



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201734209 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：106108305

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 14 日

(51)Int. Cl.：

C12N15/113 (2010.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61K47/54 (2017.01)

A61P31/12 (2006.01)

A61P33/00 (2006.01)

A61P1/16 (2006.01)

(30)優先權：2016/03/14

歐洲專利局

16160149.7

(71)申請人：羅氏創新中心哥本哈根有限公司 (丹麥) ROCHE INNOVATION CENTER

COPENHAGEN A/S (DK)

丹麥

赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：佩得森 萊可 PEDERSEN, LYKKE (DK)；傑凡巴克特 海珊 JAVANBAKHT,

HASSAN (CA)；傑克羅特 梅蘭妮 JACKEROTT, MALENE (DK)；歐特森 索

倫 OTTOSEN, SOREN (DK)；盧安賽 蘇法隆尼 LUANGSAY, SOUPHALONE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：24 項 圖式數：13 共 439 頁

(54)名稱

用於降低 PD-L1 表現之寡核苷酸

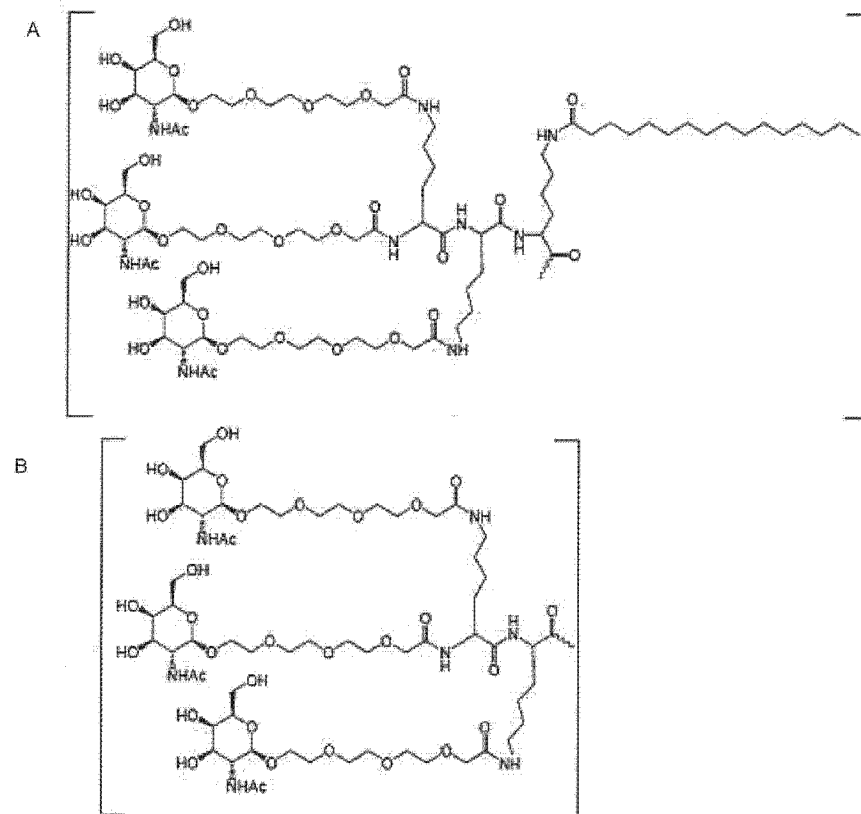
OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1 EXPRESSION

(57)摘要

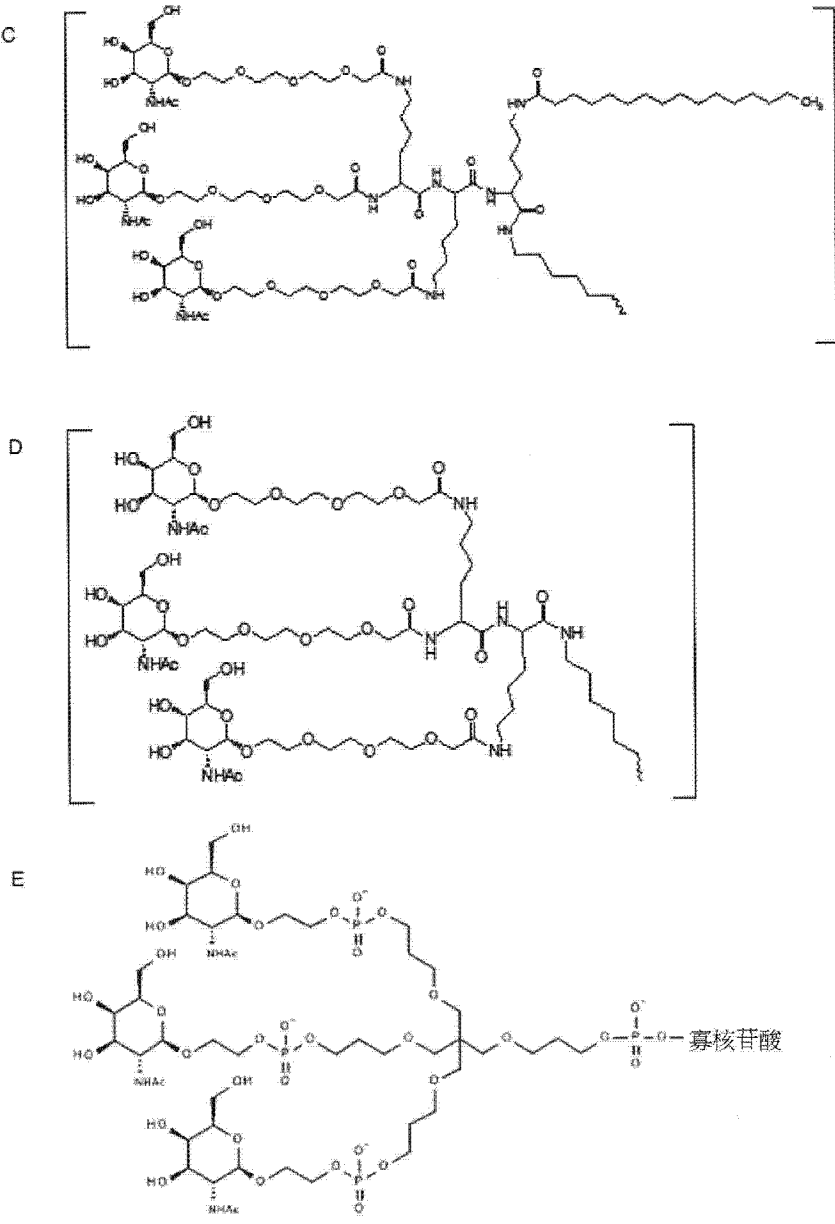
本發明係關於能夠降低靶細胞中之 PD-L1 表現之反義寡核苷酸。該等寡核苷酸雜交至 PD-L1 mRNA。本發明另外關於該寡核苷酸之偶聯物及醫藥組合物以及使用該寡核苷酸治療病毒性肝感染 (諸如 HBV、HCV 及 HDV)、寄生蟲感染 (諸如瘧疾、弓蟲症、利什曼病(leishmaniasis)及錐蟲病)或肝癌或肝中轉移之方法。

The present invention relates to antisense oligonucleotides that are capable of reducing expression of PD-L1 in a target cell. The oligonucleotides hybridize to PD-L1 mRNA. The present invention further relates to conjugates of the oligonucleotide and pharmaceutical compositions and methods for treatment of viral liver infections such as HBV, HCV and HDV; a parasite infections such as malaria, toxoplasmosis, leishmaniasis and trypanosomiasis or liver cancer or metastases in the liver using the oligonucleotide.

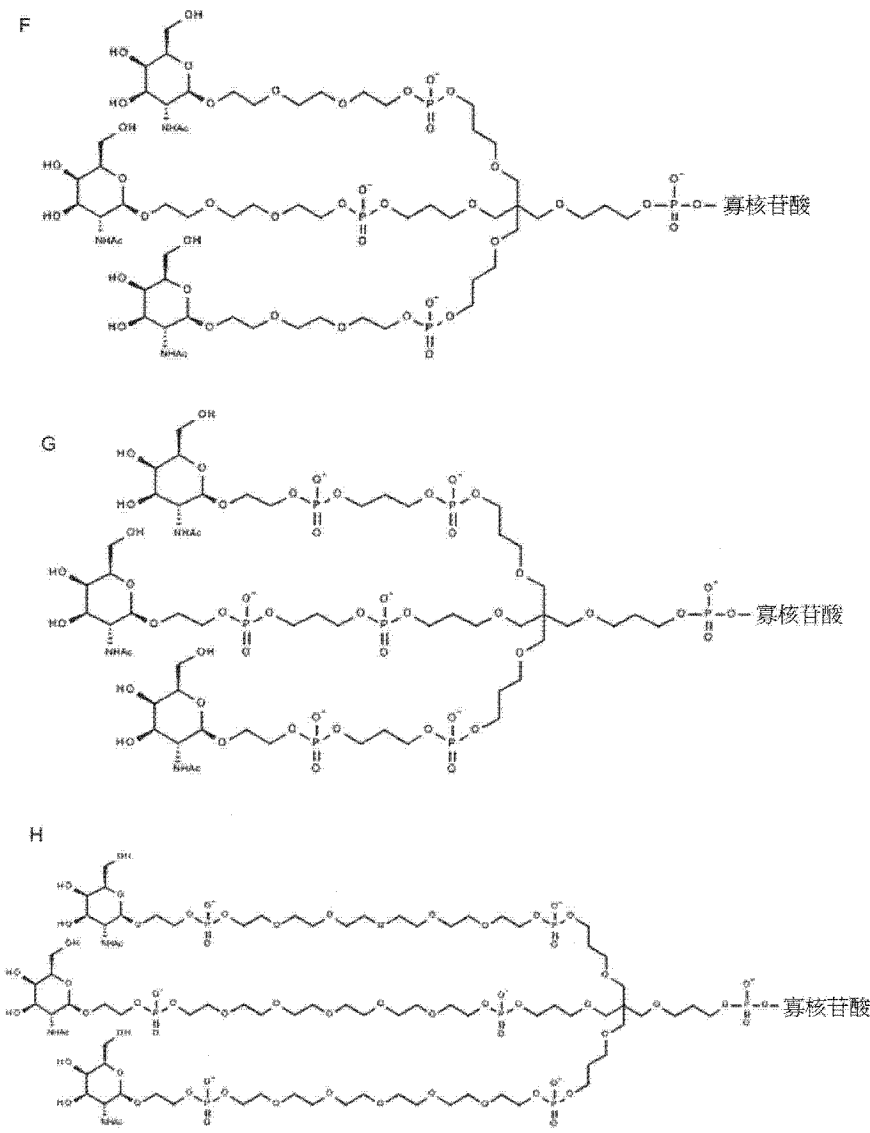
指定代表圖：



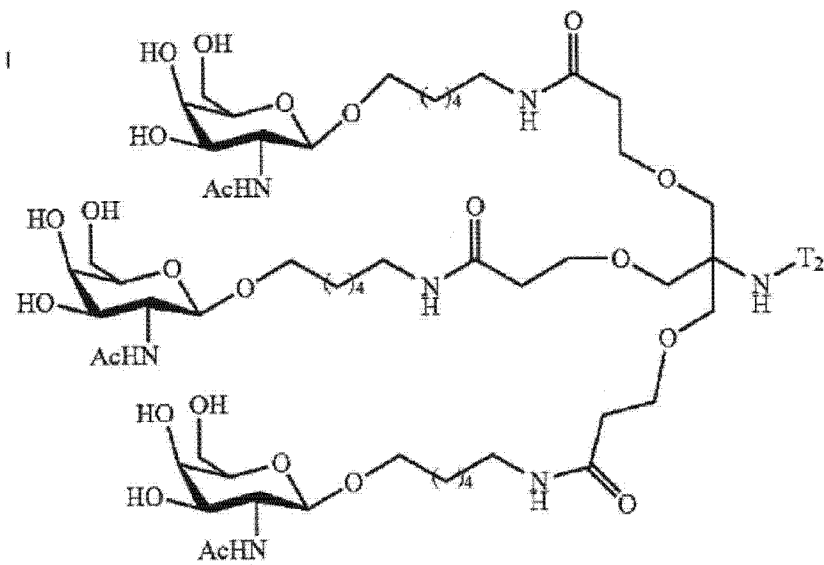
【圖1】



【圖 1】(續)



【圖 1】(續)



【圖 1】(續)

【序列表】

<110> 丹麥商羅氏創新中心·哥本哈根有限公司
瑞士商赫孚·威拉羅股份公司

<120> 用於降低 PD-L1 表現之寡核苷酸

<130> P33358-WO

<160> 786

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 20064
<212> DNA
<213> 智人

<400> 1	
ggcgcaacgc tgagcagctg gcgcgtcccg cgcgggcccca gttctgcgca gcttcccagag	60
gctccgcacc agccgcgcct ctgtccgcct gcaggtaggg agcgttggtt ctccgcgggt	120
gcccacggcc cagtatctct ggctagctcg ctgggcactt taggacggag ggtctctaca	180
ccctttcttt gggatggaga gaggagaagg gaaagggaaac gcgatgggtt agggggcagt	240
agagccaatt acctgttggg gttaataaga acaggcaatg catctggcct tcctccaggc	300
gcgattcagt tttgctctaa aaataattta tacctctaaa aataaataag ataggtagta	360
taggataggt agtcattctt atgcgactgt gtgttcagaa tatagctctg atgctaggct	420
ggagggtctgg acacgggtcc aagtcaccgc ccagctgcct gctagtaaca tgacttgtgt	480
aagttatccc agctgcagca tctaagtaag tctcttcccg cgctaagcag gtccaggatc	540
cctgaacgga atttatttgc tctgtccatt ctgagaaccc aaaggagtcc taaaagagga	600
atggaggagc ctaagaataa aaatagtata ataaaacatt tcttagacac attgaccttg	660
gcctatgtca aagttcagtc tgggtttgtc ttataacaca aggagtataa gtaccattgt	720
tctacctctt tttttaatac ttgaaaaaaa ttactgtgg atgcctttct atgaattaaa	780
taaccttcta aaaaatgttt tcattgctgc attcgattag attgggtaac taaatgaaat	840
taattcctca ctgttgggta taaaggttat ttacagtggg tctgtcttag ccattcactg	900
aactcattgc atatatatct ctggaatatt gctgattgtt tccttcaagt aaacttagaa	960
gtgtaactac ttagtcaaag agcctgaata ttttaaaggc cttttgaaga aaactgaaaa	1020
tgctttccag aaaggatgta tcagttgaca atgacagtcg tcaacagtat ttaaggagaa	1080

ctatgatact ctgaagaaaa acttagcctt tctcagtaaa agtaggtagg cagaggccac	1140
atgacagcag ttagagtgtg gtcttcaagg aagtcacaga aatactgtgg ggaattgaaa	1200
ccccatgtgg aaaatgtaca agagtgtctc agtgtgactg agaaggaggt tgggcatggg	1260
gtttcatgga gtttaataaa gtttggtcac ttagtagagg ttttaataat caactgtctt	1320
aatctttgat cctacttaag aatttttttt ttgtttttgt agagatgggg ctcttgttat	1380
gttgcccagg ctgttctcga actcctagcc tcaggcgatc ctccctctc aggcctccaga	1440
agtcctggga ttactggcgg gagccacat gcaggcctct tgctcctact tttagaaaag	1500
gaagttaaac cggttttttt tgtctttttt tttttttttt tgagacagag tctcactctg	1560
ttgcccattgc tggagtgcag tggtgcaatc tcagctcact gcctcccggg ttcaagtgat	1620
tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg actacaggca cctgccacca cgcccagcta	1680
atttttgtat ttttagtaga aatgggggtt caccatattg gccaggctga tctcgaactc	1740
ctgacctcag gtgatccgcc tgcctcgcc tcccaaagtg ctgggattac aggcatgagc	1800
cactgtcctt ggctgcttaa cttttctct atctcactc cctaccatc ctacccttgg	1860
aagatagaga agtagtatta gttccatagt gttatactgg gcttcccca gggacaaacc	1920
cacttcccca acctgaatga gccatcactt ctcccccagt ttacatttca ttgctcttta	1980
aatgtctcca ttcggaatg ggaattcaca tatggtcata attcttacct gaagaagatg	2040
tcagtcttct tctcttagac caactgcctt gatatgaggt ttagaggtta aagaacatgt	2100
gtgtatttac atgatctttg tattctgcct ttctgtcctt cactaatgac agctgcaccc	2160
caaggaaatg gagctgtgga agagagggtt tgataagaaa ttaagtaaat attggatcta	2220
atccatcacc ctccaggaag cttttattac tcctaaaaat ttcaaccaa ttcatataag	2280
gacaagaact ccaccagagt aggccataaa cattggcaaa attagtgtta atccatgact	2340
agatttaatg tccctttgtt ttattcccat atggttataa tgctttgctt ggcattaggg	2400
gtattttaag ttttcttctg cctagtaagt gaatttgtt ttataataca ataataca	2460
aatatcacat taatatatta taactgtaca gttataaaat attttataag taatatatat	2520
attttataag taatatatta taactgtaca gttactctg gcccaaggaa aagatagtct	2580
gatagatgct gcagcccat tttagcaaat gtgacctcac aggcctgaat gccatcgcta	2640
ttccacatct acaggataga cggaaaggaa agaaataaaa aaataggtag ctaacactgg	2700
caagaggatg atgactcatg ttatttact taacctttt atcttttaac atgaaggact	2760

catacaggtt gataagaaac cagtgacata aacagaccaa aaaatgatca gatctttcaa	2820
attagcaaaa aaataatatt ttttaaaca tgggtgaaaa tacagtgtaa cagtaccaat	2880
tatcaacatg tgttgagaac cagaaaaatg ttctttttct ttgatcagca acactatttg	2940
ggaaaatcta tectcagggc ctagcctggg gccctggcac acagtaggca ctcaacgaat	3000
atttgctgaa cacacaaata cttatgatat tttaaaaaat tggcaacaat ctgataccta	3060
acaatagagg gattaaatat tatggaactg ttaataaga tgcttatgaa taccatgcag	3120
taagatgggc aatatttatg ccataagctt taatgaaaca aatgggtatt aaatgtatga	3180
taaggttata aattactttt taaaagatta cagggaaaaa aattgaaaga tatacactga	3240
aatgtttttt gctcacagtg gtgacaaggt ttctcagcac tggcactgtt gacgttttag	3300
gctgtatgtc ttigtgtgg gaggtggcc tgtgcactgc aggggtgttg gcagcactct	3360
tggcctctgc ccctagatag caatagcagt cctccctcaa ccagcccaat ttgacaacc	3420
aaaaatgttt ccaggcatca ccagatgtc cctgggtgag agtgatgaaa tagtagggga	3480
ttttccctt ctttcttat tttctgtaat tccattatat tactttaata ataaagaaaa	3540
aaacataaaa aataaacgaa tgttattatt ctacgtcagt ttggatgtt ggactccatt	3600
ttggggttct ttccattata tcaacttggtc tgctaaacat tctacggttt ggtaagggtga	3660
agtgattcat gaaattttgg ttttattttt ttctgatac taaaaataaa acattctttc	3720
acttggaat ttggacacag aacaccaaaa aaaatccata atctcatctc tctttttctg	3780
tcttttccit ctttttttcc ctttaaaaac aataaagagt gaaacctacc tgttctccct	3840
ctaatttaat tcctaaatat aatcactgtc aatatcttgg acatttcctg tgtctaaaca	3900
cacacacaca cttttttttt tcagcaaaag tggatttctg ctacatgtag tgttctgcaa	3960
cttactttct atgtgtttac aaaatcagta catgtacata tgctgaattc agtccttaat	4020
ggtattatat ttgtgaata taccaaaatt tgtttaacca cttagacaat ctaggatatt	4080
ctcagtttgc tgttatgagc aatgctcttc cttfacatat acagacatat atatatatat	4140
gtgtgtgtgt gtgtttttgt tttagtagga tagatttcta ggagagggtg aaaggcttta	4200
tgacatccgc atttacgatt gtaataggaa gtatcaaagt gccccctaaa gaaaaaaatc	4260
ctcccattag tgggtaagaa agcctatttg ttcatatctt cacaacact aaatattaga	4320
aatatttaca attgtggtca agctcataag tgaaaatggt atttcataac ttatatTTTT	4380

tattgtgaga ttgaacatct ttcatatgtt tacatgtcac ctgtatttct tattctctga	4440
actatatgtt atgacctttc actttttttc ctcatgggtt atgtgtagtt tgtatagttg	4500
tcttattgat tgttaggagc tatttatata ttaggaacat taatctcctg tcttatatat	4560
acgtggcatc gattagttga tcatttgtga gttcatgtct gtatacaaag attggagagg	4620
cactaagagg gaaaacttac ctctttctta tcaaagtttg taaatatatg tataacagaa	4680
gagggagaaa atattaataa atgcacagat tggctgaaat agagtataaa tcttttactc	4740
ccctacttca acataaactg caaaaggaga gtgacttttc tticactctg acttccgtat	4800
tcctcatgct taaaatagtg cctagcacag aagagggtgt caatcagtgf ttgctaaacg	4860
aaataattag tcacatttca agcaggatga ctaaataag aatagaatct aggcagatac	4920
tctggaagag tggctgtgag tcattcatat cttagtatga attagtcaaa tccaactctc	4980
tccccctccc actccccact gttagtagaa gaatctgttt attgagagaa tagatttata	5040
atttagaata agtgagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga	5100
ctagcatggc tgagacagtg aagtggaagc cttgaatagc taaagggtaa gatgaaagta	5160
tttagctgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaaag taaaagtcag attctccttg	5220
ctctgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga	5280
aataattgag aggaatttgg tgcaatatta tcttcttggc ttcttttgag tgggcagatt	5340
tttttcacgg cctgtaacta taataaatit gaaacttctc atcttttagt aacttttttc	5400
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaagatat tgaacttcca attccctgtt	5460
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactattt cagttagaac	5520
caccaagtcc catattgtca tattgtatgt ttaattatta agtgaagcag tcttcttttc	5580
gtgttttcca taattagggc attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatattcat	5640
gacctactgg catttgctga acggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatatt	5700
aaatatitla accatgagtt taaaactaaa atgatcattt aaaatgcatg caattttctt	5760
atagagagaa cattctattc tttcttctac ttacacaat ggcaaagtct tctttctact	5820
ttacgcaatg ataaagttac ctgtgtcatt ttgtaaaaat atagagaata tagacaaatt	5880
gaaagacaca aaataatcta ttacccattt cccagggtta actactgaaa atatctgggg	5940
aaatggcctg tatgtataca tttatttgtt tgctttcaac aaggccaaga tcctttgatc	6000
tttcagtctt gggttgcctg tgacatgcct ttctgtatga ggatacttta aggaagaatt	6060

gtaagataca tggaaaatgt caggctaaca cagtactggc atcacctgt gctctttcct	6120
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagtttagg gaagtaaaaa	6180
gagatgactg ttagaatcta ccattccctc tatgtaggaa gcaaataagg gtccgtgcaa	6240
aggacattct ggggatgtct acatgaaacc aagtctccct ggttgtaagg actccatctc	6300
catataatat ttatacagta atatatgttt ataaattgtg ggggcaactt gtttagctaa	6360
ttttattatt ctgctattgg gacactgtgt ctcagcatga gatatagtgt cccaaaacat	6420
atttcaagcc cattggataa aatatgtgtt tagcaagttc ttaaatataa tgataacata	6480
accgaccaga taaagtgatt tataaacgct gtgccaatit tgtaaatgtt tcgaggaatt	6540
ttcccttttc tgaagattgt ccttctttct ttttagcatt tactgtcacg gtcccaagg	6600
acctatatgt ggtagagtat ggtagcaata tgacaattga atgcaaattc ccagtagaaa	6660
aacaattaga cctggctgca ctaattgtct attgggaaat ggaggataag aacattattc	6720
aatttgtgca tggagaggaa gaccitgaagg ttcagcatag tagctacaga cagagggccc	6780
ggctgttgaa ggaccagctc tccctgggaa atgctgcact tcagatcaca gatgtgaaat	6840
tgcaggatgc aggggtgtac cgctgcatga tcagctatgg tggtgccgac tacaagcgaa	6900
ttactgtgaa agtcaatggg aagaattatt atagatgaga ggcctgatct ttattgaaaa	6960
catattccaa gtgttgaaga cttttcattc ttgtaagtcc atacttattt tcaaacagaa	7020
cagcatagtc tgttcattca ttcatccaat tcatgaattc attcacataa ttatccaatt	7080
tcttgagcac ctatttgata gtcactggaa atccagagac aaacaacaca gagccatgtt	7140
ctacagtatg tacagttttc caaaaagaat ttctagtctt tactttttta ttacaaatgg	7200
aatacgtata cttgcaaata attcagatac tgtggaagag atcaaataaa ttgcaaaagt	7260
gtccctcctc ccttcaccac tatctcccat ggcatgcaga gagagtaacc attatttgtg	7320
tgtccctcca gaaatttttt tattcaacta ctattttttt attttattag gtccgtcagt	7380
tttctttttt tgagcctctc tatatcaaat gcaaataaat atattcagaa caaacccac	7440
tgtgaaggtc acattaaaaa agacttgaag tcaccctatg aagacaaaaa ataatacat	7500
taagtgtgaa agaacctatt cttccagtac aggataagcc atacttactg ggcatatatt	7560
catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga aaaggaacta ggagtgttag	7620
ttcctcggta ttgaccacaa gttatgttat caggtcactt gagttcaaag ttttgtgttg	7680

gcacIagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcac agaattgaga	7740
gctgaaagga tcccaggcag gagcagctaa tccaaactcc cacaagaac aaaaatcccc	7800
cagaggatct tctgttctta tatttcctgc aatggcgtcc ctgtcatatc ccacaatggc	7860
ctccctgcc tttggatata ccttccatat cctgttgaaa ttactcccta atagtaagct	7920
gaaatctgcc cctctagttg tagtcttggg attatttcat ttacatgatg accttttaat	7980
atttgactag aattaaatca tctcccttgg gtctttccat tccctgggcta actaccatca	8040
atctgagggc taacaatata agtagaaaaa gtatacatTT gtactgatc actgatcaat	8100
tattaatcaa tgatcactga taactataaa ctcaaaaaca aaatcatgtg gggattaaga	8160
gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgata ctggctcagg taatgccact	8220
attgtcaaga agataccact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt taccatatgc	8280
ttctccattc atgacatctc ttgagatgtt gtggtttata ctttcagttt ttctccagtc	8340
catccgcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca tcatgactta	8400
gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaggaa gagtataatc ctggcagtca	8460
ggaagaaggc agcataaagt ataagtttct gcttccaaaa aaggtctctc atcagcctgt	8520
agggagtgtg tagggaaggg acagctgtcc ttgtagtagg gaagggtttt attcaggtcg	8580
tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga tcaacacaat	8640
aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttccctgga gcaaagcaaa	8700
tgaccaacca ggtttgagga cctgatttgt ttgacaattc cattttgtat tgtaaattac	8760
ttaatlggca ttctactccc aatccatctt gtcatttgca tacagtgggt ttgggattga	8820
gttcagctat accaaaagtc tgaaccttct gcacttagaa caaggcaacc accaagcttc	8880
acttgactg aggccgtgtc tccaatggaa atgaggcagc tggcttgcag gagcttccca	8940
actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa atgatttcac agtaatgctg	9000
ttgaacttca ctcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agcttcccca caggagtta	9060
ctcaccatgg tattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt	9120
tggattcact caattatcac tatcatttcg ggtgttattg cacctttctt gtttgtgagt	9180
ttaaatgcc aactctcagg ccactaactt tcaattaaaa gtgttttct ttaatcgctg	9240
aacctaacag cagggaanaac gaaatgttca ttcagacttt cagaaccttc aatgagatta	9300
ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tgtcccgata aagctatttg gatcatatgg	9360

accaaalcga ctgctgtcat tccccaccaa ccccatctct ccccaaaatt ccagccctg	9420
tttaagtggt ctctgtagca ttatctctta tctagtatat tgtgtagcat atcatatcat	9480
acttttctgt ttgttttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac aagcacaag	9540
atttgggcct gttttataat attgttgcat cccaggggcc tgatatacag cagagtgggtg	9600
gtacgaaaag agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga ttccctcaaa	9660
taggattagc ctaaaatttt ggaaacatga acagatttgg atatgtgaaa atttatttcc	9720
agactgttca tcaggaactg ttagcagctt cttaaagggt cactggagca gcagtagtaa	9780
aaggaggaag aggagcagct ctgctactgc tactatcgag tactactaca attagcactt	9840
gcttattctg tgtgttaggc cctgtactga acactctgtc taaattagtt catttctcc	9900
tggaaatgac tctagggggg aagtgttca tcatgtaaga tgagtatttt tcacattttg	9960
ttgtgtctga aatctgagtg tgtctttcaa tgatggaatc ttgattcca tgataagtgg	10020
tattattccc attttaagga tgaggaaact gaggtccaaa gaaattaagt aatttgccca	10080
aattcaccca gcctagaaaa tgataaagct agttctaaac ccaagcagat tagctctgaa	10140
gtctgggccc ttaataacca ctttttattg cctatatattg tacctctggt gtacgtatca	10200
agttatatgt tgacttcaaa actatcatga cttttcttg gttttgattg tccaacatta	10260
gtatagtgtt ctgggtctgc aaaaattttg attactcatc tcatctgtaa aacattttga	10320
actcgttgtt ttgtgcatgc acatttgtgt gtaattataa aaattttact ttctgttaat	10380
atataagttg tatcataaga aactgccgtt ttgaagagc aaaaaagggt tgaatgttac	10440
cagttacatc tggttcaacc taatagacat ttgtacaaaa acagacattt taagaggttg	10500
aaataaaaat ttaataaaca atattttcag tttttactaa ttgtgatgct tcactatcat	10560
tagctaatat gtcaaggcat aatatacctt aggggtgaact ttatcattaa caaagggtga	10620
tgggtgcaat aatcttgagg ttgtgtttt ttatataaac actgcgaggt ctaattaagt	10680
acttactgtt taccacctca tacagtggcc gataaaaagt gtcacttctg ctgtttcctc	10740
tgggttgtgc ttgaattatt agtattatct tcagtcctca gtttctttgt gggaaacttt	10800
ttaattagtt gtttaatttt gtaagatggt tagtttagtc aaaattagat aagagaattt	10860
gaaaatccgt agctacccca aagcaacct cacaataaga ctattatttt tgtgttttga	10920
aatcataatt ttattgattt ccagtgttc cactggtagt ggtttcattg atataggagt	10980

