寡核苷酸

[0307] 在一些实施方案中,寡核苷酸的核苷酸间磷原子是手性的,并且基于手性磷原子的构型调节寡核苷酸的特性。在一些实施方案中,可使用适当方法来以立体控制的方式合成P-手性寡核苷酸类似物(例如,如Oka N, Wada T, *Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms. Chem Soc Rev.* 2011 Dec; 40(12):5829-43中所述)。在一些实施方案中,提供了含硫代磷酸酯的寡核苷酸,其包含通过基本上所有的Sp或基本上所有的Rp硫代磷酸酯糖间键联连接在一起的核苷单元。在一些实施方案中,具有基本上手性纯糖间键联的这样的硫代磷酸酯寡核苷酸通过酶或化学合成制备,如例如于1996年12月12日授权的美国专利5,587,261中所述,其内容通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,手性控制的寡核苷酸提供了靶核酸的选择性切割模式。例如,在一些实施方案中,手性控制的寡核苷酸在核酸的互补序列内提供了单个位点切割,如例如美国专利申请公开20170037399A1中所述,其于2017年2月2日公开,标题为“CHIRAL DESIGN”,其内容通过引用整体并入本文。

[0308] f. 间隔聚体

[0309] 在一些实施方案中,本文中所述的寡核苷酸是间隔聚体。间隔聚体寡核苷酸通常具有式5'-X-Y-Z-3',其中X和Z作为围绕间隔区Y的侧翼区。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的侧翼区X也称为X区、侧翼序列X、5'翼区X或5'翼区段。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的侧翼区Z也称为Z区、侧翼序列Z、3'翼区Z或3'翼区段。在一些实施方案中,式5'-X-Y-Z-3'的间隔区Y也称为Y区、Y区段或间隔区段Y。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷,并且5'翼区X或3'翼区Z均不包含任何2'-脱氧核糖核苷。

[0310] 在一些实施方案中,Y区是核苷酸的连续延伸,例如,6个或更多个DNA核苷酸的区域,其能够募集RNA酶(例如RNA酶H)。在一些实施方案中,间隔聚体与靶核酸结合,在该点处RNA酶被募集并随后可切割靶核酸。在一些实施方案中,Y区5'和3'二者的侧翼是包含高亲和力经修饰核苷,例如1至6个高亲和力经修饰核苷的X和Z区。高亲和力经修饰核苷的一些实例包括但不限于2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE、2'-O-Me、2'-F)或2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt、ENA)。在一些实施方案中,侧翼序列X和Z的长度可以是1至20个核苷酸、1至8个核苷酸或1至5个核苷酸。侧翼序列X和Z可具有相似长度或不同长度。在一些实施方案中,间隔区段Y可以是长度为5至20个核苷酸、5至15个十二核苷酸或6至10个核苷酸的核苷酸序列。

[0311] 在一些实施方案中,除DNA核苷酸之外,间隔聚体寡核苷酸的间隔区可包含已知可被接受用于高效的RNA酶H作用的经修饰核苷酸,例如C4'-取代的核苷酸、无环核苷酸和阿拉伯糖(arabino)构型的核苷酸。在一些实施方案中,间隔区包含一个或更多个未经修饰的核苷间。在一些实施方案中,一个或两个侧翼区在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。在一些实施方案中,间隔区和两个侧翼区在至少两个、至少三个、至少四个、至少五个或更多个核苷酸之间各自独立地包含经修饰核苷间键联(例如,硫代磷酸酯核苷间键联或其他键联)。

[0312] 可使用适当的方法产生间隔聚体。教导制备间隔聚体的代表性美国专利、美国专利出版物和PCT出版物包括但不限于:美国专利No.5,013,830;5,149,797;5,220,007;5,256,775;5,366,878;5,403,711;5,491,133;5,565,350;5,623,065;5,652,355;5,652,356;5,700,922;5,898,031;7,015,315;7,101,993;7,399,845;7,432,250;7,569,686;7,683,036;7,750,131;8,580,756;9,045,754;9,428,534;9,695,418;10,017,764;10,260,069;9,428,534;8,580,756;

[0313] 美国专利公开No.US20050074801,US20090221685;US20090286969,US20100197762,和US20110112170;PCT公开No.WO2004069991;WO2005023825;WO2008049085和WO2009090182;以及EP专利No.EP2,149,605,其各自通过引用整体并入本文。

[0314] 在一些实施方案中,间隔聚体的长度为10至40个核苷。例如,间隔聚体的长度可以是10至40、10至35、10至30、10至25、10至20、10至15、15至40、15至35、15至30、15至25、15至20、20至40、20至35、20至30、20至25、25至40、25至35、25至30、30至40、30至35或35至40个核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的长度是10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个核苷。

[0315] 在一些实施方案中,间隔聚体中的间隔区Y的长度为5至20个核苷。例如,间隔区Y

的长度可以是5至20、5至15、5至10、10至20、10至15或15至20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y的长度是5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的所有核苷均是2'-脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或多个核苷是经修饰核苷(例如,2'经修饰核苷,例如本文中所述的那些)。在一些实施方案中,间隔区Y中的一个或多个胞苷任选地是5-甲基-胞苷。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个胞苷是5-甲基-胞苷。

[0316] 在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)独立地为1至20个核苷长。例如,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)可独立地为1至20、1至15、1至10、1至7、1至5、1至3、1至2、2至5、2至7、3至5、3至7、5至20、5至15、5至10、10至20、10至15或15至20个核苷长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)的长度相同。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)的长度不同。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)比间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)长。在一些实施方案中,间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)比间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)短。

[0317] 在一些实施方案中,间隔聚体包含以下的5'-X-Y-Z-3': 5-10-5, 4-12-4, 3-14-3, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 4-6-4, 3-6-3, 2-6-2, 4-7-4, 3-7-3, 2-7-2, 4-8-4, 3-8-3, 2-8-2, 1-8-1, 2-9-2, 1-9-1, 2-10-2, 1-10-1, 1-12-1, 1-16-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-14-3, 3-14-1, 2-14-2, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-3, 3-13-2, 1-12-5, 5-12-1, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 1-11-6, 6-11-12-11-5, 5-11-2, 3-11-4, 4-11-3, 1-17-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-15-3, 3-15-1, 2-15-2, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-3, 3-14-2, 1-13-5, 5-13-1, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 1-12-6, 6-12-1, 2-12-5, 5-12-2, 3-12-4, 4-12-3, 1-11-7, 7-11-1, 2-11-6, 6-11-2, 3-11-5, 5-11-3, 4-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 1-16-3, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 5-14-1, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 3-16-1, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-19-1, 1-18-2, 2-18-1, 1-17-3, 3-17-1, 2-17-2, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-3, 3-16-2, 1-15-5, 2-15-4, 4-15-2, 3-15-3, 1-14-6, 6-14-1, 2-14-5, 5-14-2, 3-14-4, 4-14-3, 1-13-7, 7-13-1, 2-13-6, 6-13-2, 3-13-5, 5-13-3, 4-13-4, 1-12-8, 8-12-1, 2-12-7, 7-12-2, 3-12-6, 6-12-3, 4-12-5, 5-12-4, 2-11-8, 8-11-2, 3-11-7, 7-11-3, 4-11-6, 6-11-4, 5-11-5, 1-20-1, 1-19-2, 2-19-1, 1-18-3, 3-18-1, 2-18-2, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-3, 3-17-2, 1-16-5, 2-16-4, 4-16-2, 3-16-3, 1-15-6, 6-15-1, 2-15-5, 5-15-2, 3-15-4, 4-15-3, 1-14-7, 7-14-1, 2-14-6, 6-14-2, 3-14-5, 5-14-3, 4-14-4, 1-13-8, 8-13-1, 2-13-

7,7-13-2,3-13-6,6-13-3,4-13-5,5-13-4,2-12-8,8-12-2,3-12-7,7-12-3,4-12-6,6-12-4,5-12-5,3-11-8,8-11-3,4-11-7,7-11-4,5-11-6,6-11-5,1-21-1,1-20-2,2-20-1,1-20-3,3-19-1,2-19-2,1-18-4,4-18-1,2-18-3,3-18-2,1-17-5,2-17-4,4-17-2,3-17-3,1-16-6,6-16-1,2-16-5,5-16-2,3-16-4,4-16-3,1-15-7,7-15-1,2-15-6,6-15-2,3-15-5,5-15-3,4-15-4,1-14-8,8-14-1,2-14-7,7-14-2,3-14-6,6-14-3,4-14-5,5-14-4,2-13-8,8-13-2,3-13-7,7-13-3,4-13-6,6-13-4,5-13-5,1-12-10,10-12-1,2-12-9,9-12-2,3-12-8,8-12-3,4-12-7,7-12-4,5-12-6,6-12-5,4-11-8,8-11-4,5-11-7,7-11-5,6-11-6,1-22-1,1-21-2,2-21-1,1-21-3,3-20-1,2-20-2,1-19-4,4-19-1,2-19-3,3-19-2,1-18-5,2-18-4,4-18-2,3-18-3,1-17-6,6-17-1,2-17-5,5-17-2,3-17-4,4-17-3,1-16-7,7-16-1,2-16-6,6-16-2,3-16-5,5-16-3,4-16-4,1-15-8,8-15-1,2-15-7,7-15-2,3-15-6,6-15-3,4-15-5,5-15-4,2-14-8,8-14-2,3-14-7,7-14-3,4-14-6,6-14-4,5-14-5,3-13-8,8-13-3,4-13-7,7-13-4,5-13-6,6-13-5,4-12-8,8-12-4,5-12-7,7-12-5,6-12-6,5-11-8,8-11-5,6-11-7,或7-11-6. 这些数字表示5'-X-Y-Z-3' 间隔聚体中X、Y和Z区中的核苷数目。

[0318] 在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)或间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的一个或多个核苷是经修饰核苷酸(例如,高亲和力经修饰核苷)。在一些实施方案中,经修饰核苷(例如,高亲和力经修饰核苷)是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4' 双环核苷或非双环2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,高亲和力经修饰核苷是2'-4' 双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)或2'-O-N-甲基乙酰胺基(2'-O-NMA))。

[0319] 在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)中的一个或多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的一个或多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)中的一个或多个核苷是高亲和力经修饰核苷,并且间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的一个或多个核苷是高亲和力经修饰核苷。在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷,并且间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的每个核苷是高亲和力经修饰核苷。

[0320] 在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)包含与间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)相同的高亲和力核苷。例如,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)可包含一个或多个非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)。在另一个实例中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)可包含一个或多个2'-4' 双环核苷(例如,LNA或cEt)。在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的Z)中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)。在一些实施方案中,间隔聚体的5' 翼区(5'-X-Y-Z-3' 式中的X)和间隔聚体的3'

翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 中的每个核苷是2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。

[0321] 在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为1至7个 (例如, 1、2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中X和Z中的每个核苷是非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 并且Y中的每个核苷是2' -脱氧核糖核苷。在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为1至7个 (例如, 1、2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中X和Z中的每个核苷是2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt), 并且Y中的每个核苷是2' -脱氧核糖核苷。在一些实施方案中, 间隔聚体的5' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的X) 包含与间隔聚体的3' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 不同的高亲和力核苷。例如, 间隔聚体的5' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的X) 可包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 并且间隔聚体的3' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 可包含一个或更多个2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。在另一个实例中, 间隔聚体的3' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 可包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 并且间隔聚体的5' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的X) 可包含一个或更多个2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。

[0322] 在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为1至7个 (例如, 1、2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中X中的每个核苷是非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), Z中的每个核苷是2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt), 并且Y中的每个核苷是2' -脱氧核糖核苷。在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为1至7个 (例如, 1、2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中X中的每个核苷是2' -4' X双环核苷 (例如, LNA或cEt), Z中的每个核苷是非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 并且Y中的每个核苷是2' -脱氧核糖核苷。

[0323] 在一些实施方案中, 间隔聚体的5' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的X) 包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me) 和一个或更多个2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。在一些实施方案中, 间隔聚体的3' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me) 和一个或更多个2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。在一些实施方案中, 间隔聚体的5' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的X) 和间隔聚体的3' 翼区 (5' -X-Y-Z-3' 式中的Z) 二者均包含一个或更多个非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me) 和一个或更多个2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt)。

[0324] 在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为2至7个 (例如, 2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中X中第1、2、3、4、5、6或7位 (最5' 的位置是第1位) 中的至少一个但不是全部 (例如, 1、2、3、4、5或6个) 是非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 其中X和Z二者中的剩余核苷是2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt), 并且其中Y中的每个核苷是2' 脱氧核糖核苷。在一些实施方案中, 间隔聚体包含5' -X-Y-Z-3' 构型, 其中X和Z的长度独立地为2至7个 (例如, 2、3、4、5、6或7个) 核苷, 并且Y的长度为6至10个 (例如, 6、7、8、9或10个) 核苷, 其中Z中第1、2、3、4、5、6或7位 (最5' 的位置是第1位) 中的至少一个位置但不是全部 (例如, 1、2、3、4、5或6个) 是非双环2' -经修饰核苷 (例如, 2' -MOE或2' -O-Me), 其中X和Z二者中的剩余核苷是2' -4' 双环核苷 (例如, LNA或cEt), 并且其中Y中的每个核苷是2' 脱氧核糖核苷。在一些实施方案中,

间隔聚体包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X和Z的长度独立地为2至7个(例如,2、3、4、5、6或7个)核苷,并且Y的长度为6至10个(例如,6、7、8、9或10个)核苷,其中X中第1、2、3、4、5、6或7位中的至少一个但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)和Z中第1、2、3、4、5、6或7(最5'的位置是第1位)中的至少一个位置但不是全部(例如,1、2、3、4、5或6个)是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me),其中X和Z二者中的剩余核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt),并且其中Y中的每个核苷是2'脱氧核糖核苷。

[0325] 在间隔聚体的5'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的X)和/或间隔聚体的3'翼区(5'-X-Y-Z-3'式中的Z)中具有非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE或2'-O-Me)和2'-4'双环核苷(例如,LNA或cEt)的混合物的间隔聚体构型的一些非限制性实例包括:BBB-(D)n-BBBAA;KKK-(D)n-KKKAA;LLL-(D)n-LLLAA;BBB-(D)n-BBBEE;KKK-(D)n-KKKEE;LLL-(D)n-LLLEE;BBB-(D)n-BBBAA;KKK-(D)n-KKKAA;LLL-(D)n-LLLAA;BBB-(D)n-BBBEE;KKK-(D)n-KKKEE;LLL-(D)n-LLLEE;BBB-(D)n-BBBAAA;KKK-(D)n-KKKAAA;LLL-(D)n-LLLAAA;BBB-(D)n-BBBEEE;KKK-(D)n-KKKEEE;LLL-(D)n-LLLEEE;BBB-(D)n-BBBAAA;KKK-(D)n-KKKAAA;LLL-(D)n-LLLAAA;BBB-(D)n-BBBEEE;KKK-(D)n-KKKEEE;LLL-(D)n-LLLEEE;BABA-(D)n-ABAB;KAKA-(D)n-AKAK;LALA-(D)n-ALAL;BEBE-(D)n-EBEB;KEKE-(D)n-EKEK;LELE-(D)n-ELEL;BABA-(D)n-ABAB;KAKA-(D)n-AKAK;LALA-(D)n-ALAL;BEBE-(D)n-EBEB;KEKE-(D)n-EKEK;LELE-(D)n-ELEL;ABAB-(D)n-ABAB;AKAK-(D)n-AKAK;ALAL-(D)n-ALAL;EBEB-(D)n-EBEB;EKEK-(D)n-EKEK;ELEL-(D)n-ELEL;ABAB-(D)n-ABAB;AKAK-(D)n-AKAK;ALAL-(D)n-ALAL;EBEB-(D)n-EBEB;EKEK-(D)n-EKEK;ELEL-(D)n-ELEL;AABB-(D)n-BBAA;BBAA-(D)n-AABB;AAKK-(D)n-KKAA;AALL-(D)n-LLAA;EEBB-(D)n-BBEE;EEKK-(D)n-KKEE;EELL-(D)n-LLEE;AABB-(D)n-BBAA;AAKK-(D)n-KKAA;AALL-(D)n-LLAA;EEBB-(D)n-BBEE;EEKK-(D)n-KKEE;EELL-(D)n-LLEE;BBB-(D)n-BBA;KKK-(D)n-KKA;LLL-(D)n-LLA;BBB-(D)n-BBE;KKK-(D)n-KKE;LLL-(D)n-LLE;BBB-(D)n-BBA;KKK-(D)n-KKA;LLL-(D)n-LLA;BBB-(D)n-BBE;KKK-(D)n-KKE;LLL-(D)n-LLE;BBB-(D)n-BBA;KKK-(D)n-KKA;LLL-(D)n-LLA;BBB-(D)n-BBE;KKK-(D)n-KKE;LLL-(D)n-LLE;ABBB-(D)n-BBBA;AKKK-(D)n-KKKA;ALLL-(D)n-LLLA;EBBB-(D)n-BBBE;EKKK-(D)n-KKKE;ELLL-(D)n-LLLE;ABBB-(D)n-BBBA;AKKK-(D)n-KKKA;ALLL-(D)n-LLLA;EBBB-(D)n-BBBE;EKKK-(D)n-KKKE;ELLL-(D)n-LLLE;ABBB-(D)n-BBBAA;AKKK-(D)n-KKKAA;ALLL-(D)n-LLLAA;EBBB-(D)n-BBBEE;EKKK-(D)n-KKKEE;ELLL-(D)n-LLLEE;ABBB-(D)n-BBBAA;AKKK-(D)n-KKKAA;ALLL-(D)n-LLLAA;EBBB-(D)n-BBBEE;EKKK-(D)n-KKKEE;ELLL-(D)n-LLLEE;AABBB-(D)n-BBB;AAKKK-(D)n-KKK;AALLL-(D)n-LLL;EEBBB-(D)n-BBB;EEKKK-(D)n-KKK;EELLL-(D)n-LLL;AABBB-(D)n-BBBA;AAKKK-(D)n-KKKA;AALLL-(D)n-LLLA;EEBBB-(D)n-BBBE;EEKKK-(D)n-KKKE;EELLL-(D)n-LLLE;AABBB-(D)n-BBBA;AAKKK-(D)n-KKKA;AALLL-(D)n-LLLA;EEBBB-(D)n-BBBE;EEKKK-(D)n-KKKE;EELLL-(D)n-LLLE;ABBAABB-(D)n-BB;AKKAACK-(D)n-KK;ALLAALLL-(D)n-LL;EBBEEBB-(D)n-BB;EKKEEKK-(D)n-KK;ELLEELL-(D)n-LL;ABBAABB-(D)n-BB;AKKAACK-(D)n-KK;ALLAALLL-(D)n-LL;EBBEEBB-(D)n-BB;EKKEEKK-(D)n-KK;ELLEELL-(D)n-LL;ABBABB-(D)n-BBB;AKKAKK-(D)n-KKK;ALLALLL-(D)n-LLL;EBBEBB-(D)n-BBB;EKKEKK-(D)n-KKK;ELLELL-(D)n-LLL;ABBABB-(D)n-BBB;AKKAKK-(D)n-KKK;ALLALLL-(D)n-LLL;EBBEBB-(D)n-BBB;EKKEKK-(D)n-

KKK;ELLELL-(D)n-LLL;EEEK-(D)n-EEEEEEEEE;EEK-(D)n-EEEEEEEEE;EK-(D)n-EEEEEEEEE;  
EK-(D)n-EEEKK;K-(D)n-EEEKEKE;K-(D)n-EEEKEKEE;K-(D)n-EEKEK;EK-(D)n-EEEKEKE;  
EK-(D)n-EEEKEK;EEK-(D)n-KEEKE;EK-(D)n-EEKEK;EK-(D)n-KEEK;EEK-(D)n-EEEKEK;EK-  
(D)n-KEEEKEE;EK-(D)n-EEKEKE;EK-(D)n-EEEKEKE;和EK-(D)n-EEEEKEK;“A”核苷包含2’-  
经修饰核苷;“B”表示2’-4’双环核苷;“K”表示约束性乙基核苷(cEt);“L”表示LNA核苷;以  
及“E”表示2’-MOE修饰的核糖核苷;“D”表示2’-脱氧核糖核苷;“n”表示间隔区段(5’-X-Y-  
Z-3’构型中的Y)的长度并且是1至20的整数。

[0326] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种间隔聚体在X、Y和Z区的每一个中包含一个或更多个经修饰核苷间键联(例如,硫代磷酸酯键联)。在一些实施方案中,本文中所述的任一种间隔聚体中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,X、Y和Z区各自独立地包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物。在一些实施方案中,间隔区Y中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯键联,5’翼区X包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物,并且3’翼区Z包含硫代磷酸酯键联和磷酸二酯键联的混合物。

[0327] 表8中提供了FXN靶向寡核苷酸的一些非限制性实例。

[0328] 表8.FXN靶向寡核苷酸

[0329]

| ASO ID | 靶序列                          | SEQ ID NO: | ASO                      | SEQ ID NO: | 经修饰 ASO:                                                                            |
|--------|------------------------------|------------|--------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1      | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162        | CUUCUTCTTCTT<br>CTTCUUCU | 165        | oC*oU*oU*oC*oU*dT*xC*dT*dT*xC*dT<br>*dT*xC*dT*dT*oC*oU*oU*oC*oU (SEQ<br>ID NO: 165) |
| 2      | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163        | UUCUUCTTCTT<br>CTTCUUCUU | 166        | oU*oU*oC*oU*oU*xC*dT*dT*xC*dT*dT<br>*xC*dT*dT*xC*oU*oU*oC*oU*oU (SEQ<br>ID NO: 166) |

[0330]

|    |                              |     |                          |     |                                                                                            |
|----|------------------------------|-----|--------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3  | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | UCUUCTTCTTCT<br>TCTUCUUC | 167 | oU*oC*oU*oU*oC*dT*dT*xdC*dT*dT*xdC<br>*dT*dT*xdC*dT*oU*oC*oU*oU*oC (SEQ<br>ID NO: 167)     |
| 4  | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162 | CUUCUUCUUCU<br>UCUUCUUCU | 168 | oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*<br>oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU (SEQ ID<br>NO: 168)        |
| 5  | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163 | UUCUUCUUCUU<br>CUUCUUCUU | 169 | oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*<br>oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU (SEQ ID<br>NO: 169)        |
| 6  | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | UCUUCUUCUUC<br>UUCUUCUUC | 170 | oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC*<br>oU*oU*oC*oU*oU*oC*oU*oU*oC (SEQ ID<br>NO: 170)        |
| 7  | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162 | CUUCTTCTTCTT<br>CTTCTUCU | 171 | +C*+U*+U*xdC*dT*dT*xdC*dT*dT*xdC*d<br>T*dT*xdC*dT*dT*xdC*dT*+U*+C*+U (SEQ<br>ID NO: 171)   |
| 8  | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163 | UUCTTCTTCTTC<br>TTCTTCUU | 172 | +U*+U*+C*dT*dT*xdC*dT*dT*xdC*dT*dT<br>*xdC*dT*dT*xdC*dT*dT*+C*+U*+U (SEQ<br>ID NO: 172)    |
| 9  | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | UCUTCTTCTTCT<br>TCTTCUUC | 173 | +U*+C*+U*dT*xdC*dT*dT*xdC*dT*dT*xd<br>C*dT*dT*xdC*dT*dT*xdC*+U*+U*+C<br>(SEQ ID NO: 173)   |
| 10 | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162 | CUUCUTCTTCTT<br>CTTCUUCU | 165 | +C*+U*+U*+C*+U*dT*xdC*dT*dT*xdC*dT<br>*dT*xdC*dT*dT*+C*+U*+U*+C*+U (SEQ<br>ID NO: 165)     |
| 11 | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163 | UUCUUCTTCTT<br>CTTCUUCUU | 166 | +U*+U*+C*+U*+U*xdC*dT*dT*xdC*dT*dT<br>*xdC*dT*dT*xdC*+U*+U*+C*+U*+U (SEQ<br>ID NO: 166)    |
| 12 | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | UCUUCTTCTTCT<br>TCTUCUUC | 167 | +U*+C*+U*+U*+C*dT*dT*xdC*dT*dT*xdC<br>*dT*dT*xdC*dT*+U*+C*+U*+U*+C (SEQ<br>ID NO: 167)     |
| 13 | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162 | CUUCUUCUUCU<br>UCUUCUUCU | 168 | xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC<br>*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U<br>(SEQ ID NO: 168) |
| 14 | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163 | UUCUUCUUCUU<br>CUUCUUCUU | 169 | +U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*<br>+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U<br>(SEQ ID NO: 169)  |
| 15 | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | UCUUCUUCUUC<br>UUCUUCUUC | 170 | +U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*<br>xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC*+U*+U*xdC<br>(SEQ ID NO: 170) |
| 16 | AGAAGAAG<br>AAGAAGAA<br>GAAG | 162 | CTTCTTCTTCTT<br>CTTCTTCT | 174 | +C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*d<br>T*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT (SEQ ID<br>NO: 174)        |
| 17 | AAGAAGAA<br>GAAGAAGA<br>AGAA | 163 | TTCTTCTTCTTC<br>TTCTTCTT | 175 | dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+<br>C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT (SEQ ID<br>NO: 175)        |
| 18 | GAAGAAGA<br>AGAAGAAG<br>AAGA | 164 | TCTTCTTCTTCT<br>TCTTCTTC | 176 | dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C*d<br>T*dT*+C*dT*dT*+C*dT*dT*+C (SEQ ID<br>NO: 176)        |

[0331] \*\*所示的靶序列包含T。考虑了寡核苷酸与DNA和/或RNA的结合。

[0332] “xdC”表示5-甲基脱氧胞苷；“dn”表示2’-脱氧核糖核苷；“+N”表示LNA核苷；“oN”表示2’-MOE修饰的核糖核苷；“oC”表示5-甲基-2’-MOE-胞苷；“+C”表示5-甲基2’-4’-双环-胞苷(2’-4’亚甲基桥)；“oU”表示5-甲基-2’-MOE-尿苷；“+U”表示5-甲基2’-4’-双环-尿苷(2’-4’亚甲基桥)；“\*”表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0333] 在一些实施方案中，本文中所述的FXN靶向寡核苷酸的长度为15至20个核苷(例如，15、16、17、18、19或20个核苷)，包含SEQ ID NO:162至164中任一者的至少15个连续核苷(例如，至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或至少20个)的互补区，并且包含5’-X-Y-Z-3’构型，其中X包含3至5(例如，3、4或5)个连接的核苷，其中X中的至少一个核苷是2’-经修饰核苷(例如，2’-MOE修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)；Y包含6至10(例如6、7、8、9或10)个连接的2’-脱氧核糖核苷，其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷；并且Z包含3至5(例如3、4或5)个连接的核苷，其中Z中的至少一个核苷是2’-经修饰核苷(例如2’-

MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0334] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的核苷酸序列的至少15个连续核苷(例如,至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或至少20个),并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个(例如,3、4或5个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至10个(例如6、7、8、9或10个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0335] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至176中任一者的核苷酸序列,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3至5个(例如,3、4或5个)连接的核苷,其中X中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA);Y包含6至10个(例如6、7、8、9或10个)连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3至5个(例如3、4或5个)连接的核苷,其中Z中的至少一个核苷是2'-经修饰核苷(例如2'-MOE修饰的核苷、2'-O-Me修饰的核苷、LNA、cEt或ENA)。

[0336] 在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-经修饰核苷和/或(例如,和)Z中每个核苷是2'-经修饰核苷。在一些实施方案中,2'-经修饰核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)或非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷或2'-O-Me修饰的核苷)。

[0337] 在一些实施方案中,X中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)和/或(例如,和)Z中的每个核苷是非双环2'-经修饰核苷(例如,2'-MOE修饰的核苷)。在一些实施方案中,X中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)和/或(例如,和)Z中的每个核苷是2'-4'双环核苷(例如,LNA、cEt或ENA)。

[0338] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含5个连接的核苷,其中X中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

[0339] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:165至167中任一者的核苷酸序列,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含5个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含10个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含5个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

[0340] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:171至173中任一者的核苷酸序列,并且包含5'-X-Y-Z-3'构型,其中X包含3个连接的核苷,其中X中的每个核苷是LNA核苷;Y包含14个连接的2'-脱氧核糖核苷,其中Y中的每个胞苷任选且独立地是5-甲基-胞苷;并且Z包含3个连接的核苷,其中Z中的每个核苷是LNA核苷。

[0341] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,并且每个核苷是2'-MOE修饰的核苷。

[0342] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:168至170中任一者的核苷酸序列,寡核苷酸中的每个T是LNA核苷,并且寡核苷酸中的每个C是5-甲基-脱氧胞苷。

[0343] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸包含SEQ ID NO:174至176中任一者的核苷酸序列,并且寡核苷酸中的每个C是LNA核苷,并且每个T是脱氧胸苷。

[0344] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一种FXN靶向寡核苷酸中,X和/或Z中的每个胞苷(例如,2'-经修饰胞苷)任选且独立地是5-甲基-胞苷,和/或者X和/或Z中的每个尿苷(例如,2'-经修饰尿苷)任选且独立地是5-甲基-尿苷。

[0345] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种FXN靶向寡核苷酸包含一个或更多个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸中的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0346] 在一些实施方案中,FXN靶向寡核苷酸选自表8中列出的经修饰AS01至18。在一些实施方案中,任一种FXN靶向寡核苷酸可以是盐形式,例如作为钠盐、钾盐或镁盐。

[0347] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种寡核苷酸(例如,表8中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷(例如,末端核苷)与胺基缀合,任选地通过间隔基。在一些实施方案中,间隔基包含脂族部分。在一些实施方案中,间隔基包含聚乙二醇部分。在一些实施方案中,磷酸二酯键联存在于间隔基与寡核苷酸的5'或3'核苷之间。在一些实施方案中,本文中所述的任何寡核苷酸(例如,表8中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷(例如,末端核苷)与间隔基缀合,所述间隔基是经取代或未经取代的脂族、经取代或未经取代的杂脂族、经取代或未经取代的亚碳环基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-O-, -N(R<sup>A</sup>)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>C(=O)-, -NR<sup>A</sup>C(=O)R<sup>A</sup>-, -C(=O)R<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>C(=O)O-, -NR<sup>A</sup>C(=O)N(R<sup>A</sup>)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R<sup>A</sup>)-, -S(O)<sub>2</sub>NR<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>S(O)<sub>2</sub>-或其组合;每个R<sup>A</sup>独立地是氢或者经取代或未经取代的烷基。在某些实施方案中,间隔基是经取代或未经取代的亚烷基、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-O-、-N(R<sup>A</sup>)-或-C(=O)N(R<sup>A</sup>)<sub>2</sub>-或其组合。

[0348] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种寡核苷酸(例如,表8中列出的寡核苷酸)的5'或3'核苷与式-NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-化合物缀合,其中n为1至12的整数。在一些实施方案中,n是6、7、8、9、10、11或12。在一些实施方案中,磷酸二酯键联存在于在式-NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-化合物与寡核苷酸的5'或3'核苷之间。在一些实施方案中,式-NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-化合物通过6-氨基-1-己醇(NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-OH)与寡核苷酸的5'磷酸之间的反应与寡核苷酸缀合。

[0349] 在一些实施方案中,寡核苷酸例如通过胺基与靶向剂,例如肌肉靶向剂(例如抗TfR1抗体)缀合。

[0350] g. RNA干扰(RNAi)

[0351] 在一些实施方案中,本文中提供的FXN靶向寡核苷酸是小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA),也称为短干扰RNA或沉默RNA。siRNA是一类双链RNA分子,通常长度为约20至25个碱基对,其通过细胞中的RNA干扰(RNAi)途径靶向核酸(例如,mRNA)用于降解。siRNA分子的特异性可通过分子反义链与其靶RNA的结合来确定。有效的siRNA分子的长度通常少于30至35个碱基对,以阻止通过干扰素应答触发细胞中非特异性RNA干扰途径,尽管更长的siRNA也可能是有效的。在一些实施方案中,siRNA分子的长度为7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50或更多个碱基对。在一些实施方案中,siRNA分子的长度为8至30个碱基对,长度为10至15个碱基对,长度为10至20个碱基对,长度为15至25个碱基对,长度为19至21个碱基对,长度为21至23个碱基

对。

[0352] 在选择适当的靶RNA序列之后,可使用适当的方法设计和制备包含与靶序列的全部或部分互补的核苷酸序列(即反义序列)的siRNA分子(参见,例如,PCT公开号WO 2004/016735;以及美国专利公开No.2004/0077574和2008/0081791)。

[0353] siRNA分子可以是双链的(即,包含反义链和互补有义链的dsRNA分子)或单链的(即,仅包含反义链的ssRNA分子)。siRNA分子可包含具有自身互补的有义链和反义链的双链体(duplex)、不对称双链体、发夹或不对称发夹二级结构。在一些实施方案中,本文中所述的FXN靶向寡核苷酸是包含反义链和有义链的siRNA。

[0354] 在一些实施方案中,siRNA分子的反义链长度为7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50或更多个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为8至50个核苷酸、长度为8至40个核苷酸、长度为8至30个核苷酸、长度为10至15个核苷酸、长度为10至20个核苷酸、长度为15至25个核苷酸、长度为19至21个核苷酸、长度为21至23个核苷酸。

[0355] 在一些实施方案中,siRNA分子的有义链长度为7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50或更多个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为8至50个核苷酸、长度为8至40个核苷酸、长度为8至30个核苷酸、长度为10至15个核苷酸、长度为10至20个核苷酸、长度为15至25个核苷酸、长度为19至21个核苷酸、长度为21至23个核苷酸。

[0356] 在一些实施方案中,siRNA分子包含反义链,所述反义链包含FXN mRNA中的靶区域之互补区。在一些实施方案中,互补区为与FXN mRNA中的靶区域至少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100%互补。在一些实施方案中,靶区域是FXN mRNA中的连续核苷酸区域。在一些实施方案中,互补核苷酸序列不需要与其靶标的核苷酸序列100%互补来与靶RNA序列可特异性地杂交或对靶RNA序列具有特异性。

[0357] 在一些实施方案中,siRNA分子包含反义链,所述反义链包含FXN mRNA序列之互补区,并且该互补区的长度在8至15、8至30、8至40、或10至50、或5至50、或5至40个核苷酸的范围内。在一些实施方案中,互补区的长度为5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50个核苷酸。在一些实施方案中,互补区与FXN mRNA序列的至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个或更多个连续核苷酸互补。在一些实施方案中,互补区包含与FXN mRNA序列的互补部分相比包含不超过1、2、3、4或5个碱基错配的核苷酸序列。在一些实施方案中,互补区包含在15个碱基上具有至多3个错配或在10个碱基上具有至多2个错配的核苷酸序列。

[0358] 双链siRNA可包含相同长度或不同长度的RNA链。双链siRNA分子也可由单个寡核苷酸组装成茎环结构,其中siRNA分子的自身互补有义和反义区通过以下连接:基于核酸或基于非核酸的接头,以及环状单链RNA,其具有两个或更多个环结构和包含自身互补有义和反义链的茎,其中环状RNA可在体内或体外加工以产生能够介导RNAi的活性siRNA分子。因此,本文中也考虑了小发夹RNA(small hairpin RNA,shRNA)分子。除了通常由间隔区或环

序列隔开的反向互补(有义)序列之外,这些分子还包含特定的反义序列。间隔区或环的切割提供了单链RNA分子及其反向互补物,使得它们可进行退火以形成dsRNA分子(任选地,具有可导致从任一或两条链的3'末端和/或(例如,和)5'末端添加或删除一个、两个、三个或更多个核苷酸的另外的加工步骤)。间隔区可具有足够的长度以允许反义和有义序列在切割间隔区(和任选地,可导致从任一或两条链的3'末端和/或(例如,和)5'末端添加或删除一个、两个、三个、四个或更多个核苷酸的后续加工步骤)之前进行退火并形成双链结构(或茎)。间隔区序列可以是位于两个互补核苷酸序列区域之间的不相关核苷酸序列,当退火成双链核酸时其包含shRNA。

[0359] siRNA分子的总长度可根据所设计siRNA分子的类型从约14至约100个核苷酸变化。通常来说,这些核苷酸中的约14至约50个与RNA靶序列互补,即构成siRNA分子的特异性反义序列。例如,当siRNA是双链或单链siRNA时,长度可从约14至约50个核苷酸变化,而当siRNA是shRNA或环状分子时,长度可从约40个核苷酸至约100个核苷酸变化。

[0360] siRNA分子可在分子的一个末端包含3'突出端。另一末端可以是平末端或也具有突出端(5'或3')。当siRNA分子在分子两个末端均包含突出端时,突出端的长度可以相同或不同。在一个实施方案中,本公开内容的siRNA分子在分子的两个末端均包含约1至约3(例如1、2、3)个核苷酸的3'突出端。在一些实施方案中,siRNA分子在有义链上包含约1至约3个核苷酸的3'突出端。在一些实施方案中,siRNA分子在反义链上包含约1至约3(例如1、2、3)个核苷酸的3'突出端。在一些实施方案中,siRNA分子在有义链和反义链二者上均包含约1至约3(例如,1、2、3)个核苷酸的3'突出端。

[0361] 在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个经修饰核苷酸(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个)。在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个经修饰核苷酸和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,经修饰核苷酸是经修饰糖部分(例如,2'经修饰核苷酸)。在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个2'经修饰核苷酸,例如2'-脱氧、2'-氟(2'-F)、2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2'-O-DMAEOE)或2'-O--N-甲基乙酰胺基(2'-O--NMA)。在一些实施方案中,siRNA分子的每个核苷酸是经修饰核苷酸(例如,2'-经修饰核苷酸)。在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个2'-O-甲基修饰的核苷酸。在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个2'-F修饰的核苷酸。在一些实施方案中,siRNA分子包含一个或更多个2'-O-甲基和2'-F修饰的核苷酸。

[0362] 在一些实施方案中,siRNA分子包含硫代磷酸酯或其他经修饰核苷酸间键联。在一些实施方案中,siRNA分子包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,siRNA分子在至少两个核苷酸之间包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,siRNA分子在所有核苷酸之间均包含硫代磷酸酯核苷间键联。例如,在一些实施方案中,siRNA分子在siRNA分子的5'或3'末端的第一、第二和/或(例如,和)第三核苷间键联处包含经修饰核苷酸间键联。

[0363] 在一些实施方案中,经修饰核苷酸间键联是含磷的键联。在一些实施方案中,可使用的含磷的键联包括但不限于硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基膦酸酯和包含3'亚烷基膦酸酯的其他烷基膦酸酯、以及手性膦酸酯、次膦酸酯、包含3'-氨基磷酰胺酯和氨基烷基磷酰胺酯的磷酰胺酯、硫羰基磷酰胺酯、硫羰

基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯和具有正常3'-5'键联的硼烷磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物、以及其中相邻的核苷单元对连接在3'-5'到5'-3'或2'-5'到5'-2'的具有相反极性的那些；参见美国专利no 3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,196;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,306;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;和5,625,050.

[0364] 本文中所述的siRNA分子的任何经修饰化学组成或形式可彼此组合。例如，同一siRNA分子内可包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种不同类型的修饰。

[0365] 在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个经修饰核苷（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个）。在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个经修饰核苷和/或者（例如，和）一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中，经修饰核苷酸包含经修饰糖部分（例如，2'-经修饰核苷酸）。在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个2'-经修饰核苷，例如2'-脱氧、2'-氟（2'-F）、2'-O-甲基（2'-O-Me）、2'-O-甲氧基乙基（2'-MOE）、2'-O-氨丙基（2'-O-AP）、2'-O-二甲基氨基乙基（2'-DMAOE）、2'-O-二甲基氨基丙基（2'-DMAP）、2'-O-二甲基氨基乙基氧基乙基（2'-DMAEOE）或2'-O--N-甲基乙酰胺基（2'-NMA）。在一些实施方案中，反义链的每个核苷是经修饰核苷（例如，2'-经修饰核苷酸）。在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个2'-O-甲基修饰的核苷。在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个2'-F修饰的核苷。在一些实施方案中，反义链包含一个或更多个2'-O-甲基修饰的核苷和2'-F修饰的核苷。

[0366] 在一些实施方案中，反义链包含硫代磷酸酯或其他经修饰核苷间键联。在一些实施方案中，反义链包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中，反义链包含至少两个核苷之间的硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中，反义链包含所有核苷之间的硫代磷酸酯核苷间键联。例如，在一些实施方案中，反义链在siRNA分子的5'或3'末端的第一、第二和/或（例如，和）第三核苷间键联处包含经修饰核苷间键联。在一些实施方案中，反义链3'末端处的两个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0367] 在一些实施方案中，经修饰核苷间键联是含磷的键联。在一些实施方案中，可使用的含磷的键联包括但不限于硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基膦酸酯和包含3'亚烷基膦酸酯的其他烷基膦酸酯、以及手性膦酸酯、次膦酸酯、包含3'-氨基磷酰胺酯和氨基烷基磷酰胺酯的磷酰胺酯、硫羰基磷酰胺酯、硫羰基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯和具有正常3'-5'键联的硼烷磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物、以及其中相邻的核苷单元对连接在3'-5'到5'-3'或2'-5'到5'-2'的具有相反极性的那些；参见美国专利no:3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,196;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,306;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;和5,625,050.

[0368] 本文中所述反义链的任何经修饰化学组成或形式可彼此组合。例如，同一反义链内可包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种不同类型的修饰。

[0369] 在一些实施方案中，有义链包含一个或更多个经修饰核苷酸（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个）。在一些实施方案中，有义链包含一个或更多个经修饰核苷和/或者（例

如,和)一个或更多个经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,经修饰核苷酸是经修饰糖部分(例如,2' 经修饰核苷)。在一些实施方案中,有义链包含一个或更多个2' 经修饰核苷,例如2' -脱氧、2' -氟(2' -F)、2' -O-甲基(2' -O-Me)、2' -O-甲氧基乙基(2' -MOE)、2' -O-氨基丙基(2' -O-AP)、2' -O-二甲基氨基乙基(2' -O-DMAOE)、2' -O-二甲基氨基丙基(2' -O-DMAP)、2' -O-二甲基氨基乙基氧基乙基(2' -O-DMAEOE)或2' -O--N-甲基乙酰胺基(2' -O--NMA)。在一些实施方案中,有义链的每个核苷是经修饰核苷(例如,2' -经修饰核苷酸)。在一些实施方案中,有义链包含一个或更多个磷酸二酰胺吗啉代。在一些实施方案中,有义链是磷酸二酰胺吗啉代寡聚物(PMO)。在一些实施方案中,有义链包含一个或更多个2' -O-甲基修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含一个或更多个2' -F修饰的核苷。在一些实施方案中,有义链包含一个或更多个2' -O-甲基和2' -F修饰的核苷。

[0370] 在一些实施方案中,有义链包含硫代磷酸酯或其他经修饰核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含至少两个核苷之间的硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,有义链包含所有核苷之间的硫代磷酸酯核苷间键联。例如,在一些实施方案中,有义链在有义链的5' 或3' 末端的第一、第二和/或(例如,和)第三核苷间键联处包含经修饰核苷酸间键联。在一些实施方案中,有义链包含磷酸二酯核苷间键联。在一些实施方案中,有义链不包含硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,经修饰核苷酸间键联是含磷的键联。在一些实施方案中,可使用的含磷的键联包括但不限于:硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基磷酸酯和包含3' 亚烷基磷酸酯的其他烷基磷酸酯、以及手性磷酸酯、次磷酸酯、包含3' -氨基磷酰胺酯和氨基烷基磷酰胺酯的磷酰胺酯、硫烷基磷酰胺酯、硫烷基烷基磷酸三酯和具有正常3' -5' 键联的硼烷磷酸酯、这些的2' -5' 连接类似物、以及其中相邻的核苷单元对连接在3' -5' 到5' -3' 或2' -5' 到5' -2' 的具有相反极性的那些;参见美国专利no:3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,196;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,306;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;和5,625,050。

[0371] 本文中所述的有义链的任何经修饰化学组成或形式可彼此组合。例如,同一有义链内可包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种不同类型的修饰。

[0372] 在一些实施方案中,siRNA分子的反义链或有义链包含增强或降低RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex,RISC)负载的修饰。在一些实施方案中,siRNA分子的反义链包含增强RISC负载的修饰。在一些实施方案中,siRNA分子的有义链包含降低RISC负载并降低脱靶效应的修饰。在一些实施方案中,siRNA分子的反义链包含2' -甲氧基乙基(2' -MOE)修饰。在切割位点添加2' -甲氧基乙基(2' -MOE)基团通过促进经修饰链的定向RNA诱导沉默复合物(RISC)负载改善了siRNA的特异性和沉默活性二者,如Song et al., (2017)Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250中所述,其通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的反义链包含提高RISC负载的2' -O-Me-二硫代磷酸酯修饰,如Wu et al., (2014)Nat Commun 5:3459中所述,其通过引用整体并入本文。

[0373] 在一些实施方案中,siRNA分子的有义链包含5' -吗啉代,其降低有义链的RISC负载并改善反义链选择和RNAi活性,如Kumar et al., (2019)Chem Commun (Camb) 55 (35):

5139-5142中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的有义链是用合成的RNA样高亲和力核苷酸类似物锁核酸(LNA)来修饰,其降低有义链的RISC负载并进一步增强反义链并入RISC,如Elman et al., (2005) *Nucleic Acids Res.* 33(1):439-447中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的有义链包含5' 解锁核酸(UNA)修饰,其降低有义链的RISC负载并提高反义链的沉默效力,如Snead et al., (2013) *Mol Ther Nucleic Acids* 2(7):e103中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的有义链包含5-硝基咪唑修饰,其降低有义链的RNAi效力并降低脱靶效应,如Zhang et al., (2012) *Chembiochem* 13(13):1940-1945中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,有义链包含2' -O' 甲基(2' -O-Me)修饰,其降低有义链的RISC负载和脱靶效应,如Zheng et al., *FASEB* (2013) 27(10):4017-4026中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的有义链被吗啉代、2' -MOE或2' -O-Me残基完全替换并且不被RISC识别,如Kole et al., (2012) *Nature reviews. Drug Discovery* 11(2):125-140中所述,该文献通过引用整体并入本文。在一些实施方案中,siRNA分子的反义链包含MOE修饰并且有义链包含2' -O-Me修饰(参见例如Song et al., (2017) *Mol Ther Nucleic Acids* 9:242-250)。在一些实施方案中,至少一个(例如,至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少10个)siRNA分子与肌肉靶向剂连接(例如,共价连接)。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可包含以下或者由以下组成:核酸(例如,DNA或RNA)、肽(例如,抗体)、脂质(例如,微囊泡)或糖部分(例如,多糖)。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是抗体。在一些实施方案中,肌肉靶向剂是抗转铁蛋白受体抗体(例如,表2至7中提供的任一种抗TfR1抗体)。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的有义链的5' 末端共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的有义链的3' 末端共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的有义链内部共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的反义链的5' 末端共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的反义链的3' 末端共价连接。在一些实施方案中,肌肉靶向剂可与siRNA分子的反义链内部共价连接。

#### [0374] C. 接头

[0375] 本文中所述的复合物通常包含共价连接本文中所述的任一种抗TfR1抗体与分子载荷的接头。接头包含至少一个共价键。在一些实施方案中,接头可以是共价连接抗TfR1抗体与分子载荷的单键,例如二硫键或二硫桥。然而,在一些实施方案中,接头可通过多个共价键共价连接本文中所述的任一种抗TfR1抗体与分子载荷。在一些实施方案中,接头可以是可切割接头。然而,在一些实施方案中,接头可以是不可切割接头。接头通常在体外和体内是稳定的,并且在某些细胞环境中可以是稳定的。另外,通常来说接头不负面影响抗TfR1抗体或分子载荷的功能特性。接头合成的实例和方法是本领域中已知的(参见,例如Kline, T. et al. "Methods to Make Homogenous Antibody Drug Conjugates." *Pharmaceutical Research*, 2015, 32:11, 3480-3493.; Jain, N. et al. "Current ADC Linker Chemistry" *Pharm Res.* 2015, 32:11, 3526-3540.; McCombs, J. R. and Owen, S. C. "Antibody Drug Conjugates: Design and Selection of Linker, Payload and Conjugation Chemistry" *AAPS J.* 2015, 17:2, 339-351.)。

[0376] 接头通常将包含允许与抗TfR1抗体和分子载荷二者连接的两种不同的反应性物

质。在一些实施方案中,两种不同的反应性物质可以是亲核体和/或亲电体。在一些实施方案中,接头包含两种不同的亲电体或亲核体,其对两种不同的亲核体或亲电体具有特异性。在一些实施方案中,接头通过与抗TfR1抗体的赖氨酸残基或半胱氨酸残基缀合而与抗TfR1抗体共价连接。在一些实施方案中,接头通过含马来酰亚胺的接头与抗TfR1抗体的半胱氨酸残基共价连接,其中任选地,含马来酰亚胺的接头包含马来酰亚胺基己酰基或马来酰亚胺基甲基环己烷-1-羧酸根基团。在一些实施方案中,接头通过3-芳基丙腈官能团与抗TfR1抗体的半胱氨酸残基或巯基官能化的分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头与抗TfR1抗体的赖氨酸残基共价连接。在一些实施方案中,接头通过酰胺键、氨基甲酸酯键、酰肼、三唑、硫醚和/或二硫键与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷独立地共价连接。

[0377] i. 可切割接头

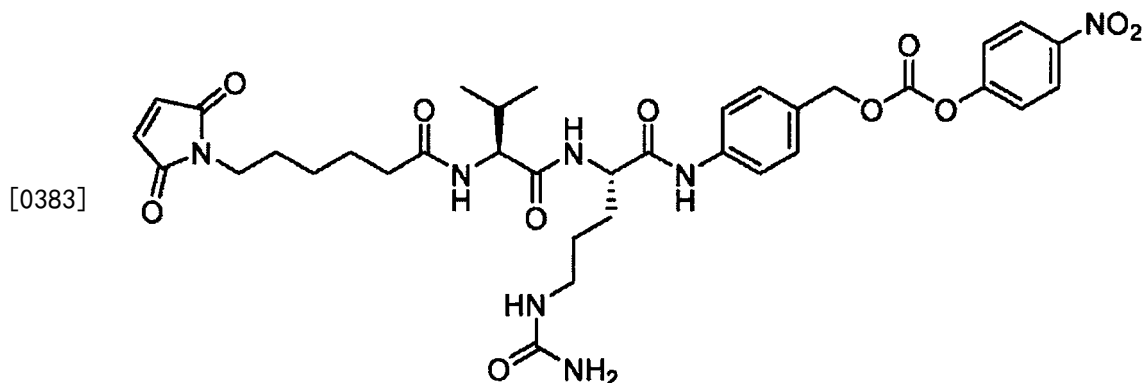
[0378] 可切割接头可以是蛋白酶敏感性接头、pH敏感性接头或谷胱甘肽敏感性接头。这些接头通常仅在胞内可切割,并且优选在胞外环境,例如肌细胞胞外中稳定。

[0379] 蛋白酶敏感性接头可通过蛋白酶酶活性切割。这些接头通常包含肽序列,并且长度可为2至10个氨基酸、约2至5个氨基酸、约5至10个氨基酸、约10个氨基酸、约5个氨基酸、约3个氨基酸或约2个氨基酸。在一些实施方案中,肽序列可包含天然存在的氨基酸(例如半胱氨酸、丙氨酸)或者非天然存在的或经修饰的氨基酸。非天然存在的氨基酸包括 $\beta$ -氨基酸、高氨基酸、脯氨酸衍生物、3-经取代的丙氨酸衍生物、线性核心氨基酸、N-甲基氨基酸和本领域已知的其他氨基酸。在一些实施方案中,蛋白酶敏感性接头包含缬氨酸-瓜氨酸或丙氨酸-瓜氨酸序列。在一些实施方案中,蛋白酶敏感性接头可被溶酶体蛋白酶(例如组织蛋白酶B(cathepsin B))和/或(例如,和)内体蛋白酶切割。

[0380] pH敏感性接头是在高或低pH环境中容易降解的共价键联。在一些实施方案中,pH敏感性接头可在4至6的pH下被切割。在一些实施方案中,pH敏感性接头包含脲或环缩醛。在一些实施方案中,pH敏感性接头在内体或溶酶体内被切割。

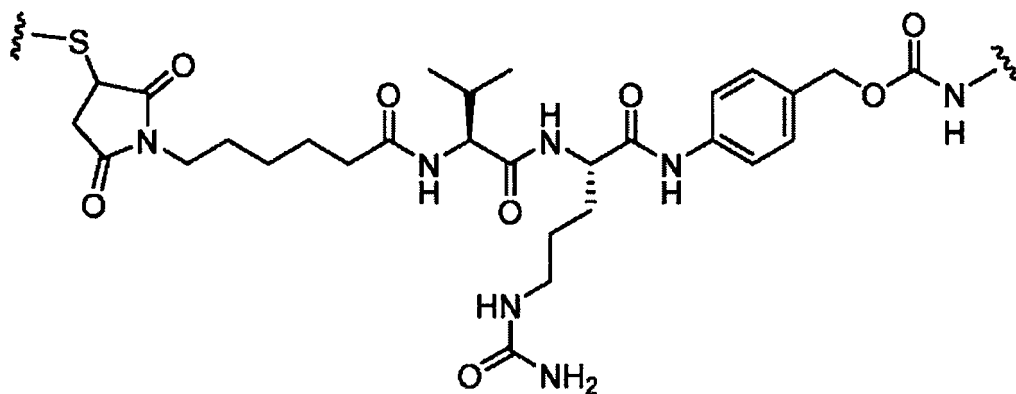
[0381] 在一些实施方案中,谷胱甘肽敏感性接头包含二硫化物部分。在一些实施方案中,谷胱甘肽敏感性接头通过与细胞内的谷胱甘肽物质进行二硫化物交换反应来切割。在一些实施方案中,二硫化物部分还包含至少一种氨基酸,例如半胱氨酸残基。

