

权 利 要 求

1. 融合多肽，其包含多聚化结构域序列、细胞穿膜肽、pH 敏感融合肽以及蛋白酶识别序列。

2. 权利要求 1 所述的融合多肽，其中，所述多聚化结构域是二聚化结构域、三聚化结构域、四聚化结构域或任何更高级的多聚化结构域；

优选地，所述多聚化结构域选自：亮氨酸拉链、NOE、GCN4-P1、Delta 及其任何组合；

优选地，所述多聚化结构域选自亮氨酸拉链；

优选地，所述多聚化结构域序列包含 SEQ ID NO: 1 或 2 所示的序列。

3. 权利要求 1 或 2 所述的融合多肽，其中，所述细胞穿膜肽选自穿透素(Penetratin)、Tat 衍生肽（例如，Tat(48-60)或 Tat(47-57)）、Rev(34-50)、VP22、转运肽(transportan)、Pep-1、Pep-7，及其任意组合；

优选地，所述细胞穿膜肽包含 Tat 衍生肽，例如 Tat(48-60)；

优选地，所述细胞穿膜肽包含如 SEQ ID NO: 14 所示的序列。

4. 权利要求 1-3 任一项所述的融合多肽，其中，所述 pH 敏感融合肽选自流感病毒 HA2 或其突变体（例如 INF7，KALA 或 GALA）、蜂毒素（Melittin），及其任意组合；

优选地，所述 pH 敏感融合肽包含 INF7；

优选地，所述 pH 敏感融合肽包含如 SEQ ID NO: 12 所示的序列。

5. 权利要求 1-4 任一项所述的融合多肽，其中，所述蛋白酶选自弗林蛋白酶和/或溶酶体半胱氨酸蛋白酶；

优选地，所述蛋白酶识别序列选自弗林蛋白酶识别序列、溶酶体半胱氨酸蛋白酶识别序列及其组合。

6. 权利要求 5 所述的融合多肽，其中，所述弗林蛋白酶识别序列包含 R-X₁-X₂-R (SEQ ID NO: 47)，其中，X₁为任意氨基酸，X₂为 K 或 R；

优选地，所述弗林蛋白酶识别序列包含 **R-R-X₁-X₂-R** (SEQ ID NO: 48)；

优选地，所述弗林蛋白酶识别序列包含 SEQ ID NO: 49 所示的序列；

优选地，所述弗林蛋白酶识别序列包含 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

7. 权利要求 5 或 6 所述的融合多肽，其中，所述溶酶体半胱氨酸蛋白酶选自组织蛋白酶 **B**、组织蛋白酶 **C**、组织蛋白酶 **X**、组织蛋白酶 **S**、组织蛋白酶 **L**、组织蛋白酶 **D** 或组织蛋白酶 **H**；

优选地，所述溶酶体半胱氨酸蛋白酶是组织蛋白酶 **L**；

优选地，所述组织蛋白酶 **L** 识别序列包含 SEQ ID NO: 10 所示的序列。

8. 权利要求 1-7 任一项所述的融合多肽，其中，所述蛋白酶识别序列包含弗林蛋白酶识别序列和组织蛋白酶 **L** 识别序列；

优选地，所述蛋白酶识别序列包含 SEQ ID NO: 49 和 SEQ ID NO: 10；

优选地，所述蛋白酶识别序列包含 SEQ ID NO: 8 和 SEQ ID NO: 10。

9. 权利要求 1-8 任一项所述的融合多肽，其中，所述融合多肽从 **N** 端至 **C** 端包含：所述细胞穿膜肽、**pH** 敏感融合肽、蛋白酶识别序列，或者，从 **N** 端至 **C** 端包含：所述 **pH** 敏感融合肽、细胞穿膜肽、蛋白酶识别序列；并且，所述多聚化结构域序列位于所述融合多肽的 **N** 端或 **C** 端，或者位于上述任何两个相邻结构域之间；

优选地，所述蛋白酶识别序列从 **N** 端至 **C** 端包含所述弗林蛋白酶识别序列和组织蛋白酶 **L** 识别序列，或者从 **N** 端至 **C** 端包含所述组织蛋白酶 **L** 识别序列和弗林蛋白酶识别序列。

10. 权利要求 1-9 任一项所述的融合多肽，其中，所述融合多肽中所包含的任何两个相邻结构域之间任选地通过肽接头连接；

优选地，所述肽接头是 $(G_mS)_n$ ，其中 **m** 选自 1-4 的整数，**n** 选自 1-3 的整数。

11. 权利要求 1-10 任一项所述的融合多肽，其中，所述融合多肽包含 SEQ ID NOs: 16-18 任一项所示的序列。

12. 权利要求 1-11 任一项所述融合多肽的多聚体；

优选地，所述多聚体是二聚体、三聚体或四聚体；

优选地，所述多聚体是同源多聚体。

13. 融合蛋白，其包含权利要求 1-11 任一项所述的融合多肽，以及另外的多肽；

优选地，所述另外的多肽包含可检测的标记；

优选地，所述另外的多肽包含表位标签、报告基因编码蛋白序列和/或核定位信号（NLS）序列。

14. 权利要求 13 所述的融合蛋白，其中，所述另外的多肽是核酸结合结构域序列；

优选地，所述核酸结合结构域序列是锌指蛋白（例如 ZFP9）；

优选地，所述核酸结合结构域序列包含 SEQ ID NO: 31 所示的序列；

优选地，所述融合蛋白包含 SEQ ID NOs: 19-21 任一项所示的序列。

15. 权利要求 13 或 14 所述的融合蛋白，其中，

(i) 所述融合蛋白从 N 端至 C 端包含：所述细胞穿膜肽、pH 敏感融合肽、蛋白酶识别序列和另外的多肽；并且，所述多聚化结构域序列位于所述融合蛋白的 N 端或 C 端，或者位于上述任何两个相邻结构域之间；优选地，所述蛋白酶识别序列从 N 端至 C 端包含所述弗林蛋白酶识别序列和组织蛋白酶 L 识别序列，或者从 N 端至 C 端包含所述组织蛋白酶 L 识别序列和弗林蛋白酶识别序列；或，