atcaaaacat cactcattat ttatttcagt ttcatittgat cctagccgtt ttgtattaac	11040
tctctgtgaa gaaattacct cacaaatcta ttgctgtcct tggtaaagga atggagaatt	11100
aaggctctag atcatttagtg gttacactat agtattagaa gtataaaaaa gattatacca	11160
acaaaataag aacatgttaa tgtacttgta atgaataaac atgaataaag ctcttatgct	11220
atataggtgc actaaacaat ctactagaat tgtcagcaaa ctacgtatct taatcctgaa	11280
agggtcccaa accaatgata taaaattgaa tcaaaccttc ttcccttgagc ataattactt	11340
aatgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tgtaaataac ataattgtgt	11400
atcctagata gcatcccaga acagaaaaag gatattaggg aaaaactgga ggaatggaat	11460
aaattatgca gtttagttat taataatgta ctaacgtcct tagttatgac gattgtacca	11520
tggtaatgta agatactaac aatagaggaa accgggtaag gagtatacag taactctata	11580
ctatctttgc aacttttttg taaattttaa acttctaaaa taaagaacaa atttaaacat	11640
taaaaagtat caccaggaac atatatcact gtttacagat gaaatactat gtattttcat	11700
atctaatttc tgatcattga cttcaaatca gaaaagttaa tgacacctca aaatcaggtt	11760
ttctgtttac tgaagtctaa gaaaagaaag cataccagct ggagagattc atgtttataa	11820
agacagattt ataacaacaa aaataaaaata tccaagaata aatttaagaa gaagcacttt	11880
actgagaaac atatgaaaac ctgaacaaat ggagagggat attttgtatt tgaatagaaa	11940
gacttctggt ttaaagataa ttctctttta attatttttt gtagaaattt aaggggtaca	12000
agagcagtgt tgtcacatgg atatatata tagtggtgaa gtctgggggt ttagtgtaaa	12060
ttaatcttta cttttgttt gagcccaata aatgtaccaa catgatttt atagaaagat	12120
agtcattcct attaatccaa acttggtcca actttgaatt gaattgaggc agagctagca	12180
ggtgttcccc acggctgagg catctgaaca ttaagcatat ccctctgaga accagcctgc	12240
attgatactc ttctaatgt ggacagcatc aagctatgta cgtagtcttg tgctcagcaa	12300
aagccctgac ttctttttgt ttatgtccta gcccataca acaaaatcaa ccaaagaatt	12360
ttggttgtgg atccagtcac ctctgaacat gaactgacat gtcaggctga gggctacccc	12420
aaggccgaag tcactgtgac aagcagtgc catcaagtc tgagtggtaa gaccaccacc	12480
accaattcca agagagagga gaagcttttc aatgtgacca gcacactgag aatcaacaca	12540
acaactaatg agattttcta ctgcactttt aggagattag atcctgagga aaaccataca	12600
gctgaattgg tcacccagg taatattctg aatgtgtcca ttaaaatatg tetaacactg	12660

tccccitagca cctagcatga tgtctgccta tcatagtcac tcaagtattg ttgaataaat	12720
gaatgaatga ataacactat gtttacaaaa tatatcccaa ttcctcacct ccattcatcc	12780
aaaccatatt gttacttaat aaacattcag cagatatitaa tggaatatac cttttgttcc	12840
atgcattgta gtactcattg gatacacata gaataataag actcagttca cactcttcag	12900
gaaacagata aaaaactaag aaacaaacaa aaaacaggca atccaacacc atgtgggaaa	12960
tgcctttcata gccgggaaac ctgggggaata cctgagagga atactcaatt caggccttgt	13020
ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag ctgcctccct ctttccaggg tggcaggaaa	13080
taaatggaac atatttttct atcttatgcc aaacatgagg gaccctttct ccccgggtgcc	13140
tctcccaagg tagtctacaa tatttcaact ctagcagttc gcttagtgca tagaacatga	13200
ggctgtgtgt ccttgggcaa attactagac ttctgtgtgc ttactttcc ctgtaggatt	13260
ataatctact gagcaagctt attgtaaggg tcagattagc aacagtgtat gaaaatgatt	13320
tgagaccatt gcctgcacaa attcaactat ttttttttat ctactactc tacagaagta	13380
ggtagggtgg gagacagagt ctgatgagag gctcagaatg tgaaagaaag tgaggcgagt	13440
gagcatgata tttaatataa acacaaagat attctgagaa gagctgctca ctgccccctc	13500
ccccaataca tgttgatagg aaaatgccac gtacttcagc aaaaacaact gaaaaattag	13560
atagaaaagt caatcaatag gaaaagataa tccaggacgg tgttgtgaac agaaagaggg	13620
ggaaaaaact ttagaaaatg atggggatgc tcttactggg gtacgagtcc tcaggatttg	13680
aactggcctt cagtaaaagc tagattagtg ggcttctgcc atttacaagc tgttttatga	13740
caacttactt gttgggtggc ctacagtaac tcacctaaact gcactgagtc tgtttcctca	13800
tctgtaaatt ggggatTTTT ttttaaatac ctggcatgcc taactcataa agttgttctg	13860
aaactgaaat aaaacatacg tgaacaggca ttgtaaactg taagttacgg aaaaagctgg	13920
ctgtttgtgt gtccttaaag ttccacctgg gtatgtcaaag atggatcatg ggtctcagtg	13980
gagagctgag ccaggcagga gctgactaag ggtgagaggt gggagttagc agcctctgaa	14040
catctgtgta ccatgggacc ccttttcttc ctgcatggta cccagacaa ggagcctagt	14100
aagagatact aatggcttgt tgtccagaga tgttcaaact gcagagaaag ataagacaac	14160
aagcattggc ctccaatcat gatgacagat aggaggaggt gggagctcct tagcagtgtc	14220
ggttggcctt ccatgttcta ctgtgggcca tctctgcat gtactgtagg ctactagctt	14280

ctataattaaa gaatgcaaga ggggccagga gcgaggctc atgcctgtaa tctcagcact	14340
ttgggaggcc aaggtgggca gatcacttga ggtcaggagt ttgtgaccag cctggccaac	14400
atggtgaaac tctgccttta ctaaaaatat aaaaattagc tgggtgtggt ggtgtgcacc	14460
tghtaatccca gctactcggg agactgaggc acaagaattg cttgaacctg ggaggcggaa	14520
gttgcagtga gccagattg cgccactgca ctccaccctg ggcaacagag aaagactctg	14580
cctcaaaaaa aaaaaaaaaa agcaagagga agtgaaataa tcaaggccgc catttaatag	14640
tgagcagcca ctccatgtgg tactgtgcaa gcacattata aatattagcc tcacaagaaa	14700
tgtattagca tttgtatttt gtacactggg taagtatctt gcccaagacc tcaaaactgg	14760
ttaagggcag cagaatttag cccagcacc accttttcaa agcctgggct tctcacactt	14820
ctccatgctg ttcccatttt aacacaggta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc	14880
atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgaccattc tctgacccc	14940
ttcccatcaa aattttatct ttagtcagtt tgttttcggt ttgttttggt tttcagaact	15000
acctctggca catcctccaa atgaaaggac tcaattggta attctgggag ccattctatt	15060
atgccttggg ttagcactga cattcatctt ccgtttaaga aaaggtagta tttccttaat	15120
tgcagtgggc tccactgggg gtgaggaagg ggtgagaatt ggatcatggc tgcaaggaaa	15180
cccgacttaa cctctgcaag gtgggtgcaa ggcattccac tgttcaacag caattatatt	15240
gaagctgagt gggatcactg ggtgaagatg aagcgtaagg ggtgaggggc aggagaatgg	15300
gtatggatgg aggtagaaga tgcagtgtca tacagttttt ttctatcatg aaaataacca	15360
cagacttaca gaagagaaaag agctaaaatg ccgctcattt tcagttgcat tttagtcttg	15420
cattagttagc aaccagctgg tttctgggta ccctaagtaa taaaaatagt tcctctgtag	15480
aactgtagta tgtttacat agagtatttt gcaaaatttt tggtagagga tgttacataa	15540
tttgcagtgt ttcatctctc catttacctg tgggaacaat taaaatccag gaaaatgagt	15600
atattcaaat aatttctctc catttaagat gagtacagat aaataattcc tccaatactt	15660
agagaagtat accaagagat ccagtgatgg tatagagttg tctgatgtta aataggaag	15720
tagaatatgg aaggggattc caatagtcgt tgaaaaattc ccataaccc cttacatggg	15780
ggaaagtagt gttaaactgag agagtagaga taagctgttt ccaaaaatta tattcttaac	15840
aggactgaga tagccagaat ataaggatca agtttcaatg acagtaagat cctgagatgg	15900
agttgatttg cacaagaaaa taattgttgc cagcatgcat ttggaatatt tctctggaaa	15960

aaaagattag ttggcagtag aaatggatag aaatcaatag atattaaaat acctcagaat	16020
ttggttcatc tctgggaaaa gatgaaaaat aaaagtgtat actcctcaag aacatctagg	16080
atcaaaagca tgtgccctac actattgaat taattaacct cataagttag gacctgtgga	16140
ataaggatgt ccaccagact tcctagggat taaaaatgtt tcacagaact tgaaatttaa	16200
acttgggtca ctgtatggga ttagagctg tgctatatgg aaataaaaat gatttctttt	16260
tctcaaggga gaatgatgga tgtgaaaaa tgtggcatcc aagatacaa ctcaaagaag	16320
caaagtggta agaatatcag aaggaattgg gaagtaaaag tcaaaggaaa caaaaagcta	16380
aagcaataac aaagagaaat ccatcagtc taatctctc tcctttttaa gaatgctggt	16440
tcccttttgc ctcacagcta acacaagaac tctccaccg tctgaggagg tttaggagca	16500
gggaagggga aggagtcagc ttcatattgt aatcttctgt tgcctgcac cctagcagct	16560
ccttgcagca ggggacaagg atgacttagg tggatggata attaatgat tctaaaatat	16620
tgtgtgtcag tatttgaata ctatgttaat tgcacatgc acggtatctc atttaatccc	16680
ccccccttg ccattaccaa agagagagag agagagagag agagaaatac tagaatttat	16740
cctcatitta cagtagagaa aacagagggt caagaagata atgtaaagtg cccaagaaca	16800
cacagctgat cacaaaaatc aagcttgggg gccattagcc taaccacaga cccttactct	16860
taacccatct gcttcaatcc attttgctac aaatgtttac atttataagc agggcagaaa	16920
aacctcatcc aggttataga actaagaaga aagttatatt aaggtttcta atttttttaa	16980
tgtagttaga aaccaaactt aacaatgagc ccaagtttaa agcagtctaa ttaacctgga	17040
caagctcagg caagtttcat tctgtggccc atagcatcat ctgtgttgta aagctaagta	17100
gcaaatgttg ttgggtcat gctgggggac aagccatccc aatttgctca ggactgaggg	17160
gtttccagg atatcatgta aggataattg ggtacaaata taacctgctg ctttctctca	17220
tttcaaattt atcatttata atatcagcaa ctatgagtta tgttttttat tagatttctt	17280
gttacttttt cccagacca ctcccatga aattaatata ctattatcac tctccagata	17340
cacatttggg ggagacgtaa tccagcattg gaacttctga tcttcaagca gggattctca	17400
acctgtggtt taggggttca tggggctga gcgtgacaag aggaaggaat gggcccgtgg	17460
gatgcaggca atgtgggact taaaaggccc aagcactgaa aatggaacct ggcgaaagca	17520
gaggaggaga atgaagaaag atggagtcaa acaggagacc tggagggaga ccttgatact	17580

ttcaaatgcc tgaggggctc atcgacgcct gtgacaggga gaaaggatc ttctgaacaa	17640
ggagcctcca agcaaatcat ccattgctca tcctaggaag acgggttgag aatcccta	17700
ttgagggta gttcctgcag aagtgcctt tgcctccact caatgcctca atttgtttc	17760
tgcattgactg agagctcag tgttggaacg ggacagtatt tatgtatgag ttttccat	17820
ttattttgag tctgtgaggt cttctgtca tgtgagtgtg gttgtgaatg atttctttg	17880
aagatatatt gtagtagatg ttacaatttt gtcgcaaac taaacttgct gcttaatgat	17940
ttgctcacat ctagtaaac atggagtatt tgaagggtgc ttggtctcct ctataactac	18000
aagtatacat tgggaagcata aagatcaaac cgttggtgc ataggatgac acctttatt	18060
aaccattaa tactctggtt gacctaatct tattctcaga cctcaagtg ctgtgcagta	18120
tctgttccat ttaaataca gctttacaat tatgtggtag cctacacaca taatctcatt	18180
tcctgctgt aaccacctg ttgtgataac cactattatt ttacctatg tacagctgag	18240
gaagcaaca gattaagtaa cttgcccac ccagtaata gcagacctc gactgccacc	18300
cactgtcctt ttataataca atttacagct atattttact ttaagcaatt cttttattca	18360
aaaaccattt attaagtgc cttgcaatat caatgctgt gccaggcatt gaattctacag	18420
atgtgagcaa gacaaagtac ctgtcctcaa ggagctcata gtataatgag gagattaaca	18480
agaaaatgta ttattacaat ttagtccagt gtcattagcat aaggatgat cgaggggaaa	18540
acccgagcag tgttgccaag aggaggaaat agccaatgt ggtctgggac ggttgatat	18600
acttaacat cttataatc agagtaattt tcatttaca agagaggctg gtacttaaaa	18660
taaccctgaa aaataacact ggaattcctt ttctagcatt atattttatc ctgatttgc	18720
tttgccatat aatctaagc ttgtttatat agtgtctggt attgtttaac agttctgtct	18780
tttctattta aatgccacta aattttaaat tcatacctt ccatgattca aaattcaaaa	18840
gatcccatgg gagatgggtg gaaaatctcc acttcacct ccaagccatt caagtttct	18900
ttccagaagc aactgctact gcctttcatt catatgttct tctaaagata gtctacattt	18960
ggaaatgtat gttaaaagca cgtattttta aaatttttt cctaaatagt aacacattgt	19020
atgtctgctg tgtactttgc tatttttatt tattttagt tttcttata agcagatgga	19080
atgaatttga agttcccagg gctgaggatc catgccttct ttgtttctaa gttatcttc	19140
ccatagcttt tcattatctt tcattatgac cagtatatgt taaatatgt ctacatatac	19200
atttagacaa ccaccattg ttaagtattt gctctaggac agagtttgga ttgtttatg	19260

tttgc tcaaa aggagaccca tgggctctcc aggggtgcaact gagtcaatct agtcctaaaa	19320
agcaatctta ttattaactc tgtatgacag aatcatgtct ggaacttttg ttttctgctt	19380
tctgtcaagt ataaacttca cttt gatgct gtacttgcaa aatcacattt tctttctgga	19440
aattccggca gtgtaccttg actgctagct accctgtgcc agaaaagcct cattcgttgt	19500
gcttgaacct ttgaatgcca ccagctgtca tcactacaca gccctcctaa gaggccttcc	19560
ggagggtttcg agattcagat gccctgggag atcccagagt ttcccttccc tcttggccat	19620
attctgggtgt caatgacaag gagtaccttg gctttgccac atgtcaaggc tgaagaaaca	19680
gtgtctccaa cagagctcct tgtgttatct gtftgtacat gtgcatttgt acagtaattg	19740
gtgtgacagt gttctttgtg tgaattacag gcaagaattg tggctgagca aggcacatag	19800
tctactcagt ctattcctaa gtcctaactc ctccctgtgg tgttggattt gtaaggcact	19860
ttatecccttt tgtctcatgt ttcatcgtaa atggcatagg cagagaigat acctaatct	19920
gcatttgatt gtcacttttt gtacctgcat taatttaata aaatattcct atttattttg	19980
ttacttggta caccagcatg tccattttct tgtttatttt gtgtttaata aaatgttcag	20040
tttaacatcc cagtggagaa agtt	20064

<210> 2
<211> 20261
<212> DNA
<213> 長尾獼猴

<400> 2	
gtaaaatcaa ggtgcgttca gatgttggct tgttgtaa at tctgtttat attaataaca	60
taccaa atgt ggatttgitt taatcttcgg aactctttcc ggtgaaaacc tcattttaca	120
gaaaactgga ctgacagggt tcactttctg ttctatttct atacatagct ttattcctag	180
gacaccaaca ccactcgcta cccaaactga aagcttcccc gattccgccg aaggtcagga	240
aagtccaatg ccgggcaa ac tggatttgct gccttgcgca gaggtgggcg ggaccccgcc	300
tccgggcccgg gcgccaagtt gagcagctgg cagccctcgc gaagccccag tctgaagcc	360
ccagtcctgc gctgcttccc gaggcctccgc accagccgcg ctctctctg cctgcaggta	420
gggagcgttg ttccctccga ggtgcccacg gccagcattc tctggcta ac tcgctgggca	480
ccttaggacg gaggatctct acaccctttc tttgggatgg agagaggagg agggaaaggg	540
aaggcga tgg tctagggggc agtagagcca attacctgtt ggggttaata agaacaggca	600

atgcatctgg gcttccctcca ggcgcaattc agttttgctc taaaaataat ttataacct	660
aaaaataaat aaggtgggta gtataggata ggtagtcatt cttatgcgac cgtgtgttca	720
gaatatagct ctgatgctag gctggaagtc tggacacggg tcctagtcca ccgtcagctg	780
cttgctagta atatgacttg tgtaagtcac ccagctgca gcagataagt aagtctcttc	840
ctgcgctaag cacgtccagg acccctgaac ggaatttatt tgctctgtcc attctgaaaa	900
cccaaaggag tcctaaaaga ggaatggagg agcctaagaa taaaaatagt ataataaac	960
atttcttaga catgttgacc ttggcctatg tcaaagttca gtctgggttt gtcttataac	1020
ataaggagta aaagtacat tgttctacct ctttttttaa tacttgaaaa aaaatttact	1080
gtagatgctt ttctattaat taaataacct tctaaaaaat gtttttagtg ctgcattcga	1140
ttaggttgga taactaaatg aaattaattc ctcactgttg ggtataaagg ttatttacag	1200
tggttctgtc ttagctattc actgaacatc attacataga tatctctgga atattgctga	1260
ttgtttccgt caataaacct agaagtgtaa ctacttagtc aaagagactg aatattttaa	1320
aggcattttg aagaaaactg aaaatgcttt ccagaaagga tgtatcagtt gacaatgatg	1380
gttgtcaaca gtatttaagg agaactatga tactctgaag aaaaacttag cttttctcag	1440
tagaagcagg taggcagagg ccacatgaca gcagttagag tgtggctctc aaggaagtca	1500
cagaaatact gtggggaatt gaaaccccaa gtggaaaatg tacaagagtg tctcagtgtg	1560
actgagaagg aggttgggct tggggtttaa cttaagaatt tttttctttt tcttttgtgg	1620
agatagggtt tttgttatgt taccagggt ggtcttgaac tcctagcctc aggcgatcct	1680
cccgctcag gctgcagaag tcctgggatt actggccgga gccaccatgc aggcctcttg	1740
ctcctacttt tgagaaagga agcttaacct ttttttttg ttgtttgtt ttgtttttt	1800
gtttttttg agacgagtct cactctgttg cccaagctgg agtgcagtgg tgccatctca	1860
gtcacggca acctctgcct cctgggttca agtgattctc ctgcctcagc ctcccagta	1920
gctgggacta caggcaccca ccaccagcc cggctaattt ttgtattttt agtagagatg	1980
gggtttcacc atatttgtca ggctgatctc gaactcctga ctcaggtagt ccacctgcct	2040
cagcctccca aagtgtctggg attacaggcg tgagccaccg cgcttgcca cttgactttt	2100
tctctatctc ttctttctac ccatectacc cttggaagat agagaagtaa tatcagttcc	2160
atcgtgttat actgggcttc cccagggac aaaccactt ccccaacctg aatgagccat	2220

cacttcttcc ccagttttaca ttctattgct ctttgaatgt ctccgttcgg atatgggaat	2280
tcacatgtgg tcataattct tacctgaaga agactgacgt ctctctctct tagaccaact	2340
gccctgatgt gaggtttaga ggttaaagaa catgtgtgta ttacatgat ctttgtattc	2400
tgccttttctg tccctcacta atgacagctg aacccaagg aaatagagct gtggaggaga	2460
gggtttgatg agaaagtagg taaatattgg atctaatacca tcatcttcca ggaaacctcc	2520
attacttcta aaaattttcaa ccaaattcgt taaaggacaa gaactccacc agagtagggc	2580
cataaacatt ggcaaaaatta gttgtaatct atgactagat ttaatgtccc ttgtttttat	2640
tcacatatgg ttataatgct ttgcttgga ttaggggtat tttaagtttt ctctgccta	2700
gtaagtgtat ttgtgcttat aatacaataa ttataaaata tcacattaat attttataac	2760
tgtacagtta actctggccc aaggaaaaga tagtccggtg gatgctgcag cctgattttg	2820
tatctaacc tggcaagagg ataatgactc atgttatttc acttaccctt ttatctttt	2880
aacatgaagg gctcatatag gtcaataaga aaccaglgat ataacagac caaaaaatga	2940
tcagatcttt cacattagca aaaaaaata tttttaaac aatacccaac tgggtgaaaa	3000
tacagtgtaa cagtaccaa tatcaacatg tgtcaagaac cagaaaaatg ttgttttct	3060
ttgatcagca acactatttg aggaaatcta tctcagggc ctagcctggg gcctggcaca	3120
cagtaggcac tgaacaaata ttgtctgaac acacacatac ttatgatatt tttaaaattg	3180
gcaacaatcc aatacccaat aatagaggaa ttaaatatta tagaactgtt caataagatg	3240
cttacgaata tcatgcagta agatgggcaa tatttatatc ataagcttaa atgaaacaaa	3300
tgggtattaa aggtatggta aggttataaa ttacttttta agagattaaa gggaaaagac	3360
tgaagatat atactgaaat gctcacagtg gtgacaaggt tccccagcct tggcactatt	3420
gacattttgg gctatgtctt tgctgtggga ggctggcctg tgctctgcag gaggtttggc	3480
agcactcttg gtttctaccc ctatagtagca gtagcaaccc tccctcaacc agcccaattt	3540
tgacaaccaa aaatgtttcc aggcacacc agattctccc tgggtgagag tgatgaaaca	3600
gtaggtgatt tccccctct tttctcattt tctgtaattt tgtcacatta cgttaataat	3660
aaggaaaaaa cataaaaaat agatgaattt attattctac ctacagtttg atgtttggac	3720
tccctttggg ggttctttcc attatatcac ttggtctgct aaacagtcta tggtttggca	3780
aggtgaaatg attcatgaaa tttgtttttt attttttacc tgatactaaa agtaaaacat	3840
tcattcgctt gaaaatttgg acacagaaca ccaaaaaaaa tccataatct catctctct	3900

tttctgtctt ttccttcctt ttttcccttt aaaaacaaga gtgaaaacct accggttctc	3960
cctccaattt aattcctaaa tataatcact gttaacatct tggacatttc ctgtgtctaa	4020
acacacatac tcaactttttc ttttttttag caaaaagtgg atttctgcta catgtagtgt	4080
tccgcaactt cctacatggt tacaaaatca gtacatttac atatgctgaa ttcagtcctt	4140
aatgggtatta tattttgtga atataacaaa atttatttaa ccacttagac aatctaagat	4200
attctcagtt tgcgtgtatg agcaatgctc ttcctttaca tatacatata tatgtgtgtg	4260
tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg ttttagtagg atagatttct aggagagggc	4320
gaaatgtcat atgacatcca catttacaat tgtaatagga agtatcaaag tgccccctaa	4380
aaaaaaaaat tcctcccatl agtgtgtgag aaagcctatt tgttcataac ttcacaaaca	4440
ctaaatatta gaaatattta caatttgtgt caagctaaga agtgaaaaat ggtatttcat	4500
atcttataat ttttgttgtg agattgaaca tatttccatg gtttacctgt cacctgtatt	4560
tcttattctc tgaactatac gttatgacct ttcacttatt ttccatcatgg gttatgtgta	4620
gtttgtgtag ttgtcttatt gattgttagg agctatttat atattaggaa cattaatctc	4680
ctgtcttata tgtatgtggc attgattagt tgatcatttg tgagttcatg tctgtataca	4740
aagattagag aggcagtaag agggaaaact tacctcttcc ttatcaaagt ttgtaaatat	4800
atgtataaca gaagagagag aaaacattaa taaatgctga aataaagtat aaatttttta	4860
ctccactact tcaacataaa ctacaaaagg agagtgaact ttccttcatg ctgacttcca	4920
tattcccat gcctaaaata gtgcctagca cagaagaggt gctcaatcag tgtttgctaa	4980
atgaaagaat tagtaacatt tcaagcagga tgactaaatg aagaatagaa tctaggcaga	5040
tactctggaa gagtgactgt gagtcattca tggctcttgg atgaattagt caaatccagc	5100
tttctccct tccactccc cactgttagt agaataatct gtttattgag agaatagatt	5160
tataatttag aataagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga	5220
ctagcatggc tgagatagtg aagtggaagt cttggaaagc taaagggtaa gatgaaagta	5280
tttagccgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaatg taaaagtcag attctccttg	5340
ctttgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga	5400
aatagttgag aggaatttgg tgaaatatta tcttctggc ttcttttgag tgagcagatt	5460
tttttcaggg cctgtaacta taataaattt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc	5520

acttaagltt atgtggctgt gggcaatgga atgaaggat tgaacttcct attccctgct	5580
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactatit caattagaac	5640
caccaagtcc cataatgtca tattgtgtgt ttaattatta agtaaagcag tcttcttttt	5700
gtgttttcca taattagcac attccagaaa gatgaggata ttgtctgtct ttatattcac	5760
gatctactgg catttgctga atggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatttt	5820
aaatatitita accatgagtt taaaactaaa atgataatit aaaatgcatg caattttctt	5880
atagagagaa tattctcttc tttctttctac ttacacaaat gacaaagtct tttctctgct	5940
ttacacaaatg ataaagttcc ctgtgtcatt gtgtaaaaat atagagaata tagacaaatt	6000
gaaagacaca aaataatcta ttaccatttt cccagggtta actactgaaa atatctgggg	6060
aaatggcctg tatgtatata ttattttgtt tgttttcaac aaggccagga tctttcaatc	6120
tttcaatctt gggtgctctg tgacatgcct ttctgtatga gaatactcta aggaagaatt	6180
gtaggataca tggaaaatgt cagggttaaca cagtactggc accacctgc ggtcctttct	6240
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagttagg gaagtaaaaa	6300
gagatgttag aatctaccat tccctctatg taggaagcaa atagggtgcc agtcaaagga	6360
cattctgggg atgtctacat gaaaccaagt ctcttggttg taagtactcc atctccatat	6420
aatatttcta cagtaatata tgtttataaa ttgtgggggc aacttgttta gctaatttta	6480
ttattctgtt attgggacac tatgtctctg catgagacat agtgtcccaa aacatatttc	6540
aagccattg gataaaatat gtatttagca agttctttaa tataatgata acataactga	6600
ccagataagg tgatttttaa atgctgtgcc aactttataa atgttttgag gaattttccc	6660
ttttctgaag gttattcttc tttcttttta gcatttactg tcacggttcc caaggacctt	6720
tatgtggtag agtatggcag caatatgaca attgaatgca aattcccagt agaaaaacaa	6780
ttagacctga cttcactaat tgtctattgg gaaatggagg ataagaacat tattcaattt	6840
gtgcatggag aggaagacct gaaggttcag catagtaact acagacagag ggcccagctg	6900
ttgaaggacc agctctccct gggaaatgct gcacttcgga tcacagatgt gaaattgcag	6960
gatgcagggg ttaccgctg catgatcagc tatggtgggt ccgactacaa gcggattacc	7020
gtgaaagtca atggtaagaa ttattataga tgagaggcct gatctttata gaaaacatat	7080
tctaagtggt gaagactttt cattcttata agtccatact tattttcaaa cagaatagca	7140
tagtctcttc attcattcat tcagttcatg aattcattca cgtaagtcct caattagcat	7200

ttcttgagca cctatatgat agtcattgga aatccagaga caacacagag ccatgttcta	7260
cggtatgtac agttttccaa aaataattcc tagtctttac ttttttatta taaatgtaat	7320
acataacttt gcaaagaatt cagatactat ggaagagatc aaatgaattg caaaagtgtc	7380
cctcctccct tcaccactat ctcccatgag ataaccaaga gacactccaa gagagtaacc	7440
attatttgtg tgtccctcca gaaccttttt tattcaacta ccattttttt attttattag	7500
gtctgtcagt ttcccttttt tgagcctctc tatacaaat gctaataaat atattcagat	7560
caaaccacac tgtaagggtc atattaaaaa agacttgaag tctccctatg aagacaaaaa	7620
ataatcatat taagtgtaaa agaacttatt ctccagtagc agtataaact atactcactg	7680
ggcatatatt catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga agaggaacta	7740
ggagtgtcaa ttccctggga ctgaccacac gttatgtcat cagggtcactt gagttcgaag	7800
ttttgtgttg gcactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctctcattgt tgagtttcat	7860
agaattgaga gctgaaagga tcccaggcag gagcgactaa tccaaactcc cacaaagaac	7920
aaaaatcccc cagaggatct tctgttcata tatttccctgc agtggcatcc ctgtcatatc	7980
ccacaatggc atccctgcc tttggactcc ccttccatat cctgttgaaa ttactcccta	8040
atagtaagct gaaatctgcc cctctagttg tagttttgga attatttcat ttccatgatg	8100
accttttaat atttgactag aattaaatca tctccccttg gtatttccat tcttgacta	8160
actaccatca atctgagggc taacaatata agtagaaaa gtctacactt gtcattgatc	8220
actgatcaat gattaatcaa tgatcactga taattataaa ctcaaaaaca aaatcatgta	8280
gggattaaga gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgatt ctggctcaaa	8340
taatgtact attgtcaaga agatatcact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt	8400
taccatgtgc ttctccattc acggcatttc ttgagatgtt gtggtttata ctctcagttt	8460
ttctccagtc catcagcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca	8520
tcatgactta gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaagaa gagtataatc	8580
ctggcagtca ggaagaaggc tgcataaagt ataagtttct gcttccaaag aagatctctc	8640
atcagcctgt agggagtgt tagggagggg acagctgtcc ttgtagtagc aaagggtttt	8700
attcaggtea tctgggtccc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgcatgga	8760
tcaacacaat aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttcaggga	8820

gcaaagcaaa lgaccaacca ggtttgagga cctgatttga caattccatt ttgtatttta	8880
aattagttaa ttgtcattct agtcccaatc catcttgtca ttgtcagaca gtggttttgg	8940
ggttgagttg agctatacca aaagtcgaa ccttctgcac ttagaacaag gaaggcaacc	9000
accaagcttc acttgcactg aggcagtgtc tccaatggaa acgaggtagc tggcttgcag	9060
aagctttcca actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa ataatttcac	9120
agtactgctg ttgaacttca ctccccatca cagcaaatgt gtggtaacat agctttgcc	9180
caggagttaa ctcaccatgg gattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag	9240
aatttagttt tggattcact caattatcat gatcactttg ggtgttattg cacctttcat	9300
gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct	9360
ttaatcactg aacctaatag tagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt caggaccttc	9420
aatgagatga ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tatcccagta aagctatttg	9480
gatcgtatgg accagatcaa ctgctgtcat tccccacaa ccccatcttt ccccaaaatt	9540
cccagccctg tttaagtgtt ctctgtagca ttatctctta tctagtatat tgtgtagcat	9600
atcatatcat acttttctat ttgttttatt gtctctctcc tctagaata taaactccac	9660
aagcacagag atttgggtct gttttttaat attgttgtat cccagggct tgacgtaaag	9720
cagagtggta gtatgacaaa agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga	9780
tttcttcaaa taggattagc ctaaaatttt ggaaacatga acagacttgg atatatgaaa	9840
atttatttcc aaaactgttc atcaggaact gttagcacct tctaaagggt acactgaagc	9900
agcagtagta aaaggaggag gaggagaagc agctctgcta ctactattat cgagtactac	9960
tacaactatc gagtactact acaactatcg agtactacta caattagcac ttgcttattc	10020
tgtgtgttag gtccgtact gaacattctg cctaaattag ttcatctct cctggaaatg	10080
actctgtggg gtaggtgctt catcatgtaa gatgagtatt ttccacactt cactgtctct	10140
gaaatctgag tgtgtctttc aatgatggaa tctttgattt catgataagt ggtattattc	10200
ccattttaag gatgaggaaa ctgggggtcca aagaaattaa gtaatttgcc caaattcacc	10260
tagcctcgta aatgataaag ctagttctaa atccaagcag attggctctg aagtctgggc	10320
ccttaataac cacttattgc ctgtatttgc acctctggtg tatgtatcaa gttatatatt	10380
ggcttcaaaa ctatcatgac cttttcttga ttttgattgt tcaatattag tatagtgttc	10440
tagatctagt agaccagggg tctgcaaaaa attttgatta ctcacctcat ctgtaaaaca	10500