[0382] 在一些实施方案中,接头包含缬氨酸-瓜氨酸序列(例如,如美国专利6,214,345中所述,其通过引用并入本文)。在一些实施方案中,在缀合之前,接头包含以下结构:



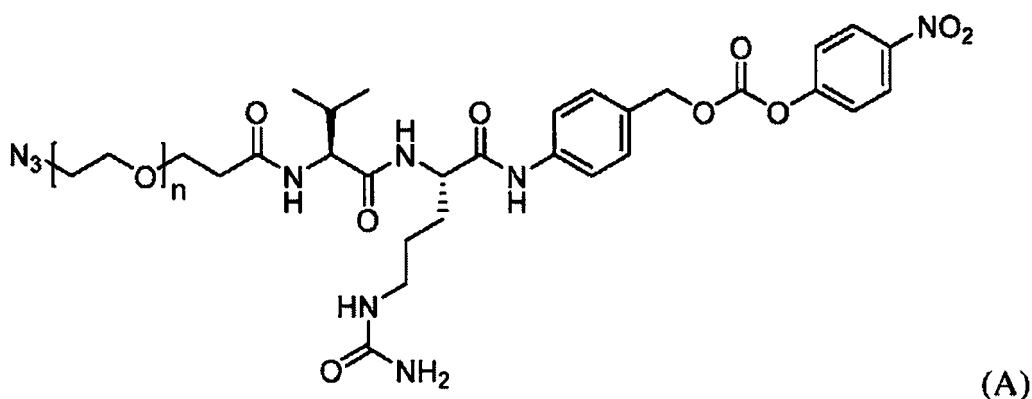
[0384] 在一些实施方案中,在缀合之后,接头包含以下结构:

[0385]



[0386] 在一些实施方案中,在缀合之前,接头包含以下结构:

[0387]

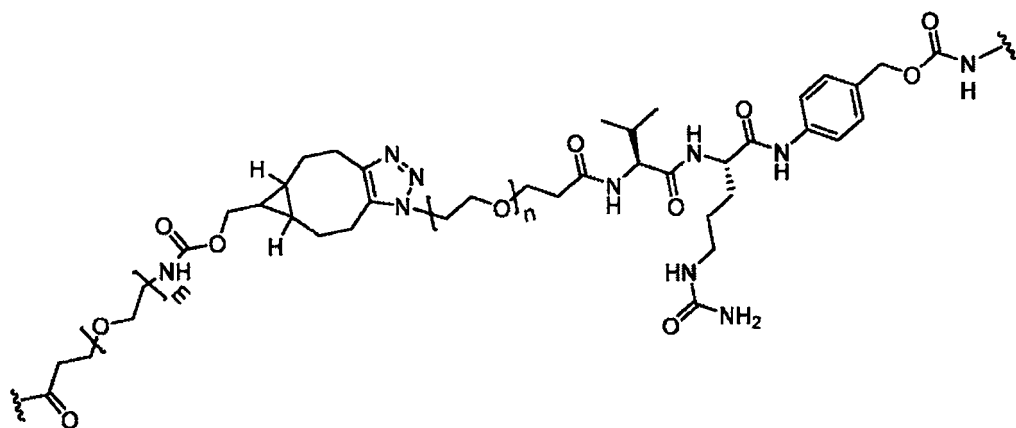


(A)

[0388] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0389] 在一些实施方案中,接头包含以下结构:

[0390]

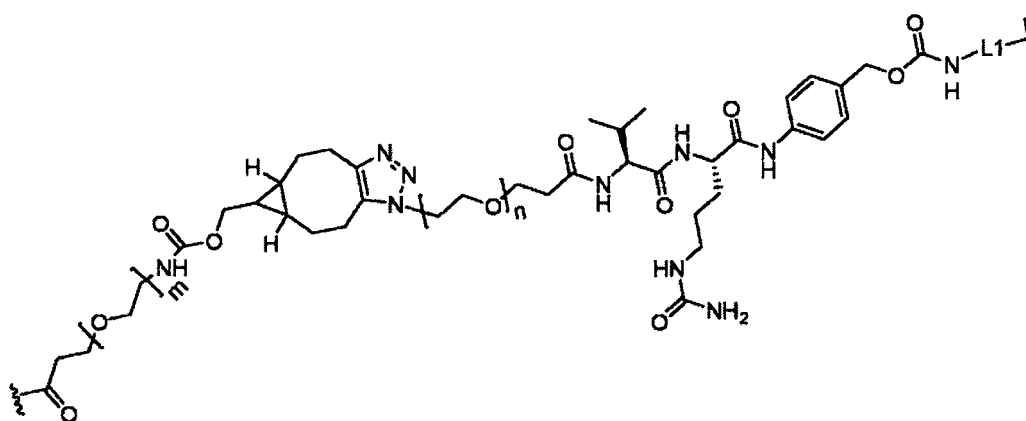


(H),

[0391] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。

[0392] 一些实施方案中,接头包含以下结构:

[0393]



(I),

[0394] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。

[0395] ii.不可切割接头

[0396] 在一些实施方案中,可使用不可切割接头。通常来说,不可切割接头在细胞或生理环境中不容易被降解。在一些实施方案中,不可切割接头包含任选经取代的烷基,其中所述取代可包括卤素、羟基、氧物质和其他常见的取代。在一些实施方案中,接头可包含任选经取代的烷基、任选经取代的亚烷基、任选经取代的亚芳基、亚杂芳基、包含至少一种非天然氨基酸的肽序列、截短的聚糖、不能被酶降解的一种或更多种糖、叠氮化物、炔-叠氮化物、包含LPXT序列的肽序列、硫醚、生物素、联苯、聚乙二醇或等同化合物的重复单元、酸性酯、酰胺、磺酰胺和/或烷氧基-胺接头。在一些实施方案中,分选酶介导的连接可用于共价连接包含LPXT序列的抗TfR1抗体与包含(G)<sub>n</sub>序列的分子载荷(参见,例如Profi T.Sortase-mediated protein ligation:an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization.Biotechnol Lett.2010,32(1):1-10.)。

[0397] 在一些实施方案中,接头可包含经取代的亚烷基、任选经取代的亚烯基、任选经取代的亚炔基、任选经取代的亚环烷基、任选经取代的亚环烯基、任选经取代的亚芳基、还包含至少一个选自N、O和S的杂原子的任选经取代的亚杂芳基;还包含至少一个选自N、O和S的杂原子的任选经取代的亚杂环基;亚氨基、任选经取代的氮物质、任选经取代的氧物质O、任选经取代的硫物质或聚(环氧烷烃),例如聚环氧乙烷或聚环氧丙烷。在一些实施方案中,接头可以是不可切割的N-γ-马来酰亚胺基丁酰基-氧基琥珀酰亚胺酯(GMBS)接头。

[0398] iii.接头缀合

[0399] 在一些实施方案中,接头通过磷酸酯、硫醚、醚、碳-碳、氨基甲酸酯、或酰胺键与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过磷酸酯或硫代磷酸酯基团例如寡核苷酸主链的末端磷酸酯与寡核苷酸共价连接。在一些实施方案中,接头通过抗TfR1抗体上存在的赖氨酸或半胱氨酸残基与该抗TfR1抗体共价连接。

[0400] 在一些实施方案中,接头或其一部分通过叠氮化物和炔烃之间的环加成反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接以形成三唑,其中叠氮化物或炔烃可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上。在一些实施方案中,炔烃可以是环炔烃,例如环辛炔。在一些实施方案中,炔烃可以是双环壬炔(也称为双环[6.1.0]壬炔或BCN)或经取代的双环壬炔。在一些实施方案中,环辛炔如国际专利申请公开W02011136645中所述,其于2011年11月3日公开,标题为“Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click

Reactions”。在一些实施方案中,叠氮化物可以是包含叠氮化物的糖或碳水化合物分子。在一些实施方案中,叠氮化物可以是6-叠氮基-6-脱氧半乳糖或6-叠氮基-N-乙酰半乳糖胺。在一些实施方案中,包含叠氮化物的糖或碳水化合物分子如国际专利申请公开W02016170186中所述,其于2016年10月27日公开,标题为“Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A $\beta$  (1,4) -N-Acetylgalactosaminyltransferase”。在一些实施方案中,在叠氮化物和炔烃之间进行环加成反应以形成三唑,其中叠氮化物或炔烃可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上,如以下中所述:国际专利申请公开W02014065661,其于2014年5月1日公开,标题为“Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof”;或国际专利申请公开W02016170186,其于2016年10月27日公开,标题为“Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A  $\beta$  (1,4) -N-Acetylgalactosaminyltransferase”。

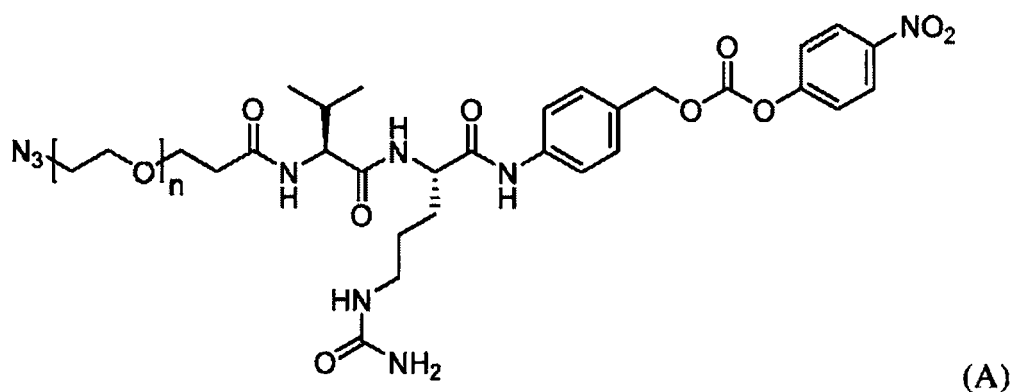
[0401] 在一些实施方案中,接头包含间隔基,例如聚乙二醇间隔基或酰基/胺甲酰基磺酰胺间隔基,例如HydraSpace<sup>TM</sup>间隔基。在一些实施方案中,间隔基如Verkade, J.M.M. et al., “A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Stability, and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates”, *Antibodies*, 2018, 7, 12中所述。

[0402] 在一些实施方案中,接头通过亲二烯体和二烯/杂二烯之间的第尔斯-阿尔德反应(Diels-Alder reaction)与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接,其中亲二烯体或二烯/杂二烯可位于抗TfR1抗体、分子载荷或接头上。在一些实施方案中,接头通过其他周环反应(pericyclic reaction),例如烯反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过酰胺、硫代酰胺或磺酰胺键合反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,接头通过缩合反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接,以形成存在于接头和抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷之间的脲、脘或氨基脲基团。

[0403] 在一些实施方案中,接头通过亲核体(例如胺或羟基)和亲电体(例如羧酸、碳酸或醛)之间的共轭加成反应与抗TfR1抗体和/或(例如,和)分子载荷共价连接。在一些实施方案中,在进行接头和抗TfR1抗体或分子载荷之间的反应之前,亲核体可存在于接头上并且亲电体可存在于抗TfR1抗体或分子载荷上。在一些实施方案中,在进行接头和抗TfR1抗体或分子载荷之间的反应之前,亲电体可存在于接头上并且亲核体可存在于抗TfR1抗体或分子载荷上。在一些实施方案中,亲电体可以是叠氮化物、五氟苯基、硅中心、羰基、羧酸、酸酐、异氰酸酯、硫代异氰酸酯、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、马来酰亚胺、烷基卤化物、烷基假卤化物、环氧化物、环硫化物、氮丙啶、芳基、活化的磷中心和/或活化的硫中心。在一些实施方案中,亲核体可以是任选经取代的烯烃、任选经取代的炔烃、任选经取代的芳基、任选经取代的杂环基、羟基、氨基、烷基氨基、苯胺基和/或硫醇基。

[0404] 在一些实施方案中,接头包含与反应性化学部分(例如,用于点击化学的叠氮化物部分或BCN部分)共价连接的缬氨酸-瓜氨酸序列。在一些实施方案中,包含与反应性化学部分(例如,用于点击化学的叠氮化物部分)共价连接的缬氨酸-瓜氨酸序列的接头包含以下结构:

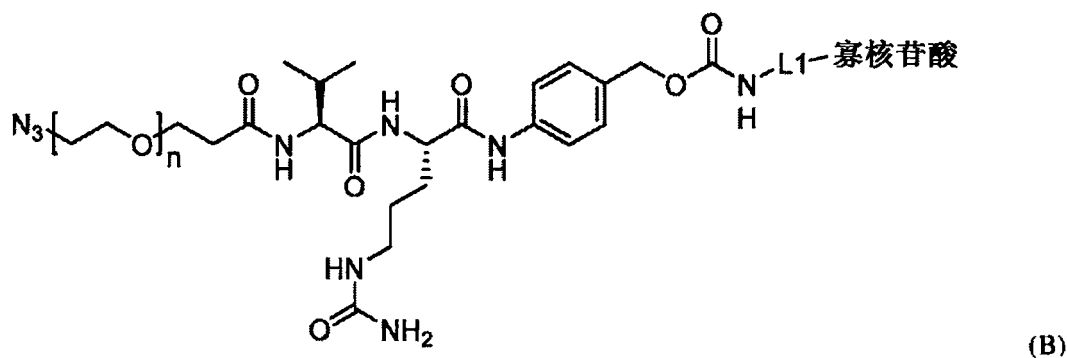
[0405]



[0406] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0407] 在一些实施方案中,包含式(A)结构的接头与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接(例如,任选地经由另外的化学部分)。在一些实施方案中,包含式(A)结构的接头与寡核苷酸共价连接(例如通过与胺-L1-寡核苷酸形成氨基甲酸酯键的亲核取代),产生包含以下结构的化合物:

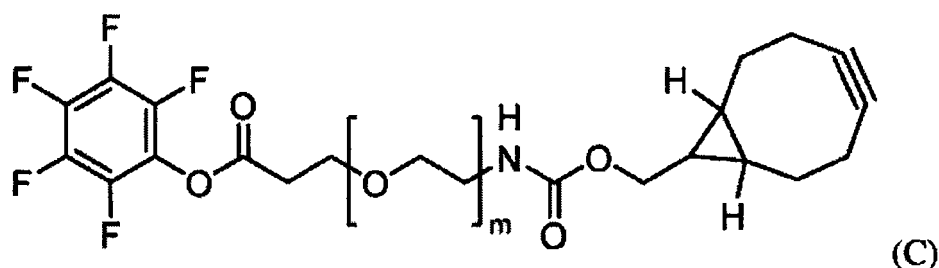
[0408]



[0409] 其中n是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3。

[0410] 在一些实施方案中,式(B)化合物通过三唑还与另外的部分共价连接,其中三唑通过式(A)或式(B)的叠氮化物与双环壬炔上提供的炔烃之间的点击反应形成。在一些实施方案中,包含双环壬炔的化合物包含以下结构:

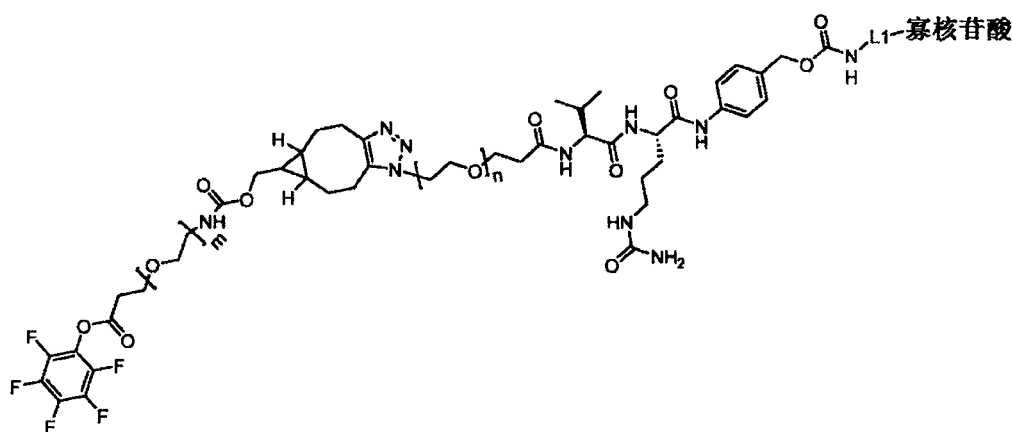
[0411]



[0412] 其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,m是4。

[0413] 在一些实施方案中,结构(B)的化合物的叠氮化物通过与结构(C)的化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的化合物:

[0414]

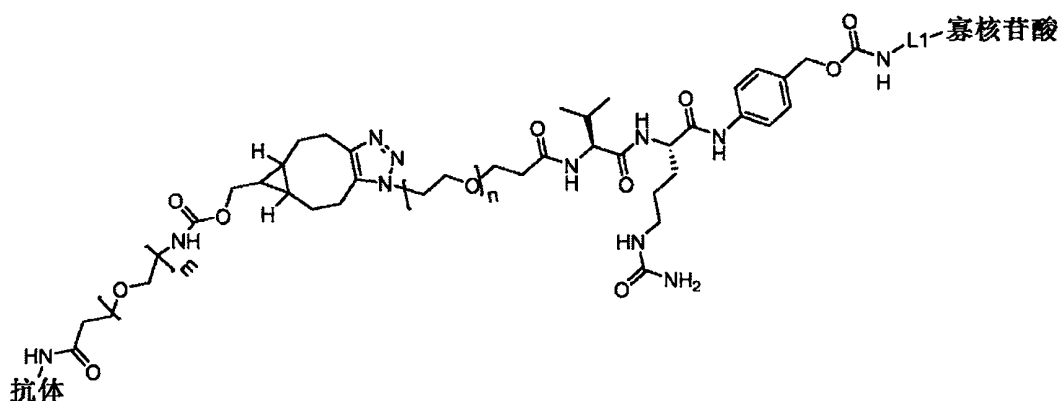


(D).

[0415] 其中n是0至10的任意数字,并且其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3并且m是4。

[0416] 在一些实施方案中,结构(D)的化合物还与抗TfR1抗体的赖氨酸共价连接,形成包含以下结构的复合物:

[0417]

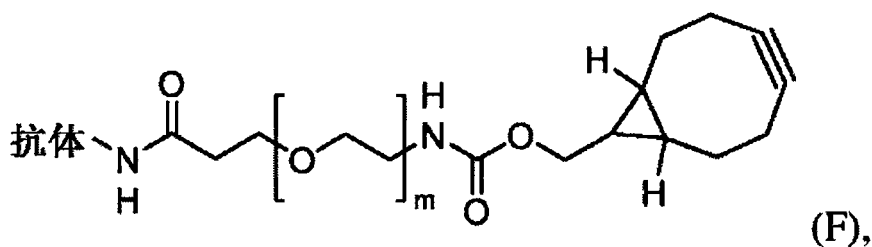


(E).

[0418] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。应理解,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0419] 在一些实施方案中,式(C)化合物还与抗TfR1抗体的赖氨酸共价连接,形成包含以下结构的化合物:

[0420]

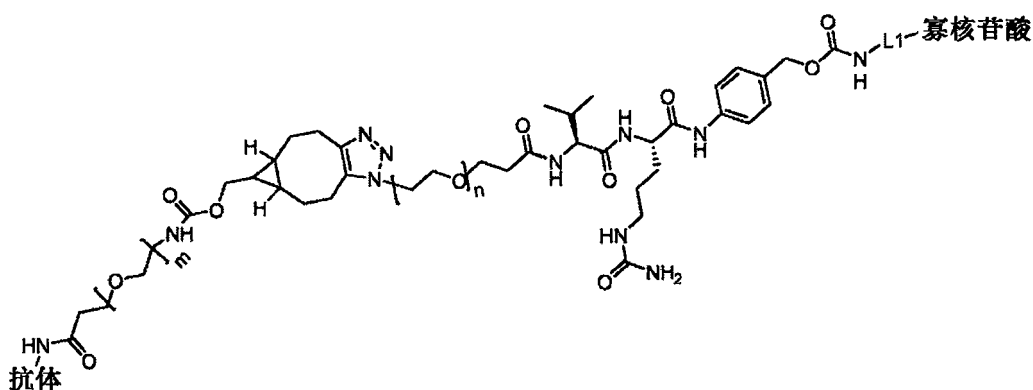


(F),

[0421] 其中m是0至15(例如,4)。应理解,在式(F)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0422] 在一些实施方案中,结构(B)的化合物的叠氮化物通过与结构(F)的化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的复合物:

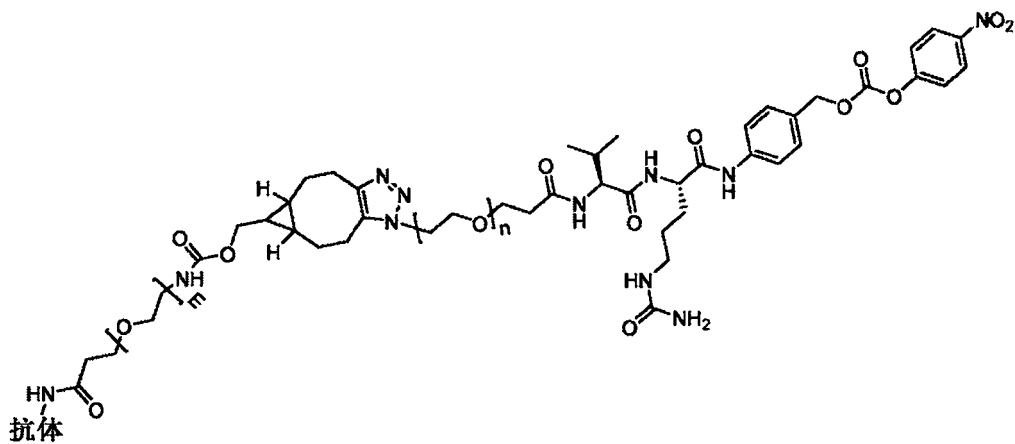
[0423]



[0424] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。应理解,在式(E)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0425] 在一些实施方案中,结构(A)的化合物的叠氮化物通过与结构(F)的化合物的炔烃的点击反应形成三唑,形成包含以下结构的化合物:

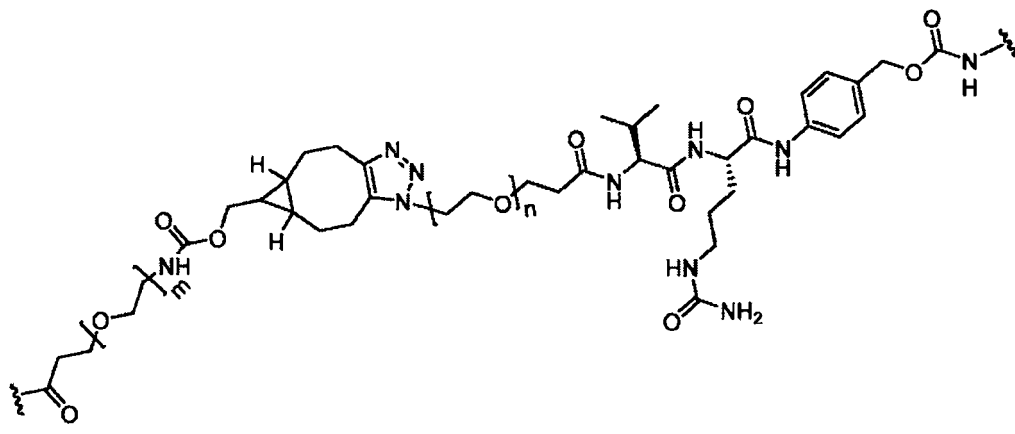
[0426]



[0427] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。在一些实施方案中,寡核苷酸与包含式(G)结构的化合物共价连接,从而形成包含式(E)结构的复合物。应理解,在式(G)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0428] 在一些实施方案中,在本文中所述的任一复合物中,抗TfR1抗体经由包含以下结构的接头通过抗TfR1抗体的赖氨酸与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接:

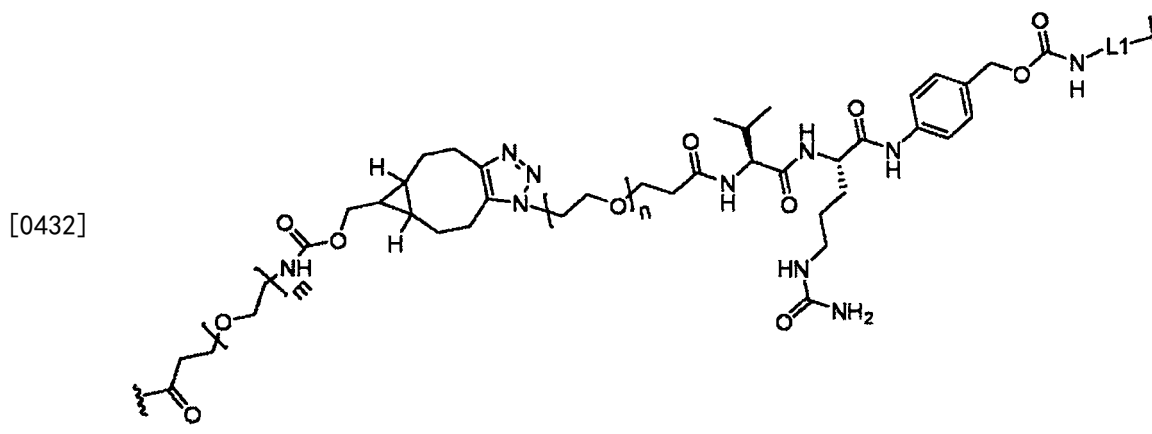
[0429]



[0430] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3

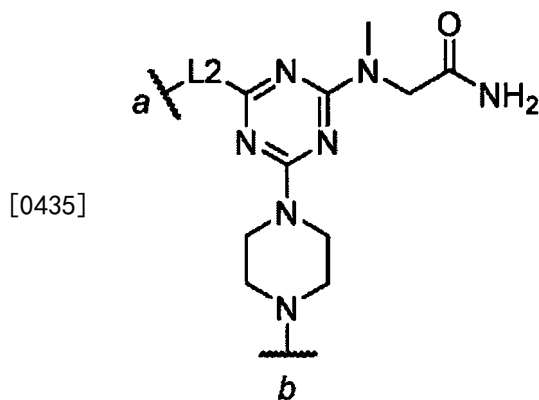
和/或(例如,和)m是4。

[0431] 在一些实施方案中,在本文所述的任一复合物中,抗TfR1抗体通过抗TfR1抗体的赖氨酸经由包含以下结构的接头与分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接:

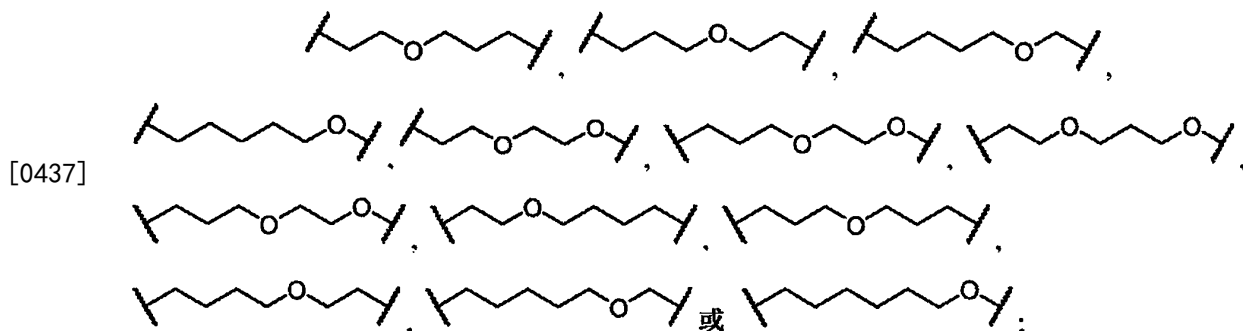


[0433] 其中n是0至10的任意数字,其中m是0至10的任意数字。在一些实施方案中,n是3和/或(例如,和)m是4。

[0434] 在一些实施方案中,在式(B)、(D)、(E)和(I)中,L1是间隔基,所述间隔基是经取代或未经取代的脂族、经取代或未经取代的杂脂族、经取代或未经取代的亚碳环基(carbocyclene)、经取代或未经取代的亚杂环基、经取代或未经取代的亚芳基、经取代或未经取代的亚杂芳基、-O-, -N(R<sup>A</sup>)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>C(=O)-, -NR<sup>A</sup>C(=O)R<sup>A</sup>-, -C(=O)R<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>C(=O)O-, -NR<sup>A</sup>C(=O)N(R<sup>A</sup>)-, -OC(=O)-, -oC(=o)o-, -OC(=O)N(R<sup>A</sup>)-, -S(O)<sub>2</sub>NR<sup>A</sup>-, -NR<sup>A</sup>S(O)<sub>2</sub>-,或其组合,其中每个R<sup>A</sup>独立地是氢或者经取代或未经取代的烷基。在一些实施方案中,L1是



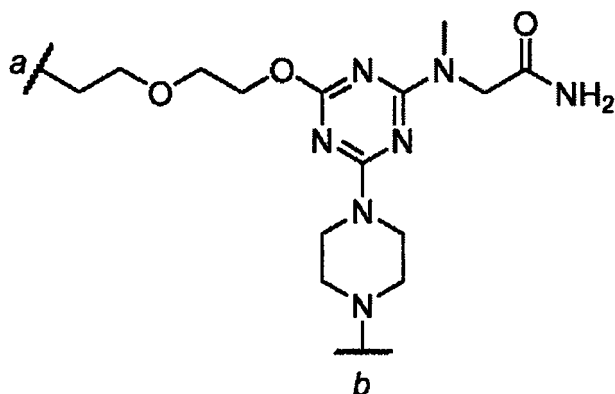
[0436] 其中L2是



[0438] 其中a标记与式(B)、(D)、(E)和(I)的氨基甲酸酯部分直接连接的位点;以及b标记

与寡核苷酸共价连接(直接或通过另外的化学部分进行连接)的位点。

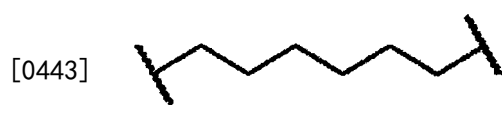
[0439] 在一些实施方案中,L1是:



[0440]

[0441] 其中a标记与式(B)、(D)、(E)和(I)的氨基甲酸酯部分直接连接的位点;以及b标记与寡核苷酸共价连接(直接或通过另外的化学部分进行连接)的位点。

[0442] 在一些实施方案中,L1是



[0443]

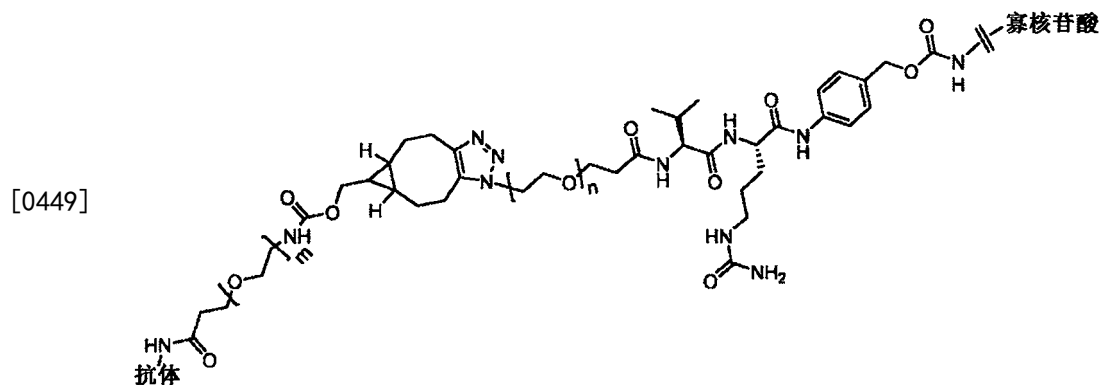
[0444] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 硫代磷酸酯连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 膦酰胺酯(phosphonoamidate)连接。

[0445] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5' 磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

[0446] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的3' 磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的3' 磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

[0447] 在一些实施方案中,L1是任选的(例如,不是必要存在的)。

[0448] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种复合物具有以下结构:

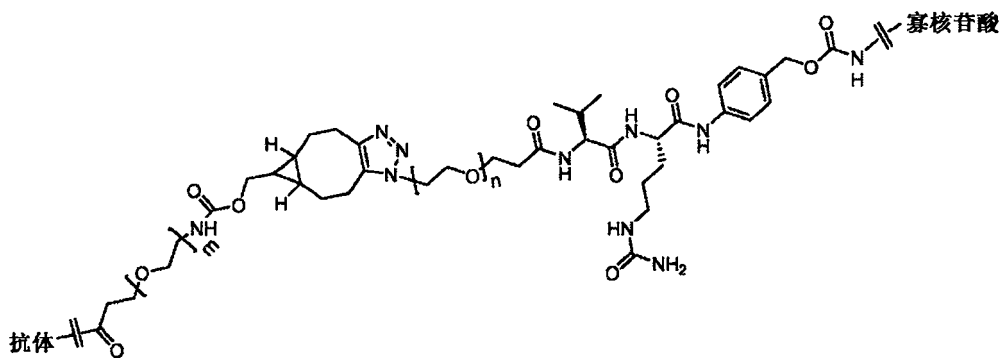


[0449]

[0450] 其中n是0至15(例如3)并且m是0至15(例如4)。应理解,在式(J)中示出的与抗TfR1抗体相邻的酰胺是由与抗TfR1抗体的胺(例如赖氨酸ε胺)的反应产生的。

[0451] 在一些实施方案中,本文中所述的任一种复合物具有以下结构:

[0452]



[0453] 其中n是0至15(例如3)并且m是0至15(例如4)。

[0454] 在一些实施方案中,在与化合物(例如,式(A)或式(G)化合物)连接之前,寡核苷酸经修饰以包含胺基,所述胺基在5'末端、3'末端或内部(例如,作为胺官能化的核碱基)。

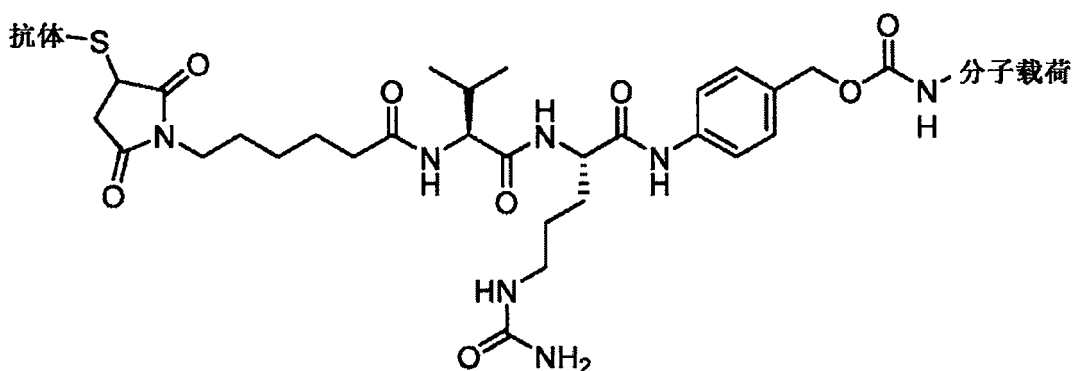
[0455] 尽管在抗TfR1抗体和寡核苷酸分子载荷的上下文中描述了接头缀合,但应理解,预期在其他肌肉靶向剂(例如,其他肌肉靶向抗体)和/或其他分子载荷上使用这样的接头缀合。

[0456] D. 抗体-分子载荷复合物的一些实例

[0457] 本文中还提供了包含与本文中所述的任何分子载荷(例如,寡核苷酸)共价连接的任一种本文中所述的抗TfR1抗体的复合物的一些非限制性实例。在一些实施方案中,抗TfR1抗体(例如,表2至表7中提供的任一种抗TfR1抗体)通过接头与分子载荷(例如,寡核苷酸,例如表8中提供的寡核苷酸)共价连接。可使用本文中所述的任何接头。在一些实施方案中,如果分子载荷是寡核苷酸,则接头与寡核苷酸的5'末端、3'末端或内部共价连接。在一些实施方案中,接头通过硫醇反应性键联(例如,通过抗TfR1抗体中的半胱氨酸)与抗TfR1抗体共价连接。在一些实施方案中,接头通过胺基(例如,通过抗体中的赖氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)共价连接。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

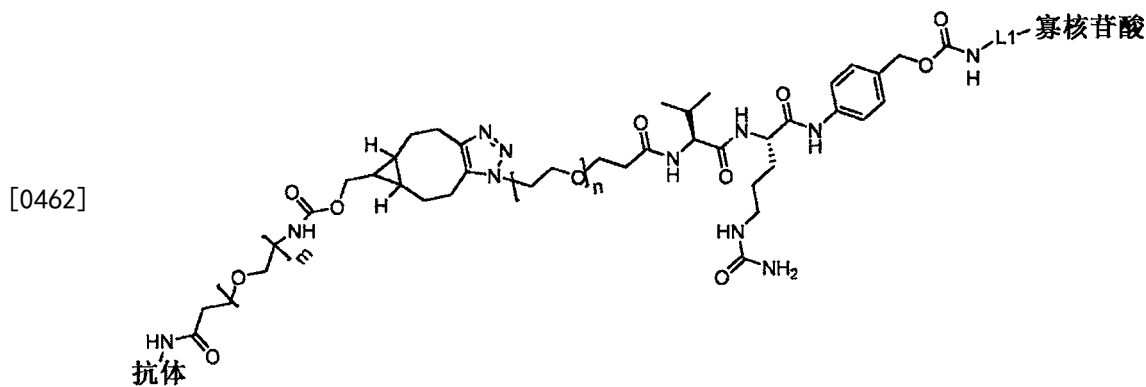
[0458] 以下提供了复合物的结构的一个实例,其包含通过接头与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体:

[0459]

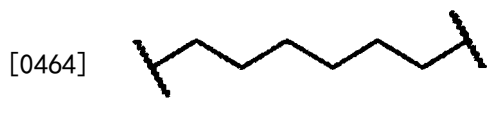


[0460] 其中接头通过硫醇反应性键联(例如,通过抗体中的半胱氨酸)与抗体共价连接。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0461] 以下提供了复合物的结构的另一个实例,其包含通过接头与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体:



[0463] 其中n是0至10的数字,其中m是0至10的数字,其中接头通过胺基(例如,赖氨酸残基上的)与抗体共价连接,和/或(例如,和)其中接头与寡核苷酸(例如,在5'末端、3'末端或内部)共价连接。在一些实施方案中,接头通过赖氨酸与抗体共价连接,接头在5'末端与寡核苷酸共价连接,n是3并且m是4。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。在一些实施方案中,L1是



[0465] 应理解,抗体可与具有不同化学计量的分子载荷共价连接,该特性可被称为药物抗体比(drug to antibody ratio,DAR),其中“药物”是分子载荷。在一些实施方案中,一个分子载荷与一个抗体共价连接(DAR=1)。在一些实施方案中,两个分子载荷与一个抗体共价连接(DAR=2)。在一些实施方案中,三个分子载荷与一个抗体共价连接(DAR=3)。在一些实施方案中,四个分子载荷与一个抗体共价连接(DAR=4)。在一些实施方案中,提供了不同复合物的混合物,每种复合物具有不同的DAR。在一些实施方案中,这样的混合物中的复合物的平均DAR可在1至3、1至4、1至5或更大的范围内。可通过将分子载荷缀合至抗体上的不同位点和/或(例如,和)通过将多聚体缀合至抗体上的一个或更多个位点来提高DAR。例如,可通过将单个分子载荷缀合至抗体上的两个不同位点或通过将二聚体分子载荷缀合至抗体的单个位点来实现DAR为2。

[0466] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的本文中所述的抗TfR1抗体(例如,表2至7中提供的抗体)。在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过接头与分子载荷共价连接的本文中所述的抗TfR1抗体(例如,表2至7中提供的抗体)。在一些实施方案中,接头通过硫醇反应性键联(例如,通过抗体中的半胱氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)共价连接。在一些实施方案中,接头通过胺基(例如,通过抗体中的赖氨酸)与抗体(例如,本文中所述的抗TfR1抗体)共价连接。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0467] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表2中列出的任一种抗体的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0468] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:72的氨基酸

序列的VH和包含含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0469] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73或SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0470] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:73或SEQ ID NO:76的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0471] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0472] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:77或SEQ ID NO:79的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0473] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的VH和包含含有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0474] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86或SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0475] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0476] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0477] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:94的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0478] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗

体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0479] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0480] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98或SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0481] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100或SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0482] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:100或SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

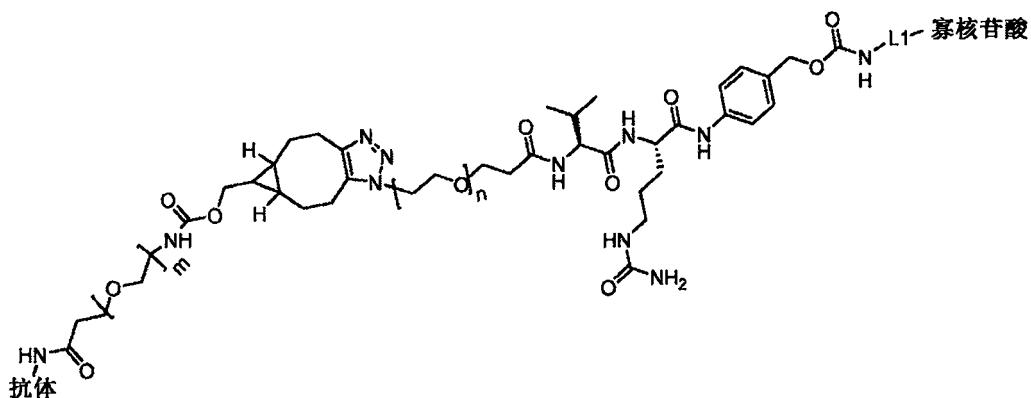
[0483] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0484] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:102或SEQ ID NO:103的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

[0485] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含与分子载荷共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含含有SEQ ID NO:158或SEQ ID NO:159的氨基酸序列的重链和包含含有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,分子载荷是FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)。

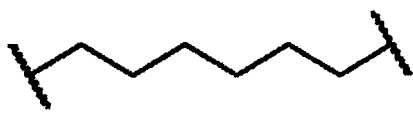
[0486] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表2中列出的任一种抗体的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,其中所述复合物具有以下结构:

[0487]



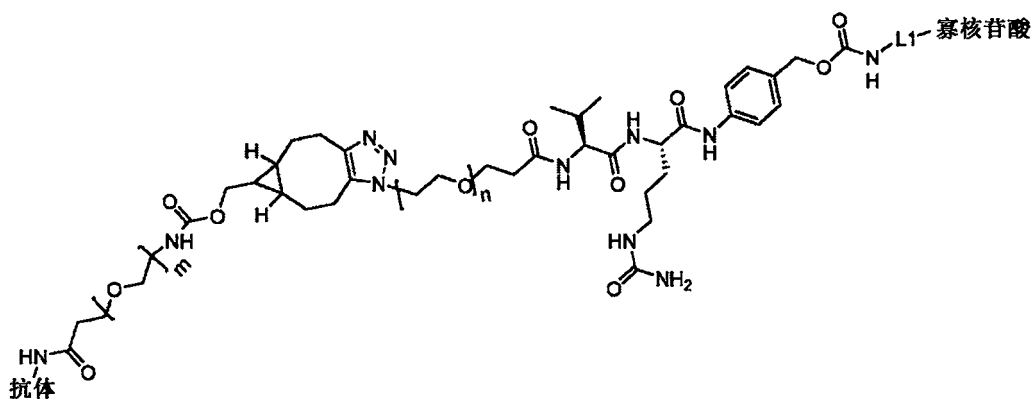
[0488] 其中n是3并且m是4。在一些实施方案中,L1是

[0489]



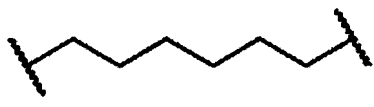
[0490] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表3中列出的任一种抗体的VH和VL,其中所述复合物具有以下结构:

[0491]

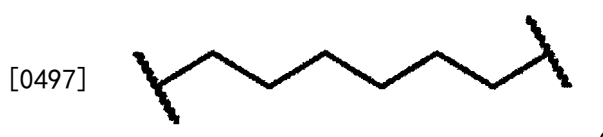
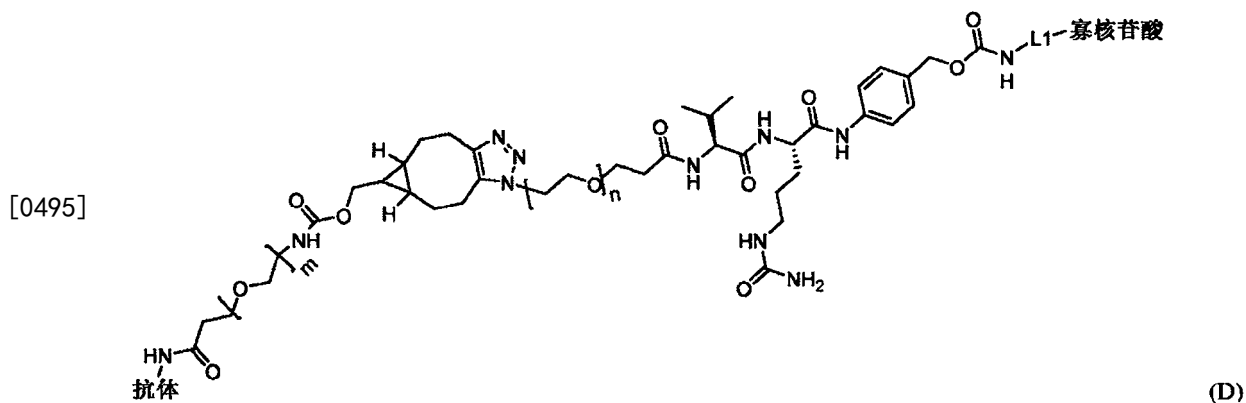


[0492] 其中n是3并且m是4。在一些实施方案中,L1是

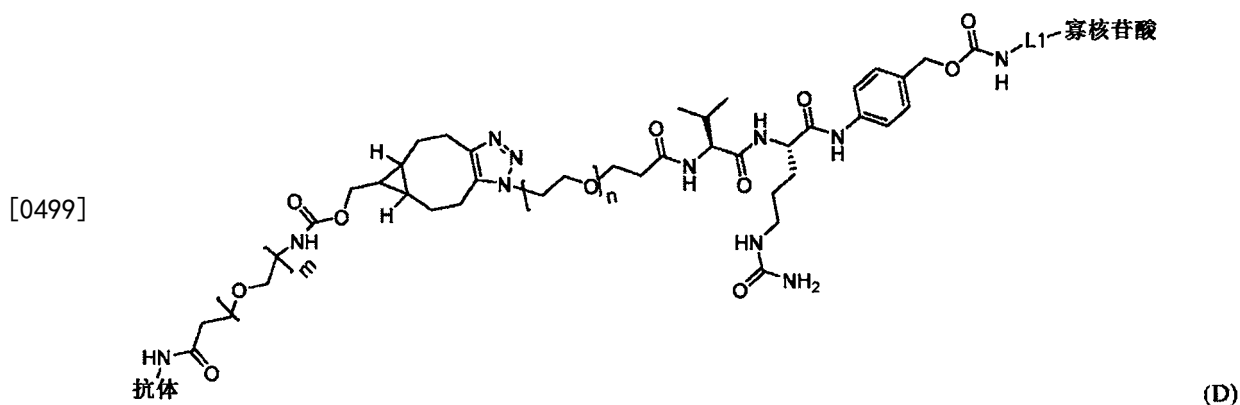
[0493]



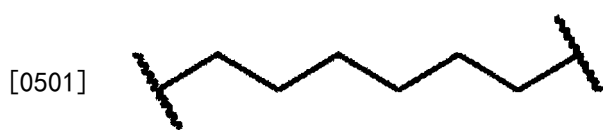
[0494] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1抗体,其中所述抗TfR1抗体包含表4中列出的任一种抗体的重链和轻链,其中所述复合物具有以下结构:



[0498] 在一些实施方案中,本文中所述的复合物包含通过抗TfR1抗体中的赖氨酸与FXN靶向寡核苷酸(例如,表8中列出的FXN靶向寡核苷酸)的5'末端共价连接的抗TfR1 Fab,其中所述抗TfR1 Fab包含表5中列出的任一种抗体的重链和轻链,其中所述复合物具有以下结构:



[0500] 其中n是3并且m是4。在一些实施方案中,L1是



[0502] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'硫代磷酸酯连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酰胺酯连接。

[0503] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的5'磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

[0504] 在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的3'磷酸连接。在一些实施方案中,L1与寡核苷酸的3'磷酸的键联在L1与寡核苷酸之间形成磷酸二酯键。

[0505] 在一些实施方案中,L1是任选的(例如,不是必要存在的)。

[0506] III. 制剂

[0507] 本文中提供的复合物可以以任何合适的方式配制。通常来说,本文中提供的复合物以适用于药物用途的方式配制。例如,可使用使降解最小化、促进递送和/或(例如,和)摄

取或者为制剂中的复合物提供另外的有益特性的制剂将复合物递送至对象。在一些实施方案中,本文中提供了包含复合物和可药用载体的组合物。这样的组合物可适当地配制,使得当施用于对象时,无论是施用至靶细胞的直接环境中或全身性施用,足够量的复合物都能进入靶肌细胞。在一些实施方案中,复合物被配制在缓冲溶液例如磷酸盐缓冲盐水溶液、脂质体、胶束结构和衣壳中。

[0508] 应理解,在一些实施方案中,组合物可分别包含本文中提供的复合物的一种或更多种组分(例如,肌肉靶向剂、接头、分子载荷或它们中任一者的前体分子)。

[0509] 在一些实施方案中,复合物被配制在水或水溶液(例如,用pH调节的水)中。在一些实施方案中,复合物被配制在碱性缓冲水溶液(例如,PBS)中。在一些实施方案中,本文中公开的制剂包含赋形剂。在一些实施方案中,赋形剂赋予组合物以改善的稳定性、改善的吸收、改善的溶解性和/或(例如,和)活性成分的治疗性增强。在一些实施方案中,赋形剂是缓冲剂(例如,柠檬酸钠、磷酸钠、tris碱或氢氧化钠)或载剂(例如,缓冲溶液、矿脂(petrolatum)、二甲基亚砷或矿物油)。

[0510] 在一些实施方案中,将复合物或其组分(例如,寡核苷酸或抗体)冻干用于延长其保质期,并随后在使用(例如,施用于对象)之前制成溶液。因此,包含本文中所述的复合物或其组分的组合物中的赋形剂可以是冻干保护剂(例如,甘露醇、乳糖、聚乙二醇或聚乙烯吡咯烷酮)或崩解温度调节剂(例如,右旋糖酐、ficoll或明胶)。

[0511] 在一些实施方案中,药物组合物被配制成与其预期施用途径相容。施用途径的一些实例包括肠胃外施用,例如静脉内、皮内、皮下施用。通常来说,施用途径是静脉内或皮下的。

[0512] 适用于可注射使用的药物组合物包含无菌水溶液(在具有水溶性时)或分散体,以及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。载体可以是溶剂或分散介质,其包含例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等),及其合适的混合物。在一些实施方案中,组合物中的制剂包含等张剂,例如糖、多元醇例如甘露醇、山梨醇以及氯化钠。无菌可注射溶液可通过将所需量的复合物与以上列举的成分之一或组合(根据需要)一起并入选定的溶剂中,然后过滤灭菌来制备。

[0513] 在一些实施方案中,组合物可包含至少约0.1%的复合物或其组分,或者更多,尽管活性成分的百分比可为总组合物的重量或体积的约1%至约80%或更多。本领域技术人员将考虑制备这样的药物制剂的因素例如溶解性、生物利用度、生物学半衰期、施用途径、产品保质期以及其他药理学考虑因素,并且因此多种剂量和治疗方案可以是期望的。

[0514] IV. 使用/治疗方法

[0515] 包含与本文中所述的分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物在治疗弗里德赖希共济失调(FA)中是有效的。在一些实施方案中,FA与两个FXN等位基因的内含子1中的GAA三核苷酸重复的扩增相关。在一些实施方案中,核苷酸扩增导致表观遗传变化和重复序列附近异染色质的形成,这导致FXN表达降低。

[0516] 在一些实施方案中,对象可以是人对象、非人灵长类对象、啮齿动物对象或任何合适的哺乳动物对象。在一些实施方案中,对象可患有弗里德赖希共济失调。在一些实施方案中,对象具有可任选地包含疾病相关重复的FXN等位基因。在一些实施方案中,对象可具有FXN等位基因,所述FXN等位基因具有扩增的疾病相关重复,所述扩增的疾病相关重复包含