(ii) 所述融合蛋白包含从 N 端至 C 端：所述 pH 敏感融合肽、细胞穿膜肽、蛋白酶识别序列和另外的多肽；并且，所述多聚化结构域序列位于所述融合蛋白的 N 端或 C 端，或者位于上述任何两个相邻结构域之间；优选地，所述蛋白酶识别序列从 N 端至 C 端包含所述弗林蛋白酶识别序列和组织蛋白酶 L 识别序列，或者从 N 端至 C 端包含所述组织蛋白酶 L 识别序列和弗林蛋白酶识别序列；或，

(iii) 所述另外的多肽融合至所述融合多肽的 C 端。

16. 权利要求 13-15 任一项所述的融合蛋白的多聚体；

优选地，所述多聚体是二聚体、三聚体或四聚体；

优选地，所述多聚体是同源多聚体。

17. 分离的核酸分子，其包含编码权利要求 1-11 任一项所述的融合多肽，或权利要求 13-15 任一项所述的融合蛋白的核苷酸序列。

18. 载体，其包含权利要求 17 所述的分离的核酸分子。

19. 宿主细胞，其包含权利要求 17 所述的分离的核酸分子或权利要求 18 所述的载体。

20. 制备权利要求 1-11 任一项所述的融合多肽，或权利要求 13-15 任一项所述的融合蛋白的方法，其包括，在合适的条件下培养权利要求 19 的宿主细胞，和从细胞培养物中回收所述融合多肽或融合蛋白，其中所述融合多肽或融合蛋白以多聚体形式存在。

21. 复合物，其包含权利要求 12 所述的多聚体或权利要求 16 所述的多聚体，以及货物分子；

优选地，所述货物分子选自蛋白、核酸、糖类、脂质、化学化合物以及其任意的混合物；

优选地，所述货物分子与所述多聚体融合、化学偶联或非共价连接。

22. 权利要求 21 所述的复合物，其中，所述货物分子是肽或蛋白；

优选地，所述货物分子与所述多聚体融合。

23. 权利要求 21 所述的复合物，其中，所述货物分子是核酸；

优选地，所述核酸选自 DNA 分子、RNA 分子、siRNA、反义寡核苷酸、核酶、适体 (aptamer) 及其任意组合；

优选地，所述多聚体是权利要求 14 所述的融合蛋白的多聚体。

24. 权利要求 21 所述的复合物，其中，所述多聚体与货物分子化学偶联；

优选地，所述化学偶联通过二硫键、磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、酰胺键、胺键、硫醚键、醚键、酯键或碳-碳键实现。

25. 权利要求 21 所述的复合物，其中，所述多聚体与货物分子非共价连接；

优选地，所述多聚体与货物分子通过静电作用缀合。

26. 药物组合物，其包含权利要求 21-25 任一项所述的复合物，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂；

优选地，所述货物分子是药学活性剂或可检测的标记。

27. 权利要求 21-25 任一项所述的复合物或权利要求 26 所述的药物组合物在制备用于治疗疾病的药物中的用途；其中，所述复合物中所包含的货物分子能够治疗所述疾病；

优选地，所述疾病是与细胞程序性坏死相关的疾病，并且，所述货物分子包含蛋白磷酸酶 1B；优选地，所述与细胞程序性坏死相关的疾病包括肝损伤（例如药源性肝损伤）、炎性疾病、缺血再灌注损伤和/或神经退行性疾病。

28. 用于治疗疾病的方法，其包括向有此需要的受试者施用权利要求 21-25 任一项所述的复合物；其中，所述复合物中所包含的货物分子能够治疗所述疾病；

优选地，所述疾病是与细胞程序性坏死相关的疾病，并且，所述货物分子包含蛋白磷酸酶 1B；优选地，所述与细胞程序性坏死相关的疾病包括肝损伤（例如药源性肝损伤）、炎性疾病、缺血再灌注损伤和/或神经退行性疾病。

29. 试剂盒，其包含权利要求 1-11 任一项所述的融合多肽、权利要求 12 所述的多聚体、权利要求 13-15 任一项所述的融合蛋白、权利要求 16 所述的多聚体、权利要求 17 所述的分离的核酸分子、权利要求 18 所述的载体、权利要求 19 所述的宿主细胞、或权利要求 21-25 任一项所述的复合物；

优选地，所述试剂盒进一步包括用于转染和/或胞内递送的说明书。

30. 权利要求 1-11 任一项所述的融合多肽、权利要求 12 所述的多聚体、权利要求 13-15 任一项所述的融合蛋白、权利要求 16 所述的多聚体、权利要求 17 所述的分离的核酸分子、权利要求 18 所述的载体、权利要求 19 所述的宿主细胞、或权利要求 21-25 任一项所述的复合物，用作递送试剂的用途。

31. 用于将货物分子递送入细胞的方法，其包括：使所述细胞与权利要求 21-25 任一项所述的复合物接触，其中所述货物分子是所述复合物中所包含的货物分子；

优选地，所述细胞与所述复合物的接触在体外实施；

优选地，所述货物分子选自核酸、肽或蛋白、糖类、脂质、化学化合物以及其任意的混合物；优选地，所述核酸选自 DNA 分子、RNA 分子、siRNA、反义寡核苷酸、核酶、适体(aptamer)及其任意组合。