ttttaaac	tt gtgtgtctgt	gcaggcacat	ttgtgtgttaa	ttataaaaaa	tttactatct	10560
attaatat	at aggttgtacc	gtaagaaaaa	ttgccat	ttt tgaagagcaa	aaaaggttga	10620
atattacc	ag tttcatctgg	ttcaacctaa	tagacatttg	tacaaaaaca	gacattttaa	10680
gaggatgaaa	taaaaattta	ataaacaata	ttttcaattt	ttactaattg	tgacgcttca	10740
ctattgtag	ctaataatgtc	aaggcatgat	ataccttagg	gtggaattta	tcattaacaa	10800
aggtggatag	tgtcaataat	cttgagggtt	gtgttttttt	atataacact	gtgagggtcta	10860
attaagtact	taattgttta	caacctcata	cagtcgccaa	taataagtgt	cacttctgct	10920
gtttcctctg	ggttgtgctt	gaattatttag	tattatcttc	aatcctcagt	ttctttgtgg	10980
aaaacttttt	aattagttgt	ttaattttgt	aagatggtta	gtttagtcaa	aattagataa	11040
gagaatctga	aaatccataa	ttaccccaaa	gcaaccact	cataagaact	attatttttg	11100
tgttttgaaa	tcataatttt	attgatttcc	agtgtttcca	ctggtagtgg	tttcatgtat	11160
gtaggagtat	caaaacatca	ctaattat	ttt atttcagttt	tgtttgatcc	tagctgtttt	11220
gtgttaactt	tgaagaaatt	acatcacaga	tctattgttg	tccttggtaa	aggaatggag	11280
agttaaggct	ctagatcatt	agtggttatg	ctgtagtatt	aggagtaaaa	aaaaagatta	11340
tatcaacaaa	ataagaacat	gttaatgtac	ttgtaataga	taaacatgaa	taaagctctt	11400
atgctatata	gatgcactga	acaatctact	agaattgtca	gcaaacggta	tcttaatcct	11460
aaaagggtcc	caaaccaatg	atctaaaatt	gaatcaaact	ttcttccttg	agcataatta	11520
tttaagtgat	ttattaaaat	agccagcatt	taaaagctta	aatataagt	atcataatgt	11580
ggatatcctag	atagatccca	gaacagagaa	aggatatttag	ggaaaaactg	gaggaatgga	11640
ataaattatg	cagtttagtt	attaataatg	tactaatgtc	cttagttatg	accattgtac	11700
catggtaaag	taagatacta	acaatagagg	aaattgggta	aggggtatat	gtaactctat	11760
actatctttg	caattttttt	gtaaatttaa	aacttctaaa	ataaagaaca	aatttgaaca	11820
ttaaaaagtg	tcgccaggaa	catgtatcac	tgtttacaga	tgaacacagta	tgtattttta	11880
tatctaattt	ctgatcattg	gcttcaaatc	agaaaagtga	atgacacatc	aagatcaggt	11940
tttctgttta	ctaaataaag	tctaagaaaa	caaagcatac	cagctggaga	gattcatgtt	12000
tataaagaca	gattttataac	aacaaaaata	aaatatccaa	gaataaattt	aagaagaaat	12060
agggcactat	gtaaaaagta	tagcacit	ta ctgagaaaca	tatgaaaacc	tgaatacatg	12120

gagagaggta ttttatat ttt gaatagaaag attgctgggt taaagataat tctcttttaa	12180
ttttttttgt agaaatttaa gaggtacaag agcagttttg tcacacggat atattacata	12240
gtgggtgaagt ctgggggttt agtgtaaatt aatctttaca tttgtttga gcccaataaa	12300
tgtaccaaca tgatttttat agcaagatag tcattcctat taacccaaac ttgtcccaac	12360
tttgaactga actgaggcag agctagcagg tgttccccac tgcagaggca tctgaacatt	12420
aagcgtatcc ctctgagaac cagcctgcat tgatcctctt tctaatgtag acagcatcaa	12480
gctatatatc tagttctgtg ctgagcaaaa gccctgactt ctttttgctt atgtcctagc	12540
tccatacaac aaaatcaacc aaagaatttt ggttgtcgat ccagtcacct ctgaacatga	12600
actaacatgt caggctgagg gctaccccaa ggccgaagtc atttggacaa gcagtaccca	12660
tcaagtccig agtggtaaga ccaccaccac caattccaag agagaggaga agctttttaa	12720
tgtgaccagc acactgagaa tcaacacaac agctaattgag attttctact gcatttttag	12780
gagattagat cctgaggaaa accatacagc tgaattggtc atcccaggta atattctgaa	12840
tgtgtccatt aaaatatgtc taacactgtc ccctagcacc tagtatgatg tctgcctatc	12900
atagtcattc agtgtttgtt gaataaatga attaatgaat aacattatat ttacaaaatg	12960
tatcctaatt cctcacttcc attcatccaa atcatattgt tacttaataa acattcacca	13020
aatatitatt gaatatgcct tttgttccat gcattgtagt actcatttga cacacataga	13080
ataataagac tcacgttcac actcttcagg aaacagataa aaaacaaatg aacaaacaaa	13140
aaacaggcaa tccaatacca tgtgggaaat gctttcatac catgtgggaa acctggggga	13200
atacctgaga ggaatatcca attcaggcca tgtttcagga atccaaatcc tggcacatca	13260
gagccgcctc cttcttacta gggtttctgt ggcaggaaat aaatggaacg tatttttcta	13320
tcttatgcc aacaggaggg accctttctc cctgtgcct ctcccaagggt agtctacaat	13380
atttcaacgc tagcagtcctg tttagtgcac aggacatgag gctgtgtatc cctgggcaaa	13440
ttgtacact tctgtgtgct tcactttctc tgtaggatta taacctactg agcaaggtta	13500
ttgtgggggt caaattagca acagtgtatg aaaatgattt gagaccagtg cctgcacaaa	13560
ttcaactatt tttttttatc tcactactct atagaagtag gtaggatggg agacagagtc	13620
tgatgggagg ctgagaatgt gaaagtaagt gaggtgagtg agcatgatat ttcataataa	13680
cacaaagata ctctgagaag agcttctcac tcccccgcc cccaatagat gttgacagga	13740
aaatgccatg tacttcagca aaaacagctg aaaaattaga cataaaagtc aatcaatagg	13800

aaaagataat ccaggatggt cttgtgaaca gaaagagggg aaaaaaagt ttagaaaatg	13860
atggggatgc tcttactggg giatgagtec tcaggatatt aactggcttt cagaaaaagc	13920
tagactagtg ggttcctgcc atttaaaagc tgttttatga caacttactt gttgggtggc	13980
ctacagtaac tcacttaact gtgctgagtc tgtttcctca tctgtaaatt ggggattttt	14040
taaaataact ggcatgccta actcataaag ttgttctgaa actgaaataa aacatatatg	14100
aacaggcatt gttaaactgta agttacggaa aaagctggct gttgtttgtt ctttaaagct	14160
tcacctgggt agttagagat ggatcatggg tcicagtggg gagctgagcc aggcaggagc	14220
tgactaagggt taagaggtgg gagttagcaa tctctgaaca tctgtgtgcc atgggacccc	14280
ttttcctcct gcatggtagc ccagacaagg agcctagtaa gagatactaa tgacttgttg	14340
tccagagatg ttcaaactgc agagaaagat aagacaacaa gcattggcct ccaatcatga	14400
tgacagatag gaggaggtgg gagctcctta gcagtgcctg ttggttttcc atgttctact	14460
gtggggccatc tctgccatgt actgtaggct actaacttct atattaaaa atgcaagagg	14520
ggccgggagt ggaggctcat gcctgtaatc tcagcacitt gggaggccaa ggtgggcaga	14580
tcacttgagg tcaggagttt gtaaccagcc tggccaacat ggtgaatctc tgcctctact	14640
aaaaatacaa aaattagcca gatgtggtgg cgtgcaccgc taatcccagc tactcgggaa	14700
gctgaggcac gagaattgct tgaacctggg aggcggaggt tgcagtgagc caagattgtg	14760
ccactgccct ccagcctggg caacagagaa agactttgcc tcaaaaataa ataaataaat	14820
aaataaataa ataaataaat aaatggaagt gaaataatca aggccacat ttaatactga	14880
gtagccactc catgtggtac tgtgctaagc acattataaa atattagcct cacaagaaat	14940
gtattagcat ttgtattttg tacactgggt aagtatcttg cccaagacct caaaactggt	15000
taaggggcag cagaatttaa cccagcgcc acctttcaa agtctgggct tcttacactt	15060
ctccatgctg ttcccatfff aacagatgta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc	15120
atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgactattc tcctgatgac	15180
cccttcccat caaaatttta tctttagtca gtttgttttt gttttgtttt gtttttcaga	15240
actacctctg gcgcttccct caaatgaaag gactcacttg gtaattctgg gagccatctt	15300
tttactcctt ggtgtagcac tgacattcat cttctattta agaaaaggta gtatttcctt	15360
aattgcagtg gtctccactg gggatgagga gggggtgaga attggatcga tcatggctgc	15420

aaggaaacct gacttaacct ctgcagggtg gtgcaaaggc attccactat tcaacagtaa	15480
ttatattgaa gctgcatggg atcactgggt gaagatgagg tgtaaggggt gagggacagg	15540
agaatgggta tggatggagg tagaagatgc agtgtcatac aatTTTTTtc tatcatgaaa	15600
ataaccacag acttactgta aagaaggagc taaaatgcct gtcattttca gttgcatttt	15660
agttttgcat tagttgcacc cagctggttt ctgggtactc taagtaataa aaatagtcc	15720
tctgtagaac tgtagtattt tcaccataga gtattttgta aaattattgg tagaggatgt	15780
tacataattt gcatgtgttc ctttctccat ttacctgtgg gaacaattaa aatccaggaa	15840
aatgagtata ttcaataaat ttcttcccat ttatgatgat tcagagtaaa taattcctct	15900
gatacttaga gaagtatacc aagagatcca gtgattgtat agagtgtct gatgttaaat	15960
agggaaagtag aatatggaag ggaattccaa tagtcgttga aaaattcccc acaaccctt	16020
acatggggga aagtgggtgt aactgagata gtagagataa gctgttacca aaaattatgt	16080
tcttaacagg attgagatag ccagaatata aggatcaagt ttcaatgaca gtaagatcct	16140
gagatgcagt tgatttgcac aaagaaataa ttgttgccag ctgtcatttt gaatatttct	16200
ctggaaaaag agattagtgt gcagtagaaa tgaatagaaa tcaatagata ttaaaatacc	16260
tcagaatttg attcatctct gggaaaagat gaaaaataaa agtgtatagt cctcaagaaa	16320
atctggggtc aaaagcatgg gccttaccct attgaattaa ttaacctcag aagttgggaa	16380
ctgtggaata aggatgtcca ccagacttcc tagggattac aaatgtttca tagaacttga	16440
aatttaaact tgggtcactg tatgggatgt agagctgtgc tatatggaaa taaaaatgat	16500
ttctttttct caaggagaa tgatggatat gaaaaaatgt ggcatctgag ttacaaactc	16560
aaagaagcaa cgtggtaaga atatcagaag gaattgggaa gtagaaggca aaggaaacaa	16620
aaagctaaag caataacaaa gagaaatcca ttagtcataa tctcctctcc ttttaaagaa	16680
tgctggttcc cctttgcctc acaactaata caagaacttc tccaccatct caggaagttt	16740
agggatggcc ttcaagagta gagagtaggg agcagctctg tggagagagg agaggagcag	16800
ggaaggggaa ggagtcagct tctctttgct aatctgttgc cctgcaccct agcagctccc	16860
tgcagcaggg gacaaggttg acttaggtgg atggataatt aattgattct aaaatattgt	16920
gtgtcagtat tgtatattgt aatactatgt taactgcgcc atgcacggt tctcatttaa	16980
tccccaccc ctgtccatta ccaaaaagag agagagaaaa atactagaat tctcctcatt	17040
ttacagtaga gaaaacagag ggtcaagaag ataaagtaaa gtgcccaaga acacacaact	17100

gatcacaat atcaagcttg ggggccatta gcctaaccac agacccttac tottaaccca	17160
tctgtttcaa tccattttgc tacaaatgtt tacattttata tgcagggcag aaaagtctca	17220
tccagtttat tgaactaaga agaaagttaa attaagggtg ctaatttttt ttaatgtagt	17280
tagaaaccaa acttaacaat gagcccaagt ttaaagcagt ctaatttaact tgacaagctc	17340
aggcaagttt cattctgttg cctgtagcat catctgtgtt gtaaagctaa gtagcaaatg	17400
ttatttgggt catcctgggg ggaaagtcac cccaatttgc tcaagactga ggggtttttc	17460
aggatatcat gtaaggataa ttgggtacaa atataacctg cttctttctc tcatttcaaa	17520
tttatcattt atcatctcag caactatgag ttatgttttt tattagattt cttgttactt	17580
tttccccaga ccgctcccca tgaaattaat atactattat cactctccag atacacaatt	17640
ggaggagacg taatccagca ttggaaactc tgatcttcaa gcagggattc tcagcctgtg	17700
gtttgggggt tcgtcagggc tgagcatgac cagaggaatg aatgggcccg tgggatgcat	17760
gcagtatggg acttaaaagg cccaagcact gaaaatggaa cctggcgaaa gcagaggagg	17820
agaatgaaga aaaatggagt tgaacaggga gcgtggaggg agaccttgat actttcaaat	17880
gcctgagggg ctcatcgttg catgtgacag ggagaaagga tacttctgaa caaggagcct	17940
ccaagcaaat catccactgc tcactttagg aaaacgggtt gagaatccct aatttgaggg	18000
tcagttcctg cagaagtgcc ctttgccctc actcaatgcc tcaatttgtt ttctgcgtga	18060
ctgaggggtc cagtgttga acagtattta tgtatgagat ttctctattt attttgagtc	18120
tgtgaggtct tcttgtcatg ggagtgtgtt tgtgaatgat ttcttttgaa gatataattg	18180
agtagatgtt acaattttgt cgccaaacta aacttgatgc ttaatgactt gctcacatct	18240
agtaaaacat ggagtatttg taagggtgctt ggtctcctct ataactacaa gtacacattg	18300
gaagcataaa gatcaaaccg ttgatttgta taggatgtca cctttattta acccattaat	18360
actctgattg acttaatctt attctcagac ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt	18420
taaatatcag ctttataatt atgttggtacc atacacacat aatctccttt catcgctgta	18480
accaccctgt tgtgatgacc actattattt taccatttgt acagctgagg aagcaaacag	18540
attaagtaac ttgccaaaac cagtaaatac cagagctcag actgccaccc actgtccttt	18600
tataatacaa ttacagcta tattttactt taagcaattc atttattcaa aaccattta	18660
ttaagtgcc ttgcaatata aatcactgta ccaggcatg aatctacaga tgtgagcaag	18720

agaaagiacc tgtcctcaag gagcttggag tataataagg agattaataa gaaaatatat	18780
tattacaatc tagtccagtg tcatagcata aggatgatgt gaggagaaaa gctgagcagt	18840
gttgccaaga ggaggaaata ggccaatgtg gtctgggaca gttgaatgta tttaaacatc	18900
ttaataatca aagtaatttt catttacaaa gagaagtcag tacttaaaat aacctgaaa	18960
aataacactg gaattccttt tctagcatta tatttatccc tgatttgcct ttgccataca	19020
atctaagtct tgtttatata gtgtctgata ttgtttaaca gttctgtctt ttctattcaa	19080
atgctattaa attttaatt catacctttc catgattcaa aattcaaaag atcccatggg	19140
agatggtttg aaaatctcca ctccatctc caagccattc aagtttctt tccagaagca	19200
actgctactg ccttttattc atatgttctt ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg	19260
ttaaaagcal atatttttaa atttttttcc ctaaatagta acacattata tgtctgtctgt	19320
gcactttgct atttttattt attgtagtgt ttcttatgta gcagatggaa tgaatttgaa	19380
gctcccaagg gtcaggacac atgccttctt tgtttctaag ttatctttcc catagctttt	19440
cataatcttt catatgattt agtacatgtt aaatatgtgc tacatataca tttagacaac	19500
cagcatttgt taagtatttg ctctaggact gagtttggat ttatgtttgc tcaaaaggag	19560
acccatgggc tctccagggt gcactgagtc aatctagtc taaaaagcaa tcttattatt	19620
aactctgtat gacagaatca tatctggaac ttttgttttc tgccttctgt caagtataaa	19680
cttcactttg atgctgtact tgcaaaatca cattttcttt ctggaaattc cagtagtgta	19740
ccttgactgc tagttaccct gtgccagaaa agcctcattc gttgtgcttg aaccttttaa	19800
tgccaccagc tgcatact acacaggcct cctaagaggc ttccctggagg ttttgagatt	19860
cagatgccct gagagatccc agagtttcct ttccctcttg gccacattct ggtgtcagt	19920
acaaggaata ccttcgcttt gccacccgtc aagggtgaag aaacagcgtc tccaacagag	19980
ctccttgtgt tatctgtttg tacatgtgca tttgtacagt aatttgtgtg acagtgttct	20040
ttgtgtgaat tacaggcaag aactgtggct gagcaaggca catagtctac tcagtctatt	20100
cctaactcct ccttttggtg ttggatttgt aaggcacttt atcccttttg tctcatgttt	20160
catcgtaaat ggcataggca gagatgatat ctaattctgc atttgattgt cactttttgt	20220
acctgcatta atttaataaa atatccttat ttattttgtt a	20261

<210> 3
<211> 20340

- <212> DNA
- <213> 長尾獼猴

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1658)..(1881)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (2742)..(2745)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (2747)..(2747)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (2749)..(2749)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (4764)..(4802)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (8775)..(8778)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (8980)..(8984)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (9161)..(9293)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (9344)..(9348)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (9840)..(9874)
- <223> n 條 a、c、g 或 t

- <220>

<221> misc_feature
 <222> (9958)..(9973)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10437)..(10452)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10603)..(10603)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10830)..(10830)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10989)..(11006)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11105)..(11122)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11457)..(11457)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13710)..(13710)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14015)..(14049)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14518)..(14585)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14689)..(14699)
 <223> n 條 a、c、g 或 t

 <220>

<221> misc_feature
<222> (14707)..(14767)
<223> n 條 a、c、g 或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> (14837)..(14865)
<223> n 條 a、c、g 或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> (15703)..(15741)
<223> n 條 a、c、g 或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> (17403)..(17415)
<223> n 條 a、c、g 或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> (19122)..(19135)
<223> n 條 a、c、g 或 t

<400> 3	
ctgaaagctt ccccgattcc gccgaaggtc aggaaagtcc aatgccgggc aaactggatt	60
tgtctgccttg cgcagaggtg ggcgggaccc cgccctccggg ccgggcgcca agttgagcag	120
ctggcacgcc tcgcgaagcc ccagtcctga agccccagtc ctgcgctgct tcccgaggct	180
ccgcaccagc cgcgcttctc tctgcctgca ggtagggagc gttgttcctc cgcaggtgcc	240
cacggcccag catctctggc taactcgctg ggcaccttag gacggaggat ctctacacc	300
tttctttggg atggagagag gaggagggaa agggaaggcg atggtctagg gggcagtaga	360
gccaaattacc tgttggggtt aataagaaca ggcaatgcat ctgggcttcc tccagcgcaa	420
ttcagttttg ctctaaaaat aatttatacc tctaaaaata aataaggtgg gtagtatagg	480
ataggtagtc attcttatgc gaccgtgtgt tcagaatata gctctgatgc taggctggaa	540
gtctggacac gggctcctagt ccaccgtcag ctgcttgcta gtaatatgac ttgtgtaagt	600
catccagct gcagcagata agtaagtcic ttccctgcgt aagcacgtcc aggacccctg	660
aacggaattt atttgctctg tccattctga aaacccaaag gagtcctaaa agaggaatgg	720
aggagcctaa gaataaaaat agtataataa aacatttctt agacaggttg accttggcct	780
atgtcaaagt tcagtcctggg ttgtcttat aacataagga gtaaaagtac cattgttcta	840
cctctttttt taatacttga aaaaaattt actgtagatg cttttctatt aattaaataa	900

ccttctaaaa aatgttttta gtgctgcatt cgattaggtt ggataactaa atgaaattaa	960
ttcctcactg ttgggtataa aggttattta cagtggttct gtcttagcta ttcactgaac	1020
atcattacat agatatctct ggaatatgtc tgattgtttc cgtcaataaa cttagaagtg	1080
taactactta gtcaaagaga ctgaatatit taaaggcatt ttgaagaaaa ctgaaaatgc	1140
tttccagaaa ggatgtatca gttgacaatg atggttgtca acagtattta aggagaacta	1200
tgatactctg aagaaaaact tagcctttct cagtagaagc aggtaggcag aggccacatg	1260
acagcagtta gagtgtggtc ttcaaggaag tcacagaaat actgtgggga attgaaaccc	1320
caagtggaaa atgtacaaga gtgtctcagt gtgactgaga aggaggttgg gcttgggggt	1380
taacttaaga attttttctt ttcttttgtg gagatagggc ttttgttatg ttaccaggc	1440
tggtcttgaa ctctagcct caggcgatcc tcccgcctca ggctgcagaa gtctgggat	1500
tactggccgg agccaccatg caggcctctt gctcctactt ttgagaaagg aagcttaacc	1560
tttttttttt gtttgttttt gtttttgtt tttttttag acgagtctca ctctgttgcc	1620
caagctggag tgcagtgggtg ccattctcagc tcacagcnnn nnnnnnnnnn	1680
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1740
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1800
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1860
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngactttttc tctatctctt ccttctacce atctaccct	1920
tggaagatag agaagtaata tcagttccat cgtgttatac tgggcttccc ccagggacaa	1980
accacttcc ccaacctgaa tgagccatca cttcttcccc agtttacatt tcattgctct	2040
ttgaatgtct ccgttcggat atgggaattc acatgtggtc ataattctta cctgaagaag	2100
actgacgtct tcttctctta gaccaactgc cctgatgtga ggtttagagg ttaaagaaca	2160
tgtgtgtatt tacatgatct ttgtattctg ccttttcgtc cctcactaat gacagctgaa	2220
ccccaaggaa atagagctgt ggaggagagg gtttgatgag aaagtaggta aatattggat	2280
ctaatecatc atcttccagg aaacctccat tacttctaaa aatttcaacc aaattcgta	2340
aaggacaaga actccaccag agtagggcca taaacattgg caaaattagt tgtaatctat	2400
gactagattt aatgtccctt tgttttattc acatatgggt ataattgctt gcttgggaatt	2460
aggggtattt taagttttct tctgcctagt aagtgtattt gtgcttataa tacaataatt	2520
ataaaatata acattaatat ttataactg tacagttaac tctggcccaa ggaaaagata	2580

gtccggtaga tgctgcagcc tgatTTTgta tctaaccctg gcaagaggat aatgactcat	2640
gttatttcac ttaccctttt tatcttttaa catgaagggc tcataataggc caataagaaa	2700
ccagtgatat aaacagacca aaaaatgac agatctttca cnnnnanana aaaaaatat	2760
ttttaaaca tacccaactg ggtgaaaata caatgtaaca gtaccaaata tcaacatgtg	2820
tcaagaacca gaaaaatgtt tgttttctt gatcagcaac actatttgag gaaatctatc	2880
ctcagggcct agcctggggc ctggcacaca gtaggcactg aacaaatatt tgctgaacac	2940
acacatactt atgatatttt taaaattggc aacaatccaa tacccaataa tagaggaatt	3000
aaatattata gaactgttca ataagatgct tacgaatata atgcagtaag atgggcaata	3060
tttatatcat aagcttaaat gaaacaaatg ggtattaaag gtatggtaag gttataaatt	3120
actttttaag agattaaagg gaaaagactg aaagatatat actgaaatgc tcacagtggc	3180
gacaaggctc ccagccttg gcactattga cttttgggc tatgtctttg ctgtgggagg	3240
ctggcctgtg ctctgcagga ggtttggcag cactcttggt ttctaccct agatagcagt	3300
agcaaccctc cctcaaccag cccaattttg acaacaaaa atgtttccag gcacaccag	3360
attctccctg ggtgagagt atgaaacagt aggtgatTTT ccccttctt tctcattttc	3420
tgtaattttg tcacattacg ttaataataa ggaaaaaca taaaaaatag atgaatttat	3480
tattctacct cagtttgat gtttgactc cttttgggg ttctttccat tatacactt	3540
ggtctgctaa acagtctatg gtttggaag gtgaaatgat tcatgaaatt ttgtttttat	3600
tttttacctg atactaaaag taaaacattc attcgttga aaatttgac acagaacacc	3660
aaaaaaaaat cataatctca tctctctttt tctgtctttt ccttctttt ttccctttaa	3720
aaacaagagt gaaaacctac cgttctccc tccaatttaa ttctaaata taatcactgt	3780
taacatcttg gacatttct gtgtctaaac acacatactc actttttctt ttttttagca	3840
aaaagtggat ttctgctaca ttagtggtc cgcaacttcc tacatgttta caaatcagt	3900
acatttacat acgtgaatt cagtccttaa tgggtattata tttgtgaat ataacaaaat	3960
ttatttaacc acttagacaa tctaagatat tctcagtttg ctgttatgag caatgctctt	4020
cttttacata tacatatata tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt	4080
ttagtaggat agatttctag gagagggcga aatgtcatat gacatccaca ttacaattg	4140
taataggaag tatcaaagt cccctaaaa aaaaaattc ctccattag tgtgtgagaa	4200

agcctatitg ttcatactt cacaacact aaataffaga aatatttaca attgtgttca	4260
agctaagaag tgaaaaatgg tatitcataat ctataattt ttgttgtag attgaacata	4320
tttccatagt ttacatgtca cctgtatttc ttattctctg aactatacgt tatgacctt	4380
cacttatit tctcatgggt tatgtgtagt ttgtgtagt gtcttattga ttgttaggag	4440
ctatttata attaggaaca ttaatctcct gtcttataatg tatgtggcat tgattagt	4500
atcatttgtg agttcatgtc tgtatacaaa gattagagag gcagtaagag ggaaaactta	4560
cctctttctt atcaaagttt gtaaataat gtataacaga agagagagaa aacattaata	4620
aatgctgaaa taaagtataa atttttact cactacttca acataaacta caaaaggaga	4680
gtgacttttc ttcatgtctg acttccatat tccccatgcc taaaatagt cctagcacag	4740
aagagggtgt caatcagtgt ttgnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	4800
nnaaatgaag aatagaatct aggcagatac tctggaagag tgactgtgag tcattcatgg	4860
tcttggtatg aattagtcaa atccagcttt ctccccctcc cactccccac tgttagtaga	4920
ataatctgtt tattgagaga atagatttat aattttagaat aagaggggca gaagaggaga	4980
ttttgaagga tggcacctga aggaggacta gcatggctga gatagtgaag tggaaagtctt	5040
ggaaagctaa agggtaagat gaaagtattt agccgtaggg ggaaaaagca ttgacaggtt	5100
ggaaatgtaa aagtcagatt ctccctgtct tgaaattttg tacagggcag gtctacttag	5160
gtatgttaca atgcagaaaa aacatgaaat agttgagagg aatttggga aatattatct	5220
tcttggtctc ttgtgagtga gcagattttt ttccaggcct gtaactataa taaatttgaa	5280
acttctcatc tttagtaac ttttttact taagtttatg tggctgtggg caatggaatg	5340
aaggatattga acttccatatt cctgtctggg ttccacaaat tacaagtcaa tcatgactgg	5400
ttattagaag actatttcaa ttagaaccac caagtcccat aatgtcatat tgtgtgttta	5460
attattaagt aaagcagtct tctttttgtg ttcccataa ttagcacatt ccagaaagat	5520
gaggatattt gctgtcttta tattcacgat ctactggcat ttgctgaatg gtaagacacc	5580
aaatccttcc attaggttct atattttaaa tattttaacc atgagtttaa aactaaaatg	5640
ataattttaa atgcatgcaa tttcttata gagagaatat tctcttctt cttctacttt	5700
acacaatgac aaagtcttct ttctgtctta cacaatgata aagctccctg tgtcattgtg	5760
taaaaatata gagaatatag acaaattgaa agacacaaaa taatctatta cccatttccc	5820
agggttaact actgaaaata tctggggaaa tggcctgtat gtatatatt atttgtttgt	5880

tttcaacaag gccaggatct ttcaatcttt caatcttggg tgctctgtga catgcctttc	5940
ctgatgagaa tactctaagg aagaattgta ggatacatgg aaaatgtcag ggtaacacag	6000
tactggcacc accctgcggt cctttctgaa ctccatacca atgtacttct tgcagaaaa	6060
ctgatcaaaa gtttagggaa gtaaaaagag atgttagaat ctaccattcc ctctatgtag	6120
gaagcaaata ggtgtccagt caaaggacat tctggggatg tctacatgaa accaagtctc	6180
ctggttgtaa gtactccatc tccatataat atttctacag taatatatgt ttataaatg	6240
tgggggcaac ttgttttagct aattttatta ttctgttatt gggacactat gtctctgcat	6300
gagacatagt gtcccaaac atatttcaag cccattggat aaaatatgta tttagcaagt	6360
tcttaaatat aatgataaca taactgacca gataagggtga tttttaaag ctgtgccaac	6420
tttataaatg ttttgaggaa ttttcccttt tctgaagggt attcttcttt ctttttagca	6480
tttactgtca cggttcccaa ggacctatat gtggttagagt atggcagcaa tatgacaatt	6540
gaatgcaaat tcccagtaga aaaacaatta gacctgactt cactaattgt ctattgggaa	6600
atggaggata agaacattat tcaatttgtg catggagagg aagacctgaa ggttcagcat	6660
agtaactaca gacagagggc ccagctgttg aaggaccagc tctccctggg aaatgctgca	6720
cttcggatca cagatgtgaa attgcaggat gcaggggttt accgctgcat gatcagctat	6780
ggtggtgccg actacaagcg gattaccgtg aaagtcaatg gtaagaatta ttatagatga	6840
gaggcctgat ctttatagaa aacatattct aagtgttgaa gacttttcat tcttataagt	6900
ccatacttat tttcaaacag aatagcatag tctcttcatt cattcattca gttcatgaat	6960
tcattcacgt aagtctccaa ttagcatttc ttgagcacct atatgatagt cattggaaat	7020
ccagagacaa cacagagcca tgttctacgg tatgtacagt ttccaaaaa taattcctag	7080
tctttacttt ttattataa atgtaataca tatacttgca aagaattcag atactatgga	7140
agagatcaaa tgaattgcaa aagtgtccct cctcccttca ccactatctc ccatgagata	7200
accaagagac actccaagag agtaaccatt atttgttgt cctccagaa cttttttat	7260
tcaactacca tttttttatt ttattaggtc tgtcagtttt ccttttttga gcctctctat	7320
atcaaatgct aataaatata ttcagatcaa accccactgt aaggttcata ttaaaaaaga	7380
cttgaagtct ccctatgaag acaaaaaata atcatattaa gtgtaaaaga acttattctt	7440
ccagtacagt ataaactata ctactgggc atatattcat ctgaaaatc tatactgatg	7500

ttgtcttggg gaattgaaga ggaactagga gtgtcaattc ctgggaactg acccacagtt	7560
atgtcatcag gtcacttgag ttcgaagttt tgtgttagca ctagctaagt aaaggaaaac	7620
acctctgctt tcattgttga gtttcataga attgagagct gaaaggatcc caggcaggag	7680
cgactaatcc aaactcccac aaagaacaaa aatccccagc aggatcttct gttcatatat	7740
ttcctgcagt ggcatccctg tcatatccca caatggcatc ccigccattt ggactcccct	7800
tccataacct gttgaaatta ctccctaata gtaagctgaa atctgcccct ctagttgtag	7860
ttttggaatt atttcatttc catgatgacc ttttaatat tgactagaat taaatcatct	7920
cccttggta ttccattcc tggactaact accatcaatc tgagggctaa caatacaagt	7980
agaaaaagtc tacacttgtc attgatcact gatcaatgat taatcaatga tcaatgataa	8040
ttataaactc aaaaacaaaa tcatgtaggg attaagagaa atgtatcagt tttatgttgt	8100
atttctggtc cctgattctg gctcaataa tgctactatt gtcaagaaga tatcacttgt	8160
aaagtagatt taattttcat tatattttac catgtgcttc tccattcacg gcatttcttg	8220
agatgttgtg gtttatactt tcagtttttc tccagtccat cagcaaatat caggcatcta	8280
ctgtgttcca agatattaaa gaaatcatca tgacttagcc tcatcaacag cattgctaga	8340
tctgggatgg aaaagaagag tataatcctg gcagtcagga agaaggctgc ataaagtata	8400
agtttctgct tccaaagaag atctctcacc agcctgtagg gagtgtatag ggaggggaca	8460
gctgtccttg tagtagcaaa gggttttatt caggtcactt gggctccata atatcccttg	8520
tgtatctgca gtctcctttg ccatggatca acacaatagg aaatcttccg gcactgatgg	8580
tttttccaag ggggagttct tcaggagca aagcaaatga ccaaccaggt ttgaggacct	8640
gatttgacaa ttccattttg tattttaaat tagttaattt gcattctagt cccaatccat	8700
cttgtcattt gcagacagtg gttttgggtg tgagttgagc tataccaaaa gtctgaacct	8760
tctgcactta gaacnnnnaa ggcaaccacc aagcttact tgcactgagg cagtgtctcc	8820
aatggaaacg aggtagctgg ctgcagaag ctttccaact cagggaagta gaactcctga	8880
gtcacctcca tatgcaata atttcacagt actgctgttg aacttactt cccatcacag	8940
caaatgtgtg gtaacatagc ttgcccacag gagtttactn nnnnccatgg gattttaaag	9000
gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt tggattcact caattatcat	9060
gatcactttg ggtgttattg cacctttcat gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg	9120
cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcactg nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	9180