约2至10个重复单元、约2至50个重复单元、约2至100个重复单元、约50至1,000个重复单元、约50至500个重复单元、约50至250个重复单元、约50至100个重复单元、约500至10,000个重复单元、约500至5,000个重复单元、约500至2,500个重复单元、约500至1,000个重复单元或约1,000至10,000个重复单元。在一些实施方案中,对象患有FA的症状,例如肥厚型心肌病、肌肉萎缩或肌无力。在一些实施方案中,对象不患有FA的症状。在一些实施方案中,对象患有先天性肥厚型心肌病。

[0517] 本公开内容的一个方面包括涉及向对象施用有效量的本文中所述的复合物的方法。在一些实施方案中,可向有治疗需要的对象施用有效量的包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物。在一些实施方案中,可通过合适的途径施用包含如本文中所述的复合物的药物组合物,所述途径可包括静脉内施用,例如作为推注(bolus)或通过一段时间内的连续输注。在一些实施方案中,可通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内或鞘内途径进行静脉内施用。在一些实施方案中,药物组合物可以是固体形式、水性形式或液体形式。在一些实施方案中,可将水性或液体形式雾化或冻干。在一些实施方案中,雾化或冻干形式可用水溶液或液体溶液重构。

[0518] 用于静脉内施用的组合物可包含多种载体,例如植物油、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、豆蔻酸异丙酯、乙醇以及多元醇(甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)。对于静脉内注射,水溶性抗体可通过滴注方法施用,通过该方法输注包含抗体和生理学上可接受的赋形剂的药物制剂。生理学上可接受的赋形剂可包括,例如5%右旋糖、0.9%盐水、林格液(Ringer's solution)或其他合适的赋形剂。可将肌内制剂,例如抗体的合适可溶性盐形式的无菌制剂溶解在药用赋形剂例如注射用水、0.9%盐水或5%葡萄糖溶液中并施用。

[0519] 在一些实施方案中,包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物通过位点特异性或局部递送技术施用。这些技术的一些实例包括复合物的可植入储库源、局部递送导管、位点特异性载体、直接注射或直接应用。

[0520] 在一些实施方案中,包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物的药物组合物以赋予对象治疗作用的有效浓度施用。如本领域技术人员所公认的,有效量根据疾病的严重程度、所治疗对象的独特特征(例如年龄、身体状况、健康或体重)、治疗的持续时间、任何同时治疗的性质、施用途径和相关因素而变化。这些相关因素是本领域技术人员已知的,并且仅通过常规实验即可解决。在一些实施方案中,有效浓度是被认为对患者安全的最大剂量。在一些实施方案中,有效浓度将是提供最大效力的最低的可能浓度。

[0521] 经验考虑因素(例如复合物在对象中的半衰期)通常将有助于确定用于治疗的药物组合物的浓度。施用频率可凭经验确定和调整以使治疗效力最大化。

[0522] 可使用任何合适的方法评估治疗的效力。在一些实施方案中,治疗的效力可如下进行评估:通过对与FA相关的症状(例如肥厚型心肌病、肌肉萎缩或肌无力)的观察结果进行的评价,通过对象的自我报告结局(例如移动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适和焦虑/抑郁)的测度,或通过生活质量指标(例如寿命)。

[0523] 在一些实施方案中,将包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物以相对于对照(例如治疗之前基因表达的基线水平)足以抑制至少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%

或至少95%的靶基因活性或表达的有效浓度施用于对象。

[0524] 在一些实施方案中,向对象单次给药或施用包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物足以抑制靶基因的活性或表达持续至少1至5天、1至10天、5至15天、10至20天、15至30天、20至40天、25至50天或更多天。在一些实施方案中,向对象单次给药或施用包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物足以抑制靶基因的活性或表达持续至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20或24周。在一些实施方案中,向对象单次给药或施用包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物足以抑制靶基因的活性或表达持续至少1至5、1至10、2至5、2至10、4至8、4至12、5至10、5至12、5至15、8至12、8至15、10至12、10至15、10至20、12至15、12至20、15至20或15至25周。在一些实施方案中,向对象单次给药或施用包含含有与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的本文中所述的复合物的药物组合物足以抑制靶基因的活性或表达持续至少1、2、3、4、5或6个月。

[0525] 在一些实施方案中,药物组合物可包含多于一种包含与分子载荷共价连接的肌肉靶向剂的复合物。在一些实施方案中,药物组合物还可包含用于治疗对象(例如,患有FA的人对象)的任何其他合适的治疗剂。在一些实施方案中,其他治疗剂可增强或补充本文中所述复合物的效力。在一些实施方案中,其他治疗剂可发挥功能来治疗不同于本文中所述复合物的症状或疾病。

[0526] 实施例

[0527] 实施例1.FXN靶向寡核苷酸(ASO)的体外活性

[0528] 进行体外实验以确定表8中列出的FXN靶向寡核苷酸(ASO)的活性。寡核苷酸靶向包含GAA重复(重复区)的FXN RNA区域。寡核苷酸敲低FXN RNA水平的能力是重复区中靶序列可接近性的指标。寡核苷酸可靶向可接近的靶序列,用于抑制含有扩增重复的FXN RNA与染色体DNA之间形成R-环,从而增强FXN蛋白的表达。

[0529] 为了复制弗里德赖希共济失调的基因表达谱,将内源性FXN mRNA在LS 174T结直肠腺癌细胞中敲低。在敲低之后,将LS 174T细胞以15,000个细胞/孔的密度接种到96孔板中,并孵育过夜。在过夜孵育之后,使用Lipofectamine RNAiMax技术上一式四份地用20nM或5nM的FXN靶向寡核苷酸来转染细胞。将细胞随后孵育72小时,然后将其收获。使用对FXN具有特异性的分支DNA测定来评价转录物水平。将所有的转录物数据归一化为测量GAPDH转录物水平的参照分支DNA测定。将一式四份的值进行平均以报道平均转录物水平。表9示出了在用每种ASO处理之后的平均剩余转录物水平(%),其中转录物水平报道为归一化为GAPDH转录物水平的FXN转录物水平,并在四次重复中取平均值。还报道了每组一式四份的标准偏差。

[0530] 表9.提高FXN在LS 174T细胞中的表达

[0531]

| ASO ID | 20 nM下的平均剩余<br>转录物水平 (%)<br>(±标准偏差) | 5 nM下的平均剩余<br>转录物水平 (%)<br>(±标准偏差) |
|--------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1      | 72.0 ± 3.7                          | 74.3 ± 6.4                         |
| 2      | 64.4 ± 14.6                         | 85.0 ± 15.8                        |
| 3      | 60.5 ± 8.6                          | 82.3 ± 6.2                         |
| 4      | 78.2 ± 7.6                          | 97.1 ± 13.8                        |
| 5      | 84.3 ± 22.7                         | 99.0 ± 13.7                        |
| 6      | 95.8 ± 11.6                         | 99.8 ± 7.1                         |
| 7      | 36.7 ± 5.3                          | 52.5 ± 2.3                         |
| 8      | 38.0 ± 3.6                          | 51.6 ± 3.6                         |
| 9      | 31.4 ± 8.8                          | 47.8 ± 6.7                         |
| 10     | 36.4 ± 3.6                          | 61.1 ± 6.2                         |
| 11     | 58.4 ± 5.0                          | 70.7 ± 6.5                         |
| 12     | 56.0 ± 8.3                          | 82.0 ± 10.1                        |
| 13     | 91.2 ± 5.0                          | 120.7 ± 10.0                       |
| 14     | 91.7 ± 13.1                         | 116.6 ± 10.4                       |
| 15     | 79.5 ± 6.0                          | 120.1 ± 10.8                       |
| 16     | 87.8 ± 4.9                          | 119.1 ± 14.7                       |
| 17     | 83.9 ± 7.4                          | 119.6 ± 12.2                       |
| 18     | 83.9 ± 17.9                         | 122.0 ± 9.3                        |

[0532] \*ASO编号对应于表8中的ASO编号。所有ASO均是表8中所示的经修饰形式。

[0533] 实施例2: FXN靶向ASO- 剂量响应

[0534] 将五种靶向FXN mRNA的ASO (表10) 敲低FXN mRNA的能力在LS 174T结直肠腺癌细胞的剂量响应实验中进行测试。将LS 174T细胞以15,000个细胞/孔的密度接种到96孔板中, 并使其过夜恢复(recover)。第二天, 使用Lipofectamine RNAiMax技术上一式四份地用不同浓度的FXN靶向ASO转染细胞。将细胞孵育72小时并收获。进行了剂量响应分析(包括计算测试的ASO的IC20和IC50值), 并且结果在表10中示出。

[0535] 表10. 使用FXN靶向寡核苷酸(ASO)的萤光素酶报道子测定

[0536]

| ASO ID | IC20 [pM] | IC50 [pM] | 最大抑制 [%] |
|--------|-----------|-----------|----------|
| 7      | 0.026     | 0.82      | 70.50    |
| 8      | 0.044     | 0.55      | 75.40    |
| 9      | 0.006     | 1.74      | 68.30    |
| 10     | 0.036     | 9.68      | 62.90    |
| 11     | 0.818     | 6.24      | 63.70    |

[0537] \*ASO编号对应于表8中的ASO编号。所有ASO均是表8所示的经修饰形式。

[0538] 实施例3. 包含与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab的缀合物在表达人TfR1的小鼠中的体内活性

[0539] 将包含与DMPK靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3的缀合物在表达人TfR1的小鼠模型中进行测试。抗TfR Fab1 3M12-VH4/VK3通过具有式(I)结构的可切割接头与DMPK靶向寡核苷酸缀合。将缀合物在第0天和第7天以相当于10mg/kg寡核苷酸的剂量施用于小鼠。将小鼠在第14天处死, 并收集不同的肌肉组织并分析组织中的dmpk mRNA水平和寡核苷酸浓度。该缀合物将胫骨前肌中的小鼠野生型dmpk降低了79% (图1A), 腓肠肌中降低了76% (图1B), 心脏中降低了70% (图1C), 以及膈肌中降低了88% (图1D)。图1E至1H示出

了胫骨前肌、腓肠肌、心脏和膈肌中的寡核苷酸分布。

[0540] 这些数据表明,在体内小鼠模型中抗TfR Fab1 3M12-VH4/VK3使得缀合物能够细胞内化至肌肉特异性组织中,从而允许DMPK靶向寡核苷酸降低DMPK的表达。类似地,抗TfR1抗体(例如,抗TfR1 Fab 3M12-VH4/VK3)可使得包含与FXN靶向寡核苷酸缀合的抗TfR1抗体的缀合物能够进行细胞内化,以增强FXN蛋白表达。

[0541] 等同方案和术语

[0542] 本文中举例说明性地描述的公开内容可在不存在本文中未具体公开的任何一个或更多个要素、一个或更多个限制的情况下适当地实践。因此,例如,在本文中的每种情况下,术语“包含/包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”中的任一个可用其他两个术语中的任一个替换。已采用的术语和表达作为描述而非限制的术语使用,并且使用这样的术语和表达不旨在排除所示出和所描述的特征的任何等同形式或其一部分,而是应认识到,在所公开内容的范围内可进行多种修改。因此,应理解,尽管已通过一些优选的实施方案、任选的特征具体公开了本公开内容,但是本领域技术人员可获取本文中所公开概念的修改和变化,并且这样的修改和变化被认为是在本公开内容的范围内。

[0543] 另外,在根据马库什组(Markush group)或其他替代组描述本公开内容的特征或方面的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开内容也因此以马库什组或其他组的任何个体成员或成员亚组的方式描述。

[0544] 应理解,在一些实施方案中,在描述寡核苷酸或其他核酸的结构时可参考序列表中所示的序列。在这样的实施方案中,实际的寡核苷酸或其他核酸与指定序列相比可具有一个或更多个替代核苷酸或核苷(例如,DNA核苷的RNA对应物或RNA核苷的DNA对应物)和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷酸/核苷和/或者(例如,和)一个或更多个经修饰核苷间键联和/或者(例如,和)一个或更多个其他修饰,同时保留与指定序列基本相同或相似的互补特性。

[0545] 除非在本文中另外指明或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在所附权利要求的上下文中)使用没有数量词修饰的名词将被解释为一个/种或更多个/种。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”将被解释为开放式术语(即,意指“包括但不限于”)。除非本文中另外指明,否则本文中值范围的记载仅旨在用作分别指代落入该范围内的每个单独值的速记方法,并且每个单独值均被并入说明书中,如同其在本文中被单独记载一样。除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本文中所述的所有方法均可以以任何合适的顺序进行。除非另有说明,否则本文中提供的任何和所有实例或示例性语言(如“例如”)的使用仅仅旨在更好地说明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的语言均不应被解释为表示对本发明的实践必要的任何未要求保护的要素。

[0546] 本文中描述了本发明的一些实施方案。在阅读前述说明之后,那些实施实施方案的变化方案对于本领域普通技术人员可变得明显。

[0547] 本发明人预期技术人员在适当时采用这样的变化方案,并且本发明人希望以除本文中具体描述的之外的方式实践本发明。因此,如适用法律所允许的,本发明包括在此所附权利要求中记载的主题的所有修改方案和等同方案。此外,除非在本文中另外指明或在其他情况下与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖其所有可能变化方案中的上述要素的任何组

合。本领域技术人员将认识到或仅使用常规实验就能够确定本文中所述的本发明的具体实施方案的许多等同方案。这样的等同方案旨在由所附权利要求书涵盖。

## 序列表

<110> Dyne Therapeutics, Inc.  
<120> 肌肉靶向复合物及其用于治疗弗里德赖希共济失调的用途  
  
<130> D0824.70049W000  
<140> 尚未分配  
<141> 与此同时  
  
<150> US 63/212,816  
<151> 2021-06-21  
  
<160> 206  
  
<170> PatentIn version 3.5  
  
<210> 1  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成  
  
<400> 1  
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr  
1 5

[0001]

<210> 2  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 2

Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr  
1 5

<210> 3  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 3

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr  
1 5 10

<210> 4  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 4

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr  
1 5 10

<210> 5

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 5

Arg Met Ser  
1

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr  
1 5

[0002]

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 7

Asp Asp Tyr Met Tyr  
1 5

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 8

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Asp

<210> 9

<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 9

Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr  
1 5

<210> 10  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 10

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe  
1 5 10 15

<210> 11  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0003] <220>  
<223> 合成

<400> 11

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser  
1 5

<210> 12  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 12

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
1 5

<210> 13  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 13

Glu Asn Gly  
1

<210> 14  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 14

Leu Arg Arg Gly Leu Asp  
1 5

<210> 15  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 15

Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr  
1 5 10

<210> 16  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0004]

<220>  
<223> 合成

<400> 16

His Leu Glu Tyr Pro Phe  
1 5

<210> 17  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 17

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 18  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 18

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

[0005]

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His  
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 19  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 19

Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr  
1 5

<210> 20  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 20

Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Asp

<210> 21  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 21

Glu Thr Gly  
 1

[0006]

<210> 22  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 22

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
 50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

|        | 100                                                                          | 105 | 110 |
|--------|------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
|        | Val Thr Val Ser Ser<br>115                                                   |     |     |
|        | <210> 23<br><211> 8<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |     |     |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |     |     |
|        | <400> 23                                                                     |     |     |
|        | Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr<br>1 5                                       |     |     |
|        | <210> 24<br><211> 17<br><212> PRT<br><213> 人工序列                              |     |     |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |     |     |
|        | <400> 24                                                                     |     |     |
|        | Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln<br>1 5 10 15 |     |     |
| [0007] | Asp                                                                          |     |     |
|        | <210> 25<br><211> 3<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |     |     |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |     |     |
|        | <400> 25                                                                     |     |     |
|        | Glu Ser Gly<br>1                                                             |     |     |
|        | <210> 26<br><211> 117<br><212> PRT<br><213> 人工序列                             |     |     |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |     |     |
|        | <400> 26                                                                     |     |     |
|        | Glu Val Gln Leu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala<br>1 5 10 15     |     |     |
|        | Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp              |     |     |

|        | 20                                                                             | 25 | 30 |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|----|----|
|        | Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile<br>35 40 45    |    |    |
|        | Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe<br>50 55 60    |    |    |
|        | Gln Asp Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr<br>65 70 75 80 |    |    |
|        | Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys<br>85 90 95    |    |    |
|        | Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser<br>100 105 110 |    |    |
|        | Val Thr Val Ser Ser<br>115                                                     |    |    |
|        | <210> 27<br><211> 9<br><212> PRT<br><213> 人工序列                                 |    |    |
| [0008] | <220><br><223> 合成                                                              |    |    |
|        | <400> 27                                                                       |    |    |
|        | Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr<br>1 5                                     |    |    |
|        | <210> 28<br><211> 7<br><212> PRT<br><213> 人工序列                                 |    |    |
|        | <220><br><223> 合成                                                              |    |    |
|        | <400> 28                                                                       |    |    |
|        | Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn<br>1 5                                             |    |    |
|        | <210> 29<br><211> 12<br><212> PRT<br><213> 人工序列                                |    |    |
|        | <220><br><223> 合成                                                              |    |    |
|        | <400> 29                                                                       |    |    |
|        | Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr<br>1 5 10                      |    |    |

<210> 30  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 30

Gln Asp Ile Ser Asn Phe  
1 5

<210> 31  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 31

Tyr Thr Ser  
1

<210> 32  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0009] <220>  
<223> 合成

<400> 32

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 33  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 33

Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn  
1 5

<210> 34  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 34

Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn

|        | 1                                                                                                                                                                                                           | 5 | 10 | 15 |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|----|----|
|        | <p>&lt;210&gt; 35<br/>&lt;211&gt; 10<br/>&lt;212&gt; PRT<br/>&lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; 合成</p> <p>&lt;400&gt; 35</p> <p>Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr<br/>1 5 10</p>     |   |    |    |
|        | <p>&lt;210&gt; 36<br/>&lt;211&gt; 11<br/>&lt;212&gt; PRT<br/>&lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; 合成</p> <p>&lt;400&gt; 36</p> <p>Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn<br/>1 5 10</p> |   |    |    |
| [0010] | <p>&lt;210&gt; 37<br/>&lt;211&gt; 7<br/>&lt;212&gt; PRT<br/>&lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; 合成</p> <p>&lt;400&gt; 37</p> <p>Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser<br/>1 5</p>                     |   |    |    |
|        | <p>&lt;210&gt; 38<br/>&lt;211&gt; 8<br/>&lt;212&gt; PRT<br/>&lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; 合成</p> <p>&lt;400&gt; 38</p> <p>Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr<br/>1 5</p>                 |   |    |    |
|        | <p>&lt;210&gt; 39<br/>&lt;211&gt; 3<br/>&lt;212&gt; PRT<br/>&lt;213&gt; 人工序列</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; 合成</p> <p>&lt;400&gt; 39</p>                                                                |   |    |    |

|        |                                                                              |  |
|--------|------------------------------------------------------------------------------|--|
|        | Phe Asp Gly<br>1                                                             |  |
|        | <210> 40<br><211> 8<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |  |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |  |
|        | <400> 40                                                                     |  |
|        | Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp<br>1 5                                       |  |
|        | <210> 41<br><211> 7<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |  |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |  |
|        | <400> 41                                                                     |  |
|        | Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe<br>1 5                                           |  |
| [0011] | <210> 42<br><211> 6<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |  |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |  |
|        | <400> 42                                                                     |  |
|        | Gly His Thr Leu Pro Tyr<br>1 5                                               |  |
|        | <210> 43<br><211> 119<br><212> PRT<br><213> 人工序列                             |  |
|        | <220><br><223> 合成                                                            |  |
|        | <400> 43                                                                     |  |
|        | Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln<br>1 5 10 15 |  |
|        | Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly<br>20 25 30  |  |
|        | Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp<br>35 40 45  |  |

Met Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
115

<210> 44  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly  
1 5 10 15

[0012]

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Val Ser Asn Leu Glu Gln  
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 45  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 45

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Cys  
1 5

<210> 46  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 46

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr  
1 5

<210> 47  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 47

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr  
1 5 10

[0013] <210> 48  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 48

Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe  
1 5 10

<210> 49  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 49

Arg Ala Ser  
1

<210> 50  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 50

Gln Gln Ser Ser Glu Asp Pro Trp Thr  
1 5

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 51

Asp Tyr Cys Ile Asn  
1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 52

Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe Lys  
1 5 10 15

[0014]

Gly

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 53

Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr  
1 5 10

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 54

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe Met His  
1 5 10 15

<210> 55

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 55

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
1 5

<210> 56  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 56

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
1 5

<210> 57  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0015] <220>  
<223> 合成

<400> 57

Gly Ser Gly  
1

<210> 58  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 58

Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp  
1 5

<210> 59  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 59

Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr Asp Asn Ser Phe  
1 5 10

<210> 60  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 60

Ser Ser Glu Asp Pro Trp  
 1 5

<210> 61  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 61

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

[0016] Cys Ile Asn Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 62  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 62

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

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

<210> 63  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0017]

<220>  
 <223> 合成  
 <400> 63

|                                 |
|---------------------------------|
| Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Tyr |
| 1 5                             |

<210> 64  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成  
 <400> 64

|                     |
|---------------------|
| Asp Tyr Tyr Ile Asn |
| 1 5                 |

<210> 65  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成  
 <400> 65

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala |
| 1 5 10 15                                                       |

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe  
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 66  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0018]

<220>  
<223> 合成

<400> 66

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asp  
1 5

<210> 67  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 67

Asp Tyr Asp Ile Asn  
1 5

<210> 68  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 68

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

|        | 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|        | Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr | 20  | 25  | 30  |
|        | Asp Ile Asn Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile | 35  | 40  | 45  |
|        | Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe | 50  | 55  | 60  |
|        | Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr | 65  | 70  | 75  |
|        | Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys | 85  | 90  | 95  |
|        | Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln | 100 | 105 | 110 |
|        | Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser                                 | 115 | 120 |     |
| [0019] | <210> 69                                                        |     |     |     |
|        | <211> 117                                                       |     |     |     |
|        | <212> PRT                                                       |     |     |     |
|        | <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
|        | <220>                                                           |     |     |     |
|        | <223> 合成                                                        |     |     |     |
|        | <400> 69                                                        |     |     |     |
|        | Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala | 5   | 10  | 15  |
|        | Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp | 20  | 25  | 30  |
|        | Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile | 35  | 40  | 45  |
|        | Gly Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe | 50  | 55  | 60  |
|        | Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr | 65  | 70  | 75  |
|        | Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | 85  | 90  | 95  |
|        | Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu | 100 | 105 | 110 |

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 70  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 70

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

[0020]

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His  
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 71  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 72  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

[0021]

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 73  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 73

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

[0022]

<210> 74  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

|        | 100                                                             | 105 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|
|        | <210> 75<br><211> 107<br><212> PRT<br><213> 人工序列                |     |
|        | <220><br><223> 合成                                               |     |
|        | <400> 75                                                        |     |
|        | Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly |     |
|        | 1 5 10 15                                                       |     |
|        | Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe |     |
|        | 20 25 30                                                        |     |
|        | Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile |     |
|        | 35 40 45                                                        |     |
|        | Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |     |
|        | 50 55 60                                                        |     |
|        | Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro |     |
|        | 65 70 75 80                                                     |     |
| [0023] | Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr |     |
|        | 85 90 95                                                        |     |
|        | Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys                     |     |
|        | 100 105                                                         |     |
|        | <210> 76<br><211> 119<br><212> PRT<br><213> 人工序列                |     |
|        | <220><br><223> 合成                                               |     |
|        | <400> 76                                                        |     |
|        | Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln |     |
|        | 1 5 10 15                                                       |     |
|        | Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly |     |
|        | 20 25 30                                                        |     |
|        | Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp |     |
|        | 35 40 45                                                        |     |
|        | Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu |     |
|        | 50 55 60                                                        |     |
|        | Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser |     |

|        | 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|        | Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys | 85  | 90  | 95  |
|        | Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly | 100 | 105 | 110 |
|        | Thr Thr Val Thr Val Ser Ser                                     | 115 |     |     |
|        | <210> 77                                                        |     |     |     |
|        | <211> 120                                                       |     |     |     |
|        | <212> PRT                                                       |     |     |     |
|        | <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
|        | <220>                                                           |     |     |     |
|        | <223> 合成                                                        |     |     |     |
|        | <400> 77                                                        |     |     |     |
|        | Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala | 5   | 10  | 15  |
|        | Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr | 20  | 25  | 30  |
| [0024] | Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met | 35  | 40  | 45  |
|        | Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe | 50  | 55  | 60  |
|        | Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr | 65  | 70  | 80  |
|        | Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | 85  | 90  | 95  |
|        | Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln | 100 | 105 | 110 |
|        | Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                 | 115 | 120 |     |
|        | <210> 78                                                        |     |     |     |
|        | <211> 111                                                       |     |     |     |
|        | <212> PRT                                                       |     |     |     |
|        | <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
|        | <220>                                                           |     |     |     |
|        | <223> 合成                                                        |     |     |     |
|        | <400> 78                                                        |     |     |     |
|        | Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly |     |     |     |

| 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr | 20  | 25  | 30  |
| Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro | 35  | 40  | 45  |
| Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp | 50  | 55  | 60  |
| Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser | 65  | 70  | 75  |
| Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser | 85  | 90  | 95  |
| Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys     | 100 | 105 | 110 |
| <210> 79                                                        |     |     |     |
| <211> 120                                                       |     |     |     |
| <212> PRT                                                       |     |     |     |
| <213> 人工序列                                                      |     |     |     |
| <220>                                                           |     |     |     |
| [0025] <223> 合成                                                 |     |     |     |
| <400> 79                                                        |     |     |     |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala | 1   | 5   | 10  |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr | 20  | 25  | 30  |
| Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met | 35  | 40  | 45  |
| Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe | 50  | 55  | 60  |
| Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr | 65  | 70  | 75  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | 85  | 90  | 95  |
| Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln | 100 | 105 | 110 |
| Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                 | 115 | 120 |     |

<210> 80  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 80

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr  
 20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser  
 85 90 95

[0026]

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 81  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 81

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

|        |       |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Lys   | Val  | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys |  |
|        |       |      |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
|        | Pro   | Ala  | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro |  |
|        |       |      | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
|        | Lys   | Pro  | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys |  |
|        |       | 130  |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Val   | Val  | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp |  |
|        | 145   |      |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Tyr   | Val  | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu |  |
|        |       |      |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Glu   | Gln  | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu |  |
|        |       |      |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | His   | Gln  | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn |  |
|        |       |      | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Lys   | Ala  | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly |  |
|        |       | 210  |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| [0027] | Gln   | Pro  | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu |  |
|        | 225   |      |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Leu   | Thr  | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr |  |
|        |       |      |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Pro   | Ser  | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn |  |
|        |       |      |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Asn   | Tyr  | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe |  |
|        |       | 275  |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Leu   | Tyr  | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn |  |
|        |       | 290  |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Val   | Phe  | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr |  |
|        | 305   |      |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Gln   | Lys  | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |  |
|        |       |      |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <210> | 82   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <211> | 330  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <212> | PRT  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <213> | 人工序列 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <220> |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 82