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	9240
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnctgtcat	9300
tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt cccagccctg tttnnnnnngt ttttctttaa	9360
tactgaacc taatagtagg gaaaacgaaa tgttcattca gactttcagg accttcaatg	9420
agatgaggca gctgaaagat caaagtagtt gcatagttaa cccagtaaag ctatttggat	9480
cgtatggacc agatcaactg ctgtcattcc ccaccaaccc catctttccc caaaattccc	9540
agccctgttt aagtgttctc ttagcatttt atctctatct agtatattgt gtagcatatc	9600
atatcatact tttctatitt gtttattgtc tctctcctcc tagaatataa actccacaag	9660
cacagagatt tgggtctgtt ttttaataat gttgtatccc cagggttga cgtaaagcag	9720
agtggtagta tgacaaaagc acacaaaaaa tatttgttga gtcaatgaat gaatgatttc	9780
ctcaaatagg attagcctaa aatttggaaa catgaacaga ctggatata tgaaaatttn	9840
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnttctaa agggtagact gaagcagcag	9900
tagtaaaagg aggaggagga gaagcagctc tgctactact attatcgagt actactannn	9960
nnnnnnnnnn nnnctacaac tatcgagtac tactacaatt agcacttgct tattctgtgt	10020
gttaggtcct gtactgaaca ttctgcctaa attagttcat ttctcctgg aaatgactct	10080
gtgggtagg tgcttcatca tgtaagaiga gtatttttca cacttactg tctctgaaat	10140
ctgagtgtgt ctttcaatga tggaatcttt gatttcatga taagtggat tattccatt	10200
ttaaggatga ggaaactggg gtccaaagaa attaagtaat ttgcccaaat tcacctagcc	10260
tcgtaaatga taaagctagt tctaaatcca agcagattgg ctctgaagtc tgggccctta	10320
ataaccactt attgcctgta ttgacacctc tgggtgatgt atcaagttaa atattggctt	10380
caaaactatc atgacctttt ctgattttg attgttcaat attagtatag tgttctnnnn	10440
nnnnnnnnnn nngggctcgc aaaaaatttt gattactcac ctcatctgta aaacatttta	10500
aacttgtgtg tctgtgcagg cacatttgtg tgtaattata aaaaattttac tatctattaa	10560
tatataggtt gtaccgtaag aaaaattgcc atttttgaag agncaaaaaa ggttgaatat	10620
taccagtttc atctggttca acctaataga catttgtaca aaaacagaca ttttaagagg	10680
atgaaataaa aatttaataa acaatatttt caatttttac taattgtgac gcttactat	10740
tgttagctaa tatgtcaagg catgatatac cttagggtag aatttatcat taacaaaggt	10800

ggatagtgtc aataatcttg aggtttgign ttttttatai aacactgtga ggtctaatta	10860
agtacttaat tgtttacaac ctcatcacagt cgccaataat aagtgtcact tctgctgttt	10920
cctctgggtt gtgcttgaat tattagttatt atcttcaatc ctgagtttct ttgtggaaaa	10980
ctttttaann nnnnnnnnnn nnnnnnaaga tggttagttt agtcaaaatt agataagaga	11040
atctgaaaat ccataattac cccaaagcaa cccactcata agaactatta tttttgtgtt	11100
ttggnnnnnn nnnnnnnnnn nntttccagt gtttccactg gtagtgggtt cattgatgta	11160
ggagtatcaa aacatcacta attatattatt tcagttttgt ttgatcctag ctgttttgtg	11220
ttacttttga agaaattaca tcacagatct attgtttgtcc ttggtaaagg aatggagagt	11280
taaggctcta gatcattagt ggttatgctg tagtattagg agtaaaaaaa agattatata	11340
aacaaaataa gaacatgtta atgtacttgt aatagataaa catgaataaa gctcttatgc	11400
tatatagatg cactgaacaa tctactagaa ttgtcagcaa acggtatctt aatcctnaaa	11460
agggtcccaa accaatgac taaaattgaa tcaaactttc ttcttgagc ataattattt	11520
aagtgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tataagtatc ataatgtggt	11580
atcctagata gatcccagaa cagagaaagg atattaggga aaaactggag gaatggaata	11640
aattatgcag tttagttatt aataatgtac taatgtcctt agttatgacc attgtaccat	11700
ggtaaagtaa gatactaaca atagaggaaa ttgggtaagg ggtatatgta actctatact	11760
atctttgcaa tttttttgta aattttaaac ttctaaaata aagaacaaat ttgaacatta	11820
aaaagtgtcg ccaggaacat gtatcactgt ttacagatga aacagtatgt atttttatat	11880
ctaatttctg atcattggct tcaaatacaga aaagtgaatg acacatcaag atcaggtttt	11940
ctgtttacta aataaagtct aagaaaacaa agcataccag ctggagagat tcatgtttat	12000
aaagacagat ttataacaac aaaataaaat atccaagaat aaatttaaga agaaataggg	12060
cactatgtaa aaagtatagc actttactga gaaacatatg aaaacctgaa tacatggaga	12120
gaggtatfff atatttgaat agaaagattg ctggttttaa gataattctc tttaaatttt	12180
ttttgttaga aatttaagag gtacaagagc agttttgtca cacggatata ttacatagtg	12240
gtgaagtctg gggttttagt gtaaattaat ctttacattt tgtttgagcc caataaatgt	12300
accaacatga tttttatagc aagatagtca ttctatttaa cccaaacttg tcccaacttt	12360
gaactgaact gaggcagagc tagcaggtgt tccccactgc tgaggcatct gaacattaag	12420
cgtatccctc tgagaaccag cctgcattga tectctttct aatgtagaca gcatcaagct	12480

atataatctag ttctgtgctc agcaaaagcc ctgacttctt ttgcttatg tccatgctcc	12540
atacaacaaa atcaacaaa gaattttggg tgtcgatcca gtcacctctg aacatgaact	12600
aacatgtcag gctgagggct accccaaggg cgaagtcatt tggacaagca gtgaccatca	12660
agtcctgagt ggtaagacca ccaccaccaa ttccaagaga gaggagaagc ttttaaatgt	12720
gaccagcaca ctgagaatca acacaacagc taatgagatt ttctactgca tttttaggag	12780
attagatcct gaggaaaacc atacagctga attgggtcatc ccaggtaata ttctgaatgt	12840
gtccattaaa atatgtctaa cactgtcccc tagcacctag tatgatgtct gcctatcata	12900
gtcattcagt gtttgttgaa taaatgaatt aatgaataac attatattta caaaatgtat	12960
cctaattcct cacttccatt catccaaatc atattgttac ttaataaaca ttcaccaa	13020
atttattgaa tatgcctttt gtcccatgca ttgtagtact catttgacac acatagaata	13080
ataagactca cgttcacact cticaggaaa cagataaaaa acaaatgaac aaacaaaaaa	13140
caggcaatcc aataccatgt gggaaatgct ttcataccat gtgggaaacc tgggggaata	13200
cctgagagga atattcaatt caggccatgt ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag	13260
ccgcctcctt ctactaggg tttctgtggc aggaaataaa tggaacgtat ttttctatct	13320
tatgccaaac aggagggacc ctttctcccc tgtgcctctc ccaaggtagt ctacaatatt	13380
tcaacgctag cagtctgttt agtgcacagg acatgaggct gtgtatccct gggcaaattg	13440
ctacacttct gtgtgcttca ctttctctgt aggattataa cctactgagc aaggttattg	13500
tgggggtcaa attagcaaca gtgtatgaaa atgatttgag accagtgcct gcacaaattc	13560
aactattttt ttttatctca ctactctata gaagtaggta ggatgggaga cagagtctga	13620
tgggaggctc agaatgtgaa agtaagttag gtgagttagc atgatatttc atataaacac	13680
aaagatactc tgagaagagc ttctcacttn ccccgcccc aatagatgtt gacaggaaaa	13740
tgccacgtac ttcagcaaaa acagctgaaa aattagacat aaaagtcaat caataggaaa	13800
agataatcca ggatggctct gtgaacagaa agaggaaaaa aaaagttag aaaatgatgg	13860
ggatgctctt actggggtat gagtcctcag gtattcaact ggctttcaga aaaagctaga	13920
ctagtgggtt cctgccattt aaaagctgtt ttatgacaac ttacttggtg ggtggcctac	13980
agtaactcac ttaactgtgc tgagtctgtt tccnnnnnn nnnnnnnnn nnnnnnnnn	14040
nnnnnnnnna tgcctaactc ataaagtgt tctgaaactg aaataaaaca tatatgaaca	14100

ggcatlglaa actgtaagtt acggaaaaag ctggctgttg ttgtgtcttt aaagcttcac	14160
ctgggtagtt agagatggat catgggtctc agtggagagc tgagccaggc aggagctgac	14220
taagggtlaag aggtgggaat tagcaatctc tgaacatctg tgtgccatgg gacccctttt	14280
cctcctgcat ggtaccccag acaaggagcc tagtaagaga tactaatgac ttgttgtcca	14340
gagatgttca aactgcagag aaagataaga caacaagcat tggcctccaa tcatgatgac	14400
agatagagga ggtgggagct ccttagcagt gctggttggt ttccatgtt ctactgtggg	14460
ccatctctgc catgtactgt aggctactaa cttctatatt aaaaaatgca agaggggnnn	14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	14580
nnnnntcagg agtttgtaac cagcctggcc aacatggiga atctctgcct ctactaaaaa	14640
tacaaaaatt agccagatgt ggtggcgtgc acccgtaatc ccagctacnn nnnnnnnnna	14700
ggcacgnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	14760
nnnnnnnagc atgggcaaca gagaaagact ttgctcaaaa aataaataaa aaataaataa	14820
ataaataaat aaataannnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnncattt aatactgagt	14880
agccactcca tgttgtactg tgctaagcac attataaaat attagcctca caagaaatgt	14940
attagcattt gtattttgta cactgggtta gtatcttgcc caagacctca aaactggtta	15000
aggggcagca gaatttaacc ccagegccac cttttcaaag tctgggcttc ttacacttct	15060
ccatgctgtt cccattttta cagatgtatc tcgccattcc agccactcaa actttggcat	15120
ttaagaaaat tctcctaaag ctaaactaaa cttcaaggat gactattctc ctcatgacce	15180
cttcccatca aaattttatc tttagtcagt ttgtttttgt tttgttttgt ttttcagaac	15240
tacctctggc gcttctcca aatgaaagga ctactttggt aattctggga gccatctttt	15300
tactccttgg tgtagcactg acattcatct tctatttaag aaaaggtagt atttccttaa	15360
ttgcagtggt ctccactggg gatgaggagg gggtgagaat tggatcgatc atggctgcaa	15420
ggaaacctga cttaacctct gcagggtggt gcaaaggcat tccactattc aacagtaatt	15480
atattgaagc tgcatgggat cactgggtga agatggggtg taagggtga gggacaggag	15540
aatgggtatg gatggaggtga gaagatgcag tgtcatacaa tttttttcta tcatgaaaat	15600
aaccacagac ttactgtaaa gaaggagcta aaatgcctgt cattttcagt tgcattttag	15660
ttttgcatta gttgcacca gctggtttct gggtactcta acnnnnnnnn nnnnnnnnnn	15720
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nccatagagt attttgtaaa attattggca gaggatgtac	15780

ataatttgca tgtgttcctt tctccattta cctgtgggaa caattaaaat ccaggaaaat	15840
gagtatatcc aaataatttc ctcccattta tgatgattca gagtaaataa ttcctctgat	15900
acttagagaa gtataccaag agatccagtg attgtataga gttgtctgat gttaaatagg	15960
gaagtagaat atggaaggga ttccaatagt cgttgaaaaa ttccccacaa ccccttacat	16020
gggggaaagt ggtgttaact gagatagtag agataagctg ttaccaaaaa ttatgttctt	16080
aacaggattg agatagccag aatataagga tcaagtttca atgacagtaa gatcctgaga	16140
tgcagttgat ttgcacaaag aaataattgt tgccagcttg cattttgaat atttctctgg	16200
aaaaagagat tagttggcag tagaaatgaa tagaaatcaa tagatattaa aatacctcag	16260
aatttgattc atctctggga aaagatgaaa aataaaagtg tatagtcctc aagaaaatct	16320
gggatcaaaa gcatgggcct taccctattg aattaattaa cctcagaagt tgggaactgt	16380
ggaataagga tgtccaccag acttcctagg gattacaaat gtttcataga acttgaaatt	16440
taaacttggg tcaactgtatg ggatgtagag ctgtgctata tggaaataaa aatgatttct	16500
ttttctcaag ggagaatgat ggatatgaaa aaatgtggca ttcgagttac aaactcaaag	16560
aagcaacgtg gtaagaatat cagaagggaat tgggaagtag aaggcaaagg aaacaaaaag	16620
ctaaagcaat aacaaagaga aatccattag tcataatctc ctctcctttt aaagaatgct	16680
ggttccccct tgcctcacia ctaatacaag aacttctcca ccattctcagg aagtttaggg	16740
atggcccttca agagtagaga gtagggagca gctctgtgga gagaggagag gagcagggaa	16800
ggggaaggag tcagcttctc tttgctaate tgttgccctg caccctagca gctccctgca	16860
gcagggggaca aggttgactt aggtggatgg ataattaatt gattctaaaa tattgtgtgt	16920
cagtattgta tattgttaata ctatgttaac tgcgccatgc acggtatctc atttaatccc	16980
ccaccccttg ccattaccaa aaagagagag agaaaaatac tagaattatc ctcatcttac	17040
agtagagaaa acagagggtc aagaagataa agtaaagtgc ccaagaacac acaactgac	17100
acaaatatca agcttggggt ccattagcct aaccacagac ccttactctt aacccatctg	17160
cttcaatcca ttttgctaca aatgtttaca ttatatgcag ggcagaaaag tctcatccag	17220
tttattgaac taagaagaaa gttatattaa ggtgtctaatt tttttttaat gtagttagaa	17280
accaaactta acaatgagcc caagttttaa gcagtctaatt taacttgaca agctcaggca	17340
agtttcattc tgtggcctgt agcatcatct gtgttgtaaa gctaagtagc aaatgttatt	17400

tgnnnnnnnn nnnnnggtca tcctgggggg aaagtcalcc caatttgctc aagactgagg	17460
ggtttttcag gatatcatgt aaggataatt gggtagaaat ataacctgct tctttctctc	17520
atttcaaatt tatcatttat catctcagca actatgagtt atgtttttta ttagatttct	17580
tgttactttt tccccagacc gctccccatg aaattaatat actattatca ctctccagat	17640
acacaattgg aggagacgta atccagcatt ggaacttctg atcttcaagc agggattctc	17700
agcctgtggt ttgggggttc gtcagggtcg agcatgacca gaggaatgaa tgggcccgtg	17760
ggatgcatgc agtatgggac ttaaaaggcc caagcacatga aaatggaacc tggcgaaagc	17820
agaggaggag aatgaagaaa aatggagttg aacaggggagc gtggaggagg accttgatac	17880
tttcaaattgc ctgagggggct catcgggtgca tgtgacaggg agaaaggata cttctgaaca	17940
aggagcctcc aagcaaatca tccactgctc atcttaggaa aacgggttga gaatccctaa	18000
tttgagggtc agttcctgca gaagtgcctt ttgcctccac tcaatgcctc aatttgtttt	18060
ctgcgtgact gagggctcca gtgttggaac agtatatta gtagagattt tcctatttat	18120
tttgagtctg tgaggctctc ttgtcatggg agtgtggttg tgaatgattt ctttgaaga	18180
tatattgtag tagatgttac aattttgtcg ccaaaactaaa cttagatgctt aatgacttgc	18240
tcacatctag taaaacatgg agtatattgta aggtgcttgg tctcctctat aactacaagt	18300
acacattgga agcataaaga tcaaaccgtt gatttgtata ggatgtcacc tttatttaac	18360
ccattaatac tctgattgac ttaatcitat tctcagacct caagtgtctg tgcagtatct	18420
gttccattta aatatcagct ttataattat gtggtaccat acacacataa tctcctttca	18480
tcgctgtaac caccctgttg tgatgaccac tattattttta cccattgtac agctgaggaa	18540
gcaaacagat taagtaactt gccaaaacca gtaaatagca gagctcagac tgccaccac	18600
tgtcctttta taatacaatt tacagctata ttttacttta agcaattcat ttattcaaaa	18660
ccattttatt aagtgcctt gcaatatcaa tcactgtacc aggcattgaa tctacagatg	18720
tgagcaagag aaagtacctg tccicaagga gcttggagta taataaggag attaataaga	18780
aaatatatta ttacaatcta gtccagtgtc atagcataag gatgatgtga ggagaaaagc	18840
tgagcagtgt tgccaagagg aggaaatagg ccaatgtggt ctgggacagt tgaatgtatt	18900
taaacatctt aataatcaaa gtaattttca ttacaaaaga gaagtcagta cttaaataa	18960
ccctgaaaaa taacactgga attccttttc tagcattata tttatccctg atttgccttt	19020
gccatacaat ctaatgcttg tttatatagt gtctgatatt gtttaacagt tctgtctttt	19080

ctattcaatg ctattaattt taaattcata cctttccaig annnnnnnnn nnnnngatcc 19140
catgggagat ggtttgaaaa tctccacttc atccccaag ccattcaagt ttcctttcca 19200
gaagcaactg ctactgcctt ttattcatat gtcttctaa agatagtcta catttggaag 19260
tgtatgttaa aagcatatat ttttaaattt tttccctaag atagtaaacac attatatgtc 19320
tgctgtgcac tttgctatit ttatttattg tagtgtttct tatgtagcag atggaatgaa 19380
tttgaagctc ccaaagggtc ggacacatgc cttctttgtt tctaagttat ctttcccata 19440
gcttttcata atctttcata tgatttagta catgttaaag atgtgctaca tatacattta 19500
gacaaccagc atttggttaag tatttgctct aggactgagt ttggatttat gtttgctcaa 19560
aaggagaccc atgggctctc cagggtgcac tgagtcaatc tagtcctaaa aagcaatctt 19620
attattaact ctgtatgaca gaatcatatc tggaaatttt gttttctgct ttctgtcaag 19680
tataaacttc actttgatgc tgtacttgca aaatcacatt ttctttctgg aaattccagt 19740
agtgtacctt gactgctagt taccctgtgc cagaaaagcc tcattcggtg tgcttgaacc 19800
ctttaatgcc accagctgtc atcactacac aggcctccta agaggcttcc tggaggtttt 19860
gagattcaga tgccctgaga gatcccagag ttccctttcc ctcttgcca cattctggtg 19920
tcagtgacaa ggaataacct cgctttgcca cccgtcaagg ttgaagaaac agcgtctcca 19980
acagagctcc ttgtgttatc tgtttgtaca tgtgcatttg tacagtaatt tgtgtgacag 20040
tgttctttgt gtgaattaca ggcaagaact gtggctgagc aaggcacata gtctactcag 20100
tctattccta actcctcctt ttggtgttgg atttgtaagg cactttatcc cttttgtctc 20160
atgtttcatc gtaaatggca taggcagaga tgatatctaa ttctgcattt gattgtcact 20220
ttttgtacct gcattaattt aataaaatat ccttatttat tttgttactt ggtacaccag 20280
catgtccatt ttcttgttta ttttgtgttt cataaaatgc ttagtttaac atcccgggtg 20340

<210> 4
<211> 20641
<212> DNA
<213> 家鼯鼠

<400> 4
gcctcatgcc aggctgcact tgcacgtcgc gggccagtct cctcgcctgc aggtaaggga 60
gcattctctc gcggaatccg cttgcagggc actttaaaga gccagaatcc ctagaccttt 120
ttaggacgga gaagggaacc ggtttcctgg gaaagttaag aactcagaat ccgcagtttt 180

g t g t g t t t a t g g a t c t t g t g g g t a g g t a g c t g g g t c a g a a g a g a t g a a t t a a t t g g t c c t	240
a g c g c g a c t t g a c t g t t t g c t a g c a a t g a c t g g g t c t t t c c a c t t g a a g c a t c t c c g g a g	300
g l c c c t t c c t c t g t c g a g g t c t a g g a t g c t g g a g c t t a a g a t t t c a t t c t a t c t g c c c a	360
g a g a a c c t a a a g g a t t t t t g g a g a a a a t g t c c c a a a c a g t t c t t a g a t a c a g t g a c c t a	420
g g c t a t g t t a a a g t t t a g g t t g g g g t t g t c a t a a g a g g t g a a a g t a c a a t a t t c t a t c t t	480
t t t t t a a a a a t a a a t t a t t a c a g g t g c t t t c c t a t g a a t t a c t t a g c c a g t t t t t t t t a	540
a t t g c t a t a t t c c a t t g t g c t g g g t t a t t a a a g g g c a t c a c t c t c c c a c t g a g g a a t g c a	600
c a g g t t a g t a a t a g t g c c t t a c t a g c t c a g t c a t c c a c t g a c c a t c t g t g t a t g t g a c t g	660
t c t g g a a t a t g g c t a g g t a t t t c a t t t a g a t a a c t c t t a t a t g t a t a a g t a c t t c a t t a	720
t g t t t g a g t g t c t g a a a g g c c t t t g t g t a g a a a a a a a a a c a a c a a c c t g a g a a t a c a	780
t t c c a g a a a g t a t c c g c a g c t g a t g a t g a t a g t g a c c a a g c g g t g t t t a a g g a g a a c t t t	840
a t a c a g g g a a a a t a t t c a c c t t t c c c a g c t g a g c a t c a t a g a t a g g a a g a c a t g a t a g t g	900
g t t a t a t g c t g c t c t a a g g a g g g a t g g a g a g g a g g g a t g g a t t g a g c a c a g g g t t c a g g a t	960
c a t t t g a t a g a a t t t g a a a a c t g g g t a a a t t t c a c t c t t t t g a g a a a g g a a g t t t g c a t	1020
c t g c t t c c c c t c c c c g c c c c a g g c a c t c t t c c c c c c c c a t c c c c c c c g t g c c c c c c c	1080
c c c c a t g g g a a g a t a a a g a a g t g g c g t t c c a a g a t c t t c a t c t g g a c t t c c c t g g g a c a	1140
a a c c t a t t t c c c a t c t t g a a t g a g c g t c a c t t c t t t a c t t t a a a c t c t g t t c t g t g a a a	1200
g g c t c t c a g c t c t t g t c t g g g a a t t t g t g a a a g g t t a c a g t t t c t t g c c g g a g g g a g g g a	1260
g a a g g t g a c c c t g g a c t c t t a g c c c a t g t a a g a g g t g c a g g t t a g a g g t c a a a g g c c a t	1320
g c t g a t t t a c a t g g t c c c t g a a t t t c c c c t t t t g a t c t a c t g c t c a c a c c t g c a c c c t g a	1380
g a g c c a g g g a g g g g a g g a t a t g a t a c t g a a g a a g g t g a c t a t c a g a c c c a a c c c a t c a c c	1440
t t t c a g a c t t t a t a c t a a g c t t t a a a g c a g a c t c a t a a g c a a t a g a t a a c t g t t c c a a c t	1500
g a g t c t g c c a t c a a c g t a g g a a a a a t t a g g t a c a g t c t t c a g t g g a t a t c a t g t a c c t c a	1560
t t g t g a c t g t c t a g t a c t c g g c t t g g c c a t t t c t c c c a g g g c c t c a t t g c a a c a g t c a c t	1620
g t g t c c t c a c a g g c c t g g a t g t c a t c c t g c c t c a t c t g c t t g g g c a g a t g a a c t g g a g a g	1680
a t a t g a t t a a t a a t g a g t c a t t t g a t t t t g c t c t t t t t g t a a a t g t c c t t g g t t t g g t t t	1740
g g t t t g t t t a t t t t t g t t t t g t t g t t g t t g t t g t t t t a t t t t c a t g c t c t t g t t g t t	1800

gtttgagaca gagtctcact atgtagccca ggctagcctc ttccccagct ctctcagatg	1860
ctgttgcatc tgcctttttc taacatcaat gattcataat aatcagcaag aaggctatga	1920
ccttaacagt caaaataagt aatcaggtaa ttattgagag ctaaataattt atttaaacia	1980
atcaagttgc atttttcaag aattgaatgg ggggatctaa aaagtaatgt ttgtgctgca	2040
caaagatgta gtggtatcag ttgccatagt ctttctccct agatccgcag atctccttag	2100
ggaaatctat aattcaagcc taaacttggc cctggtacac aactggtagt cgcccaaaca	2160
ttggccaagc acacacatat ttgtgactct gaaaaaaggg acaacacata acagcaaagg	2220
cgctccgtgt taggggcctg ttaaatacaa gacttgggga aattatgcca taatcttaca	2280
ttttaaaaat ggctattaca tgtgtgagac aacgggggct ggagagatac ctgagaggta	2340
ctaggcacac atatggcaag cagatgtaca agcaggcaaa acattcttaa aaaacaaaaa	2400
caaaacccca aaacagattt ctttctatat tatttataig gggttctgcc tgcgtgtaca	2460
cctgaagggc agaggagagc accaggctctc atagggtggt ggttgtaagc taccatatgg	2520
ttgctaggaa ttaaactcag gactttggta agagcagcca gtgctcttaa cctctgagcc	2580
atccctccag tcccagacaa aacactctta cacataaaat aaatcaatct ttaaaagtgt	2640
agaggaaaat ggctgaacag aaactattga cagacatgct gagagtggtc accgtttctc	2700
cagcttggca ctgggtggtc tgtaggccaat ctgagtgtct gtcaccttgg ggcggggcgg	2760
ggggcgggag ggggggaagg cggcagggca gggctcttggc agcatctogg gcctctattt	2820
catcacatca gtaacagctc tcttctgtcc caagcaagct ttggcaacca aataaatatg	2880
ttagccaata ttaccaaacg gtccctagag gagaatgtgt gtaatgtgcc tacattcggt	2940
tttataacia caccaacaat atccaacat aaaaataaac tgaaatggtc actctacctc	3000
agtgacaacg tctgagctcc gtttcagggt cctcacaag aaattcgata ggtgtaatga	3060
tttatttttc ctaataagta aaatgattat tcactcattt gaaaattgga cacacacaca	3120
aaaaaatgaa gaaaaaattt gctatttcat ctctcctttt ctatctcttt ccttttaaaa	3180
aaagtataaa tgtgggctaa agagatggct cagcagttaa gagcactggc tgctcttccg	3240
gaggtactga gttcaaacig caccaaccac atggtggctc acaaccatct gtaatgggat	3300
ctgatgccct cttctgggtg gtctagagac agtgacagtg tactcacata cataaaataa	3360
gtaaaaaaaa aaaaaacaaa actttttttt aagtataaat gtgtaagaac ttacctgtct	3420
tccctataaa agccacaatt acctttgcag ataatactg tcaggcagtg tcttcaagag	3480

aagtgggggtt gtictacgac acaagaatat ttttgtttat atactaccct ctaagctcct	3540
tcctacttct ctgcaaactc atccccgtg catatactga aatctatccg tcacggtatt	3600
ttgagtatac acagttatcc gtcacggtat tttagtata cacagtttta ttagctaata	3660
catgggggtat ttcaagtctg ggactgttgt tggctgtgtc atctctgtta catatgactt	3720
atattttcta agatgaattt ccaagacagg aatagagaga tcatacgaca tgcacagtta	3780
aagttttaag agattacaaa attgaccttt aagaagctat acaatttcac atcctttcca	3840
ggaaagggtca agaaatccct gtatcttcac taatgctacc tatgaggagt ctgtaatttt	3900
ggtagagcag aagggtccaaa tggatcaca gatccctccat ggactttctt atcgagagcg	3960
ttctttccgc ttttattgat tacccttcga gctatgtgag actctcatcc gtcttctct	4020
tgaccgatgt atagttttct cactgagttc agaggctagg atgcagaagc cgtcctcgtc	4080
agctttatac acctttcaga ttgactgtga atgagcacac aggtcagaga gacggtaagg	4140
gaagacctac tctcccatga acgttgtaaa catgcgaata acacagaagc agaaaatgta	4200
aactattaga ctggctggaa tgtagcgtc acctttgagc ccactccttt agacaccggt	4260
ttcatggaag aatggctcct gtttcccacc tgcgtcttca gcagtgtccc aaatagtgcc	4320
agattcagag gagatactca gtgtttgccg agtgaattag gaaagtgttc agcggagggg	4380
acactagcat tcagacatcc agacctaga gtaaccgggc cagatggaag tctccttct	4440
tcccatagct gttaccactg tactgtcttt actggggaaa agatttatca tgtggaatag	4500
gtgcgaggca gaggtgagat tttaatgggg aggaagcatt gaaaagtga agtgaaaatt	4560
ggatgtcttt tgctttgaag ctttgcctaa agcaggtttt agctttcaaa tacgtttcaa	4620
tgttgaaaga acgcatgata catatggagg ggggcctggg gggggtcctt ggctgagttt	4680
gaatgtacat taacaatctg gggggctaata aactcaatgt aaagctgctg atcccatcat	4740
actgacttct ticcacttgg ttctacatgg ctttgagtta caaaatgaaa gcattgaatt	4800
ttgaactgtt cagctgtgtt tccacactg caaatcggtt gttggccagc cctcagaatt	4860
gcttcagtta cagctggctc gtctgtcttt tccagactgg cttttagggc ttatgtatat	4920
atgagaagga cacatttact agtgtctcct tgctctgcta ttgaaattaa gcagacctct	4980
ctgtgtttcc cgttactaga tagttcccaa aacatgagga tatttgctgg catttatctc	5040
acagccctgct gtcacttget acggggtaag tcaccaaacc ttttcagtgg gttctatatt	5100

ttcaatatatt tagctatgaa ttaaaaaatgg aagtaatttg tggggtgtgt atgtgttgt	5160
atatgttgtgt gtagaggggg gtctgttgt atgtgcagtt gctaggcaca cataaagcgt	5220
tcataggaca acctagagct tagtcctcac cttctacctt gtttgagaca aggtctctta	5280
tttgtgttac attgctgagt cctgtagtgc ggctagctca gaacctcctg ggggctctcc	5340
tgtctccacc tcccagtcca ctgagattgt aggacatgc tactgcacct ggcttctacc	5400
tggctctctgg ggatttgaac ttgggtccat gggctacaca gcaagtcgtt tacttactgg	5460
gcaatcactc catcccctaa gataattata aggaatatac cttgcttata caaacacatt	5520
ctcattctcc ttggccataa ataagttact tggcaaatat attgtatgta tttttaataa	5580
ataaataaaa tcttaaaaat aaataaaatt atttgtgaag acaaaaaaaaa taagttactt	5640
ggaaaggatg aaggaaaata ctggagcttt ggggtgtggt tagtagtaga acacttggct	5700
gatgtaaaaa aaaagcccta ggtgcaatcc caacaccaga aacaaatgaa ggaatgaaca	5760
acaaccgccc ccacccccca ggggatgaat ataaaaatat caggtaatac agaactaaca	5820
ggtgatccgt ttctatgaa taactactga acattcccag ggagggtggcc cactgataat	5880
atatttttat ttattgggtc cttttaaca agactgggaa tatattatct agcttgcac	5940
accaccacca cccccaccc ccgccccatg aagttatttc aaagaagaat tttagtgttc	6000
atgtgattcc ctaaataaaa tgatagtaac cttttacca ggttttcaga tgtgtttgga	6060
ggagttttct gtcttctgag ggctggctct ctttctttt cagcgtttac tatcacggct	6120
ccaaaggact tgtacgtggt ggagtatggc agcaacgtca cgatggagtg cagattccct	6180
gtagaacggg agctggacct gcttgcgtta gtggtgtact gggaaaagga agatgagcaa	6240
gtgattcagt ttgtggcagg agaggaggac ctttaagcctc agcacagcaa cttcaggggg	6300
agagcctcgc tgccaaagga ccagcttttg aagggaatg ctgcccttca gatcacagac	6360
gtcaagctgc aggacgcagg cgtttactgc tgcataatca gctacggtag tgcggactac	6420
aagcgaatca cgctgaaagt caatggtaag aattaccctg gatggggaag gcctcatccg	6480
tatttaaaac agctccctaa tgttgagagc tcttcattct tgagagttcg cacgcattc	6540
tcacagaaca acagcagcct gttcttctcg ctggtttgt cattcgttcg ttcacacact	6600
tcaccagtga aaaagcctag cactgtgtgt ttgatagtaa cttgagattc agtaccagat	6660
aatactcagc catgctttgc agtcagtacc atgatcttgc aaaggtgaaa tgccagggtg	6720
ttgtttccta tcataaatgc aatatataat atattacata gatgtataga tataactgtg	6780

taacatgcaa taagatataa tatgcatata ttcatataa cataatgtat aatatataat	6840
gtataataat atatactaca atatatagtt atatgcatag ttatatattg catttatgat	6900
aaaaagcaaa cacctggcat ttacttttg caagcttttt gaattacttg taaatatata	6960
tacatgcaaa catacataca cacacatgtt tttttacaag taatttgaat gtcattggaaa	7020
gaaatagaat cataaaaatg tccctcctcc ctaactacca tcttctaage ataaatatac	7080
agtaactact atttgtacat ccttccatga ctttttgatt ggattactgt ttatatitaa	7140
tctatcaggc ttagcacatt ttctttcctt tgaatacctc catacaaaat tcaatgtgtg	7200
tttatatata tatgtatata tatagttata tcatacata tatcatacaa agttttatat	7260
atgtatacat atataaacac acatatctac acatacatac acatttttta tatatataca	7320
caatatataa tgtatatgtg tgtgtgtgtg catatacctc tatactctatc tatctatcta	7380
tctatctatc tatctatcta tctatctatc tatagcttct actgtaaggg tcacttttta	7440
aaaaattaa gttaatctat gaaggatgag aagtgaagat cttaagtgt gaagaagccg	7500
ttcttcaca gagatggtag aggctacact cagcaggcat gcattcattt tcagggcctg	7560
catctctggg agtgctgagg aggaactatg agtgtaagtt cctgggtaac gagccacaga	7620
aatgtcatca ggtcccttga gttcacgggt ctgggttgga actaactaag ggaaggaaaa	7680
caccttgcta accacccctg ctttactgt tgggttgcat agacctgaga gcttactca	7740
tgcaggcgt gcacacagcc agcccagttg cccaccagga ctggaaatcc ccaaggctct	7800
cctcttcaca tacctccac agtgggtgtc ctcgaatcag gtccctttcg tggctgtcgg	7860
aaacttcacc ttgatggaca ctgagccgaa ccccgcttcc tccaggcaga cgttgcagat	7920
ggctgtcctg ctccctttcg gttttcataa taactttaaa actatttggc tagaatcaga	7980
tagtctcctt cgatcttttt actcctaaac tagtgtgaag ctcaatatta tacataggaa	8040
aaattcacat tcttcataag ggatcacggc agttattaac gcaatcttat gtagagatta	8100
ggaaaaatgt gtccattcga cagtttatta atgggtctgt gatgggtgggt cgcttagagc	8160
ttatgaagat gccacttgcc ttatttcggt gcttggctct aacttccatt accttttact	8220
tacaattctt catttgtgac actcatgaaa ggagactcgg gatatggttg ttaatatctt	8280
gagcagctgt tagtacctca gcaaatatga ggctcctgtt tggttccaag atttttaag	8340
acattgtgaa gctggaaggc catgagcagt caaagttgct ggacctgggg cactggaagg	8400

agctcaaggc gggcagtcag gaagaaggga gcagggtgta agcctctgtg acaagaggtc	8460
tctcatggct tgttaggagt aggtgactct ggtaaggagg aatttactct agattatgtg	8520
ctcagtgata tctctgatac caaagacaat cttttggagc gcacggcttc tccacggagg	8580
gacctgtgat gcggcaaagc tggatccaa gcagtcctga aggcctgctt gactattttg	8640
ttttcttaca gaaatcacta cgtcgatatt ttactcccag ttcaccttgc catttgcattg	8700
cacgttagct ggtctaggcc aagagtcctga accttggttg tggctcaaatt ctgtaatctc	8760
agctatgtgg gaagctgagg caggagaatc gcgcaattag gacttgtctg agctacgaac	8820
atatagcagg ttcaagagca gcctgggcaa ttgggcaaga tccgttctca aagacataca	8880
tacatacata tatttggcaa gatccgttct caaagacata catacataca tacatttggc	8940
aagatccgtt ctcaaagaca tacatacatg catgcatgca taaatacatg tataaatgaa	9000
tataaaatta aaataggaac aggactgagg acatgcccag tgatgtacag gaccctgggt	9060
tcagtttcta gcaccatggt cgctggcatg caaaagcttt ccatgtcaag gaagtagaac	9120
tcctgaattc tgtgctatgc aaatgacttc acagcaagggt tccttcccat cactgcaagt	9180
gtgtgggtgt gaagcagccc tacagggagt tcactcgcca tggggtttta aaggtagaatt	9240
atttcaaaac tgaaatctga aagagtgtag ttttggatta actcagtttt tattatctct	9300
ttggataatg ttctaccttc aaaggtttac agaagaccct caggcatcag gcttttaatt	9360
gaaaaatatt cagctttaat cactgacctc aatatcagaa aagaatgaag tgtccattta	9420
gtagtctctg gaccgtagat ggcatthaagc agctgtaaga aacacgctca tcacatgggt	9480
caacaattaa ggattgccat ggtgcacccg atcccccagc tctgttttaa ccttttctct	9540
gtcatctatg cctatctaaag atgtctcagc atatcatgct tattgtctct ttcttctct	9600
tgaacacaag ctctaggggt aggggctttg gtcagtttta ttgttggacc tgttggcctt	9660
gacgtattat gaaggggcag tgtaataaga aaagaaaacc gtgtttgttg atggaatgt	9720
ttaaaaaaaa attagcttaa aatgtatgct atacgaacgg gcatgaatct gggagatttt	9780
agactgttcc ttgtgagccg taggaacttt ctgtttctg tgttcacagt cctccgcagc	9840
tgtgtcatg gtctccaca tctgcctaac aacagcagggt gtagatgtta taattaacac	9900
tcacagaaca cctgatatgt gagaggttgt gccctgggct tcttgcctcat atgaattcat	9960
ttcatcttta acataactct tcgggggagg cacttgccca tgaccatggc ttgttttctt	10020
tcctatcgac tatctttcaa atcggaatgt gtctttccct aggtgacatc tcagattcaa	10080

tgttacacag cactgctgtg cccattttca ggcattaaaa atgcgatccg cctaaattcc	10140
accccgataa aattatgcag ccagggttcgg aacccaacta gcccattctt aaaaattctat	10200
gcccttccta gcctcgcttt gttgcctgtc tttgtacctc tggagtgggt atcaaggaac	10260
agaatggcct taaacatgat ttgaactttt cctggttttt gatcacagca gtaacagagt	10320
gttctagaga taagccagag gtttgaaaac aaacagaact tgtctttgag gtgtttataaa	10380
catgtgtgtg attataaagg atatatctgg tgccaatagg tatagcttat attataagaa	10440
atggccattg tgaagatcag aaggagataa ctactgatt tcagggtggt gattcaatct	10500
aacacatgat atattctgaa actgtacaaa aaagatattc aaaagaagaa acacatggaa	10560
caaagagtat atggaaattc tgacaactca gaatcagtgt atgttaagat gaagttcatg	10620
attaacaaat ggagatggtc gcagtcattc tgaagcttat tttagccaat gctttatcac	10680
atccaactca atcttcgttt ttttttttc agatggatct tccattttt aattaacctt	10740
atcatgatag cccctagtaa ggcattgtct gacatttctt ttctttttt ttatagctta	10800
tgtttctttt tttaaaaatt tttttactac atattttcct caattacatt tccaatgcta	10860
tccaaaaagt cccccatacc ctctctcccc actcccctac ccacccactc ccactttttg	10920
gccctgggggt tcccctgtac tgggggatat aaagtctgcg tgtccaatgg gcctctcttt	10980
ccagtgatgg cctactaggc catcttttga tacatatgca gcttgagtca agagctccgg	11040
gggtactgggt agttcatagt gttgttccac ctatagggtt gcagatccct ttagttcctt	11100
gggtgctttc tctagcttct ccattgggag cctgtgatc catccaatag ctgactgtga	11160
gcatccactt ctgtgtttgc taggtcccgg ccaagtctca caagagacag ctatttcagg	11220
gtcctttcag catatgcttg ctagtgtatg caatgggtgc atcgtttgga ggctaattat	11280
gggatggctc cctggatatg gcagtctcta aatgggtccat ccttttgtct cagctccaaa	11340
ctttgtctct gtaactcctt tcaatcttcg tttttaatgt ccgaaaatga ctggtaacgt	11400
cactgcctac atttcccttt gctttgtgtt gaattgtgag ctttatcttt gatctggagt	11460
ttctttaaga agactttgta atgtgcttat ttttaaagat ggtgaattca attaaagata	11520
gacaagaggg acgggtctgt atttcatctg gtagagtgtt tacctgccat tcatgaagtt	11580
ctgggttcgat ccccggcaca gcatagaacc acatgcggtg gcaactcagt tgcctgtgac	11640
cccagcactc aggagctaga ggcaggttac ctttgactac acagcaagtt caaggctagc	11700

ctggtctaca tgcaactctt cctcaaaggg aaaacaaaac aaaaatagac aggagaattg	11760
gaaacatcca tagaaacca aatatgaatc aatagactcc cctcttcctg tgcagacat	11820
tcagactcag tgacagccgt caccgtttat gaggcattgac tgattttaca gatcctagag	11880
caagcgtgca caattctggg gtttcctgcc tgcgtcctca cacacacgct caccttaggg	11940
acggaggcag cggagggtcta gtcagtttca gacgaatcca ctcatcagct gtcaccatg	12000
gtcttctagg tgaagcagaa ctctccttcc atcagcaccg gtgaaaaaca aaagtggaaa	12060
gcagatatTT cactccgaat gctttatcat tggcagtgat ttcaaattta aaccactaat	12120
ttcccagaag aattaggtca cgggccatgt ggcattagac cctattgtgg tgacattatt	12180
tcctgatgtg cctatttaat aatgtatagt ggtctcatct ttatttagtt ggtcttgaat	12240
gtgataaata caagactggg caagtgttca tcaaagctgt tacttgaaat tgtaattata	12300
cctattttgt tgggtgggtgt ttttcttggg tcatggacaa ccaaacacat tacggctttg	12360
ctttgtctta gctactctgt gtcaagttcc tgtgaaaata ccgtattaca gtgctcttat	12420
tacatctttg gtaatgaagt agtcacctaa gcccctatcc tgggctctct atggctcact	12480
aaagaatcgt aagttggata atgattgctg aagaaataga tatgttttat ttacattgag	12540
gtagaaagac ctgtggtttc taggtaacag tttacttaac ttagttgcta catctagttt	12600
gcactcagta aacaccctgg tgtgggtttt acaacaacaa gggtgttcct gaagcccaaa	12660
catggcccag atttgaatag aagacctgag gcagactaac actcactccc tgcctccaaa	12720
gtagcagagc cggggacata tttctccaat agccagcccg agttgatgct ctttgtaagc	12780
agacaccaca aagccacacg gctagcccta agatgggaga gccctgacct ctctttgctt	12840
ctgacctagc cccataccgc aaaatcaacc agagaatttc cgtggatcca gccacttctg	12900
agcatgaact aatatgtcag gccgagggtt atccagaagc tgaggtaatc tggacaaaaca	12960
gtgaccacca acccgtgagt gggaagagaa gtgtcaccac ttcccggaca gaggggatgc	13020
ttctcaatgt gaccagcagt ctgagggtca acgccacagc gaatgatgtt ttctactgta	13080
cgttttgag atcacagcca gggcaaaacc acacagcgga gctgatcatc ccaggtgagt	13140
tgcctaactc gtccccggat tcctagcacg atggccatcc gccatagtca tttagcagta	13200
gttgcccgag tgtatgaata catgaaactt acatgggcta gacgtattct agttcctctt	13260
tctcttgctg gcaagccata atgctacttg gtcaacactc agcaagaatt aagtgtttgc	13320
tcctgacaga cagtatgtta gtcattgagt attcgtggct ggataggaca taagttactc	13380

tgctccagga aacaggtgac agtcgcatgt aggagatgct cttgtaactt gggcaccacg	13440
ggcaacgtga gagcaagctt atgcttcagg aatgtaaacc tttgtcacat caaagctgcc	13500
ctcttccctc cggggctgct gtagtagaaa gcaaatgcat tgcctttttt tgtatcttat	13560
attcaacagg aagaatcctt tcttcccata ctctcttcca gggcattccc tgatacttca	13620
actccaggaa gtctgcctgt gcatagaaca cgaggctgat gcctatgggc aaccgactag	13680
ctgggttgta actcaccagg ccagggcatt gtagggatag aatgagctgc acgaaaatga	13740
ttgtaggaaa atcgtttgag aattcagctg tctttaaaat tcatttacct tacagaaata	13800
gggccacagg agacagtttg gtgagaggct cagagcatta tatgaatatg aaccagagg	13860
tactcactct gaggagggtt gcttctgcct ccctcgacac ccctttccca atgtatgtca	13920
acagtacatt gatgtctaga gatagctctg tgaagtttag agaagatata taaaactaca	13980
ttaaaaagtc aaccaatatg aaaaatgaag cccaggatgg gcgtggagcc aaaaggagca	14040
cacaagtttg gaaaaatgta aaataaaaag gaagacactc taactagaat tggacttttc	14100
cataaaagct atattgttgg ttctctacca ttaaatgttt tatggggctg gagacgttgt	14160
agctcagttg ggagagtact tgcctagcat ccacaatgct ctgaccccag cgccatataa	14220
acgtatatag ggctcaccta tagtctaaac actttgggtg tggaagccgg agggtcagtt	14280
caaggtcatc ctcagcttca tagcaagttc aaggccagta tggactgact acaagagacc	14340
ctgcctcaaa gacaaaacaa gcaaaccatca tcataataaa acagcaaaaa gctgttctct	14400
ggccatttct ttgtaggaca tcttgagta acttaaccac tctgagtgtc tcttctcatc	14460
tgtaacttgg gtcatagtg ggaccaaata ggagctgagt tacaacagga gatggaagtt	14520
agcaatctca gagcatccca gagccctggg acccattttt ctctttctca aaactccagg	14580
cagagaaaca gggagatgtt aatgactgga gtgcccaaga gtctcagaca tggaagaaac	14640
acaaccgca ctggctccca tttgtgggag acagaagcgg cttagcagtg ccccgctttc	14700
ccatgttcgg gagtggcct tccacacca gtcagccatt actgtctata ttaatgagtg	14760
cacaaggaag ttactgcact aaggttacca tttaatatig cagtcacttt ctgtggcaac	14820
atgtcacagg cctggagttc ttctctgtgc tgctcccagt ttcttaggag atctgtcttc	14880
ttcttccaac ccttacctgg acattaactt tcagtgatta agattaccct aagaccaaac	14940
tatatttcag gagtcacat tcccctgact atggcgcagc aaagccttac ctcccatcag	15000

cttctcttta tccttttcca gaactgcctg caacacatcc tccacagaac aggactcact	15060
gggtgcttct gggatccatc ctgttggtcc tcattgtagt gtccacggtc ctctcttct	15120
tgagaaaaca aggtatttcc tccattgctg tactgcctgc aggggaagtgc atgagggtcc	15180
cttcaccatt gccttgagca ggcagtgccg gagatggtag caccctgaca agaacagacc	15240
cacatcacag ggcgtcctac actgcacgct agctgaacct caccaggaaa cactgacttg	15300
aaaggtagctg cctccattc cctgggcttg ctttcagtta cacagagtaa gttttaacag	15360
tgactctggt gtactgagtc ttccttaagt cctgttcaca ttgttgctct gcgacatctc	15420
ctaccttgga gctcgggtgt ggacctgtt gtaatatgaa gaggtatcag ttggacaagg	15480
gcgtagggaa gctaaaagac ttagctttca aggcgtgggg gagggggagg gcattgtgag	15540
gttccctgtt cagcgggttc gagtaaagct gggcagcaca caagtttaga caacaaggaa	15600
gatgcictaa ctgggggttg aggtcaatgg tgcagggata ggtagcaatg gaggctaaag	15660
aagaaagcca taaggtttct ttctacagac tctgaagaca gagcactgtg gtgcctatig	15720
gtctcagggtg aactcaagtc ttgtgttctt tacaccacct attgagctgg gttctggata	15780
ccctaagtgg aaaaacactt ctgtctaaaa agagctgtgg catctttacc acaaagcact	15840
ttttttttt gcaagatttc tgaagacgaa atgacacagt tttttaaata atttccatat	15900
atttatttca gtactttacc ataagaatga ctgaaatcta ggaaaatgaa tatattcaaa	15960
taatgccctc ctattgtaaa gtgacttaga gtaaaccctt tcaccaaata ctttgaaatg	16020
cataccaagt gagccaatga tgcattggact tgtgtgaagc caaatgggga aatagaatat	16080
gggaggggaa atcaatcatc agagaggaat tccccatcac ccttttgagg ggcgcgtgta	16140
tgggaaaagt gttgtaactg gggcggtagc gaccagctgc ttccaaagaa taagccctga	16200
gcagaaccaa gaggggttgc aggggtgtgaa gattaagctt cagagacaca tctggcttag	16260
ggctagccta ggacttgac aggaccgcag ttgttgcta atggcatctg ggatgattgg	16320
ctgaggatga ggaaagcaga gagtcagtta ggtggtaagc tagctcagga tgtgggacgt	16380
ttctgaggga agggtggaag acaaagtaga cagtcctaaa aacctctga gaatgaaagt	16440
atgtacccta aattgttgaa taattaactt tgcggcgtgg gatctggaat aaggaagttc	16500
acgggctaaa agcctgggtg ttaggggatt gatcgggtgc tcctaaaaac ctttaagtga	16560
aaatcgagtc cctgtgggtt gtagtagcat cttgtataa ggaattaga ttgatttctt	16620
cttctttagt gagaatgcta gatgtggaga aatgtggcgt tgaagataca agctcaaaaa	16680

accgaaatgg taagtgtgag taacgaggga ggggcaagcc gagggaatga gtgggacaga	16740
gcagccaagc agggctctgc aagggtctga gttccagcgc tctgtaggct gaggcagggg	16800
gatagggagt tccaggccag caaccacaca gccaaaacaa aacaaacaaa aaaaaaaca	16860
aagcaaaagg aagagcagaa aaagctactg ttaccaacaa gagacatact ttagccgtga	16920
tctcctctcc ttccaaagga agctgtttgt gggggctgct ggttcctctg cctaaggatc	16980
gccacatctg agaaaactct gggtttgctg ctgcgggtgc tgtgtggtag ccctgcaacc	17040
agggacgctg ttgacttatt tgaatgggca ttgtattaag caaatgattc tgctgtgtgg	17100
ttagctgtta actgtttcat gtgtatgata tggcatttca ttcatcctc ctgccccaa	17160
tcagataaat atgagaatca tctccattgt atagtaggga aaacagggtc gagaagataa	17220
tgcgagggtc ctaagaacac acagacttgc taccacagac gtccgttctt tgctaggtgc	17280
ttcaatctat gctgctacta atgtctgtat ttataagagt agaaaactct gcccgggcgt	17340
tgggtggcca cgcctttaat ccagcactc gggaggcaga ggtagtcgga tttctgagtt	17400
tgaggccagc ctggtctaca gagtgagttc caggacagcc aggctacaca gagaaacct	17460
gtctcgaaaa aaatcaaaaa agaaaaaaga acaagaaaac tctaactgaa ctatcttgta	17520
gtaaattaca gtgtgttcta attcatttta gtgtgttag aaaccaaaca gtaaggccag	17580
gcagaactaa agtggtttcg ctaacttggg cagacccaag caggttccct cctgtacatt	17640
accatttatt ctgctgagtc accctgagga accggcctgg ctgtctcaag actgaggatt	17700
tctcagccat gaacactttc cattttaaaa ctagggcagt cccggacaag caaggatggt	17760
tagtcatcct tcatcatgta agggtagtca gacataggta gtatctgtct ctgtcttacg	17820
gcaacgttac tatctgtctt agcaaacatc ccatttgttt atcttacata tcatacgttt	17880
cccccccaca tattccctgc ccctgtgaaa ttattatact atgatactc tccagataca	17940
caattcgagg agacgtaagc agtgttgaac cctctgatcg tcgattggca gcttgtggtc	18000
tgtgaaagaa agggcccatg ggacatgagt ccaaagactc aagatggaac ctgagggaga	18060
gaaccaagaa agtgttggga gaggagcctg gaacaacgga catTTTTTcc agggagacac	18120
tgctaagcaa gttgcccatc agtcgtcttg ggaaatggat tgagggttcc tggcttagca	18180
gctggtcctt gcacagtgc ctttcctct gctcagtgcc gggatgagag atggagtc	18240
gagtgttgaa gaataagtgc cttctattta ttttgagtct gtgtgttctc actttgggca	18300

tgtaattatg actggtgaat tctgacgaca tgatagatct taagatgtag tcaccaaact	18360
caactgctgc ttagcatcct ccgtaactac tgatacaagc agggaaacaca gaggtcacct	18420
gcttggtttg acaggctctt gctgtctgac tcaaataaia tttatTTTTc agtccctcaag	18480
gctcttcgat agcagttgtt ctgtatcagc cttatagggtg tcagggtatag cactcaacat	18540
ctcatctcat tacaatagca accctcatca ccatagcaac agctaacctc tgttatcctc	18600
acttcatagc caggaagctg agcgactaag tcacttgccc acagagtatc agctctcaga	18660
tttctgttct tcagccactg tcctttcagg atagaatttg tcgttaagaa attaatTTaa	18720
aaactgatta ttgagtagca ttgtatatca atcacaacat gccttgtgca ctgtgctggc	18780
ctctgagcat aaagatgtac gccggagtag cggtcggaca tgtttatgtg tgttaaatac	18840
tcagagaaat gttcattaac aaggagcttg cattttagag aacttgaaa gtaactccag	18900
ttcattgtct agcattacat ttacctcatt tgctatcctt gccatacagt ctcttgttct	18960
ccatgaagtg tcatgaatct tgttgaatag ttcttttatt ttttaaagt ttctatttaa	19020
atgatatga catctgaggc gatagctcag ttggtaaaac cctttcctca caagtgtgaa	19080
accctgagtc ttatccctag aaccacata aaaaacagtt gcgtatgttt gtgcatgctt	19140
ttgatcccag cactagggag gcagaggcag gcagatcctg agctctcatt gaccaccag	19200
cctagcctac atggttagct ccaggcctac aggagctggc agagcctgaa aaacgatgcc	19260
tagacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacaccat gtactcatag	19320
acctaagtgc accctcctac acatgcacac acatacaatt caaacacaaa tcaacagggg	19380
attgtctcag aatgggtccc aagacaaaga agaagaaaaa caccaaacca gctctattcc	19440
ctcagcctat cctctctact ccttcctaga agcaactact attgtttttg tatataaatt	19500
taccaacga cagttaatat gtagaatata tattaaagtg tctgtcaata tatattatct	19560
ctttctttct ttcttctttt ctttctttct ttctttcttt ctttctttct ttctttcttt	19620
ctttcttctt tccttcttct cttcttctt ctcttcttct ctttctttct ttctttcttt	19680
ttttctgtct atctgtacct aaatggttgc tcactatgca tttctgtgc tcttcgccct	19740
ttttatttaa tgtatggata ttatgtctgc ttccagaatg gatctaaagc tctttgtttc	19800
taggttttct ccccatcct tctaggcatc tctcacactg tctaggccag acaccatgtc	19860
tgtgcctga atctgtagac accatttata aagcacgtac tcaccgagtt tgtatttggc	19920
ttgttctgtg tctgattaaa gggagaccat gagtccccag ggtacactga gttaccccag	19980

taccaagggg gagccttggt tgtgtctcca tggcagaagc aggcctggag ccattttggt	20040
ttcttcccttg acttctctca aacacagacg cctcaattgc tcattacagg ttctcctttg	20100
ggaatgtcag cattgtcctt tgactgtctg ctgccctgga aggagcccat tagctctgtg	20160
tgagcccttg acagctactg cctctcccta ccacaggggc ctctaagata ctgttaccta	20220
gaggctctga ggatctgtgt tctctggggg gaggaaagga ggaggaaccc agaactttct	20280
tacagttttc cttgttctgt cacatgtcaa gactgaagga acaggctggg ctacgtagt	20340
agatccgtgc tcaaaggaaa gacgagcata gccgaacccc cggtggaacc ccctctgtta	20400
cctgttcaca caagcttatt gatgagtctc atgttaatgt cttgtttgta tgaagtttaa	20460
gaaaatatcg gggtgggcaa cacattctat ttattcattt tatttgaaat cttaatgcca	20520
tctcatggtg ttggattggt gtggcacttt attcttttgt gttgtgtata accataaatt	20580
ttattttgca tcagattgtc aatgtattgc attaatTTaa taaatatttt tatttattaa	20640
a	20641

<210> 5
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 5
taattggctc tactgc 16

<210> 6
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 6
tcgcataaga atgact 16

<210> 7
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	7	
	tgaacacaca gtcgca	16
<210>	8	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	8	
	ctgaacacac agtcgc	16
<210>	9	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	9	
	tctgaacaca cagtcg	16
<210>	10	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	10	
	ttctgaacac acagtc	16
<210>	11	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	11	
	acaagtcatg ttacta	16

<210>	12	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	12	
acacaagtca	tgttac	16
<210>	13	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	13	
cttacttaga	tgctgc	16
<210>	14	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	14	
acttacttag	atgctg	16
<210>	15	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	15	
gacttactta	gatgct	16
<210>	16	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 16 agacttactt agatgc	16
<210> 17 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 17 gcaggaagag acttac	16
<210> 18 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 18 aataaattcc gttcagg	17
<210> 19 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 19 gcaaataaat tccgtt	16
<210> 20 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 20 agcaaataaa ttccgt	16
<210> 21 <211> 17	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 21	
cagagcaaat aaattcc	17
<210> 22	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 22	
tggacagagc aaataaat	18
<210> 23	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 23	
atggacagag caaata	16
<210> 24	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 24	
cagaatggac agagca	16
<210> 25	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 25	

ttctcagaat ggacag	16
<210> 26	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 26	
ctgaactttg acatag	16
<210> 27	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 27	
aagacaaacc cagactga	18
<210> 28	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 28	
tataagacaa acccagac	18
<210> 29	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 29	
ttataagaca aaccaga	18
<210> 30	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	30	
	tgttataaga caaaccc	17
<210>	31	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	31	
	fagaacaatg gtacttt	17
<210>	32	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	32	
	gtagaacaat ggtact	16
<210>	33	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	33	
	aggtagaaca atggta	16
<210>	34	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	34	
	aagaggtaga acaatgg	17

<210>	35	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	35	16
	gcatccacag taaatt	
<210>	36	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	36	16
	gaaggttatt taattc	
<210>	37	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	37	16
	ctaatcgaat gcagca	
<210>	38	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	38	16
	tacccaatct aatcga	
<210>	39	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	39	
	tagttaccca atctaa	16
<210>	40	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	40	
	catttagtta cccaat	16
<210>	41	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	41	
	tcatttagtt acccaa	16
<210>	42	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	42	
	ttcatttagt taccca	16
<210>	43	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	43	
	gaattaattt catttagt	18
<210>	44	

<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	44	
	cagtgaggaa ttaattt	17
<210>	45	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	45	
	ccaacagtga ggaatt	16
<210>	46	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	46	
	cccaacagtg aggaat	16
<210>	47	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	47	
	tatacccaac agtgagg	17
<210>	48	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 48 ttatacccaa cagtgag	17
<210> 49 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 49 tttataccca acagtga	17
<210> 50 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 50 cctttatacc caacag	16
<210> 51 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 51 taacctttat acccaa	16
<210> 52 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 52 aataaccttt ataccca	17
<210> 53 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	53	
	gtaaataacc tttata	16
<210>	54	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	54	
	actgtaaata acctttat	18
<210>	55	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	55	
	atatatatgc aatgag	16
<210>	56	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	56	
	agatatatat gcaatg	16
<210>	57	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	57	
	gagatatata tgcaat	16

<210>	58	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	58	
	ccagagatat atatgc	16
<210>	59	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	59	
	caatatccca gagatat	17
<210>	60	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	60	
	gcaatatcc agagata	17
<210>	61	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	61	
	agcaatatcc cagagat	17
<210>	62	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	62	
	cagcaatatt ccagag	16
<210>	63	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	63	
	aatcagcaat attccag	17
<210>	64	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	64	
	acaatcagca atattcc	17
<210>	65	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	65	
	actaagtagt tacacttct	19
<210>	66	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	66	
	ctaagtagtt acacttc	17