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
100 105 110

[0028]

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325 330

<210> 83  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 83

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
1 5 10 15

[0029]

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
100 105

<210> 84  
<211> 447  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 84

|                                                                        |     |     |     |     |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala        | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp        | 20  | 25  | 30  |     |
| Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile        | 35  | 40  | 45  |     |
| Gly Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe        | 50  | 55  | 60  |     |
| Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr        | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys        | 85  | 90  | 95  |     |
| Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu        | 100 | 105 | 110 |     |
| Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu        | 115 | 120 | 125 |     |
| [0030] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys | 130 | 135 | 140 |     |
| Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser        | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser        | 165 | 170 | 175 |     |
| Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser        | 180 | 185 | 190 |     |
| Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn        | 195 | 200 | 205 |     |
| Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His        | 210 | 215 | 220 |     |
| Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val        | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr        | 245 | 250 | 255 |     |
| Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu        | 260 | 265 | 270 |     |

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445  
 <210> 85  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成  
 <400> 85  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu Phe Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

[0031]

|        |       |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Asp   | Arg  | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Lys | Ile |  |
|        | 65    |      |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
|        | Ser   | Arg  | Val | Glu | Ala | Glu | Asp | Val | Gly | Val | Tyr | Tyr | Cys | Met | Gln | His |  |
|        |       |      |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |  |
|        | Leu   | Glu  | Tyr | Pro | Phe | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |  |
|        |       |      |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
|        | Arg   | Thr  | Val | Ala | Ala | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Ser | Asp | Glu |  |
|        |       |      | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
|        | Gln   | Leu  | Lys | Ser | Gly | Thr | Ala | Ser | Val | Val | Cys | Leu | Leu | Asn | Asn | Phe |  |
|        | 130   |      |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Tyr   | Pro  | Arg | Glu | Ala | Lys | Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn | Ala | Leu | Gln |  |
|        | 145   |      |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Ser   | Gly  | Asn | Ser | Gln | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser | Lys | Asp | Ser |  |
|        |       |      |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Thr   | Tyr  | Ser | Leu | Ser | Ser | Thr | Leu | Thr | Leu | Ser | Lys | Ala | Asp | Tyr | Glu |  |
|        |       |      |     | 180 |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| [0032] | Lys   | His  | Lys | Val | Tyr | Ala | Cys | Glu | Val | Thr | His | Gln | Gly | Leu | Ser | Ser |  |
|        |       |      | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Pro   | Val  | Thr | Lys | Ser | Phe | Asn | Arg | Gly | Glu | Cys |     |     |     |     |     |  |
|        |       | 210  |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <210> | 86   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <211> | 447  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <212> | PRT  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <213> | 人工序列 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <220> |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <223> | 合成   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <400> | 86   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | Glu   | Val  | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ser | Glu | Leu | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |  |
|        | 1     |      |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
|        | Ser   | Val  | Lys | Val | Ser | Cys | Thr | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys | Asp | Asp |  |
|        |       |      |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
|        | Tyr   | Met  | Tyr | Trp | Val | Arg | Gln | Pro | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Ile |  |
|        |       |      | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
|        | Gly   | Trp  | Ile | Asp | Pro | Glu | Ser | Gly | Asp | Thr | Glu | Tyr | Ala | Ser | Lys | Phe |  |
|        |       | 50   |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Gln | Asp | Arg | Val | Thr | Val | Thr | Ala | Asp | Thr | Ser | Thr | Asn | Thr | Ala | Tyr |  |
|        | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
|        | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|        |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
|        | Thr | Leu | Trp | Leu | Arg | Arg | Gly | Leu | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu |  |
|        |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
|        | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu |  |
|        |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
|        | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys |  |
|        |     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| [0033] | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val |  |
|        |     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr |  |
|        |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser |  |
|        |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys |  |
|        |     | 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile |  |
|        |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445  
 <210> 87  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 [0034] <220>  
 <223> 合成  
 <400> 87  
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 20 25 30  
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys |  |
|        | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn |  |
|        |     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His |  |
|        | 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr |  |
|        |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| [0035] | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser |  |
|        | 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys |  |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile |  |
|        |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro |  |
|        |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu |  |
|        |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn |  |
|        | 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser |  |
|        | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 88

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 88

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
20 25 30

[0036] Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser |  |
|        |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn |  |
|        |     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val |  |
|        |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| [0037] | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu |  |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys |  |
|        |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr |  |
|        |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr |  |
|        |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu |  |
|        |     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu |  |
|        | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|        | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys |  |
|        |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
|        | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu |  |
|        |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
|        | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly |  |
|        |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |

Lys

<210> 89  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

&lt;400&gt; 89

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe  
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

[0038]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 90  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe  
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Val Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

[0039] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Tyr  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 91  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 91

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
 35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
 65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

[0040]

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240

|        |       |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ser   | Val  | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser |  |
|        |       |      |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Arg   | Thr  | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp |  |
|        |       |      |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Pro   | Glu  | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn |  |
|        |       |      | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Ala   | Lys  | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val |  |
|        |       | 290  |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Val   | Ser  | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu |  |
|        | 305   |      |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Tyr   | Lys  | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys |  |
|        |       |      |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Thr   | Ile  | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr |  |
|        |       |      |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Leu   | Pro  | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr |  |
|        |       |      | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| [0041] | Cys   | Leu  | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu |  |
|        |       | 370  |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Ser   | Asn  | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu |  |
|        | 385   |      |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|        | Asp   | Ser  | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys |  |
|        |       |      |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
|        | Ser   | Arg  | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu |  |
|        |       |      |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
|        | Ala   | Leu  | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly |  |
|        |       |      | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | Lys   |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <210> | 92   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <211> | 450  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <212> | PRT  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <213> | 人工序列 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <220> |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <223> | 合成   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <400> | 92   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Gln | Val | Gln | Leu | Val | Gln | Ser | Gly | Ala | Glu | Val | Lys | Lys | Pro | Gly | Ala |  |
|        | 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
|        | Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Ser | Phe | Thr | Asp | Tyr |  |
|        |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
|        | Tyr | Ile | Asn | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |  |
|        |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
|        | Gly | Trp | Ile | Tyr | Pro | Gly | Ser | Gly | Asn | Thr | Arg | Tyr | Ser | Glu | Arg | Phe |  |
|        |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Ala | Ser | Thr | Ala | Tyr |  |
|        | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
|        | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|        |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
|        | Ala | Arg | Glu | Asp | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | His | Gly | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |  |
|        |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
|        | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |  |
|        |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| [0042] | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala |  |
|        |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |  |
|        | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile |  |
|        |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |  |

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 [0043] Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 405 410 415  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 420 425 430  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440 445  
 Gly Lys  
 450  
 <210> 93  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成  
 <400> 93  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr  
 20 25 30  
 Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser  
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
165 170 175

[0044] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 94  
<211> 450  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 94

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Gly | Trp | Ile | Tyr | Pro | Gly | Ser | Gly | Asn | Thr | Arg | Tyr | Ser | Glu | Arg | Phe |  |
|        | 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Ala | Ser | Thr | Ala | Tyr |  |
|        | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
|        | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|        |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
|        | Ala | Arg | Glu | Asp | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | His | Gly | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |  |
|        |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |  |
|        | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |  |
|        |     |     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |  |
|        | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala |  |
|        |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| [0045] | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |  |
|        | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile |  |
|        |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg |  |
|        |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys |  |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 405 410 415  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 420 425 430  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440 445  
 Gly Lys  
 450

[0046]

<210> 95  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 95

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Gly Tyr  
 20 25 30

Asp Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser  
 85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

[0047]

<210> 96  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 96

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
100 105

<210> 97  
<211> 225  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 97

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

[0048]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr  
225

<210> 98  
<211> 225  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Ser Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

[0049] Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr  
225

<210> 99  
<211> 225  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 99

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
50 55 60

[0050]

Gln Asp Arg Val Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Leu Trp Leu Arg Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr  
225

<210> 100  
<211> 227  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 100

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
35 40 45

[0051] Met Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr  
225

<210> 101  
<211> 227  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 101

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
35 40 45

[0052]

Ile Gly Tyr Ile Thr Phe Asp Gly Ala Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Asn Arg Val Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Ser Ser Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr  
225

<210> 102  
<211> 228  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 102

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

[0053] Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
210 215 220

Lys Thr His Thr  
225

<210> 103  
<211> 228  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 103

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

[0054]

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Glu Arg Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Pro Tyr His Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
210 215 220

Lys Thr His Thr  
225

<210> 104  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 104

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser

[0055]

<210> 105  
<211> 760  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 105

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu  
1 5 10 15

Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp  
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala  
35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly  
50 55 60

Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly  
65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr  
85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro

|        | 100                                                             | 105 | 110 |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|        | Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys | 115 | 120 | 125 |
|        | Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Gly Thr Ile | 130 | 135 | 140 |
|        | Lys Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln | 145 | 150 | 155 |
|        | Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe | 165 | 170 | 175 |
|        | Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val | 180 | 185 | 190 |
|        | Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg | 195 | 200 | 205 |
|        | Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys | 210 | 215 | 220 |
|        | Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys | 225 | 230 | 235 |
| [0056] | Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile | 245 | 250 | 255 |
|        | Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu | 260 | 265 | 270 |
|        | Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe | 275 | 280 | 285 |
|        | Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly | 290 | 295 | 300 |
|        | Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln | 305 | 310 | 315 |
|        | Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr | 325 | 330 | 335 |
|        | Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp | 340 | 345 | 350 |
|        | Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser | 355 | 360 | 365 |
|        | Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Ile |     |     |     |

| 370                                                                                | 375 | 380 |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp<br>385 390 395 400 |     |     |
| His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala<br>405 410 415     |     |     |
| Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met<br>420 425 430     |     |     |
| Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile<br>435 440 445     |     |     |
| Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr<br>450 455 460     |     |     |
| Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr<br>465 470 475 480 |     |     |
| Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val<br>485 490 495     |     |     |
| Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn<br>500 505 510     |     |     |
| [0057]                                                                             |     |     |
| Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp<br>515 520 525     |     |     |
| Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe<br>530 535 540     |     |     |
| Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp<br>545 550 555 560 |     |     |
| Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu<br>565 570 575     |     |     |
| Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu<br>580 585 590     |     |     |
| Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn<br>595 600 605     |     |     |
| Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp<br>610 615 620     |     |     |
| Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln<br>625 630 635 640 |     |     |
| Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu                    |     |     |

|        | 645                                                                                | 650 | 655 |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
|        | Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys<br>660 665 670     |     |     |
|        | Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro<br>675 680 685     |     |     |
|        | Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser<br>690 695 700     |     |     |
|        | Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys<br>705 710 715 720 |     |     |
|        | Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala<br>725 730 735     |     |     |
|        | Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp<br>740 745 750     |     |     |
|        | Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe<br>755 760                                         |     |     |
| [0058] | <210> 106                                                                          |     |     |
|        | <211> 760                                                                          |     |     |
|        | <212> PRT                                                                          |     |     |
|        | <213> 恒河猴 (Macaca mulatta)                                                         |     |     |
|        | <400> 106                                                                          |     |     |
|        | Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu<br>1 5 10 15       |     |     |
|        | Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp<br>20 25 30        |     |     |
|        | Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Gly Val Asp Glu Glu Glu Asn Thr<br>35 40 45        |     |     |
|        | Asp Asn Asn Thr Lys Pro Asn Gly Thr Lys Pro Lys Arg Cys Gly Gly<br>50 55 60        |     |     |
|        | Asn Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Ile Phe Phe Leu Ile Gly<br>65 70 75 80     |     |     |
|        | Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr<br>85 90 95        |     |     |
|        | Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Ala Arg Glu Glu Pro<br>100 105 110     |     |     |
|        | Glu Glu Asp Phe Pro Ala Ala Pro Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys<br>115 120 125     |     |     |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Arg | Lys | Leu | Ser | Glu | Lys | Leu | Asp | Thr | Thr | Asp | Phe | Thr | Ser | Thr | Ile |  |
|        | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Leu | Leu | Asn | Glu | Asn | Leu | Tyr | Val | Pro | Arg | Glu | Ala | Gly | Ser | Gln |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Lys | Asp | Glu | Asn | Leu | Ala | Leu | Tyr | Ile | Glu | Asn | Gln | Phe | Arg | Glu | Phe |  |
|        |     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Lys | Leu | Ser | Lys | Val | Trp | Arg | Asp | Gln | His | Phe | Val | Lys | Ile | Gln | Val |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | Lys | Asp | Ser | Ala | Gln | Asn | Ser | Val | Ile | Ile | Val | Asp | Lys | Asn | Gly | Gly |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Leu | Val | Tyr | Leu | Val | Glu | Asn | Pro | Gly | Gly | Tyr | Val | Ala | Tyr | Ser | Lys |  |
|        | 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Ala | Ala | Thr | Val | Thr | Gly | Lys | Leu | Val | His | Ala | Asn | Phe | Gly | Thr | Lys |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Lys | Asp | Phe | Glu | Asp | Leu | Asp | Ser | Pro | Val | Asn | Gly | Ser | Ile | Val | Ile |  |
|        |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| [0059] | Val | Arg | Ala | Gly | Lys | Ile | Thr | Phe | Ala | Glu | Lys | Val | Ala | Asn | Ala | Glu |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Ser | Leu | Asn | Ala | Ile | Gly | Val | Leu | Ile | Tyr | Met | Asp | Gln | Thr | Lys | Phe |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Pro | Ile | Val | Lys | Ala | Asp | Leu | Ser | Phe | Phe | Gly | His | Ala | His | Leu | Gly |  |
|        | 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Thr | Gly | Asp | Pro | Tyr | Thr | Pro | Gly | Phe | Pro | Ser | Phe | Asn | His | Thr | Gln |  |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Phe | Pro | Pro | Ser | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Pro | Asn | Ile | Pro | Val | Gln | Thr |  |
|        |     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Ile | Ser | Arg | Ala | Ala | Ala | Glu | Lys | Leu | Phe | Gly | Asn | Met | Glu | Gly | Asp |  |
|        |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Cys | Pro | Ser | Asp | Trp | Lys | Thr | Asp | Ser | Thr | Cys | Lys | Met | Val | Thr | Ser |  |
|        |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Glu | Asn | Lys | Ser | Val | Lys | Leu | Thr | Val | Ser | Asn | Val | Leu | Lys | Glu | Thr |  |
|        | 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Ile | Leu | Asn | Ile | Phe | Gly | Val | Ile | Lys | Gly | Phe | Val | Glu | Pro | Asp |  |
|        | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | His | Tyr | Val | Val | Val | Gly | Ala | Gln | Arg | Asp | Ala | Trp | Gly | Pro | Gly | Ala |  |
|        |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |  |
|        | Ala | Lys | Ser | Ser | Val | Gly | Thr | Ala | Leu | Leu | Leu | Lys | Leu | Ala | Gln | Met |  |
|        |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |  |
|        | Phe | Ser | Asp | Met | Val | Leu | Lys | Asp | Gly | Phe | Gln | Pro | Ser | Arg | Ser | Ile |  |
|        |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | Ile | Phe | Ala | Ser | Trp | Ser | Ala | Gly | Asp | Phe | Gly | Ser | Val | Gly | Ala | Thr |  |
|        |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
|        | Glu | Trp | Leu | Glu | Gly | Tyr | Leu | Ser | Ser | Leu | His | Leu | Lys | Ala | Phe | Thr |  |
|        | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
|        | Tyr | Ile | Asn | Leu | Asp | Lys | Ala | Val | Leu | Gly | Thr | Ser | Asn | Phe | Lys | Val |  |
|        |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
|        | Ser | Ala | Ser | Pro | Leu | Leu | Tyr | Thr | Leu | Ile | Glu | Lys | Thr | Met | Gln | Asp |  |
|        |     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |
|        | Val | Lys | His | Pro | Val | Thr | Gly | Arg | Ser | Leu | Tyr | Gln | Asp | Ser | Asn | Trp |  |
|        |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |
| [0060] | Ala | Ser | Lys | Val | Glu | Lys | Leu | Thr | Leu | Asp | Asn | Ala | Ala | Phe | Pro | Phe |  |
|        |     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Ala | Tyr | Ser | Gly | Ile | Pro | Ala | Val | Ser | Phe | Cys | Phe | Cys | Glu | Asp |  |
|        | 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
|        | Thr | Asp | Tyr | Pro | Tyr | Leu | Gly | Thr | Thr | Met | Asp | Thr | Tyr | Lys | Glu | Leu |  |
|        |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |
|        | Val | Glu | Arg | Ile | Pro | Glu | Leu | Asn | Lys | Val | Ala | Arg | Ala | Ala | Ala | Glu |  |
|        |     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |
|        | Val | Ala | Gly | Gln | Phe | Val | Ile | Lys | Leu | Thr | His | Asp | Thr | Glu | Leu | Asn |  |
|        |     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |
|        | Leu | Asp | Tyr | Glu | Arg | Tyr | Asn | Ser | Gln | Leu | Leu | Leu | Phe | Leu | Arg | Asp |  |
|        |     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Asn | Gln | Tyr | Arg | Ala | Asp | Val | Lys | Glu | Met | Gly | Leu | Ser | Leu | Gln |  |
|        | 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |
|        | Trp | Leu | Tyr | Ser | Ala | Arg | Gly | Asp | Phe | Phe | Arg | Ala | Thr | Ser | Arg | Leu |  |
|        |     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |  |
|        | Thr | Thr | Asp | Phe | Arg | Asn | Ala | Glu | Lys | Arg | Asp | Lys | Phe | Val | Met | Lys |  |
|        |     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |  |

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr Tyr Phe Leu Ser Pro  
675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser  
690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg  
705 710 715 720

Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala  
725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp  
740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe  
755 760

<210> 107

<211> 760

<212> PRT

<213> 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)

<400> 107

[0061] Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu  
1 5 10 15

Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp  
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Gly Val Asp Glu Glu Glu Asn Thr  
35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Gly Thr Lys Pro Lys Arg Cys Gly Gly  
50 55 60

Asn Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Ile Phe Phe Leu Ile Gly  
65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr  
85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Ala Arg Glu Glu Pro  
100 105 110

Glu Glu Asp Phe Pro Ala Ala Pro Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys  
115 120 125

Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Thr Thr Asp Phe Thr Ser Thr Ile  
130 135 140

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|        | Lys | Leu | Leu | Asn | Glu | Asn | Leu | Tyr | Val | Pro | Arg | Glu | Ala | Gly | Ser | Gln |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
|        | Lys | Asp | Glu | Asn | Leu | Ala | Leu | Tyr | Ile | Glu | Asn | Gln | Phe | Arg | Glu | Phe |
|        |     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
|        | Lys | Leu | Ser | Lys | Val | Trp | Arg | Asp | Gln | His | Phe | Val | Lys | Ile | Gln | Val |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
|        | Lys | Asp | Ser | Ala | Gln | Asn | Ser | Val | Ile | Ile | Val | Asp | Lys | Asn | Gly | Gly |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
|        | Leu | Val | Tyr | Leu | Val | Glu | Asn | Pro | Gly | Gly | Tyr | Val | Ala | Tyr | Ser | Lys |
|        | 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
|        | Ala | Ala | Thr | Val | Thr | Gly | Lys | Leu | Val | His | Ala | Asn | Phe | Gly | Thr | Lys |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
|        | Lys | Asp | Phe | Glu | Asp | Leu | Asp | Ser | Pro | Val | Asn | Gly | Ser | Ile | Val | Ile |
|        |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
|        | Val | Arg | Ala | Gly | Lys | Ile | Thr | Phe | Ala | Glu | Lys | Val | Ala | Asn | Ala | Glu |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| [0062] | Ser | Leu | Asn | Ala | Ile | Gly | Val | Leu | Ile | Tyr | Met | Asp | Gln | Thr | Lys | Phe |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
|        | Pro | Ile | Val | Lys | Ala | Asp | Leu | Ser | Phe | Phe | Gly | His | Ala | His | Leu | Gly |
|        | 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
|        | Thr | Gly | Asp | Pro | Tyr | Thr | Pro | Gly | Phe | Pro | Ser | Phe | Asn | His | Thr | Gln |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
|        | Phe | Pro | Pro | Ser | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Pro | Asn | Ile | Pro | Val | Gln | Thr |
|        |     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
|        | Ile | Ser | Arg | Ala | Ala | Ala | Glu | Lys | Leu | Phe | Gly | Asn | Met | Glu | Gly | Asp |
|        |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |
|        | Cys | Pro | Ser | Asp | Trp | Lys | Thr | Asp | Ser | Thr | Cys | Lys | Met | Val | Thr | Ser |
|        |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
|        | Glu | Asn | Lys | Ser | Val | Lys | Leu | Thr | Val | Ser | Asn | Val | Leu | Lys | Glu | Thr |
|        | 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
|        | Lys | Ile | Leu | Asn | Ile | Phe | Gly | Val | Ile | Lys | Gly | Phe | Val | Glu | Pro | Asp |
|        | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
|        | His | Tyr | Val | Val | Val | Gly | Ala | Gln | Arg | Asp | Ala | Trp | Gly | Pro | Gly | Ala |
|        |     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ala | Lys | Ser | Ser | Val | Gly | Thr | Ala | Leu | Leu | Leu | Lys | Leu | Ala | Gln | Met |  |
|        |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
|        | Phe | Ser | Asp | Met | Val | Leu | Lys | Asp | Gly | Phe | Gln | Pro | Ser | Arg | Ser | Ile |  |
|        |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | Ile | Phe | Ala | Ser | Trp | Ser | Ala | Gly | Asp | Phe | Gly | Ser | Val | Gly | Ala | Thr |  |
|        |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
|        | Glu | Trp | Leu | Glu | Gly | Tyr | Leu | Ser | Ser | Leu | His | Leu | Lys | Ala | Phe | Thr |  |
|        | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
|        | Tyr | Ile | Asn | Leu | Asp | Lys | Ala | Val | Leu | Gly | Thr | Ser | Asn | Phe | Lys | Val |  |
|        |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
|        | Ser | Ala | Ser | Pro | Leu | Leu | Tyr | Thr | Leu | Ile | Glu | Lys | Thr | Met | Gln | Asp |  |
|        |     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |
|        | Val | Lys | His | Pro | Val | Thr | Gly | Arg | Ser | Leu | Tyr | Gln | Asp | Ser | Asn | Trp |  |
|        |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |
|        | Ala | Ser | Lys | Val | Glu | Lys | Leu | Thr | Leu | Asp | Asn | Ala | Ala | Phe | Pro | Phe |  |
|        |     |     |     | 530 |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |
| [0063] | Leu | Ala | Tyr | Ser | Gly | Ile | Pro | Ala | Val | Ser | Phe | Cys | Phe | Cys | Glu | Asp |  |
|        | 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
|        | Thr | Asp | Tyr | Pro | Tyr | Leu | Gly | Thr | Thr | Met | Asp | Thr | Tyr | Lys | Glu | Leu |  |
|        |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |
|        | Val | Glu | Arg | Ile | Pro | Glu | Leu | Asn | Lys | Val | Ala | Arg | Ala | Ala | Ala | Glu |  |
|        |     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |
|        | Val | Ala | Gly | Gln | Phe | Val | Ile | Lys | Leu | Thr | His | Asp | Thr | Glu | Leu | Asn |  |
|        |     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |
|        | Leu | Asp | Tyr | Glu | Arg | Tyr | Asn | Ser | Gln | Leu | Leu | Leu | Phe | Leu | Arg | Asp |  |
|        |     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Asn | Gln | Tyr | Arg | Ala | Asp | Val | Lys | Glu | Met | Gly | Leu | Ser | Leu | Gln |  |
|        | 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |
|        | Trp | Leu | Tyr | Ser | Ala | Arg | Gly | Asp | Phe | Phe | Arg | Ala | Thr | Ser | Arg | Leu |  |
|        |     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |  |
|        | Thr | Thr | Asp | Phe | Arg | Asn | Ala | Glu | Lys | Arg | Asp | Lys | Phe | Val | Met | Lys |  |
|        |     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |  |
|        | Lys | Leu | Asn | Asp | Arg | Val | Met | Arg | Val | Glu | Tyr | Tyr | Phe | Leu | Ser | Pro |  |
|        |     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     |     | 685 |     |     |  |

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser  
690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg  
705 710 715 720

Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala  
725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp  
740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe  
755 760

<210> 108  
<211> 763  
<212> PRT  
<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 108

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu  
1 5 10 15

[0064] Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp  
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Ala Asp Glu Glu Glu Asn Ala  
35 40 45

Asp Asn Asn Met Lys Ala Ser Val Arg Lys Pro Lys Arg Phe Asn Gly  
50 55 60

Arg Leu Cys Phe Ala Ala Ile Ala Leu Val Ile Phe Phe Leu Ile Gly  
65 70 75 80

Phe Met Ser Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Arg Val Glu Gln Lys Glu  
85 90 95

Glu Cys Val Lys Leu Ala Glu Thr Glu Glu Thr Asp Lys Ser Glu Thr  
100 105 110

Met Glu Thr Glu Asp Val Pro Thr Ser Ser Arg Leu Tyr Trp Ala Asp  
115 120 125

Leu Lys Thr Leu Leu Ser Glu Lys Leu Asn Ser Ile Glu Phe Ala Asp  
130 135 140

Thr Ile Lys Gln Leu Ser Gln Asn Thr Tyr Thr Pro Arg Glu Ala Gly  
145 150 155 160

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ser | Gln | Lys | Asp | Glu | Ser | Leu | Ala | Tyr | Tyr | Ile | Glu | Asn | Gln | Phe | His |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |  |
|        | Glu | Phe | Lys | Phe | Ser | Lys | Val | Trp | Arg | Asp | Glu | His | Tyr | Val | Lys | Ile |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | Gln | Val | Lys | Ser | Ser | Ile | Gly | Gln | Asn | Met | Val | Thr | Ile | Val | Gln | Ser |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Asn | Gly | Asn | Leu | Asp | Pro | Val | Glu | Ser | Pro | Glu | Gly | Tyr | Val | Ala | Phe |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Ser | Lys | Pro | Thr | Glu | Val | Ser | Gly | Lys | Leu | Val | His | Ala | Asn | Phe | Gly |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Thr | Lys | Lys | Asp | Phe | Glu | Glu | Leu | Ser | Tyr | Ser | Val | Asn | Gly | Ser | Leu |  |
|        |     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Val | Ile | Val | Arg | Ala | Gly | Glu | Ile | Thr | Phe | Ala | Glu | Lys | Val | Ala | Asn |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Ala | Gln | Ser | Phe | Asn | Ala | Ile | Gly | Val | Leu | Ile | Tyr | Met | Asp | Lys | Asn |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| [0065] | Lys | Phe | Pro | Val | Val | Glu | Ala | Asp | Leu | Ala | Leu | Phe | Gly | His | Ala | His |  |
|        |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Leu | Gly | Thr | Gly | Asp | Pro | Tyr | Thr | Pro | Gly | Phe | Pro | Ser | Phe | Asn | His |  |
|        | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     | 320 |     |  |
|        | Thr | Gln | Phe | Pro | Pro | Ser | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Pro | Asn | Ile | Pro | Val |  |
|        |     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Gln | Thr | Ile | Ser | Arg | Ala | Ala | Ala | Glu | Lys | Leu | Phe | Gly | Lys | Met | Glu |  |
|        |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Gly | Ser | Cys | Pro | Ala | Arg | Trp | Asn | Ile | Asp | Ser | Ser | Cys | Lys | Leu | Glu |  |
|        |     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Leu | Ser | Gln | Asn | Gln | Asn | Val | Lys | Leu | Ile | Val | Lys | Asn | Val | Leu | Lys |  |
|        |     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Glu | Arg | Arg | Ile | Leu | Asn | Ile | Phe | Gly | Val | Ile | Lys | Gly | Tyr | Glu | Glu |  |
|        | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|        | Pro | Asp | Arg | Tyr | Val | Val | Val | Gly | Ala | Gln | Arg | Asp | Ala | Leu | Gly | Ala |  |
|        |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |  |
|        | Gly | Val | Ala | Ala | Lys | Ser | Ser | Val | Gly | Thr | Gly | Leu | Leu | Leu | Lys | Leu |  |
|        |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ala | Gln | Val | Phe | Ser | Asp | Met | Ile | Ser | Lys | Asp | Gly | Phe | Arg | Pro | Ser |  |
|        |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | Arg | Ser | Ile | Ile | Phe | Ala | Ser | Trp | Thr | Ala | Gly | Asp | Phe | Gly | Ala | Val |  |
|        |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
|        | Gly | Ala | Thr | Glu | Trp | Leu | Glu | Gly | Tyr | Leu | Ser | Ser | Leu | His | Leu | Lys |  |
|        |     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
|        | Ala | Phe | Thr | Tyr | Ile | Asn | Leu | Asp | Lys | Val | Val | Leu | Gly | Thr | Ser | Asn |  |
|        |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
|        | Phe | Lys | Val | Ser | Ala | Ser | Pro | Leu | Leu | Tyr | Thr | Leu | Met | Gly | Lys | Ile |  |
|        |     |     |     |     | 500 |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |
|        | Met | Gln | Asp | Val | Lys | His | Pro | Val | Asp | Gly | Lys | Ser | Leu | Tyr | Arg | Asp |  |
|        |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |
|        | Ser | Asn | Trp | Ile | Ser | Lys | Val | Glu | Lys | Leu | Ser | Phe | Asp | Asn | Ala | Ala |  |
|        |     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     |     | 540 |     |     |     |  |
|        | Tyr | Pro | Phe | Leu | Ala | Tyr | Ser | Gly | Ile | Pro | Ala | Val | Ser | Phe | Cys | Phe |  |
|        |     | 545 |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
| [0066] | Cys | Glu | Asp | Ala | Asp | Tyr | Pro | Tyr | Leu | Gly | Thr | Arg | Leu | Asp | Thr | Tyr |  |
|        |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |
|        | Glu | Ala | Leu | Thr | Gln | Lys | Val | Pro | Gln | Leu | Asn | Gln | Met | Val | Arg | Thr |  |
|        |     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |
|        | Ala | Ala | Glu | Val | Ala | Gly | Gln | Leu | Ile | Ile | Lys | Leu | Thr | His | Asp | Val |  |
|        |     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |
|        | Glu | Leu | Asn | Leu | Asp | Tyr | Glu | Met | Tyr | Asn | Ser | Lys | Leu | Leu | Ser | Phe |  |
|        |     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |
|        | Met | Lys | Asp | Leu | Asn | Gln | Phe | Lys | Thr | Asp | Ile | Arg | Asp | Met | Gly | Leu |  |
|        |     |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |
|        | Ser | Leu | Gln | Trp | Leu | Tyr | Ser | Ala | Arg | Gly | Asp | Tyr | Phe | Arg | Ala | Thr |  |
|        |     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |  |
|        | Ser | Arg | Leu | Thr | Thr | Asp | Phe | His | Asn | Ala | Glu | Lys | Thr | Asn | Arg | Phe |  |
|        |     |     |     |     | 660 |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |  |
|        | Val | Met | Arg | Glu | Ile | Asn | Asp | Arg | Ile | Met | Lys | Val | Glu | Tyr | His | Phe |  |
|        |     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |  |
|        | Leu | Ser | Pro | Tyr | Val | Ser | Pro | Arg | Glu | Ser | Pro | Phe | Arg | His | Ile | Phe |  |
|        |     |     |     |     |     |     | 695 |     |     |     |     |     | 700 |     |     |     |  |

Trp Gly Ser Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Val Glu Asn Leu Lys  
 705 710 715 720  
 Leu Arg Gln Lys Asn Ile Thr Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn  
 725 730 735  
 Gln Leu Ala Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Val Ala Asn Ala Leu  
 740 745 750  
 Ser Gly Asp Ile Trp Asn Ile Asp Asn Glu Phe  
 755 760  
 <210> 109  
 <211> 197  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成  
 <400> 109  
 Phe Val Lys Ile Gln Val Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile  
 1 5 10 15  
 Val Asp Lys Asn Gly Arg Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly  
 20 25 30  
 [0067] Tyr Val Ala Tyr Ser Lys Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His  
 35 40 45  
 Ala Asn Phe Gly Thr Lys Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val  
 50 55 60  
 Asn Gly Ser Ile Val Ile Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu  
 65 70 75 80  
 Lys Val Ala Asn Ala Glu Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr  
 85 90 95  
 Met Asp Gln Thr Lys Phe Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe  
 100 105 110  
 Gly His Ala His Leu Gly Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro  
 115 120 125  
 Ser Phe Asn His Thr Gln Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro  
 130 135 140  
 Asn Ile Pro Val Gln Thr Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe  
 145 150 155 160  
 Gly Asn Met Glu Gly Asp Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr  
 165 170 175

Cys Arg Met Val Thr Ser Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser  
180 185 190

Asn Val Leu Lys Glu  
195

<210> 110  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 110

Ser Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 111  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 111

[0068] Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Ser

<210> 112  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 112

Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr  
1 5

<210> 113  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 113

Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn Leu Ala  
1 5 10

<210> 114  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 114

Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp  
1 5

<210> 115  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 115

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 116  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0069]

<220>  
<223> 合成

<400> 116

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
1 5

<210> 117  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 117

Asn Pro Thr Asn Gly Arg  
1 5

<210> 118  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 118

Thr Ser Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 119  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 119

Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn  
1 5 10

<210> 120  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 120

Ala Arg Gly Thr Arg Ala  
1 5

[0070]

<210> 121  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 121

Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr  
1 5

<210> 122  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 122

Leu Leu Val Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala  
1 5 10

<210> 123  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

&lt;400&gt; 123

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
1 5

&lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 116

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 124

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

[0071]

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 125

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly  
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val  
35 40 45

Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105

<210> 126  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 126

Gln His Phe Ala Gly Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 127  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

[0072]

<400> 127

Gln His Phe Ala Gly Thr Pro Leu  
1 5

<210> 128  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人源化

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

|        | 85                                                                             | 90 | 95 |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|----|----|
|        | Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val<br>100 105 110 |    |    |
|        | Thr Val Ser Ser<br>115                                                         |    |    |
|        | <210> 129<br><211> 107<br><212> PRT<br><213> 人源化                               |    |    |
|        | <400> 129                                                                      |    |    |
|        | Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly<br>1 5 10 15   |    |    |
|        | Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn<br>20 25 30    |    |    |
|        | Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Val<br>35 40 45    |    |    |
|        | Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly<br>50 55 60    |    |    |
| [0073] | Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro<br>65 70 75 80 |    |    |
|        | Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu<br>85 90 95    |    |    |
|        | Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys<br>100 105                         |    |    |
|        | <210> 130<br><211> 7<br><212> PRT<br><213> 人工序列                                |    |    |
|        | <220><br><223> 合成                                                              |    |    |
|        | <400> 130                                                                      |    |    |
|        | Ala Ser Ser Leu Asn Ile Ala<br>1 5                                             |    |    |
|        | <210> 131<br><211> 12<br><212> PRT<br><213> 人工序列                               |    |    |
|        | <220><br><223> 合成                                                              |    |    |

&lt;400&gt; 131

Ser Lys Thr Phe Asn Thr His Pro Gln Ser Thr Pro  
1 5 10

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 446

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 132

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe  
50 55 60

[0074] Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

|        |       |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Lys   | Val  | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr |  |
|        | 210   |      |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Cys   | Pro  | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |  |
|        | 225   |      |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Leu   | Phe  | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |  |
|        |       |      |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Glu   | Val  | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |  |
|        |       |      |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Lys   | Phe  | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |  |
|        |       |      | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|        | Lys   | Pro  | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val |  |
|        |       | 290  |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Leu   | Thr  | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |  |
|        | 305   |      |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Lys   | Val  | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |  |
|        |       |      |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| [0075] | Lys   | Ala  | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro |  |
|        |       |      |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Ser   | Arg  | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val |  |
|        |       |      | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Lys   | Gly  | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly |  |
|        |       | 370  |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Gln   | Pro  | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp |  |
|        |       | 385  |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|        | Gly   | Ser  | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp |  |
|        |       |      |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
|        | Gln   | Gln  | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His |  |
|        |       |      |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
|        | Asn   | His  | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |  |
|        |       |      | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | <210> | 133  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <211> | 214  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <212> | PRT  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <213> | 人工序列 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <220> |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <223> | 合成   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;400&gt; 133

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly  
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Asp Asn Leu Tyr Ser Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val  
35 40 45

Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

[0076]

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

&lt;210&gt; 134

&lt;211&gt; 446

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 134

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Ser | Val | Lys | Val | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Tyr |  |
|        |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
|        | Trp | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Arg | Leu | Glu | Trp | Ile |  |
|        |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
|        | Gly | Glu | Ile | Asn | Pro | Thr | Asn | Gly | Arg | Thr | Asn | Tyr | Ile | Glu | Lys | Phe |  |
|        |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
|        | Lys | Ser | Arg | Ala | Thr | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Ala | Ser | Thr | Ala | Tyr |  |
|        | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
|        | Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |
|        |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
|        | Ala | Arg | Gly | Thr | Arg | Ala | Tyr | His | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Met | Val |  |
|        |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
|        | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala |  |
|        |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
|        | Pro | Ser | Ser | Lys | Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu |  |
|        |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| [0077] | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly |  |
|        | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
|        | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser |  |
|        |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
|        | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu |  |
|        |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
|        | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr |  |
|        |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
|        | Lys | Val | Asp | Lys | Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr |  |
|        |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
|        | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |  |
|        | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
|        | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |  |
|        |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
|        | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |  |
|        |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
|        | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |  |
|        |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |

|        |       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|--------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|        | Lys   | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val |  |
|        | 290   |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
|        | Leu   | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |  |
|        | 305   |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
|        | Lys   | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |  |
|        |       |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
|        | Lys   | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro |  |
|        |       |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
|        | Ser   | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val |  |
|        |       |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
|        | Lys   | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly |  |
|        | 370   |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
|        | Gln   | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp |  |
|        | 385   |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
|        | Gly   | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp |  |
|        |       |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| [0078] | Gln   | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His |  |
|        |       |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
|        | Asn   | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |  |
|        |       |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
|        | <210> | 135 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <211> | 214 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <212> | PRT |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <213> | 智人  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | <400> | 135 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|        | Asp   | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |  |
|        | 1     |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
|        | Asp   | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Asp | Asn | Leu | Tyr | Ser | Asn |  |
|        |       |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
|        | Leu   | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Val |  |
|        |       |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
|        | Tyr   | Asp | Ala | Thr | Asn | Leu | Ala | Asp | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |  |
|        | 50    |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
|        | Ser   | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Tyr | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |  |
|        | 65    |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
                                     85                                    90                                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
                                     100                                    105                                    110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
                                     115                                    120                                    125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
                                     130                                    135                                    140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
                                     145                                    150                                    155                                    160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
                                     165                                    170                                    175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
                                     180                                    185                                    190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
                                     195                                    200                                    205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
                                     210

[0079]

<210> 136  
 <211> 226  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 136

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1                                    5                                    10                                    15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
                                     20                                    25                                    30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
                                     35                                    40                                    45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe  
                                     50                                    55                                    60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65                                    70                                    75                                    80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
                                     85                                    90                                    95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 210 215 220

[0080] Cys Pro  
 225

<210> 137  
 <211> 226  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Ile Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 210 215 220

[0081] Cys Pro  
 225

<210> 138  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 138

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp  
 1 5

<210> 139  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成

<400> 139

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr  
 1 5

<210> 140  
 <211> 15  
 <212> PRT

|        |                                                                          |
|--------|--------------------------------------------------------------------------|
|        | <213> 人工序列                                                               |
|        | <220>                                                                    |
|        | <223> 合成                                                                 |
|        | <400> 140                                                                |
|        | Ala Arg Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr<br>1 5 10 15 |
|        | <210> 141                                                                |
|        | <211> 6                                                                  |
|        | <212> PRT                                                                |
|        | <213> 人工序列                                                               |
|        | <220>                                                                    |
|        | <223> 合成                                                                 |
|        | <400> 141                                                                |
|        | Gln Ser Ile Ser Ser Tyr<br>1 5                                           |
|        | <210> 142                                                                |
|        | <211> 3                                                                  |
|        | <212> PRT                                                                |
|        | <213> 人工序列                                                               |
|        | <220>                                                                    |
|        | <223> 合成                                                                 |
| [0082] | <400> 142                                                                |
|        | Ala Ala Ser<br>1                                                         |
|        | <210> 143                                                                |
|        | <211> 9                                                                  |
|        | <212> PRT                                                                |
|        | <213> 人工序列                                                               |
|        | <220>                                                                    |
|        | <223> 合成                                                                 |
|        | <400> 143                                                                |
|        | Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr<br>1 5                               |
|        | <210> 144                                                                |
|        | <211> 5                                                                  |
|        | <212> PRT                                                                |
|        | <213> 人工序列                                                               |
|        | <220>                                                                    |
|        | <223> 合成                                                                 |
|        | <400> 144                                                                |
|        | Ser Tyr Trp Ile Gly<br>1 5                                               |
|        | <210> 145                                                                |

<211> 18  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 145

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln  
1 5 10 15

Gly Gln

<210> 146  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 146

Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr  
1 5 10

[0083] <210> 147  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 147

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn  
1 5 10

<210> 148  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 148

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5

<210> 149  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 149

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
1 5

<210> 150  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 150

Gly Asp Ser  
1

<210> 151  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 151

Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp  
1 5 10

[0084] <210> 152  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 152

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
1 5

<210> 153  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 153

Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
1 5

<210> 154  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

&lt;400&gt; 154

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

[0085]

&lt;210&gt; 155

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 155

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 156  
<211> 452  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 156

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

[0086]

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

| 210                                                                                | 215 | 220 |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu<br>225 230 235 240 |     |     |
| Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu<br>245 250 255     |     |     |
| Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser<br>260 265 270     |     |     |
| His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu<br>275 280 285     |     |     |
| Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr<br>290 295 300     |     |     |
| Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn<br>305 310 315 320 |     |     |
| Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro<br>325 330 335     |     |     |
| Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln<br>340 345 350     |     |     |
| [0087]                                                                             |     |     |
| Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val<br>355 360 365     |     |     |
| Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val<br>370 375 380     |     |     |
| Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro<br>385 390 395 400 |     |     |
| Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr<br>405 410 415     |     |     |
| Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val<br>420 425 430     |     |     |
| Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu<br>435 440 445     |     |     |
| Ser Pro Gly Lys<br>450                                                             |     |     |
| <210> 157                                                                          |     |     |
| <211> 214                                                                          |     |     |
| <212> PRT                                                                          |     |     |
| <213> 人工序列                                                                         |     |     |

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 157

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

[0088]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 232

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 158

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
115 120 125

[0089]

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
225 230

&lt;210&gt; 159

&lt;211&gt; 230

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 159

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Phe Pro Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp  
100 105 110

[0090]

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr  
225 230

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 6978

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 160

|                   |            |            |             |             |            |      |
|-------------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------|
| aggcgcgagc        | ggcgcgagc  | cccgagcag  | catgtggact  | ctcgggcgcc  | gcgcagtagc | 60   |
| cggcctcctg        | gcgtcaccca | gcccagccca | ggcccagacc  | ctcaccggg   | tcccgcggcc | 120  |
| ggcagagttg        | gccccactct | gcggccgcg  | tggcctgcgc  | accgacatcg  | atgcgacctg | 180  |
| cacgccccgc        | cgcgcaagtt | cgaaccaacg | tggcctcaac  | cagatttgga  | atgtcaaaaa | 240  |
| gcagagtgtc        | tatttgatga | atttgaggaa | atctggaaact | ttgggccacc  | caggctctct | 300  |
| agatgagacc        | acctatgaaa | gactagcaga | ggaaacgctg  | gactcttttag | cagagttttt | 360  |
| tgaagacctt        | gcagacaagc | catacacgtt | tggagactat  | gatgtctcct  | ttgggagtgg | 420  |
| tgtcttaact        | gtcaaactgg | gtggagatct | aggaacctat  | gtgatcaaca  | agcagacgcc | 480  |
| aaacaagcaa        | atctggctat | ctctccatc  | cagtggacct  | aagcgttatg  | actggactgg | 540  |
| gaaaaactgg        | gtgtactccc | acgacggcgt | gtccctccat  | gagctgctgg  | ccgcagagct | 600  |
| cactaaagcc        | ttaaaaacca | aactggactt | gtcttccttg  | gcctattccg  | gaaaagatgc | 660  |
| ttgatgccca        | gccccgtttt | aaggacatta | aaagctatca  | ggccaagacc  | ccagcttcat | 720  |
| tatgcagctg        | aggctctgtt | ttgtttgttg | ttgtttgtta  | tttttttat   | tcctgctttt | 780  |
| gaggacagtt        | gggctatgtg | tcacagctct | gtagaaagaa  | tgtgttgcc   | cctaccttgc | 840  |
| ccccagttc         | tgatttttaa | ttctatgga  | agattttttg  | gattgtcgga  | tttctccct  | 900  |
| [0091] cacatgatac | cccttatctt | ttataatgtc | ttatgcctat  | acctgaatat  | aacaaccttt | 960  |
| aaaaaagcaa        | aataataaga | aggaaaaatt | ccaggaggga  | aatgaattg   | tcttactct  | 1020 |
| tcattctttg        | aaggatttac | tgcaagaagt | acatgaagag  | cagctggta   | acctgtcac  | 1080 |
| tgttctatct        | ccaaatgaga | cacattaaag | ggtagcctac  | aatgttttc   | aggcttcttt | 1140 |
| caaagtgtaa        | gcacttctga | gtcttttagc | attgaagtgt  | cgaagcaac   | tcacacggga | 1200 |
| agatcatttc        | ttatttgtgc | tctgtgactg | ccaagggtg   | gcctgcactg  | ggttgtccag | 1260 |
| ggagacctag        | tgtgtttct  | cccatatatt | cacatacgtg  | tctgtgtgta  | tatatatttt | 1320 |
| ttcaatttaa        | aggtagtat  | ggaatcagct | gtacaagaa   | tgcaaaaaat  | cttccaaaga | 1380 |
| caagaaaaga        | ggaaaaaag  | ccgttttcat | gagctgagtg  | atgtagcgta  | acaacaaaa  | 1440 |
| tcatggagct        | gaggaggtgc | cttgtaaaca | tgaaggggca  | gataaaggaa  | ggagatactc | 1500 |
| atgttgataa        | agagagccct | ggtcctagac | atagttcagc  | cacaaagtag  | ttgtcccttt | 1560 |
| gtggacaagt        | ttcccaaatt | ccctggacct | ctgcttcccc  | atctgttaaa  | tgagagaata | 1620 |
| gagtatggtt        | gattcccagc | attcagtggt | cctgtcaagc  | aacctaacag  | gctagttcta | 1680 |
| attccctatt        | gggtagatga | ggggatgaca | aagaacagtt  | tttaagctat  | ataggaaaca | 1740 |
| ttgttattgg        | tgttgccta  | tcgtgatttc | agtgaattc   | atgtgaaaat  | aatagccatc | 1800 |
| cttggcctgg        | cgcggtggct | cacacctgta | atcccagcac  | ttttggaggc  | caaggtgggt | 1860 |
| ggatcacctg        | aggtcaggag | ttcaagacca | gcctggccaa  | catgatgaaa  | ccccgtctct | 1920 |
| actaaaaata        | caaaaaatta | gccgggcatg | atggcaggtg  | cctgtaatcc  | cagctacttg | 1980 |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
|        | ggaggctgaa gcggaagaat cgcttgaacc cagagggtgga gggtgcagtg agccgagatc | 2040 |
|        | gtgccattgc actgtaacct gggtagctga gcaaaactct gtctcaaaat aataataaca  | 2100 |
|        | atataataat aataatagcc atcctttatt gtacccttac tgggttaatc gtattatacc  | 2160 |
|        | acattacctc attttaattt ttagtgacct gcactttata caaagcaaca agcctccagg  | 2220 |
|        | acattaaaat tcatgcaaag ttatgctcat gttatattat tttcttactt aaagaaggat  | 2280 |
|        | ttattagtgg ctgggcatgg tggcgtgcac ctgtaatccc aggtactcag gaggctgaga  | 2340 |
|        | cgggagaatt gcttgacccc aggcggagga gggtacagt agtcgagatc gtacctgagc   | 2400 |
|        | gacagagcga gactccgtct caaaaaaaaa aaaaaggagg gtttattaat gagaagtttg  | 2460 |
|        | tattaatatg tagcaaaggc ttttccaatg ggtgaataaa aacacattcc attaagtcaa  | 2520 |
|        | gctgggagca gtggcatata cctatagtcc cagctgcaca ggaggctgag acaggaggat  | 2580 |
|        | tgcttgaagc caggaattgg agatcagcct gggcaacaca gcaagatcct atctcttaaa  | 2640 |
|        | aaaagaaaaa aaaacctatt aataataaaa cagtataaac aaaagctaaa taggtaaaaat | 2700 |
|        | atTTTTctg aaataaaatt atTTTTgag tctgatggaa atgtttaagt gcagtaggcc    | 2760 |
|        | agtgccagt agaaaataaa taacatcata catgtttgta tgtgtttgca tcttgcttct   | 2820 |
|        | actgaaagt ttagtgacc ccacttactt agaactcggg gacatgatgt actcctttat    | 2880 |
|        | ctgggacaca gcacaaaaga ggtatgcagt ggggctgctc tgacatgaaa gtggaagtta  | 2940 |
| [0092] | aggaatctgg gctcttatgg ggtccttggg ggccagccct tcaggcctat tttactttca  | 3000 |
|        | ttttacatat agctctaatt ggtttgatta tctcgttccc aaggcagtgg gagatcccca  | 3060 |
|        | tttaaggaaa gaaaaggggc ctggcacagt ggctcatgcc tgtaatcca gcactttggg   | 3120 |
|        | aggctgaggc aagtgtatca cctgagggtc ggagtccaag accagcctgg ccaacatggc  | 3180 |
|        | aaaatcccgt ctctactaaa aatattaaaa aattggctgg gcgtgggtgt tcgtgcctat  | 3240 |
|        | aatttcagct actcaggagg ctgaggcagg agaatcgctg taacctgggg ggtggaggtt  | 3300 |
|        | gcagtgagac gagatcatgc cacttcactc cagcctggcc aacagagcca tactccgtct  | 3360 |
|        | caaataata aataaataaa taaagggact tcaaacacat gaacagcagc cagggaaga    | 3420 |
|        | atcaaatca tttctgtca agcaactgg aaaagtacca ctgtgtgtac caatagcctc     | 3480 |
|        | cccaccacag acctggggag catcgctca tttatgggtg ggtccagtca tccatgtgaa   | 3540 |
|        | ggatgagttt ccaggaaaag gttattaaat attcactgta acatactgga ggaggtgagg  | 3600 |
|        | aattgcataa tacaatctta gaaaactttt ttttccctt tctattttt gagacaggat    | 3660 |
|        | ctcactttgg cactcaggct ggaggacagt ggtacaatca aagctcatgg cagcctcgac  | 3720 |
|        | ctccctgggc ttgggcaatc ctcccacagg tgtgcacctc catagctggc taatttgtgt  | 3780 |
|        | atTTTTgta gagatggggg ttaccatgtg tgcccaggct ggtctctaac acttaggctc   | 3840 |
|        | aagtgatcca cctgcctcgt cctcccaaga tgctgggatt acagggtgtg gccacagggtg | 3900 |
|        | ttcatcagaa agctttttct attattttta cttctgtgag tgggtagaac ctcagccaca  | 3960 |
|        | tagaaaataa aatgttctgg catgacttat ttagctctct ggaattacaa agaaggaatg  | 4020 |