<210>	67	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	67	
	gactaagtag ttacactt	18
<210>	68	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	68	
	tgactaagta gttaca	16
<210>	69	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	69	
	ctttgactaa gtagtta	17
<210>	70	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	70	
	ctctttgact aagtag	16
<210>	71	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 71 gctctttgac taagta	16
<210> 72 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 72 ccttaaatac tgttgac	17
<210> 73 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 73 cttaaatact gttgac	16
<210> 74 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 74 tccttaaata ctgttg	16
<210> 75 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 75 tctccttaaa tactggt	17
<210> 76 <211> 16	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 76	
tatcatagtt ctcctt	16
<210> 77	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 77	
agtatcatag ttctcc	16
<210> 78	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 78	
gagtatcata gttctc	16
<210> 79	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 79	
agagtatcat agttct	16
<210> 80	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 80	

cagagtatca tagttc	16
<210> 81	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 81	
ttcagagtat catagt	16
<210> 82	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 82	
cttcagagta tcatag	16
<210> 83	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 83	
ttcttcagag tatcata	17
<210> 84	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 84	
tttcttcaga gtatcat	17
<210> 85	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	85	
	gagaaaggct aagttt	16
<210>	86	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	86	
	gacactcttg tacatt	16
<210>	87	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	87	
	tgagacactc ttgtaca	17
<210>	88	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	88	
	tgagacactc ttgtac	16
<210>	89	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	89	
	ctttattaaa ctccat	16

<210>	90	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	90	
	accaaacttt attaaa	16
<210>	91	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	91	
	aaacctctac taagtg	16
<210>	92	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	92	
	agattaagac agttga	16
<210>	93	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	93	
	aagtaggagc aagaggc	17
<210>	94	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	94	
	aaagtaggag caagagg	17
<210>	95	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	95	
	gttaagcagc caggag	16
<210>	96	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	96	
	agggtaggat gggtag	16
<210>	97	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	97	
	aagggtagga tgggta	16
<210>	98	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	98	
	caagggtagg atgggt	16
<210>	99	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	99	16
	ccaagggtag gatggg	
<210>	100	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	100	16
	tccaagggta ggatgg	
<210>	101	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	101	16
	cttccaaggg taggat	
<210>	102	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	102	17
	atcttccaag ggtagga	
<210>	103	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 103 agaagtgatg gctcatt	17
<210> 104 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 104 aagaagtgat ggctcat	17
<210> 105 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 105 gaagaagtga tggctca	17
<210> 106 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 106 atgaaatgta aactggg	17
<210> 107 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 107 caatgaaatg taaactgg	18
<210> 108 <211> 18 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	108	
	gcaatgaaat gtaaaactg	18
<210>	109	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	109	
	agcaatgaaa tgtaaact	18
<210>	110	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	110	
	gagcaatgaa atgtaaac	18
<210>	111	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	111	
	tgaattccca tatccga	17
<210>	112	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	112	
	agaattatga ccatat	16

<210>	113	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	113	
	aggtaagaat tatgacc	17
<210>	114	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	114	
	tcaggtaga attatgac	18
<210>	115	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	115	
	cttcaggtaa gaattatg	18
<210>	116	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	116	
	tcttcaggta agaatta	17
<210>	117	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	117	
	cttcttcagg taagaat	17
<210>	118	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	118	
	tcttcttcag gtaagaa	17
<210>	119	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	119	
	tcttcttcag gtaaga	16
<210>	120	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	120	
	tggtctaaga gaagaag	17
<210>	121	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	121	
	gttggtctaa gagaag	16

<210> 122
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 122
agttggtcta agagaa 16

<210> 123
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 123
cagttggtct aagagaa 17

<210> 124
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 124
gcagttggtc taagagaa 18

<210> 125
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 125
cagttggtct aagaga 16

<210> 126
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 126 gcagttggtc taagaga	17
<210> 127 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 127 gcagttggtc taagag	16
<210> 128 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 128 ctcatatcag ggcagt	16
<210> 129 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 129 cacacatggt ctttaac	17
<210> 130 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 130 taaatacaca catgttct	18
<210> 131 <211> 18	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	131	
	gtaaatacac acatgttc	18
<210>	132	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	132	
	tgtaaataca cacatgtt	18
<210>	133	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	133	
	gatcatgtaa atacacac	18
<210>	134	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	134	
	agatcatgta aatacaca	18
<210>	135	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	135	

caaagatcat	gttaaatacac	20
<210>	136	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	136	
acaaagatca	tgtaaataca	20
<210>	137	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	137	
gaatacaaag	atcatgta	18
<210>	138	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	138	
agaatacaaa	gatcatgt	18
<210>	139	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	139	
cagaatacaa	agatcatg	18
<210>	140	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	140	
	gcagaataca aagatca	17
<210>	141	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	141	
	aggcagaata caaagat	17
<210>	142	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	142	
	aaggcagaat acaaaga	17
<210>	143	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	143	
	attagtgagg gacgaa	16
<210>	144	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	144	
	cattagtgag ggacga	16

<210>	145	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	145	
	gagggtgatg gattag	16
<210>	146	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	146	
	ttaggagtaa taaagg	16
<210>	147	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	147	
	ttaatgaatt tggttg	16
<210>	148	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	148	
	ctttaatgaa ttggt	16
<210>	149	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	149	
	catggattac aactaa	16
<210>	150	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	150	
	tcatggatta caacta	16
<210>	151	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	151	
	gtcatggatt acaact	16
<210>	152	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	152	
	cattaaatct agtcat	16
<210>	153	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	153	
	gacattaaat ctagtca	17
<210>	154	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	154	
	agggacatta aatcta	16
<210>	155	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	155	
	caaagcatta taacca	16
<210>	156	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	156	
	acttactagg cagaag	16
<210>	157	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	157	
	cagagttaac tgtaca	16
<210>	158	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 158 ccagagttaa ctgtac	16
<210> 159 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 159 gccagagtta actgta	16
<210> 160 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 160 tgggccagag ttaact	16
<210> 161 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 161 cagcatctat cagact	16
<210> 162 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 162 tgaaataaca tgagtcac	18
<210> 163 <211> 17 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	163	
	gtgaaataac atgagtc	17
<210>	164	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	164	
	tctgtttatg tcactg	16
<210>	165	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	165	
	gtctgtttat gtcact	16
<210>	166	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	166	
	tggctctgttt atgtca	16
<210>	167	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	167	
	ttggctctgtt tatgtc	16

<210>	168	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	168	
	tcacccattg tttaaa	16
<210>	169	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	169	
	ttcagcaaatt attcgt	16
<210>	170	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	170	
	gtgtgttcag caaatat	17
<210>	171	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	171	
	tctattgtta ggtatc	16
<210>	172	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	172	
	attgcccatc ttactg	16
<210>	173	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	173	
	tattgcccat cttact	16
<210>	174	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	174	
	aaatattgcc catctt	16
<210>	175	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	175	
	ataaccttat cataca	16
<210>	176	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	176	
	tataacctta tcatac	16

<210>	177	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	177	
	ttataacctt atcata	16
<210>	178	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	178	
	tttataacct tatcat	16
<210>	179	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	179	
	actgctattg ctatct	16
<210>	180	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	180	
	aggactgcta ttgcta	16
<210>	181	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 181 gaggactgct attgct	16
<210> 182 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 182 acgtagaata ataaca	16
<210> 183 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 183 ccaagtgata taatgg	16
<210> 184 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 184 ttagcagacc aagtga	16
<210> 185 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 185 gtttagcaga ccaagt	16
<210> 186 <211> 16	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 186	
tgacagtgat tatatt	16
<210> 187	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 187	
tgtccaagat attgac	16
<210> 188	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 188	
gaatatccta gattgt	16
<210> 189	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 189	
caaactgaga atatcc	16
<210> 190	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 190	

gcaaactgag aatatc	16
<210> 191	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 191	
tcctattaca atcgta	16
<210> 192	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 192	
ttcctattac aatcgt	16
<210> 193	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 193	
actaatggga ggattt	16
<210> 194	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 194	
tagttcagag aataag	16
<210> 195	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	195	
	taacatatag ttcaga	16
<210>	196	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	196	
	ataacatata gttcag	16
<210>	197	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	197	
	cataacatat agttca	16
<210>	198	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	198	
	tcataacata tagttc	16
<210>	199	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	199	
	tagctcctaa caatca	16

<210>	200	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	200	16
	ctccaatcctt tgtata	
<210>	201	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	201	16
	tctccaatct ttgtat	
<210>	202	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	202	16
	tctatttcag ccaatc	
<210>	203	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	203	16
	cggaagtcag agtgaa	
<210>	204	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	204	
	ttaagcatga ggaata	16
<210>	205	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	205	
	tgattgagca cctctt	16
<210>	206	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	206	
	gactaattat ttcgtt	16
<210>	207	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	207	
	tgactaatta tttcgt	16
<210>	208	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	208	
	gtgactaatt atttcg	16
<210>	209	

<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 209	
ctgcttgaaa tgtgac	16
<210> 210	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 210	
cctgcttgaa atgtga	16
<210> 211	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 211	
atcctgcttg aaatgt	16
<210> 212	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 212	
attataaatc tattct	16
<210> 213	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	

<400> 213 gctaaatact ttcac	16
<210> 214 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 214 cattgtaaca taccta	16
<210> 215 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 215 gcattgtaac atacct	16
<210> 216 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 216 taatattgca ccaa	16
<210> 217 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 217 gataatattg caccaa	16
<210> 218 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	218	
	agataaatatt gcacca	16
<210>	219	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	219	
	gccagaaga taatat	16
<210>	220	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	220	
	cacagccaca taaact	16
<210>	221	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	221	
	ttgtaattgt ggaaac	16
<210>	222	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	222	
	tgacttgtaa ttgtgg	16

<210>	223	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	223	
	tctaactgaa atagtc	16
<210>	224	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	224	
	gtggttctaa ctgaaa	16
<210>	225	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	225	
	caatatggga cttggt	16
<210>	226	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	226	
	atgacaatat gggact	16
<210>	227	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	227	
	tatgacaata tgggac	16
<210>	228	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	228	
	atatgacaat atggga	16
<210>	229	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	229	
	cttcacttaa taatta	16
<210>	230	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	230	
	ctgcttcact taataa	16
<210>	231	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	231	
	aagactgctt cactta	16

<210>	232	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	232	
	gaatgcccta attatg	16
<210>	233	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	233	
	tggaatgccc taatta	16
<210>	234	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	234	
	gcaaatgcca gtaggt	16
<210>	235	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	235	
	ctaattggaag gatttg	16
<210>	236	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400>	236	
aatatagaac	cta	atg
		16
<210>	237	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	237	
gaaagaatag	aatgtt	16
<210>	238	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	238	
atgggtaata	gattat	16
<210>	239	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	239	
gaaagagcac	agggtg	16
<210>	240	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	240	
ctacatagag	ggaatg	16
<210>	241	
<211>	16	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	241	
	gcttcctaca tagagg	16
<210>	242	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	242	
	tgcttcctac atagag	16
<210>	243	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	243	
	tgggcttgaa atatgt	16
<210>	244	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	244	
	cattatattt aagaac	16
<210>	245	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	245	

tcggttatgt tatcat 16

<210> 246
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 246
cacittatct ggtcgg 16

<210> 247
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 247
aaattggcac agcggt 16

<210> 248
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 248
accgtgacag taaatg 16

<210> 249
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 249
tgggaaccgt gacagta 17

<210> 250
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 250
ccacatatag gtcctt 16

<210> 251
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 251
catattgcta ccatac 16

<210> 252
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 252
tcatattgct accata 16

<210> 253
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 253
caattgtcat attgct 16

<210> 254
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 254
cattcaattg tcatattg 18

<210>	255	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	255	
	tttctactgg gaatttg	17
<210>	256	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	256	
	caattagtc agccag	16
<210>	257	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	257	
	gaataatgtt cttatcc	17
<210>	258	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	258	
	cacaaattga ataatgttct	20
<210>	259	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	259	
	catgcacaaa ttgaataat	19
<210>	260	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	260	
	atcctgcaat ttcacat	17
<210>	261	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	261	
	ccaccatagc tgatca	16
<210>	262	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	262	
	accaccatag ctgatca	17
<210>	263	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	263	
	caccaccata gctgatac	17
<210>	264	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	264	
	tagtcggcac caccat	16
<210>	265	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	265	
	cttgtagtcg gcaccac	17
<210>	266	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	266	
	cttgtagtcg gcacca	16
<210>	267	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	267	
	cgcttgtagt cggcac	16
<210>	268	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 268
tcaataaaga tcaggc

16

<210> 269
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 269
tggacttaca agaatg

16

<210> 270
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 270
atggacttac aagaat

16

<210> 271
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 271
gctcaagaaa ttggat

16

<210> 272
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 272
tactgtagaa catggc

16

<210> 273
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	273	
	gcaattcatt tgatct	16
<210>	274	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	274	
	tgaagggagg agggacac	18
<210>	275	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	275	
	agtgggtgaag ggaggag	17
<210>	276	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	276	
	tagtggtgaa gggaggag	18
<210>	277	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	277	
	atagtggatga agggaggag	19

<210>	278	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	278	
	tagtggtgaa gggagga	17
<210>	279	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	279	
	atagtggtga agggagga	18
<210>	280	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	280	
	tagtggtgaa gggagg	16
<210>	281	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	281	
	atagtggtga agggagg	17
<210>	282	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	282	
	gatagtgggtg aagggagg	18
<210>	283	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	283	
	atagtgggtga agggag	16
<210>	284	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	284	
	gatagtgggtg aagggag	17
<210>	285	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	285	
	gagatagtgg tgaagg	16
<210>	286	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	286	
	catgggagat agtgggt	16

<210>	287	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	287	
acaaataatg gttactct		18
<210>	288	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	288	
acacacaaat aatggtta		18
<210>	289	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	289	
gagggacaca caaataat		18
<210>	290	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	290	
atatagagag gctcaa		16
<210>	291	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400>	291	
ttgatataga	gaggct	16
<210>	292	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	292	
gcatttgata	tagaga	16
<210>	293	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	293	
tttgcatttg	atatag	16
<210>	294	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	294	
ctggaagaat	aggttc	16
<210>	295	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	295	
actggaagaa	taggtt	16
<210>	296	
<211>	16	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	296	
	tactggaaga ataggt	16
<210>	297	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	297	
	tggcttatcc tgtact	16
<210>	298	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	298	
	atggcttatc ctgtac	16
<210>	299	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	299	
	tatggcttat cctgta	16
<210>	300	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	300	

gatatggctta tcctgt	16
<210> 301	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 301	
atgaatatat gcccagt	17
<210> 302	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 302	
gatgaatata tgccca	16
<210> 303	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 303	
caagatgaat atatgcc	17
<210> 304	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 304	
gacaacatca gtataga	17
<210> 305	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	305	
	caagacaaca tcagta	16
<210>	306	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	306	
	cactcctagt tccttt	16
<210>	307	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	307	
	aacactccta gttcct	16
<210>	308	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	308	
	taacactcct agttcc	16
<210>	309	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	309	
	ctaacactcc tagttc	16

<210>	310	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	310	
	tgataacata actgtg	16
<210>	311	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	311	
	ctgataacat aactgt	16
<210>	312	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	312	
	tttgaactca agtgac	16
<210>	313	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	313	
	tcctttactt agctag	16
<210>	314	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	314	
	gagtttggat tagctg	16
<210>	315	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	315	
	tgggatatga cagggg	16
<210>	316	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	316	
	tgtgggatat gacagg	16
<210>	317	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	317	
	atatggaagg gatatc	16
<210>	318	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	318	
	acaggatatg gaaggg	16
<210>	319	

<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	319	
	atttcaacag gatatgg	17
<210>	320	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	320	
	gagtaatttc aacagg	16
<210>	321	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	321	
	agggagtaat ttcaaca	17
<210>	322	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	322	
	attagggagt aatttca	17
<210>	323	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 323 cttactatta gggagt	16
<210> 324 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 324 cagcttacta ttaggg	16
<210> 325 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 325 tcagcttact attagg	16
<210> 326 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 326 atttcagctt actattag	18
<210> 327 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 327 ttcagcttac tattag	16
<210> 328 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	328	
	cagatttcag cttact	16
<210>	329	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	329	
	gactacaact agaggg	16
<210>	330	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	330	
	agactacaac tagagg	16
<210>	331	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	331	
	aagactacaa ctagag	16
<210>	332	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	332	
	atgatttaat tctagtcaaa	20

<210>	333	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	333	
	tttaattcta gtcaaa	16
<210>	334	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	334	
	gatttaattc tagtca	16
<210>	335	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	335	
	atgatttaat tctagtca	18
<210>	336	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	336	
	gatgatttaa ttctagtca	19
<210>	337	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	337	
	gatttaattc tagtca	16
<210>	338	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	338	
	gatgatttaa ttctagtc	18
<210>	339	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	339	
	tgatttaatt ctagtc	16
<210>	340	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	340	
	gagatgattt aattcta	17
<210>	341	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	341	
	gagatgattt aattct	16

<210>	342	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	342	
	cagattgatg gtagtt	16
<210>	343	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	343	
	ctcagattga tggtag	16
<210>	344	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	344	
	gtagccctc agattg	16
<210>	345	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	345	
	tgtattgtta gccctc	16
<210>	346	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 346 acttgtattg ttagcc	16
<210> 347 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 347 agccagtatc agggac	16
<210> 348 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 348 ttgacaatag tggcat	16
<210> 349 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 349 acaagtggta tcttct	16
<210> 350 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 350 aatctacttt acaagt	16
<210> 351 <211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 351	
cacagtagat gcctgata	18
<210> 352	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 352	
gaacacagta gatgcc	16
<210> 353	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 353	
cttggaaacac agtagat	17
<210> 354	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 354	
atatcttgga acacag	16
<210> 355	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 355	

tctttaatat cttggaac	18
<210> 356	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 356	
tgatttccttt aatatcttg	19
<210> 357	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 357	
tgatgatttc tttaatatc	19
<210> 358	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 358	
aggctaagtc atgatg	16
<210> 359	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 359	
ttgatgaggc taagtc	16
<210> 360	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	360	
	ccaggattat actctt	16
<210>	361	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	361	
	gccaggattta tactct	16
<210>	362	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	362	
	ctgccaggat tatact	16
<210>	363	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	363	
	cagaaactta tactttatg	19
<210>	364	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	364	
	aagcagaaac ttatact	17

<210>	365	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	365	
	gaagcagaaa cttatact	18
<210>	366	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	366	
	tggaagcaga aacttatact	20
<210>	367	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	367	
	tggaagcaga aacttatac	19
<210>	368	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	368	
	aagcagaaac ttatac	16
<210>	369	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	369	
	tggaagcaga aacttata	18
<210>	370	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	370	
	aagggatatt atggag	16
<210>	371	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	371	
	tgccggaaga tttcct	16
<210>	372	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	372	
	atggattggg agtaga	16
<210>	373	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	373	
	agatggattg ggagta	16
<210>	374	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	374	
aagatggatt	gggagt	16
<210>	375	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	375	
acaagatgga	ttggga	16
<210>	376	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	376	
agaaggtica	gacttt	16
<210>	377	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	377	
gcagaaggtt	cagact	16
<210>	378	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 378 tgcagaaggt tcagac	16
<210> 379 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 379 agtcagaag gttcag	16
<210> 380 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 380 aagtcagaa ggttca	16
<210> 381 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 381 taagtcaga aggttc	16
<210> 382 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 382 tctaagtgca gaaggt	16
<210> 383 <211> 17 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	383	
	ctcaggagtt ctacttc	17
<210>	384	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	384	
	ctcaggagtt ctactt	16
<210>	385	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	385	
	atggaggtga ctcaggag	18
<210>	386	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	386	
	atggaggtga ctcagga	17
<210>	387	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	387	
	atggaggtga ctcagg	16

<210>	388	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	388	
	tatggaggtg actcagg	17
<210>	389	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	389	
	atatggaggt gactcagg	18
<210>	390	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	390	
	tatggaggtg actcag	16
<210>	391	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	391	
	atatggaggt gactcag	17
<210>	392	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	392	
catatggagg	tgactcag	18
<210>	393	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	393	
atatggaggt	gactca	16
<210>	394	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	394	
catatggagg	tgactca	17
<210>	395	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	395	
catatggagg	tgactc	16
<210>	396	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	396	
gcatatggag	gtgactc	17

<210>	397	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	397	
	tgcatatgga ggtgactc	18
<210>	398	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	398	
	ttgcatatgg aggtgactc	19
<210>	399	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	399	
	tttgcatatg gaggtgactc	20
<210>	400	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	400	
	gcatatggag gtgact	16
<210>	401	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 401 tgcatatgga ggtgact	17
<210> 402 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 402 ttgcatatgg aggtgact	18
<210> 403 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 403 tttgcatatg gaggtgact	19
<210> 404 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 404 tgcatatgga ggtgac	16
<210> 405 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 405 ttgcatatgg aggtgac	17
<210> 406 <211> 18	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	406	
	tttgcatatg gaggtgac	18
<210>	407	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	407	
	tttgcatatg gaggtga	17
<210>	408	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	408	
	tttgcatatg gaggtg	16
<210>	409	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	409	
	aagtgaagtt caacagc	17
<210>	410	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	410	

tggaagtga agttca	16
<210> 411	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 411	
atggaagtg aagttc	16
<210> 412	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 412	
gatggaagt gaagtt	16
<210> 413	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 413	
ctgtgatggg aagtgaa	17
<210> 414	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 414	
attgagtga tccaaa	16
<210> 415	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	415	
	aatlgagtga atccaa	16
<210>	416	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	416	
	gataattgag tgaatcc	17
<210>	417	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	417	
	gtgataattg agtgaa	16
<210>	418	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	418	
	aagaaaaggtg caataa	16
<210>	419	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	419	
	caagaaaaggt gcaata	16

<210>	420	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	420	
	acaagaaagg tgcaat	16
<210>	421	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	421	
	atttaaactc acaaac	16
<210>	422	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	422	
	ctgtaggtt cagcga	16
<210>	423	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	423	
	tctgaatgaa catttcg	17
<210>	424	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	424	
	ctcattgaag gttctg	16
<210>	425	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	425	
	ctaattctcat tgaagg	16
<210>	426	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	426	
	cctaattctca ttgaag	16
<210>	427	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	427	
	actttgatct ttcagc	16
<210>	428	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	428	
	actatgcaac actttg	16
<210>	429	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	429	
	caaatagctt tatcgg	16
<210>	430	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	430	
	ccaaatagct ttatcg	16
<210>	431	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	431	
	tccaaatagc tttatc	16
<210>	432	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	432	
	gatccaaata gcttta	16
<210>	433	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 433 atgatccaaa tagctt	16
<210> 434 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 434 tatgatccaa atagct	16
<210> 435 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 435 taaacagggc tgggaat	17
<210> 436 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 436 acttaaacag ggctgg	16
<210> 437 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 437 acacttaaac agggct	16
<210> 438 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	438	
	gaacacttaa acaggg	16
<210>	439	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	439	
	agagaacact taaacag	17
<210>	440	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	440	
	ctacagagaa cactta	16
<210>	441	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	441	
	atgctacaga gaacact	17
<210>	442	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	442	
	ataaatgcta cagagaaca	19

<210>	443	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	443	
	agataaatgc tacagaga	18
<210>	444	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	444	
	tagagataaa tgctaca	17
<210>	445	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	445	
	tagatagaga taaatgct	18
<210>	446	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	446	
	caatatacta gatagaga	18
<210>	447	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	447	
	tacacaatat actagatag	19
<210>	448	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	448	
	ctacacaata tactag	16
<210>	449	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	449	
	gctacacaat atacta	16
<210>	450	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	450	
	atatgctaca caatatac	18
<210>	451	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	451	
	tgatatgcta cacaat	16

<210>	452	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	452	
	atgatatgat atgctac	17
<210>	453	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	453	
	gaggagagag acaataaa	18
<210>	454	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	454	
	ctaggaggag agagaca	17
<210>	455	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	455	
	tattctagga ggagaga	17
<210>	456	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 456 ttatatattcta ggaggag	17
<210> 457 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 457 gtttatatattc taggag	16
<210> 458 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 458 tggagtttat attctagg	18
<210> 459 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 459 cgtaccacca ctctgc	16
<210> 460 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 460 tgaggaaatc attcattc	18
<210> 461 <211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 461	
tttgaggaaa tcattcat	18
<210> 462	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 462	
aggctaatacc tatttg	16
<210> 463	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 463	
tttaggctaa tcctat	16
<210> 464	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 464	
tgctccagtg taccct	16
<210> 465	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 465	

tagtagtact cgatag	16
<210> 466	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 466	
ctaattgtag tagtactc	18
<210> 467	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 467	
tgctaattgt agtagt	16
<210> 468	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 468	
agtgctaatt gtagta	16
<210> 469	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 469	
gcaagtgcta attgta	16
<210> 470	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	470	
	gaggaaatga actaattta	19
<210>	471	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	471	
	caggaggaaa tgaacta	17
<210>	472	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	472	
	ccctagagtc atttcc	16
<210>	473	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	473	
	atcttacatg atgaagc	17
<210>	474	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	474	
	gacacactca gatttcag	18

<210>	475	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	475	19
	agacacactc agatttcag	
<210>	476	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	476	20
	aagacacact cagatttcag	
<210>	477	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	477	18
	agacacactc agatttca	
<210>	478	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	478	19
	aagacacact cagatttca	
<210>	479	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	479	
	aaagacacac tcagatttca	20
<210>	480	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	480	
	gaaagacaca ctcagatttc	20
<210>	481	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	481	
	aagacacact cagatttc	18
<210>	482	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	482	
	aaagacacac tcagatttc	19
<210>	483	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	483	
	tgaaagacac actcagattt	20
<210>	484	

<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	484	
	tgaaagacac actcagatt	19
<210>	485	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	485	
	tgaaagacac actcagat	18
<210>	486	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	486	
	attgaaagac acactca	17
<210>	487	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	487	
	tcatigaaag acacact	17
<210>	488	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 488 ttccatcatt gaaaga	16
<210> 489 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 489 ataataccac ttatcat	17
<210> 490 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 490 ttacttaatt tctttgga	18
<210> 491 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 491 ttagaactag ctttatca	18
<210> 492 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 492 gaggtacaaa tatagg	16
<210> 493 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	493	
	cttatgatac aactta	16
<210>	494	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	494	
	tccttatgata caactt	16
<210>	495	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	495	
	ttctttatgat acaact	16
<210>	496	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	496	
	cagtttctta tgatac	16
<210>	497	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	497	
	gcagtttctt atgata	16

<210>	498	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	498	
tacaaatgtc tattaggtt		19
<210>	499	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	499	
tgtacaaatg tctattag		18
<210>	500	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	500	
agcatcacaa ttagta		16
<210>	501	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	501	
ctaatgatag tgaagc		16
<210>	502	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	502	
	agctaattgat agtgaa	16
<210>	503	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	503	
	atgccttgac atatta	16
<210>	504	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	504	
	ctcaagatta ttgacac	17
<210>	505	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	505	
	acctcaagat tattga	16
<210>	506	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	506	
	aacctcaaga ttattg	16

<210>	507	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	507	
	cacaaacctc aagattatt	19
<210>	508	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	508	
	gtacttaatt agacct	16
<210>	509	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	509	
	agtacttaat tagacc	16
<210>	510	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	510	
	gtatgaggtg gtaaac	16
<210>	511	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 511 aggaaacagc agaagtg	17
<210> 512 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 512 gcacaaccca gagga	16
<210> 513 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 513 caagcacaac ccagag	16
<210> 514 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 514 ttcaagcaca acccag	16
<210> 515 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 515 aattcaagca caaccc	16
<210> 516 <211> 19	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	516	
	taataattca agcacaacc	19
<210>	517	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	517	
	actaataatt caagcac	17
<210>	518	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	518	
	ataatactaa taattcaagc	20
<210>	519	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	519	
	tagatttgtg aggttaa	16
<210>	520	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	520	

agccttaatt ctccat	16
<210> 521	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 521	
aatgatctag agcctta	17
<210> 522	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 522	
ctaatagatct agagcc	16
<210> 523	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 523	
actaatgatic tagagc	16
<210> 524	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 524	
cattaacatg ttcttatt	18
<210> 525	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	525	
	acaagtacat taacatgttc	20
<210>	526	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	526	
	ttacaagtac attaacatg	19
<210>	527	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	527	
	gctttattca tgtttat	17
<210>	528	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	528	
	gctttattca tgttta	16
<210>	529	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	529	
	agagctttat tcatgttt	18

<210>	530	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	530	
	ataagagctt tattcatg	18
<210>	531	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	531	
	cataagagct ttattca	17
<210>	532	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	532	
	agcataagag ctttat	16
<210>	533	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	533	
	tagattgttt agtgca	16
<210>	534	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	534	
	gtagattggt tagtgc	16
<210>	535	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	535	
	gacaattcta gtagatt	17
<210>	536	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	536	
	ctgacaattc tagtag	16
<210>	537	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	537	
	gctgacaatt ctagta	16
<210>	538	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	538	
	aggattaaga tacgta	16
<210>	539	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	539	
	caggattaag atacgt	16
<210>	540	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	540	
	tcaggattaa gatacg	16
<210>	541	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	541	
	ttcaggatta agatac	16
<210>	542	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	542	
	aggaagaaag ttgtattc	18
<210>	543	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400>	543	
tcaaggaaga	aagtttga	18
<210>	544	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	544	
ctcaaggaag	aaagtttg	18
<210>	545	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	545	
tgctcaagga	agaaagt	17
<210>	546	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	546	
aattatgctc	aaggaaga	18
<210>	547	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	547	
taggatacca	cattatga	18
<210>	548	
<211>	20	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	548	
	cataatttat tccattcctc	20
<210>	549	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	549	
	tgcataattt attccat	17
<210>	550	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	550	
	actgcataat ttattcc	17
<210>	551	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	551	
	ctaaactgca taatttatt	19
<210>	552	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	552	
	ataactaaac tgcata	16

<210>	553	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	553	
	ttattaataa ctaaactgc	19
<210>	554	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	554	
	tagtacatta ttaataact	19
<210>	555	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	555	
	cataactaag gacgtt	16
<210>	556	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	556	
	tcataactaa ggacgt	16
<210>	557	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	557	
	cgtcataact aaggac	16
<210>	558	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	558	
	tcgtcataac taagga	16
<210>	559	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	559	
	atcgtcataa ctaagg	16
<210>	560	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	560	
	gtagtatct tacatt	16
<210>	561	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	561	
	ctctattggt agtatc	16

<210>	562	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	562	
	agtatagagt tactgt	16
<210>	563	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	563	
	ttcctgggtga tacttt	16
<210>	564	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	564	
	gttcctgggtg atactt	16
<210>	565	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	565	
	tggttcctggt gatact	16
<210>	566	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 566 ataaacaatga atctctcc	18
<210> 567 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 567 ctttataaac atgaatctc	19
<210> 568 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 568 ctgtctttat aaacatg	17
<210> 569 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 569 ttgttataaa tctgtctt	18
<210> 570 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 570 ttaaatttat tcttggata	19
<210> 571 <211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 571	
cttaaattta ttcttgga	18
<210> 572	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 572	
cttcttaaatt ttattcttg	19
<210> 573	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 573	
tatgtttctc agtaaag	17
<210> 574	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 574	
gaattatctt taaacca	17
<210> 575	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 575	

cccttaaatt tctaca	16
<210> 576	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 576	
acactgctct tgtacc	16
<210> 577	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 577	
tgacaacact gctctt	16
<210> 578	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 578	
tacatttatt gggctc	16
<210> 579	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 579	
gtacatttat tgggct	16
<210> 580	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	580	
	ttggtacatt tattgg	16
<210>	581	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	581	
	catggttgga catttat	17
<210>	582	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	582	
	aatcatgttg gtacat	16
<210>	583	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	583	
	aaatcatgtt ggtaca	16
<210>	584	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	584	
	gacaagtttg gattaa	16

<210>	585	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	585	
	aatgttcaga tgcctc	16
<210>	586	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	586	
	gcittaatgtt cagatg	16
<210>	587	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	587	
	cgtacatagc ttgatg	16
<210>	588	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	588	
	gtgaggaatt aggata	16
<210>	589	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	589	
	gtaacaatat ggtttg	16
<210>	590	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	590	
	gaaatattgt agacta	16
<210>	591	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	591	
	ttgaaatatt gtagac	16
<210>	592	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	592	
	aagtctagta atttgc	16
<210>	593	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	593	
	gctcagtaga ttataa	16
<210>	594	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	594	
	catacactgt tgctaa	16
<210>	595	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	595	
	atggtctcaa atcatt	16
<210>	596	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	596	
	caatggtctc aaatca	16
<210>	597	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	597	
	ttcctattga ttgact	16
<210>	598	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 598 tttctgttca caacac	16
<210> 599 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 599 aggaaccac taatct	16
<210> 600 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 600 taaatggcag gaaccc	16
<210> 601 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 601 gtaaatggca ggaacc	16
<210> 602 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 602 ttgtaaatgg caggaa	16
<210> 603 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	603	
	ttatgagtta ggcattg	16
<210>	604	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	604	
	ccaggtgaaa ctttaa	16
<210>	605	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	605	
	cccttagtca gctcct	16
<210>	606	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	606	
	acccttagtc agctcc	16
<210>	607	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	607	
	cacccttagt cagctc	16

<210>	608	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	608	
	tctcttacta ggctcc	16
<210>	609	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	609	
	cctatctgtc atcatg	16
<210>	610	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	610	
	tcctatctgt catcat	16
<210>	611	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	611	
	gagaagtgtg agaagc	16
<210>	612	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	612	
	catccttgaa gtttag	16
<210>	613	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	613	
	taataagatg gctccc	16
<210>	614	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	614	
	caaggcataa taagat	16
<210>	615	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	615	
	ccaaggcata ataaga	16
<210>	616	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	616	
	tgatccaatt ctcacc	16

<210>	617	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	617	
	atgatccaat tctcac	16
<210>	618	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	618	
	cgcttcatct tcaccc	16
<210>	619	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	619	
	tatgacactg catctt	16
<210>	620	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	620	
	gtatgacact gcatct	16
<210>	621	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 621	
tgtatgacac tgcac	16
<210> 622	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 622	
ttctcttctg taagtc	16
<210> 623	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 623	
ttctacagag gaacta	16
<210> 624	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 624	
actacagttc tacaga	16
<210> 625	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 625	
ttcccacagg taaatg	16
<210> 626	
<211> 20	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	626	
	attatttgaa tatactcatt	20
<210>	627	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	627	
	tgggaggaaa ttatttg	17
<210>	628	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	628	
	tgactcatct taaatg	16
<210>	629	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	629	
	ctgactcatc ttaaatt	16
<210>	630	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	630	

tttactctga ctcatc 16

<210> 631
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 631
tattggagga attatt 16

<210> 632
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 632
gtattggagg aattat 16

<210> 633
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 633
tggtatactt ctctaagtat 20

<210> 634
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 634
gatctcttgg tatact 16

<210> 635
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	635	
	cagacaactc tatacc	16
<210>	636	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	636	
	aacatcagac aactcta	17
<210>	637	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	637	
	tttaacatca gacaactc	18
<210>	638	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	638	
	taacatcaga caactc	16
<210>	639	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	639	
	atttaacatc agacaa	16

<210> 640
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 640
cctattttaac atcagac 17

<210> 641
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 641
tccctattta acatca 16

<210> 642
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 642
tcaacgacta ttggaat 17

<210> 643
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 643
cttatattct ggctat 16

<210> 644
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	644	
	atccttatat tctggc	16
<210>	645	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	645	
	gaccttata ttctgg	16
<210>	646	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	646	
	tgaccttat attctg	16
<210>	647	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	647	
	attgaaactt gatcct	16
<210>	648	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	648	
	actgtcattg aaactt	16
<210>	649	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	649	
	tcttactgtc attgaa	16
<210>	650	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	650	
	aggatccttac tgtcatt	17
<210>	651	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	651	
	gcaaataaac tccatc	16
<210>	652	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	652	
	gtgcaaataca actcca	16
<210>	653	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400>	653	
caattatttc	tttgtgc	17
<210>	654	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	654	
tggcaacaat	tatttctt	18
<210>	655	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	655	
gctggcaaca	attatt	16
<210>	656	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	656	
atccatttct	actgcc	16
<210>	657	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	657	
taatatctat	tgatttcta	19
<210>	658	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	658	
	tcaatagtgt agggca	16
<210>	659	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	659	
	ttcaatagtg tagggc	16
<210>	660	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	660	
	aggttaatta attcaatag	19
<210>	661	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	661	
	catttgtaat ccctag	16
<210>	662	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	662	
	acatttgtaa tcccta	16

<210>	663	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	663	
	aacatttgta atccct	16
<210>	664	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	664	
	taaatttcaa gttctg	16
<210>	665	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	665	
	gtttaaattt caagttct	18
<210>	666	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	666	
	ccaagtttaa atttcaag	18
<210>	667	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	667	
	accaagttt aaatttc	17
<210>	668	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	668	
	catacagtga cccaagttt	19
<210>	669	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	669	
	acatcccata cagtga	16
<210>	670	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	670	
	agcacagctc tacatc	16
<210>	671	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	671	
	atatagcaca gctcta	16

<210>	672	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	672	
	tccatatagc acagct	16
<210>	673	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	673	
	atttccatat agcaca	16
<210>	674	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	674	
	tttattttcca tatagca	17
<210>	675	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	675	
	tttattttcca tatagc	16
<210>	676	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 676 aaggagagga gattatg	17
<210> 677 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 677 agttcttgtg ttagct	16
<210> 678 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 678 gagttcttgt gttagc	16
<210> 679 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 679 attaattatc catccac	17
<210> 680 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 680 atcaattaat tatccatc	18
<210> 681 <211> 18	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	681	
	agaatcaatt aattatcc	18
<210>	682	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	682	
	tgagataccg tgcattg	16
<210>	683	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	683	
	aatgagatac cgtgca	16
<210>	684	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	684	
	ctgtggtttag gctaat	16
<210>	685	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	685	

aagagtaagg gtctgtggtt	20
<210> 686	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 686	
gatgggttaa gagtaa	16
<210> 687	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 687	
agcagatggg ttaaga	16
<210> 688	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 688	
tgtaaacatt tgtagc	16
<210> 689	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 689	
cctgcttata aatgta	16
<210> 690	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	690	
	tgccctgctt ataaat	16
<210>	691	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	691	
	tcttcttagt tcaata	16
<210>	692	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	692	
	tggtttctaa ctacat	16
<210>	693	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	693	
	agtttgggtt ctaacta	17
<210>	694	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	694	
	gaatgaaact tgcctg	16

<210>	695	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	695	
	attatcctta catgat	16
<210>	696	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	696	
	gtaccaaat atcctt	16
<210>	697	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	697	
	tgtaccaat tatcct	16
<210>	698	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	698	
	ttgtacccaa ttatcc	16
<210>	699	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	699	
	tttgtaccca attatc	16
<210>	700	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	700	
	agcagcaggt tatatt	16
<210>	701	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	701	
	tgggaagtgg tctggg	16
<210>	702	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	702	
	ctggagagtg ataata	16
<210>	703	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	703	
	aatgctggat tacgtc	16
<210>	704	

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	704	
	caatgctgga ttacgt	16
<210>	705	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	705	
	ttgttcagaa gtatcc	16
<210>	706	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	706	
	gatgatttgc ttggag	16
<210>	707	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	707	
	gaaatcattc acaacc	16
<210>	708	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 708 ttgtaacatc tactac	16
<210> 709 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 709 cattaagcag caagtt	16
<210> 710 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 710 ttactagatg tgagca	16
<210> 711 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 711 tttactagat gtgagc	16
<210> 712 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 712 gaccaagcac cttaca	16
<210> 713 <211> 16 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	713	
	agaccaagca ccttac	16
<210>	714	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	714	
	atgggttaaa taaagg	16
<210>	715	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	715	
	tcaaccagag tatta	16
<210>	716	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	716	
	gtcaaccaga gtatta	16
<210>	717	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	717	
	attgtaaagc tgatat	16

<210>	718	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	718	
	cacataattg taaagc	16
<210>	719	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	719	
	gaggctctgct atttac	16
<210>	720	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	720	
	tgtagattca atgcct	16
<210>	721	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	721	
	cctcattata ctatga	16
<210>	722	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	722	
	ccttatgcta tgacac	16
<210>	723	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	723	
	tccttatgct atgaca	16
<210>	724	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	724	
	aagatgttta agtata	16
<210>	725	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	725	
	ctgattatta agatgt	16
<210>	726	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	726	
	tggaaaggta tgaatt	16

<210>	727	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	727	
	acttgaatgg cttgga	16
<210>	728	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	728	
	aacttgaatg gcttgg	16
<210>	729	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	729	
	caatgtgta ctattt	16
<210>	730	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	730	
	acaatgtgtt actatt	16
<210>	731	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 731 catctgctat ataaga	16
<210> 732 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 732 cctagagcaa atactt	16
<210> 733 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 733 cagagttaat aataag	16
<210> 734 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 734 gttcaagcac aacgaa	16
<210> 735 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 735 agggttcaag cacaac	16
<210> 736 <211> 16	

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	736	
	tgttggagac actgtt	16
<210>	737	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	737	
	aaggaggagt taggac	16
<210>	738	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	738	
	ctatgccatt tacgat	16
<210>	739	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	739	
	tcaaatgcag aattag	16
<210>	740	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	740	

agtgacaatc aaatgc 16

<210> 741
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 741
aagtgacaat caaatg 16

<210> 742
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 742
gtgtaccaag taacaa 16

<210> 743
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 743
tgggatgtta aactga 16

<210> 744
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 744
agtttacatt ttctgc 16

<210> 745
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	745	
	tatgtgaaga ggagag	16
<210>	746	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	746	
	cacctttaaa acccca	16
<210>	747	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	747	
	tcctttataa tcacac	16
<210>	748	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	748	
	acggtatittt cacagg	16
<210>	749	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	749	
	gacactacaa tgagga	16

<210>	750	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	750	
	tggttttttag gactgt	16
<210>	751	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	751	
	cgacaaattc tatlct	16
<210>	752	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	752	
	tgatatacaa tgctac	16
<210>	753	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	753	
	tcgttgggta aattta	16
<210>	754	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	寡核苷酸基序	
<400>	754	
	tgctttataa atggtg	16
<210>	755	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	755	
	caagtttaca ttttctgc	18
<210>	756	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	756	
	catatgtgaa gaggagag	18
<210>	757	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	757	
	cacctttaaa acccca	16
<210>	758	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	758	
	catcctttat aatcacac	18
<210>	759	

<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	759	
	caacggtatt ttcacagg	18
<210>	760	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	760	
	cagacactac aatgagga	18
<210>	761	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	761	
	catggttttt aggactgt	18
<210>	762	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	762	
	cacgacaaat tctatcct	18
<210>	763	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 763 catgatatac aatgctac	18
<210> 764 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 764 catcgttggg taaattta	18
<210> 765 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 765 catgctttat aaatggtg	18
<210> 766 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 766 caacaaataa tggttactct	20
<210> 767 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 767 cacagattga tggtagtt	18
<210> 768 <211> 19 <212> DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	768	
	cacctattta acatcagac	19
<210>	769	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	769	
	cactaattgt agtagtactc	20
<210>	770	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	770	
	caataaacat gaatctctcc	20
<210>	771	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	771	
	tgattttaatt ctagtca	17
<210>	772	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	靶序列	
<400>	772	
	gcagtagagc caatta	16

<210> 773
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> H1BV 表位

<400> 773

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val
1 5 10

<210> 774
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> H1BV 表位

<400> 774

Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp
1 5 10 15

<210> 775
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> H1BV 表位

<400> 775

Thr Thr Phe His Gln Thr Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu
1 5 10 15

<210> 776
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> H1BV 表位

<400> 776

Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser

1 5 10 15

$\langle 210 \rangle$	777
$\langle 211 \rangle$	9
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工

<220>
<223> IIBV 表位

<400> 777

Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile
1 5

<210>	778
<211>	15
<212>	PRT
<213>	人工

<223> HBV 表位

<400> 778

Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln
1 5 10 15

$\langle 210 \rangle$	779
$\langle 211 \rangle$	9
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工

<220>
<223> IIBV 表位

<400> 779

Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu
1 5

$\langle 210 \rangle$	780
$\langle 211 \rangle$	9
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工

<220>
<223> HBV 表位

<400> 780

Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val
1 5

<210> 781
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV 表位

<400> 781

Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr
1 5 10 15

Val Trp Leu Ser Val
20

<210> 782
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV 表位

<400> 782

Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val
1 5 10

<210> 783
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV 表位

<400> 783

Ser Ile Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu
1 5 10

<210> 784
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 784
ctgtgcccttg ggtggcttt 19

<210> 785
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 785
aaggaaagaa gtcagaaggc aaaa 24

<210> 786
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 786
ttctttataa gggtcgatgt ccatg 25

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於降低PD-L1表現之寡核苷酸

【英文發明名稱】

OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1

EXPRESSION

【技術領域】

本發明係關於與程式性死亡配體-1 (PD-L1)互補以降低肝中之PD-L1表現之寡核苷酸(寡聚物)。本發明亦係關於緩解由肝感染或肝癌引起之T細胞耗竭之方法。相關感染係慢性HBV、HCV及HDV及諸如瘧疾及弓蟲症等寄生蟲感染(例如由瘧原蟲屬(*Plasmodium*)、尤其物種間日瘧原蟲(*P. vivax*)、三日瘧原蟲(*P. malariae*)及惡性瘧原蟲(*P. falciparum*)之原生動物引起)。

【先前技術】

由程式性死亡-1 (PD-1)受體及其配體PD-L1 (或B7-H1或CD274)組成之共刺激路徑已知直接促成T細胞耗竭，從而使得在慢性肝感染期間缺乏病毒控制。PD-1路徑亦在自體免疫性中發揮一定作用，此乃因此路徑遭到破壞之小鼠發生自體免疫疾病。

已展示，阻斷PD-1與PD-L1之間之相互作用之抗體會增強T細胞反應、尤其CD8+細胞毒性T細胞之反應(參見Barber等人，2006 Nature第439卷第682頁及Maier等人，2007 J. Immunol.第178卷第2714頁)。

WO 2006/042237闡述藉由評價腫瘤中之PD-L1 (B7-H1)表現來診斷癌症之方法且建議向患者遞送干擾PD-1/PD-L1相互作用之藥劑。干擾劑

可為抗體、抗體片段、siRNA或反義寡核苷酸。並未提供該等干擾劑之具體實例且並未提及任何慢性肝感染。

亦在(例如) WO 2005/007855、WO 2007/084865及US 8,507,663中揭示使用雙鏈RNA (dsRNA、RNAi或siRNA)分子來達成RNA干擾調介之PD-L1抑制。該等專利並未闡述至肝之靶向遞送。

Dolina等人，2013 Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2 e72闡述在活體內將靶向PD-L1之siRNA分子遞送至庫弗氏細胞(Kupffer cell)，由此增強MCMV感染小鼠中之NK及CD8+ T細胞清除。此論文斷定，遞送至肝細胞之靶向PD-L1之siRNA分子不能有效地增強CD8+ T細胞效應物功能。

siRNA方式顯著不同於單鏈反義寡核苷酸方式，此乃因生物分佈及作用模式極為不同。如Xu等人，2003 Biochem. Biophys. Res .Comm.第306卷第712-717頁中所闡述，反義寡核苷酸及siRNA對mRNA中之靶位點具有不同偏好。

WO2016/138278闡述使用兩種或更多種在5'端連接之單鏈反義寡核苷酸來抑制免疫檢查點(包含PD-L1)。本申請案並未提及HBV或至肝之靶向遞送。

本發明目標

本發明鑑別在肝臟細胞中(在實質細胞(例如肝細胞)及非實質細胞(例如庫弗氏細胞及肝竇狀隙內皮細胞(LSEC))中)極有效降低PD-L1 mRNA之新穎寡核苷酸及寡核苷酸偶聯物。藉由降低或沉默PD-L1，寡核苷酸及寡核苷酸偶聯物降低PD-1介導之抑制且由此促進耗竭T細胞之免疫刺激。緩解肝之慢性病原性感染中之T細胞耗竭使得重獲免疫控制且在肝之慢性

病原性感染期間降低血液中之病毒抗原含量。天然殺手(NK)細胞及天然殺手T (NKT)細胞亦可由本發明之寡核苷酸及寡核苷酸偶聯物活化。

寡核苷酸偶聯物使得肝臟細胞中之PD-L1發生局部降低且由此降低與PD-L1之全身性消耗有關之自體免疫副效應(例如肺炎、非病毒性肝炎及結腸炎)的風險。

【發明內容】

本發明係關於靶向能夠調節PD-L1表現之核酸且治療或預防與PD-L1功能相關之疾病之寡核苷酸或其偶聯物。寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物可尤其用於治療針對傳染原之免疫反應已耗竭之疾病。

因此，在第一態樣中，本發明提供包括長度為10至30個核苷酸且與PD-L1靶核酸具有至少90%互補性之鄰接核苷酸序列之寡核苷酸。寡核苷酸可為較佳地具有間隙聚體設計之反義寡核苷酸。較佳地，寡核苷酸能夠藉由裂解靶核酸來抑制PD-L1表現。裂解較佳係經由核酸酶招募來達成。

在另一態樣中，寡核苷酸偶聯至至少一個靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分(例如包括至少一個N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分之偶聯物部分)。偶聯物部分及寡核苷酸可藉由連接體、尤其生物可裂解連接體連接至一起。

在另一態樣中，本發明提供包括本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物及醫藥上可接受之稀釋劑、載劑、鹽及/或佐劑之醫藥組合物。

在另一態樣中，本發明提供降低表現PD-L1之靶細胞中之PD-L1表現之方法(活體內或活體外方法)，其係藉由向該細胞投與有效量之本發明之寡核苷酸或組合物來達成。

在另一態樣中，本發明提供用於恢復針對病毒或寄生蟲之免疫性之

寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

在另一態樣中，本發明提供用作藥劑之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

在另一態樣中，本發明提供治療或預防疾病、病症或功能障礙之方法，其係藉由向患有或易患該疾病、病症或功能障礙、尤其選自病毒性肝感染或寄生蟲感染之疾病之個體投與治療或預防有效量之本發明寡核苷酸來達成。

在另一態樣中，本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物係用於治療或預防病毒性肝感染(例如HBV、HCV及HDV)或寄生蟲感染(例如瘧疾、弓蟲症、利什曼病(leishmaniasis)及錐蟲病)或肝癌或肝中轉移。

【圖式簡單說明】

圖1：圖解說明實例性反義寡核苷酸偶聯物，其中將寡核苷酸表示為波浪線(A-D)或「寡核苷酸」(E-H)或T₂(I)且靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係三價N-乙醯基半乳糖胺部分。化合物A至D包括二離胺酸支化劑分子、PEG3間隔體及三個末端GalNAc碳水化合物部分。在化合物A及B中，寡核苷酸無需連接體即直接連接至靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分。在化合物C及D中，寡核苷酸經由C6連接體直接連接至靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分。化合物E-I包括三倍增體支化劑分子及具有不同長度及結構之間隔體及三個末端GalNAc碳水化合物部分。

圖2：圖形展示實例2中所測試化合物與其在靶核酸上之位置相關之EC₅₀(A)及PD-L1敲低(以鹽水%形式)(B)。測試化合物之細胞系係THP1(●)及Karpas(✱)。

圖3：三價GalNAc簇(GN2)之結構式。GN2可用作本發明中之偶聯物部分。波浪線圖解說明簇至(例如) C6胺基連接體或直接至寡核苷酸之偶聯位點。

圖4：CMP ID NO 766_2之結構式。

圖5：CMP ID NO 767_2之結構式。

圖6：CMP ID NO 768_2之結構式。

圖7：CMP ID NO 769_2之結構式。

圖8：CMP ID NO 770_2之結構式。

圖9：檢測來自在使用鹽水及所指示CMP ID NO治療後之聚(IC)誘導動物之肝中之PD-L1蛋白表現的西方印漬(Western blot)。每一印漬展示裸寡核苷酸與相同寡核苷酸之GalNAc偶聯形式，印漬A) CMP ID NO 744_1及755_2，B) CMP ID NO 747_1及758_2，C) CMP ID NO 748_1及759_2，D) CMP ID NO 752_1及763_2及E) CMP ID NO 753_1及764_2。上帶係紐蛋白載量對照，下帶係PD-L1蛋白。每一印漬中之第一泳道展示並無聚(IC)誘導之鹽水治療小鼠。該等小鼠表現極少PD-L蛋白。

圖10：在使用●媒劑(組10及1)、◆ DNA疫苗(組11及2)、○抗PD-L1抗體(組12)、▲裸PD-L1 ASO + DNA疫苗(組7)或ΔGalNAc偶聯之PD-L1 ASO + DNA疫苗(組8)治療之後肝中之單核細胞之群體，表示每一組之個別動物且藉由每一組之垂直線指示平均值(參見表18)。評價DNA疫苗組與三個治療組之間之統計學顯著性且在存在時其由組間之*指示(* = $P < 0.05$ ，*** = $P < 0.001$ 且**** = $P < 0.0001$)。A)代表在治療後肝中之T細胞數。B)代表CD4+ T細胞部分且C)代表CD8+ T細胞部分。

圖11：在使用●媒劑(組10及1)、◆ DNA疫苗(組11及2)、○抗PD-L1抗體(組12)、▲裸PD-L1 ASO + DNA疫苗(組7)或ΔGalNAc偶聯之PD-L1 ASO + DNA疫苗(組8)治療之後肝中之PD-L1陽性細胞之調節，表示每一組之個別動物且藉由每一組之垂直線指示平均值(參見表19)。評價DNA疫苗組與三個治療組之間之統計學顯著性且在存在時其由組間之*指示(* = $P < 0.05$ 且 **** = $P < 0.0001$)。A)代表在治療後肝中之表現PD-L1之CD8+ T細胞之百分比。B)代表在治療後肝中之表現PD-L1之CD4+ T細胞之百分比且C)代表在治療後肝中之表現PD-L1之B細胞之百分比。

圖12：在使用●媒劑(組10及1)、◆ DNA疫苗(組11及2)、○抗PD-L1抗體(組12)、▲裸PD-L1 ASO + DNA疫苗(組7)或ΔGalNAc偶聯之PD-L1 ASO + DNA疫苗(組8)治療之後肝中之HBV抗原特異性CD8+細胞介素分泌細胞，表示每一組之個別動物且藉由每一組之垂直線指示平均值(參見表20)。評價DNA疫苗組與三個治療組之間之統計學顯著性且在存在時其由組間之*指示(* = $P < 0.05$)。A)代表在治療後肝中之HBV PreS2+S抗原特異性IFN- γ 分泌性CD8+ T細胞之百分比。B)代表在治療後肝中之HBV核心抗原特異性IFN- γ 分泌性CD8+ T細胞之百分比，且C)代表在治療後肝中之HBV PreS2+S抗原特異性IFN- γ 及TNF- α 分泌性CD8+ T細胞之百分比。

圖13：與媒劑(■)相比，在使用GalNAc偶聯之PD-L1反義CMP NO: 759_2 (▼)治療後AAV/HBV小鼠中之HBV-DNA、HBsAg及HBeAg。垂直線指示治療終點。

【實施方式】

定義

寡核苷酸

如熟習此項技術者通常所理解，本文所用之術語「寡核苷酸」定義為包括兩個或更多個共價連接之核苷之分子。該等共價結合之核苷亦可稱為核酸分子或寡聚物。寡核苷酸通常係在實驗室中藉由固相化學合成且隨後加以純化來製得。在提及寡核苷酸之序列時，可提及共價連接之核苷酸或核苷之核鹼基部分或其修飾之序列或順序。本發明寡核苷酸係人工製得，且係以化學方式合成，並通常進行純化或分離。本發明寡核苷酸可包括一或多個經修飾核苷或核苷酸。

反義寡核苷酸

本文所用之術語「反義寡核苷酸」定義為能夠藉由雜交至靶核酸、尤其靶核酸上之鄰接序列來調節靶基因表現之寡核苷酸。反義寡核苷酸在本質上並非雙鏈且由此並非siRNA。較佳地，本發明之反義寡核苷酸係單鏈。

鄰接核苷酸序列

術語「鄰接核苷酸序列」係指寡核苷酸中與靶核酸互補之區域。該術語可在本文中與術語「鄰接核鹼基序列」及術語「寡核苷酸基序序列」互換使用。在一些實施例中，寡核苷酸之所有核苷酸構成鄰接核苷酸序列。在一些實施例中，寡核苷酸包括鄰接核苷酸序列且可視情況包括其他核苷酸(例如可用於將官能基連接至鄰接核苷酸序列之核苷酸連接體區)。核苷酸連接體區可或可不與靶核酸互補。

核苷酸

核苷酸係寡核苷酸及多核苷酸之組成單元且出於本發明目的其包含天然及非天然核苷酸。在性質上，核苷酸(例如DNA及RNA核苷酸)包括

核糖糖部分、核鹼基部分及一或多個磷酸酯基團(其不存在於核苷中)。核苷及核苷酸亦可互換地稱為「單元」或「單體」。

經修飾核苷

本文所用之術語「經修飾核苷」或「核苷修飾」係指與等效DNA或RNA核苷相比藉由引入一或多個糖部分或(核)鹼基部分之修飾而加以修飾之核苷。在一較佳實施例中，經修飾核苷包括經修飾糖部分。術語經修飾核苷亦可在本文中與術語「核苷類似物」或經修飾「單元」或經修飾「單體」互換使用。

經修飾核苷間鏈接

如熟習此項技術者通常所理解，術語「經修飾核苷間鏈接」定義為除磷酸二酯(PO)鏈接外之以共價方式將兩個核苷偶合至一起之鏈接。具有經修飾核苷間鏈接之核苷亦稱為「經修飾核苷酸」。在一些實施例中，與磷酸二酯鏈接相比，經修飾核苷間鏈接增加了寡核苷酸之核酸酶抗性。對於天然寡核苷酸而言，核苷間鏈接包含在毗鄰核苷之間產生磷酸二酯鍵之磷酸酯基團。經修飾核苷間鏈接尤其可用於穩定用於活體內應用之寡核苷酸，且可用於防止在本發明寡核苷酸中之DNA或RNA核苷區域中發生核酸酶裂解(例如在間隙聚體寡核苷酸之間隙區內以及在經修飾核苷之區域中)。

在一實施例中，寡核苷酸包括一或多個自天然磷酸二酯修飾成(例如)對核酸酶攻擊更具抗性之鏈接之核苷間鏈接。可藉由在血清中培育寡核苷酸或藉由使用核酸酶抗性分析(例如蛇毒磷酸二酯酶(SVPD))來測定核酸酶抗性，此兩種方法在業內已眾所周知。能夠增強寡核苷酸之核酸酶抗性之核苷間鏈接稱為核酸酶抗性核苷間鏈接。在一些實施例中，修飾寡核苷

酸或其鄰接核苷酸序列中之至少50%之核苷間鏈接，舉例而言，修飾寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列中之至少60%、例如至少70%、例如至少80或例如至少90%之核苷間鏈接。在一些實施例中，修飾寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列之所有核苷間鏈接。應認識到，在一些實施例中，將本發明寡核苷酸連接至非核苷酸官能基(例如偶聯物)之核苷可為磷酸二酯。在一些實施例中，寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列之所有核苷間鏈接皆係核酸酶抗性核苷間鏈接。

經修飾核苷間鏈接可選自包括硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯及硼烷磷酸酯之組。在一些實施例中，經修飾核苷間鏈接與本發明寡核苷酸之RNaseH招募相容，例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯或硼烷磷酸酯。

在一些實施例中，核苷間鏈接包括硫(S)，例如硫代磷酸酯核苷間鏈接。

硫代磷酸酯核苷間鏈接因核酸酶抗性、有益藥物動力學及製造便利性尤其有用。在一些實施例中，寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列中之至少50%之核苷間鏈接係硫代磷酸酯，舉例而言，寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列中之至少60%、例如至少70%、例如至少80或例如至少90%之核苷間鏈接係硫代磷酸酯。在一些實施例中，寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列之所有核苷間鏈接係硫代磷酸酯。

在一些實施例中，寡核苷酸包括一或多個中性核苷間鏈接，尤其係選自磷酸三酯、甲基膦酸酯、MMI、醯胺-3、甲縮醛或硫代甲縮醛之核苷間鏈接。

其他核苷間鏈接揭示於WO2009/124238 (以引用方式併入本文中)中。在一實施例中，核苷間鏈接係選自WO2007/031091 (以引用方式併入

本文中)中所揭示之連接體。特定而言，核苷間鏈接可選自 $-O-P(O)_2-O-$ 、 $-O-P(O,S)-O-$ 、 $-O-P(S)_2-O-$ 、 $-S-P(O)_2-O-$ 、 $-S-P(O,S)-O-$ 、 $-S-P(S)_2-O-$ 、 $-O-P(O)_2-S-$ 、 $-O-P(O,S)-S-$ 、 $-S-P(O)_2-S-$ 、 $-O-PO(R^H)-O-$ 、 $O-PO(OCH_3)-O-$ 、 $-O-PO(NR^H)-O-$ 、 $-O-PO(OCH_2CH_2S-R)-O-$ 、 $-O-PO(BH_3)-O-$ 、 $-O-PO(NHR^H)-O-$ 、 $-O-P(O)_2-NR^H-$ 、 $-NR^H-P(O)_2-O-$ 、 $-NR^H-CO-O-$ 、 $-NR^H-CO-NR^H-$ ，及/或核苷間連接體可選自由以下組成之群： $-O-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR^H-$ 、 $-NR^H-CO-CH_2-$ 、 $-O-CH_2-CO-NR^H-$ 、 $-O-CH_2-CH_2-NR^H-$ 、 $-CO-NR^H-CH_2-$ 、 $-CH_2-NR^HCO-$ 、 $-O-CH_2-CH_2-S-$ 、 $-S-CH_2-CH_2-O-$ 、 $-S-CH_2-CH_2-S-$ 、 $-CH_2-SO_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CO-NR^H-$ 、 $-O-CH_2-CH_2-NR^H-CO-$ 、 $-CH_2-NCH_3-O-CH_2-$ ，其中 R^H 係選自氫及C1-4-烷基。

核酸酶抗性鏈接(例如硫代磷酸酯鏈接)尤其可用於能夠在與靶核酸形成雙螺旋體時招募核酸酶之寡核苷酸區域，例如用於間隙聚體之區域G或頭聚體及尾聚體之未修飾核苷區域。然而，硫代磷酸酯鏈接亦可可用於非核酸酶招募區域及/或親和力增強區域(例如用於間隙聚體之區域F及F'或頭聚體及尾聚體之經修飾核苷區域)中。

然而，每一設計區域可包括除硫代磷酸酯外之核苷間鏈接(例如磷酸二酯鏈接)，尤其在經修飾核苷(例如LNA)保護鏈接抵抗核酸酶降解之區域中。納入磷酸二酯鏈接(例如一或兩個鏈接，尤其在經修飾核苷單元之間或毗鄰該等經修飾核苷單元(通常位於非核酸酶招募區域中))可改變寡核苷酸之生物可用性及/或生物分佈-參見WO2008/113832 (以引用方式併入本文中)。