|        |                                                                     |      |
|--------|---------------------------------------------------------------------|------|
|        | agggtgtgtaa aagagaacct ggggtttttga atcacaaatt tagaatttaa tcgaaactct | 4080 |
|        | gcctcttact tgtttgtaga cactgacagt ggcctcatgt tttttttttt tttaactctat  | 4140 |
|        | aaaatggaga tatctaakat gttgagcctg ggcccacagg caaagcacia tcctgatgtg   | 4200 |
|        | agaagtactc agttcatgac aactgttgtt ctacatgca tagcataatt tcatattcac    | 4260 |
|        | attggaggac ttctcccaaa atatggatga cgttccctac tcaaccttga acttaatcaa   | 4320 |
|        | aatactcagt ttacttaact tcgtattaga ttctgattcc ctggaacctt ttatcgtgtg   | 4380 |
|        | ccttaccatg cttatatattt acttgatctt ttgcatacct tctaaaacta ttttagccaa  | 4440 |
|        | tttaaaattt gacagtittg attaaattat aggtttacaa tatgctttat ccagctatac   | 4500 |
|        | ctgccccaaa ttctgacaga tgcttttgcc acctctaaag gaagacctat gttcatagt    | 4560 |
|        | atggagtttg tgtggactaa ccatgcaagg ttgccaagga aaaatcgctt tacgcttcca   | 4620 |
|        | aggtacacac taagatgaaa gtaatttttag tccgtgtcca gttggattct tggcacatag  | 4680 |
|        | ttatcttctg ctagaacaaa ctaaaacagc tacatgccag caagggagaa aggggaagga   | 4740 |
|        | ggggcaaagt ttgaaattt catgtaaatt tatgctgttc aaaacgacga gttcatgact    | 4800 |
|        | tttgttatag agtaagaaat gccttttctt ttttgagaca gagtcttgct ctgtcaccca   | 4860 |
|        | ggctggagtg cagtggcacg atctgggctc actacaacct ccgcctcctg ggttcaagca   | 4920 |
|        | attctctgcc tcagcctccc gagtagctgg gattacaggt gcctgccacc acaccggct    | 4980 |
| [0093] | aatttttgta ttttagtag agacggggtt tcaccatcat ggccaggctg gtcttgaact    | 5040 |
|        | cctgacctag taatccacct gcctccgcct cccaaagtgc tgggattaca ggctgagcc    | 5100 |
|        | actgcaccca gccagaaatg cttctaatc tttggtttat ctttaattagc caggacactt   | 5160 |
|        | ggagtgcac ccgaagtacc tgatcagtgg cccctttgga atgtgtaaaa ctgagtcac     | 5220 |
|        | ttatatccct gcacccgcta cagagacaga atccaagctc atatgttcca tcttctctgg   | 5280 |
|        | ctgtatagtt taaggaatgg aaggcaccag aacagattta ttgaaatgtt tattagctga   | 5340 |
|        | agatttatit agacagtga ggaaaacac agcaccacgc agtaaaattg gctctcaaag     | 5400 |
|        | attttcttct cctgtggaaa gtcagacctc tgaggcccca tccaggtaga agtactagt    | 5460 |
|        | caagaagggc ctctgctgtc cacttggtt tctgtgatct gtgggaacat tgtaaacgcc    | 5520 |
|        | acatcttgac ctcaaattgt ttagctcctg gccagacacg gtggctcaca cctgtaatcc   | 5580 |
|        | cagcactttg agaggctgag gcaggtggat cacctgaggt taggagttcg aggccagcct   | 5640 |
|        | ggtcaacatg gtaaaacccc gcctctacta aaaatacaaa aattagctgg ccgtagtggc   | 5700 |
|        | gcacgcctgt tatcccagct actcgggagg ctgaggcagg agaattgctt gaacctgggt   | 5760 |
|        | ggtggagggt gcagtgagcc gagattacac cactgcactc cagcctgggt gacaagaggg   | 5820 |
|        | aaactccatt aaaaaaatgt aattcccggt tctgccatct taagtgtaaa ggtggctaaa   | 5880 |
|        | ttatatagaa aaataagaca atatcatttc ccaattacat tcttttcta ccgcactcta    | 5940 |
|        | tgatgctagc tgagattttt ccaaaaagaa atggtctaaa taaaacccta agagaaagaa   | 6000 |
|        | aaactttaaa tccctccaaa gctcaaaagt aatagaaaca gatgagtttg gagtccagat   | 6060 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttctctgtaa gattgcctag gctgtgtact gcacatctcc aggtgccact gttgacagag  | 6120 |
| attataacta caatgtgaag tgaatgggtc cactgacagt tatgcaaacc gtccagagca  | 6180 |
| tagccacctg atcctgctgg gattcctctt gccagtccat cagcagttcc ccttgaaagt  | 6240 |
| ttcaccaaac atcccttaaa tctgccctct cctgcccgtc cccagtggag gtccatca    | 6300 |
| ttttcacct gcatttttgc aggagcttct ttatatccac ctctctctt ttctctcagc    | 6360 |
| ccatcatcta gctacacagt ctccagggtg agctttcaga aaggcaatct cttgtctgta  | 6420 |
| aaacctaaagc aggaccaagg ccaagtttct tagcctgaaa aatgtgcttt tctgactgaa | 6480 |
| ctgttcaggc actgactcta catataatta tgcttttcta cccctcaca ctcaacactt   | 6540 |
| tgactccagc aatcccaa at cccagatcc ctaagtgtgc tgtgctattt tcacgtggct  | 6600 |
| ctcagacttg gccagtgtg tttccatttt ggtctttatt ccccatctct ctgcctgggg   | 6660 |
| ggtagattct accctgaaaa atgttcttgg cacagccttg caaactcctc ctccactcag  | 6720 |
| cctctgcctg gatgcccttg attgttccat gtctcagca taccatgttt gtctttccca   | 6780 |
| gcactgacct accatgtgtc accctgctt ggctgtacct tccatgaggc taggactatg   | 6840 |
| tgtctccttt gttgactgct gttgccctag catcttgac agttccttgc acacaattag   | 6900 |
| agctctataa atgtcaaata aatgtgttat aattatatgt ttaagatagt tgttcaaata  | 6960 |
| aactctaaat aaccccaa                                                | 6978 |

[0094]

&lt;210&gt; 161

&lt;211&gt; 3007

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 161

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| ggagcgccg cggagctgga gtagcatgtg ggcgttcgga ggtcgcgcag ccgtgggctt   | 60  |
| gctgccccgg acggcgctcc gggcctccgc ctgggtcggg aaccgcgcgt ggagggaaacc | 120 |
| gatcgtaacc tgcggccgcc gaggcctaca tgtcacagtc aacgccggcg ccaccgccca  | 180 |
| cgcccatattg aacctccact acctccagat tctgaacatc aaaaagcaga gcgtctgcgt | 240 |
| ggtagcatttg aggaacttgg ggacattgga caaccaagc tctctagacg agacagcgta  | 300 |
| tgaagactg gcggaagaga ccttggactc cctggccgag ttctttgaag acctgcaga    | 360 |
| caagccctat accttggagg actacgatgt ctcttttggg gatggcgtgc tcaccattaa  | 420 |
| gctgggcggg gatctaggga cctacgtgat caacaagcag accccaaaca agcaaatctg  | 480 |
| gctgtcttct ccttccagcg gcccgaagcg ctatgactgg accgggaaga actgggtgta  | 540 |
| ctctcatgac ggctgtctc tgcattgagct gctggccagg gagctgacta aagctttaa   | 600 |
| caccaaactg gacttgtctt cattggccta ttctggaaaa ggcacttgac tgccagccag  | 660 |
| attccaagac attaaacact gtcaggtgaa gacccccagc ctctctctgt agctgaatgt  | 720 |
| ctgccttccc atacctgtc ctgaagatag tcacaccgtg tgtgacagct ctgtgaaaaa   | 780 |
| agtggttcc ctccaccct gtccccggac ctggctcttc attctacag acatttgta      | 840 |

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
|        | ggattatgtc atttgcctcc caacctgaga cctctggctt cttagaaagt cttatatgct  | 900  |
|        | gggcagtggg ggcgcacgcc tttaatccca gcaactcggga ggcagaggca ggcggatttc | 960  |
|        | tgagttcgag gccagcctgg tctacagagt gagttccagg acagccagga ctacacagag  | 1020 |
|        | aaacctgtc tcgaaaaaa aaaaaaaaaa agaaagaaag aaagtcttac accacaagtg    | 1080 |
|        | tgtccatgat ataacagcct caaaatgtct tacactgtgt gtgctaataa cctacaccat  | 1140 |
|        | gtgtgctaata aacctcctga aaaggaaaaa ggctcagagg gagacatgag tcgttcccac | 1200 |
|        | tcttcattg tctctgaaaa gatactctaa aagtaacttc taaatgtacc caagactcca   | 1260 |
|        | agtatgtaca cttctgagtc ctgagcagca aagagtcaaa agaaaccatc ttaaaatgcc  | 1320 |
|        | ctttcgtgct ttgtcaccta cactcggtag ccaggacctg gtgctattaa ctctgtgcct  | 1380 |
|        | tcatagtggg ggtcatctac acagttggca gctacgacat ggacctgaga tgtctgaaaa  | 1440 |
|        | ttttgaaaat tgagctgggc atggtggggc atgcctttta tcccagcaat caggtggcag  | 1500 |
|        | aggcatgcag atatctcggg gagtttgagg ccagcctggg ctataaatcc aggagagtca  | 1560 |
|        | ggccaattac acagagaaac cctgtctaag gaaaatacga agaaaatttg agctggagag  | 1620 |
|        | atcacttagt ccacacaagc atgaagactc aagtttgatc ctaggcgtcc acgtttaaag  | 1680 |
|        | cccaggcata ttcttcactc ggaaagtgga gatgaggggc ttgcagcctc agcagtaagc  | 1740 |
|        | ctggggcttc tgagaaacac tatttcaaag aaggaaactt gcctggcttc agttgacctg  | 1800 |
| [0095] | tcctacacat atgtgcacat gcactagtat agacataaac atgcacacaa attcacacat  | 1860 |
|        | gttaaataaa tgcagaaata actacaggca aggaggacag acaaaaatcc ctaccataaa  | 1920 |
|        | ccaaagaact aaacagtgtc atggagccga ggtctcgggt atccatgaga gagatgtctg  | 1980 |
|        | tactggtaca gagagcccg cccttcattt ccaatctact caggagagg gtagaatata    | 2040 |
|        | gctgatacct gacatccagt ggagtggacc tatcaggcca tccacaaagc tctcctgtt   | 2100 |
|        | cccactgggt aggtggaaga aatggtattg ttcttgctac tgctctgtta gaatttcaga  | 2160 |
|        | tgaattccta gggagctagc agctgccct tgctctctct gctgaatccg gagcaccatt   | 2220 |
|        | gccctgcctt aagtgtgaca ggctgcgctt tgtactggaa gcaacacagc tccagaacac  | 2280 |
|        | ccacacggag caactctaaa ctcggtttt ttctgggttc agttcgttcc taactgaagg   | 2340 |
|        | aaaattgaga gcagggactc tagcccagtg tgaaggcttg cctagcatgc agaaggccc   | 2400 |
|        | taaagttcca tccccacact acaaagggt gagagatttg tcagtacaa ctcttatgca    | 2460 |
|        | aatgcccagc agaggctatg cagggtgaac tgaacacatt acatcataga caaaacaatg  | 2520 |
|        | gaacagtgt aacaggctaa gtgactattt aagatatctc cttcttcaca atttttttt    | 2580 |
|        | tagtctgggt gaaatttttg agtgggtgaa gtcgggtgta gagagataat aaataggacc  | 2640 |
|        | atgtgtggac atgcctatgg gtgtcccttt gtcttcttat gaaagacaca cacacacccc  | 2700 |
|        | acaccccgt tgaccttat cagacctca gaatgtgcac agggcgcgtt ctgaatgtgt     | 2760 |
|        | atggacgtta gggagtcaga ttttatggc tcctcctgga ccagtttttg gacttcttaa   | 2820 |
|        | ctttcacttt atgtatttct ctgactgggt ttcaaggcag cctcgatcac acttaagaga  | 2880 |

|        |                                                                   |      |
|--------|-------------------------------------------------------------------|------|
|        | gagtatgaac actgtgttgt gtgagtcaag tcattctgaa ctccaggcat ggggatgctc | 2940 |
|        | ttctgtagtc ctggcacttt gaactccaag gctcaaaggt aaaagaagga tggaagtttg | 3000 |
|        | gacttga                                                           | 3007 |
|        | <210> 162                                                         |      |
|        | <211> 20                                                          |      |
|        | <212> DNA                                                         |      |
|        | <213> 人工序列                                                        |      |
|        | <220>                                                             |      |
|        | <223> 合成                                                          |      |
|        | <400> 162                                                         |      |
|        | agaagaagaa gaagaagaag                                             | 20   |
|        | <210> 163                                                         |      |
|        | <211> 20                                                          |      |
|        | <212> DNA                                                         |      |
|        | <213> 人工序列                                                        |      |
|        | <220>                                                             |      |
|        | <223> 合成                                                          |      |
|        | <400> 163                                                         |      |
|        | aagaagaaga agaagaagaa                                             | 20   |
| [0096] | <210> 164                                                         |      |
|        | <211> 20                                                          |      |
|        | <212> DNA                                                         |      |
|        | <213> 人工序列                                                        |      |
|        | <220>                                                             |      |
|        | <223> 合成                                                          |      |
|        | <400> 164                                                         |      |
|        | gaagaagaag aagaagaaga                                             | 20   |
|        | <210> 165                                                         |      |
|        | <211> 20                                                          |      |
|        | <212> DNA                                                         |      |
|        | <213> 人工序列                                                        |      |
|        | <220>                                                             |      |
|        | <223> 合成                                                          |      |
|        | <400> 165                                                         |      |
|        | cuucutcttc ttcttcuucu                                             | 20   |
|        | <210> 166                                                         |      |
|        | <211> 20                                                          |      |
|        | <212> DNA                                                         |      |
|        | <213> 人工序列                                                        |      |
|        | <220>                                                             |      |
|        | <223> 合成                                                          |      |
|        | <400> 166                                                         |      |
|        | uucuuettct tcttcuucu                                              | 20   |
|        | <210> 167                                                         |      |

|        |                      |    |
|--------|----------------------|----|
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> DNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 167            |    |
|        | ucuucttctt cttctucuc | 20 |
|        | <210> 168            |    |
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> RNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 168            |    |
|        | cuucucucuc uucucucuc | 20 |
|        | <210> 169            |    |
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> RNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 169            |    |
|        | uucucucuc uucucucuu  | 20 |
| [0097] | <210> 170            |    |
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> RNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 170            |    |
|        | ucuucucuu cuucucuc   | 20 |
|        | <210> 171            |    |
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> DNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 171            |    |
|        | cuucttcttc ttctctucu | 20 |
|        | <210> 172            |    |
|        | <211> 20             |    |
|        | <212> DNA            |    |
|        | <213> 人工序列           |    |
|        | <220>                |    |
|        | <223> 合成             |    |
|        | <400> 172            |    |

|        |                                                                |    |
|--------|----------------------------------------------------------------|----|
|        | uuctttttct ttttttcuu                                           | 20 |
|        | <210> 173<br><211> 20<br><212> DNA<br><213> 人工序列               |    |
|        | <220><br><223> 合成                                              |    |
|        | <400> 173<br>ucutttttctt ctttttcuuc                            | 20 |
|        | <210> 174<br><211> 20<br><212> DNA<br><213> 人工序列               |    |
|        | <220><br><223> 合成                                              |    |
|        | <400> 174<br>ctttttcttc ttttttttct                             | 20 |
|        | <210> 175<br><211> 20<br><212> DNA<br><213> 人工序列               |    |
| [0098] | <220><br><223> 合成                                              |    |
|        | <400> 175<br>ttttttttct tttttttctt                             | 20 |
|        | <210> 176<br><211> 20<br><212> DNA<br><213> 人工序列               |    |
|        | <220><br><223> 合成                                              |    |
|        | <400> 176<br>ttttttttct cttttttctc                             | 20 |
|        | <210> 177<br><211> 10<br><212> PRT<br><213> 人工序列               |    |
|        | <220><br><223> 合成                                              |    |
|        | <400> 177<br>Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Met His<br>1 5 10 |    |
|        | <210> 178<br><211> 17<br><212> PRT                             |    |

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 178

Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Gly Glu Arg Phe Lys  
1 5 10 15

Thr

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 179

Gly Thr Arg Ala Met His Tyr  
1 5

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0099]

<220>

<223> 合成

<400> 180

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn Leu Ala  
1 5 10

<210> 181

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 181

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp  
1 5

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 182

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr Phe

| 1                                                                      | 5    | 10  |     |
|------------------------------------------------------------------------|------|-----|-----|
| <210>                                                                  | 183  |     |     |
| <211>                                                                  | 116  |     |     |
| <212>                                                                  | PRT  |     |     |
| <213>                                                                  | 人工序列 |     |     |
| <220>                                                                  |      |     |     |
| <223>                                                                  | 合成   |     |     |
| <400>                                                                  | 183  |     |     |
| Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala        |      |     |     |
| 1                                                                      | 5    | 10  | 15  |
| Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr        |      |     |     |
|                                                                        | 20   | 25  | 30  |
| Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile        |      |     |     |
|                                                                        | 35   | 40  | 45  |
| Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Gly Glu Arg Phe        |      |     |     |
|                                                                        | 50   | 55  | 60  |
| Lys Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr        |      |     |     |
| 65                                                                     | 70   | 75  | 80  |
| [0100] Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys |      |     |     |
|                                                                        | 85   | 90  | 95  |
| Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val        |      |     |     |
|                                                                        | 100  | 105 | 110 |
| Thr Val Ser Ser                                                        |      |     |     |
|                                                                        | 115  |     |     |
| <210>                                                                  | 184  |     |     |
| <211>                                                                  | 107  |     |     |
| <212>                                                                  | PRT  |     |     |
| <213>                                                                  | 人工序列 |     |     |
| <220>                                                                  |      |     |     |
| <223>                                                                  | 合成   |     |     |
| <400>                                                                  | 184  |     |     |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly        |      |     |     |
| 1                                                                      | 5    | 10  | 15  |
| Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn        |      |     |     |
|                                                                        | 20   | 25  | 30  |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val        |      |     |     |
|                                                                        | 35   | 40  | 45  |
| Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly        |      |     |     |

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105

<210> 185  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 185

Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 186  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0101]

<220>  
<223> 合成

<400> 186

Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 187  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 187

Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 188  
<211> 17  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 188

Glu Ile Asn Pro Ile Gln Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 189

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 189

Thr Ala Arg Gly Glu His Lys Glu Glu Glu Leu Ile  
1 5 10

<210> 190

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0102]

<220>

<223> 合成

<400> 190

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Glu  
1 5

<210> 191

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 191

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala  
1 5 10

<210> 192

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 192

Ala Gly Thr Asn Leu Ala Asp

|                                                                        |   |
|------------------------------------------------------------------------|---|
| 1                                                                      | 5 |
| <210> 193                                                              |   |
| <211> 116                                                              |   |
| <212> PRT                                                              |   |
| <213> 人工序列                                                             |   |
| <220>                                                                  |   |
| <223> 合成                                                               |   |
| <400> 193                                                              |   |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala        |   |
| 1 5 10 15                                                              |   |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr        |   |
| 20 25 30                                                               |   |
| Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met        |   |
| 35 40 45                                                               |   |
| Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe        |   |
| 50 55 60                                                               |   |
| Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr        |   |
| 65 70 75 80                                                            |   |
| [0103] Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys |   |
| 85 90 95                                                               |   |
| Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val        |   |
| 100 105 110                                                            |   |
| Thr Val Ser Ser                                                        |   |
| 115                                                                    |   |
| <210> 194                                                              |   |
| <211> 116                                                              |   |
| <212> PRT                                                              |   |
| <213> 人工序列                                                             |   |
| <220>                                                                  |   |
| <223> 合成                                                               |   |
| <400> 194                                                              |   |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala        |   |
| 1 5 10 15                                                              |   |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr        |   |
| 20 25 30                                                               |   |
| Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile        |   |
| 35 40 45                                                               |   |
| Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe        |   |

|        | 50                                                | 55                             | 60                                |
|--------|---------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
|        | Gln Gly Arg Val Thr<br>65                         | Leu Thr Val Asp Thr<br>70      | Ser Ser Ser Thr Ala Tyr<br>75 80  |
|        | Met Glu Leu Ser<br>85                             | Arg Leu Arg Ser Asp<br>90      | Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys<br>95 |
|        | Ala Arg Gly Thr<br>100                            | Arg Ala Met His Tyr Trp<br>105 | Gly Gln Gly Thr Leu Val<br>110    |
|        | Thr Val Ser Ser<br>115                            |                                |                                   |
|        | <210> 195<br><211> 116<br><212> PRT<br><213> 人工序列 |                                |                                   |
|        | <220><br><223> 合成                                 |                                |                                   |
|        | <400> 195                                         |                                |                                   |
|        | Gln Val Gln Leu Val<br>1 5                        | Gln Ser Gly Ala Glu Val<br>10  | Lys Lys Pro Gly Ala<br>15         |
| [0104] | Ser Val Lys Val<br>20                             | Ser Cys Lys Ala Ser<br>25      | Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr<br>30 |
|        | Trp Met His Trp Val<br>35                         | Arg Gln Ala Pro Gly<br>40      | Gln Gly Leu Glu Trp Met<br>45     |
|        | Gly Glu Ile Asn Pro Ile<br>50                     | Gln Gly Arg Ser Asn<br>55      | Tyr Ala Glu Lys Phe<br>60         |
|        | Gln Gly Arg Val Thr<br>65                         | Leu Thr Val Asp Thr<br>70      | Ser Ser Ser Thr Ala Tyr<br>75 80  |
|        | Met Glu Leu Ser<br>85                             | Ser Leu Arg Ser Glu<br>90      | Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys<br>95 |
|        | Ala Arg Gly Thr<br>100                            | Arg Ala Met His Tyr Trp<br>105 | Gly Gln Gly Thr Leu Val<br>110    |
|        | Thr Val Ser Ser<br>115                            |                                |                                   |
|        | <210> 196<br><211> 116<br><212> PRT<br><213> 人工序列 |                                |                                   |
|        | <220><br><223> 合成                                 |                                |                                   |

&lt;400&gt; 196

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

[0105]

&lt;210&gt; 197

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成

&lt;400&gt; 197

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 198  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 198

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

[0106]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 199  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 199

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 200  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 200

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

[0107]

Tyr Ala Gly Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 201  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成

<400> 201

Cys Gln Ala Gln Gly Gln Leu Val Cys  
1 5

<210> 202  
<211> 9  
<212> PRT

|        |                                                                 |         |
|--------|-----------------------------------------------------------------|---------|
|        | <213>                                                           | 人工序列    |
|        | <220>                                                           |         |
|        | <223>                                                           | 合成      |
|        | <400>                                                           | 202     |
|        | Cys Ser Glu Arg Ser Met Asn Phe Cys                             |         |
|        | 1                                                               | 5       |
|        | <210>                                                           | 203     |
|        | <211>                                                           | 9       |
|        | <212>                                                           | PRT     |
|        | <213>                                                           | 人工序列    |
|        | <220>                                                           |         |
|        | <223>                                                           | 合成      |
|        | <400>                                                           | 203     |
|        | Cys Pro Lys Thr Arg Arg Val Pro Cys                             |         |
|        | 1                                                               | 5       |
|        | <210>                                                           | 204     |
|        | <211>                                                           | 20      |
|        | <212>                                                           | PRT     |
|        | <213>                                                           | 人工序列    |
|        | <220>                                                           |         |
|        | <223>                                                           | 合成      |
| [0108] | <400>                                                           | 204     |
|        | Trp Leu Ser Glu Ala Gly Pro Val Val Thr Val Arg Ala Leu Arg Gly |         |
|        | 1                                                               | 5 10 15 |
|        | Thr Gly Ser Trp                                                 |         |
|        |                                                                 | 20      |
|        | <210>                                                           | 205     |
|        | <211>                                                           | 9       |
|        | <212>                                                           | PRT     |
|        | <213>                                                           | 人工序列    |
|        | <220>                                                           |         |
|        | <223>                                                           | 合成      |
|        | <400>                                                           | 205     |
|        | Cys Met Gln His Ser Met Arg Val Cys                             |         |
|        | 1                                                               | 5       |
|        | <210>                                                           | 206     |
|        | <211>                                                           | 7       |
|        | <212>                                                           | PRT     |
|        | <213>                                                           | 人工序列    |
|        | <220>                                                           |         |
|        | <223>                                                           | 合成      |
|        | <400>                                                           | 206     |
|        | Asp Asp Thr Arg His Trp Gly                                     |         |
| [0109] | 1                                                               | 5       |

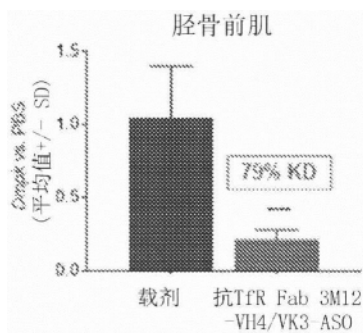


图1A

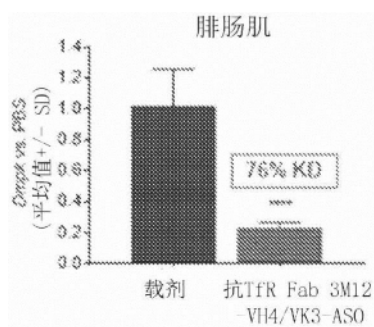


图1B

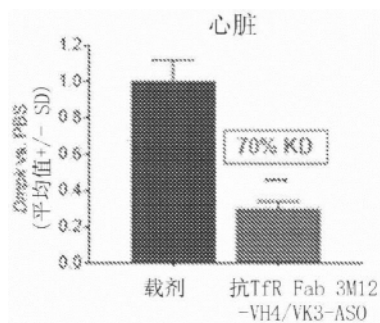


图1C

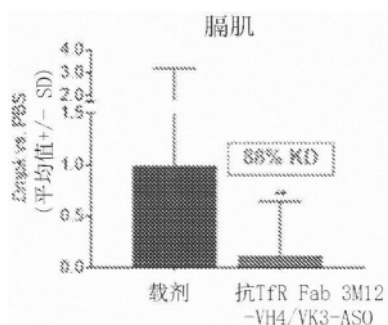


图1D

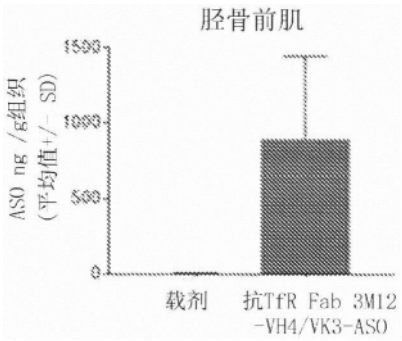


图1E

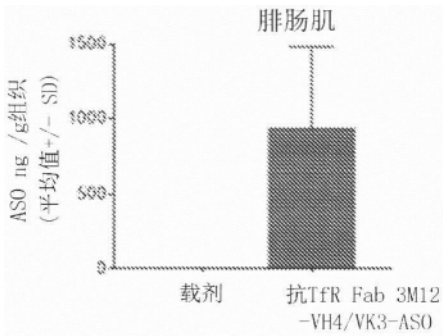


图1F

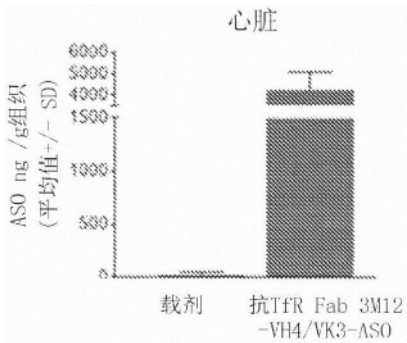


图1G

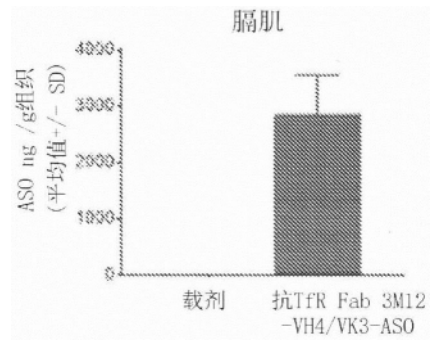


图1H