在一實施例中，寡核苷酸中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯及/或

硼烷磷酸酯鏈接。較佳地，寡核苷酸中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯鏈接。

核鹼基

術語核鹼基包含存在於核苷及核苷酸中之在核酸雜交中形成氫鍵之嘌呤(例如腺嘌呤及鳥嘌呤)及嘧啶(例如尿嘧啶、胸腺嘧啶及胞嘧啶)部分。在本發明背景中，術語核鹼基亦涵蓋經修飾核鹼基，該等經修飾核鹼基可不同於天然核鹼基，但在核酸雜交期間具有功能性。在此背景中，「核鹼基」係指天然核鹼基(例如腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸苷、尿嘧啶、黃嘌呤及次黃嘌呤)以及非天然變體。該等變體(例如)闡述於Hirao等人(2012) *Accounts of Chemical Research* 第45卷第2055頁及Bergstrom (2009) *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* 增刊37 1.4.1。

在一些實施例中，藉由將嘌呤或嘧啶變成經修飾嘌呤或嘧啶(例如經取代嘌呤或經取代嘧啶)來修飾核鹼基部分，例如選自異胞嘧啶、假異胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、5-噻唑并-胞嘧啶、5-丙炔基-胞嘧啶、5-丙炔基-尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-噻唑并-尿嘧啶、2-硫代-尿嘧啶、2'-硫代-胸腺嘧啶、肌苷、二胺基嘌呤、6-胺基嘌呤、2-胺基嘌呤、2,6-二胺基嘌呤及2-氯-6-胺基嘌呤之核鹼基。

核鹼基部分可藉由用於每一相應核鹼基之字母代碼(例如A、T、G、C或U)來指示，其中每一字母可視情況包含具有等效功能之經修飾核鹼基。舉例而言，在所例示寡核苷酸中，核鹼基部分係選自A、T、G、C及5-甲基胞嘧啶。視情況，對於LNA間隙聚體而言，可使用5-甲基胞嘧啶LNA核苷。

經修飾寡核苷酸

術語經修飾寡核苷酸闡述包括一或多個糖修飾性核苷及/或經修飾核苷間鏈接之寡核苷酸。術語「嵌合」寡核苷酸係在文獻中用於闡述具有經修飾核苷之寡核苷酸之術語。

互補性

術語「互補性」闡述核苷/核苷之沃森-克裡克(Watson-Crick)鹼基配對之能力。沃森-克裡克鹼基對係鳥嘌呤(G)-胞嘧啶(C)及腺嘌呤(A) -胸腺嘧啶(T)/尿嘧啶(U)。應理解，寡核苷酸可包括具有經修飾核鹼基之核苷，舉例而言，通常使用5-甲基胞嘧啶代替胞嘧啶，且由此術語互補性涵蓋未修飾核鹼基與經修飾核鹼基之間之沃森-克裡克鹼基配對(例如參見 Hirao 等人(2012) *Accounts of Chemical Research* 第45卷第2055頁及 Bergstrom (2009) *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* 增刊37 1.4.1)。

本文所用之術語「互補%」係指核酸分子(例如寡核苷酸)中在給定位置與單獨核酸分子(例如靶核酸)中給定位置之鄰接核苷酸序列互補(亦即形成沃森-克裡克鹼基對)之核苷酸的數量(以鄰接核苷酸序列之百分比形式)。藉由以下方式來計算百分比：計數在兩個序列之間形成對之比對鹼基數(在比對靶序列5'-3'與3'-5'之寡核苷酸序列時)，除以寡核苷酸中之核苷酸總數且乘以100。在此一對比中，並不對準(形成鹼基對)之核鹼基/核苷酸可視為失配。

術語「完全互補」係指100%互補性。

下文係與靶核酸(SEQ ID NO: 772)完全互補之寡核苷酸(SEQ ID NO: 5)之一實例。

5'gcagtagagccaatta3' (SEQ ID NO:772)

3'cgatcatctcgggtaat5' (SEQ ID NO: 5)

一致性

本文所用之術語「一致性」係指核酸分子(例如寡核苷酸)中在給定位置與單獨核酸分子(例如靶核酸)中給定位置之鄰接核苷酸序列一致(亦即能夠與互補核苷形成沃森-克裡克鹼基對)之核苷酸的數量(以鄰接核苷酸序列之百分比形式)。藉由以下方式來計算百分比：計數在兩個序列(包含間隙)之間一致之比對鹼基數，除以寡核苷酸中之核苷酸總數且乘以100。
百分比一致性 = (匹配數 × 100) / 比對區域長度(含有間隙)。

雜交

本文所用之術語「雜交(hybridizing或hybridizes)」應理解為兩條核酸鏈(例如寡核苷酸與靶核酸)在相對鏈上之鹼基對之間形成氫鍵，由此形成雙螺旋體。兩條核酸鏈之間之結合親和力係雜交強度。其通常係針對熔融溫度(T_m)來進行闡述，熔融溫度定義為一半寡核苷酸與靶核酸形成雙螺旋體之溫度。在生理學條件下， T_m 並不與親和力嚴格成正比(Mergny及Lacroix, 2003, *Oligonucleotides* 13:515-537)。標準態吉布斯自由能(Gibbs free energy) ΔG° 係結合親和力之更準確代表且與反應之解離常數(K_d)以 $\Delta G^\circ = -RT \ln(K_d)$ 形式相關，其中R係氣體常數且T係絕對溫度。因此，寡核苷酸與靶核酸之間之反應之極低 ΔG° 反映寡核苷酸與靶核酸之間的強雜交。 ΔG° 係與反應有關之能量，其中水性濃度為1M，pH為7，且溫度為37°C。寡核苷酸至靶核酸之雜交係自發反應且自發反應之 ΔG° 小於零。可以實驗方式藉由(例如)使用等溫滴定量熱(ITC)方法來量測 ΔG° ，如Hansen等人，1965, *Chem. Comm.* 36-38及Holdgate等人，2005, *Drug Discov Today*中所闡述。熟習此項技術者應知曉，商業設備可用於 ΔG° 量

測。亦可在數值上藉由使用最近鄰居模型(如由SantaLucia, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 1460-1465所闡述)使用適當導出之熱動力學參數(由Sugimoto等人, 1995, *Biochemistry* 34:11211-11216及McTigue等人, 2004, *Biochemistry* 43:5388-5405所闡述)來估計 ΔG° 。為使得可藉由雜交來調節其預期核酸靶, 本發明寡核苷酸以低於-10 kcal之估計 ΔG° 值(對於長10-30個核苷酸之寡核苷酸)雜交至靶核酸。在一些實施例中, 藉由標準態吉布斯自由能 ΔG° 來量測雜交之程度或強度。對於長8-30個核苷酸之寡核苷酸而言, 寡核苷酸可以低於-10 kcal範圍(例如低於-15 kcal、例如低於-20 kcal及例如低於-25 kcal)之估計 ΔG° 值雜交至靶核酸。在一些實施例中, 寡核苷酸以(-10 kcal至-60 kcal、例如-12 kcal至-40 kcal、例如-15 kcal至-30 kcal或-16 kcal至-27 kcal、例如-18 kcal至-25 kcal)之估計 ΔG° 值雜交至靶核酸。

靶核酸

根據本發明, 靶核酸係編碼哺乳動物PD-L1之核酸且可為(例如)基因、RNA、mRNA及mRNA前體、成熟mRNA或cDNA序列。靶可由此稱為PD-L1靶核酸。本發明寡核苷酸可(例如)靶向哺乳動物PD-L1之外顯子區域, 或可(例如)靶向PD-L1 mRNA前體之內含子區域(參見表1)。

表1：人類PD-L1外顯子及内含子

人類PD-L1 mRNA前體(SEQ ID NO 1)中之外顯子區域			人類PD-L1 mRNA前體(SEQ ID NO 1)中之内含子區域		
ID	起始	末端	ID	起始	末端
e1	1	94	i1	95	5597
e2	5598	5663	i2	5664	6576
e3	6577	6918	i3	6919	12331
e4	12332	12736	i4	12737	14996

人類PD-L1 mRNA前體(SEQ ID NO 1)中之外顯子區域			人類PD-L1 mRNA前體(SEQ ID NO 1)中之内含子區域		
e5	14997	15410	i5	15411	16267
e6	16268	16327	i6	16328	17337
e7	17338	20064			

適宜地，靶核酸編碼PD-L1蛋白、尤其哺乳動物PD-L1、例如人類PD-L1（例如參見表2及3，其提供用於人類、猴及小鼠PD-L1之參考mRNA及mRNA前體序列）。在本發明之情形中，mRNA前體亦視為編碼蛋白質之核酸。

在一些實施例中，靶核酸係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1、2及3或其天然變體(例如編碼哺乳動物PD-L1蛋白之序列)。

若在研究或診斷中採用本發明寡核苷酸，則靶核酸可為cDNA或衍生自DNA或RNA之合成核酸。

對於活體內或活體外應用而言，本發明寡核苷酸通常能夠抑制表現PD-L1靶核酸之細胞中之PD-L1靶核酸表現。本發明寡核苷酸之核鹼基之鄰接序列通常與PD-L1靶核酸互補，如橫跨寡核苷酸之長度所量測，視情況一或兩個失配除外，且視情況排除可將寡核苷酸連接至可選官能基(例如偶聯物)或其他非互補性末端核苷酸之基於核苷酸之連接體區(例如區域D’或D’’)。在一些實施例中，靶核酸可為RNA或DNA，例如信使RNA，例如成熟mRNA或mRNA前體。在一些實施例中，編碼哺乳動物PD-L1蛋白(例如人類PD-L1)之靶核酸係RNA或DNA（例如人類PD-L1 mRNA前體序列(例如揭示為SEQ ID NO 1者)或具有NCBI參考編號NM_014143之人類mRNA序列)。關於實例性靶核酸之其他資訊提供於表2及3中。

表2：各物種中之PD-L1之基因體及組合體資訊。

物種	Chr.	鏈	基因體坐標		組合體	mRNA之NCBI參考序列*登錄號
			開始	末端		
人類	9	fwd	5450503	5470566	GRCh38:CM000671.2	NM_014143
食蟹猴	15		73560846	73581371	GCF_000364345.1	XM_005581779
小鼠	19	fwd	29367455	29388095	GRCm38:CM001012.2	NM_021893

Fwd = 正向鏈。基因體坐標提供 mRNA 前體序列(基因體序列)。

NCBI參考提供mRNA序列(cDNA序列)。

* 國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information)參考序列資料庫係參考序列(包含基因體、轉錄物及蛋白質)之綜合性、整合、非冗餘、充分注釋集合。其寄存於 www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq。

表3：各物種中之PD-L1之序列細節。

物種	RNA類型	長度(nt)	SEQ ID NO
人類	mRNA前體	20064	1
食蟹猴	mRNA前體GCF ref	20261	2
食蟹猴	mRNA前體，內部	20340	3
小鼠	mRNA前體	20641	4

靶序列

本文所用之術語「靶序列」係指存在於靶核酸中之包括與本發明寡核苷酸互補之核鹼基序列的核苷酸序列。在一些實施例中，靶序列係由靶核酸上與本發明寡核苷酸之鄰接核苷酸序列互補之區域組成。在一些實施例中，靶序列長於單一寡核苷酸之互補序列，且可(例如)代表靶核酸中可由若干本發明寡核苷酸靶向之較佳區域。

靶序列可為靶核酸之子序列。

在一些實施例中，子序列係選自由a1-a149 (參見表4)組成之群之序

列。在一些實施例中，子序列係選自由人類PD-L1 mRNA外顯子(例如選自由以下組成之群之PD-L1人類mRNA外顯子：e1、e2、e3、e4、e5、e6及e7 (參見上表1))組成之群之序列。

在一些實施例中，子序列係選自由人類PD-L1 mRNA內含子(例如選自由以下組成之PD-L1人類mRNA內含子群：i1、i2、i3、i4、i5及i6 (參見上表1))組成之群之序列。

本發明寡核苷酸包括與靶核酸(例如靶核酸之子序列，例如本文所闡述之靶序列)互補或雜交之鄰接核苷酸序列。

寡核苷酸包括具有至少8個核苷酸之與存在於靶核酸分子中之靶序列互補或雜交之鄰接核苷酸序列。鄰接核苷酸序列(及由此靶序列)包括至少8個鄰接核苷酸，例如9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30個鄰接核苷酸，例如12-25個鄰接核苷酸，例如14-18個鄰接核苷酸。

靶細胞

本文所用之術語「靶細胞」係指表現靶核酸之細胞。在一些實施例中，靶細胞可為活體內或活體外靶細胞。在一些實施例中，靶細胞係哺乳動物細胞，例如齧齒類動物細胞(例如小鼠細胞或大鼠細胞)或靈長類動物細胞(例如猴細胞或人類細胞)。

在較佳實施例中，靶細胞表現PD-L1 mRNA (例如PD-L1 mRNA前體或PD-L1成熟mRNA)。PD-L1 mRNA之多腺苷酸尾通常忽視反義寡核苷酸靶向。

天然變體

術語「天然變體」係指PD-L1基因或轉錄物之如下變體：其與靶核

酸源自相同基因座，但可(例如)因產生多種編碼相同胺基酸之密碼子之基因代碼之簡並性或因mRNA前體之替代剪接或存在多型性(例如單一核苷酸多型性)而有所不同，且係指等位基因變體。基於寡核苷酸之充分互補序列之存在，本發明寡核苷酸可由此靶向靶核酸及其天然變體。

在一些實施例中，天然變體與哺乳動物PD-L1靶核酸(例如選自由SEQ ID NO 1、2及3組成之群之靶核酸)具有至少95% (例如至少98%或至少99%)之同源性。

已知PD-L1基因中之諸多單一核苷酸多型性，例如揭示於下表中者(人類mRNA前體起始/參考序列係SEQ ID NO 2)

變體名稱	變體等位基因	次要等位基因	次要等位基因頻率	SEQ ID NO: 1上之起點
rs73397192	G/A	A	0.10	2591
rs12342381	A/G	G	0.12	308
rs16923173	G/A	A	0.13	14760
rs2890658	C/A	A	0.16	14628
rs2890657	G/C	C	0.21	2058
rs3780395	A/G	A	0.21	14050
rs147367592	AG/-	-	0.21	13425
rs7023227	T/C	T	0.22	6048
rs2297137	G/A	A	0.23	15230
rs1329946	G/A	A	0.23	2910
rs5896124	-/G	G	0.23	2420
rs61061063	T/C	C	0.23	11709
rs1411263	T/C	C	0.23	8601
rs59906468	A/G	G	0.23	15583
rs6476976	T/C	T	0.24	21012
rs35744625	C/A	A	0.24	3557

變體名稱	變體等位基因	次要等位基因	次要等位基因頻率	SEQ ID NO: 1上之起點
rs17804441	T/C	C	0.24	7231
rs148602745	C/T	T	0.25	22548
rs4742099	G/A	A	0.25	20311
rs10815228	T/C	C	0.25	21877
rs58817806	A/G	G	0.26	20769
rs822342	T/C	T	0.27	3471
rs10481593	G/A	A	0.27	7593
rs822339	A/G	A	0.28	2670
rs860290	A/C	A	0.28	2696
rs822340	A/G	A	0.28	2758
rs822341	T/C	T	0.28	2894
rs12002985	C/G	C	0.28	6085
rs822338	C/T	C	0.28	1055
rs866066	C/T	T	0.28	451
rs6651524	A/T	T	0.28	8073
rs6415794	A/T	A	0.28	8200
rs4143815	G/C	C	0.28	17755
rs111423622	G/A	A	0.28	24096
rs6651525	C/A	A	0.29	8345
rs4742098	A/G	G	0.29	19995
rs10975123	C/T	T	0.30	10877
rs2282055	T/G	G	0.30	5230
rs4742100	A/C	C	0.30	20452
rs60520638	-/TC	TC	0.30	9502
rs17742278	T/C	C	0.30	6021
rs7048841	T/C	T	0.30	10299
rs10815229	T/G	G	0.31	22143

變體名稱	變體等位基因	次要等位基因	次要等位基因頻率	SEQ ID NO: 1上之起點
rs10122089	C/T	C	0.32	13278
rs1970000	C/A	C	0.32	14534
rs112071324	AGAGAG/-	AGAGAG	0.33	16701
rs2297136	G/A	G	0.33	17453
rs10815226	A/T	T	0.33	9203
rs10123377	A/G	A	0.36	10892
rs10123444	A/G	A	0.36	11139
rs7042084	G/T	G	0.36	7533
rs10114060	G/A	A	0.36	11227
rs7028894	G/A	G	0.36	10408
rs4742097	C/T	C	0.37	5130
rs1536926	G/T	G	0.37	13486
rs1411262	C/T	T	0.39	8917
rs7041009	G/A	A	0.45	12741

表現調節

本文所用之術語「表現調節」欲理解為關於寡核苷酸改變PD-L1量(與投與寡核苷酸之前之PD-L1量相比)之能力之概括性術語。或者，可藉由參照對照實驗來測定表現調節。通常應理解，對照係使用鹽水組合物治療或處理之個體或靶細胞或使用非靶寡核苷酸(模擬)治療或處理之個體或靶細胞。然而，亦可標準護理治療個體。

一類調節係寡核苷酸能夠(例如)藉由降解mRNA或阻斷轉錄來抑制、下調、降低、阻抑、去除、停止、阻斷、預防、減弱、減小、避免或終止PD-L1表現。另一類調節係寡核苷酸能夠(例如)藉由修復剪接位點或防止剪接或去除或阻斷抑制機制(例如微RNA阻遏)來恢復、增加或增強PD-L1表現。

高親和力修飾性核苷

高親和力修飾性核苷係在納入寡核苷酸中時會增強寡核苷酸對其互補靶之親和力(例如如藉由熔融溫度(T^m)所量測)之經修飾核苷酸。本發明之高親和力修飾性核苷較佳地使得每一經修飾核苷之熔融溫度增加 $+0.5^{\circ}\text{C}$ 至 $+12^{\circ}\text{C}$ 、更佳地 $+1.5^{\circ}\text{C}$ 至 10°C 及最佳地 $+3^{\circ}\text{C}$ 至 $+8^{\circ}\text{C}$ 。業內已知諸多高親和力修飾性核苷且包含(例如)許多2'取代核苷以及鎖核酸(LNA)(例如參見 Freier & Altmann ; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 及 Uhlmann ; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213)。

糖修飾

本發明寡聚物可包括一或多個具有經修飾糖部分(亦即與DNA及RNA中所發現之核糖糖部分相比之糖部分修飾)之核苷。

已製備諸多具有核糖糖部分修飾之核苷，其目的主要在於改良寡核苷酸之某些性質(例如親和力及/或核酸酶抗性)。

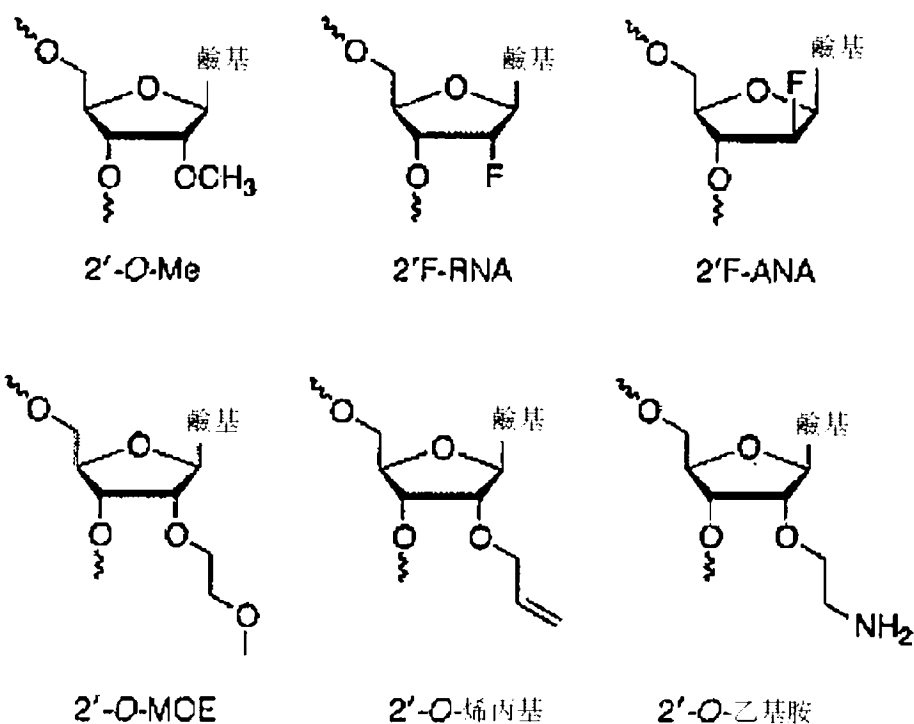
該等修飾包含核糖環結構(例如)藉由使用以下結構進行代替來修飾者：己糖環(HNA)；或通常在核糖環上之C2碳與C4碳之間具有雙自由基橋之雙環(LNA)；或通常在C2碳與C3碳之間缺乏鍵之未連接核糖環(例如 UNA)。其他糖修飾性核苷包含(例如)雙環己糖核酸(WO2011/017521)或三環核酸(WO2013/154798)。經修飾核苷亦包含糖部分經非糖部分代替之核苷，例如在肽核酸(PNA)或嗎啉基核酸之情形下。

糖修飾亦包含經由將核糖環上之取代基改變成除氫或DNA及RNA核苷中天然發現之2'-OH基團外之基團而進行之修飾。可(例如)在2'、3'、4'或5'位置引入取代基。具有經修飾糖部分之核苷亦包含2'修飾核苷，例如2'取代核苷。實際上，高度關注研發2'取代核苷，且已發現諸多2'取代

核苷在納入寡核苷酸中時具有有益性質(例如增強之核苷抗性及增強之親和力)。

2'修飾核苷

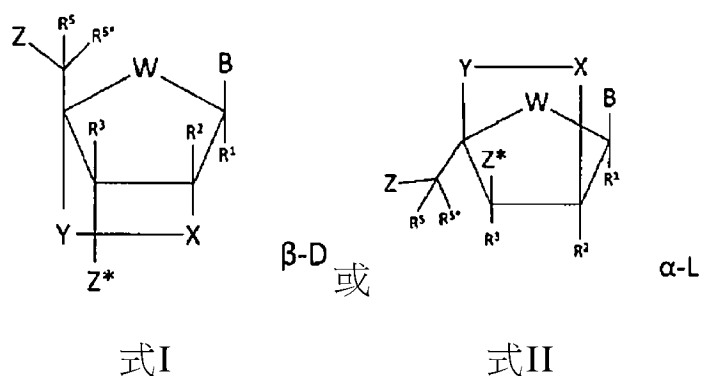
2'糖修飾性核苷係在2'位具有除H或-OH外之取代基(2'取代核苷)或包括2'連接雙自由基之核苷，且包含2'取代核苷及LNA (2' - 4'雙自由基橋接)核苷。舉例而言，2'修飾糖可向寡核苷酸提供增強之結合親和力及/或增加之核酸酶抗性。2'取代修飾性核苷之實例係2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA (MOE)、2'-胺基-DNA、2'-氟-RNA及2'-F-ANA核苷。關於其他實例，請參見(例如) Freier & Altmann ; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443及Uhlmann ; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213及Deleavey及Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937。下文闡釋一些2'取代修飾性核苷。



鎖核酸核昔(LNA)。

LNA核昔係在核昔酸之核糖糖環之C2'與C4'之間包括連接體基團(稱為雙基或橋)之經修飾核昔。該等核昔在文獻中亦稱為橋接核酸或雙環核酸(BNA)。

在一些實施例中，本發明寡聚物之經修飾核昔或LNA核昔具有式I或II之一般結構：



其中W係選自-O-、-S-、-N(R^a)-、-C(R^aR^b)-，例如在一些實施例中係-O-；

B指定核鹼基或經修飾核鹼基部分；

Z指定至毗鄰核昔之核昔間鏈接或5'-末端基團；

Z*指定至毗鄰核昔之核昔間鏈接或3'-末端基團；

X指定選自由以下組成之列表之基團：-C(R^aR^b)-、-C(R^a)=C(R^b)-、-C(R^a)=N-、-O-、-Si(R^a)₂-、-S-、-SO₂-、-N(R^a)-及>C=Z

在一些實施例中，X係選自由以下組成之群：-O-、-S-、NH-、NR^aR^b、-CH₂-、CR^aR^b、-C(=CH₂)-及-C(=CR^aR^b)-

在一些實施例中，X係-O-。

Y指定選自由以下組成之群之基團：-C(R^aR^b)-、-C(R^a)=C(R^b)-、-C(R^a)=N-、-O-、-Si(R^a)₂-、-S-、-SO₂-、-N(R^a)-及>C=Z

在一些實施例中，Y係選自由以下組成之群：-CH₂-、-C(R^aR^b)-、-

CH_2CH_2- 、 $-\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)-\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^a)=\text{C}(\text{R}^b)-$ 及 $-\text{C}(\text{R}^a)=\text{N}-$

在一些實施例中，Y係選自由以下組成之群： $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CHR}^a-$ 、 $-\text{CHCH}_3-$ 、 CR^aR^b-

或-X-Y-一起指定二價連接體基團(亦稱為自由基)，一起指定由1、2、3或4個選自由以下組成之群之基團/原子組成之二價連接體基團： $-\text{C}(\text{R}^a\text{R}^b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^a)=\text{C}(\text{R}^b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^a)=\text{N}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{Si}(\text{R}^a)_2-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)-$ 及 $>\text{C}=\text{Z}$ ，

在一些實施例中，-X-Y-指定選自由以下組成之群之雙自由基： $-\text{X}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{X}-\text{CR}^a\text{R}^b-$ 、 $-\text{X}-\text{CHR}^a-$ 、 $-\text{X}-\text{C}(\text{HCH}_3)-$ 、 $-\text{O}-\text{Y}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CHCH}_3-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2$ 、 $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $\text{OCH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{NCH}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NR}^a-\text{CH}_2-$ 、 $\text{N}-\text{O}-\text{CH}_2$ 、 $-\text{S}-\text{CR}^a\text{R}^b-$ 及 $-\text{S}-\text{CHR}^a-$ 。

在一些實施例中，-X-Y-指定 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 。

其中Z係選自 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 及 $-\text{N}(\text{R}^a)-$ ，

且 R^a 及(在存在時) R^b 各自獨立地係選自氫、視情況經取代之 C_{1-6} -烷基、視情況經取代之 C_{2-6} -烯基、視情況經取代之 C_{2-6} -炔基、羥基、視情況經取代之 C_{1-6} -烷氧基、 C_{2-6} -烷氧基烷基、 C_{2-6} -烯基氧基、羧基、 C_{1-6} -烷氧基羧基、 C_{1-6} -烷基羧基、甲醯基、芳基、芳基氧基-羧基、芳基氧基、芳基羧基、雜芳基、雜芳基氧基-羧基、雜芳基氧基、雜芳基羧基、胺基、單-及二(C_{1-6} -烷基)胺基、胺甲醯基、單-及二(C_{1-6} -烷基)-胺基-羧基、胺基- C_{1-6} -烷基-胺基羧基、單-及二(C_{1-6} -烷基)胺基- C_{1-6} -烷基-胺基羧基、 C_{1-6} -烷基-羧基胺基、脲基、 C_{1-6} -烷醯基氧基、磺醯基、 C_{1-6} -烷基磺

醯基氧基、硝基、疊氮基、硫烷基、 C_{1-6} -硫烷基、鹵素，其中芳基及雜芳基可視情況經取代且其中兩個孿位取代基 R^a 及 R^b 一起可指定視情況經取代之亞甲基($=CH_2$)，其中對於所有對掌性中心而言，不對稱基團可以 R 或 S 定向發現。

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 獨立地選自由以下組成之群：氫、視情況經取代之 C_{1-6} -烷基、視情況經取代之 C_{2-6} -烯基、視情況經取代之 C_{2-6} -炔基、羥基、 C_{1-6} -烷氧基、 C_{2-6} -烷氧基烷基、 C_{2-6} -烯基氧基、羧基、 C_{1-6} -烷氧基羰基、 C_{1-6} -烷基羰基、甲醯基、芳基、芳基氧基-羰基、芳基氧基、芳基羰基、雜芳基、雜芳基氧基-羰基、雜芳基氧基、雜芳基羰基、胺基、單-及二(C_{1-6} -烷基)胺基、胺甲醯基、單-及二(C_{1-6} -烷基)-胺基-羰基、胺基- C_{1-6} -烷基-胺基羰基、單-及二(C_{1-6} -烷基)胺基- C_{1-6} -烷基-胺基羰基、 C_{1-6} -烷基-羰基胺基、脲基、 C_{1-6} -烷醯基氧基、磺醯基、 C_{1-6} -烷基磺醯基氧基、硝基、疊氮基、硫烷基、 C_{1-6} -硫烷基、鹵素，其中芳基及雜芳基可視情況經取代，且其中兩個孿位取代基一起可指定側氧基、側硫基、亞胺基或視情況經取代之亞甲基。

在一些實施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 獨立地選自 C_{1-6} 烷基(例如甲基)及氫。

在一些實施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。

在一些實施例中， R^1 、 R^2 、 R^3 皆係氫，且 R^5 及 R^{5*} 中之任一者亦係氫且 R^5 及 R^{5*} 中之另一者不為氫(例如 C_{1-6} 烷基，例如甲基)。

在一些實施例中， R^a 係氫或甲基。在一些實施例中，在存在時， R^b 係氫或甲基。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 中之一者或兩者係氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 中之一者係氫且另一者不為氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 中之一者係甲基且另一者係氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 皆係甲基。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CH₂-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等LNA核苷揭示於WO99/014226、WO00/66604、WO98/039352及WO2004/046160 (其皆以引用方式併入本文中)中，且包含通常稱為 β -D-氧基LNA及 α -L-氧基LNA核苷者。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-S-CH₂-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等硫代LNA核苷揭示於WO99/014226及WO2004/046160 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-NH-CH₂-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等胺基LNA核苷揭示於WO99/014226及WO2004/046160 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CH₂-CH₂-或-O-CH₂-CH₂-CH₂-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等LNA核苷揭示於WO00/047599及Morita等人，Bioorganic & Med. Chem. Lett. 12 73-76 (其以引用方式併入本文中)中，且包含通常稱為2'-O-4'-C-伸乙基橋接之核酸(ENA)者。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CH₂-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 之全部及 R^5 及 R^{5*} 中之一者係氫，且 R^5 及 R^{5*} 中之另一者不為氫(例如C₁₋₆烷基，例如甲基)。該等5'取代LNA核苷揭示於WO2007/134181 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CR^aR^b-，其中 R^a 及 R^b 中之一

者或兩者不為氫(例如甲基)，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 之全部及中之一者 R^5 及 R^{5*} 係氫，且 R^5 及 R^{5*} 中之另一者不為氫(例如 C_{1-6} 烷基，例如甲基)。該等雙修飾LNA核苷揭示於WO2010/077578 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-指定二價連接體基團-O-CH(CH₂OCH₃)- (2'-O-甲氧基乙基雙環核酸- Seth等人，2010, J. Org. Chem.第75卷(5)第1569-81頁)。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-指定二價連接體基團-O-CH(CH₂CH₃)- (2'-O-乙基雙環核酸- Seth等人，2010, J. Org. Chem.第75卷(5)第1569-81頁)。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CHR^a-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等6'取代LNA核苷揭示於WO10036698及WO07090071 (二者皆以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CH(CH₂OCH₃)-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等LNA核苷在業內亦稱為環狀MOE (cMOE)且揭示於WO07090071中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-指定二價連接體基團-O-CH(CH₃)-。-呈R-或S-構形。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-一起指定二價連接體基團-O-CH₂-O-CH₂- (Seth等人，2010, J. Org. Chem)。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CH(CH₃)-，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。該等6'甲基LNA核苷在業內亦稱為cET核苷，且可為(S)cET或(R)cET立體異構體，如WO07090071 (β -D)及WO2010/036698 (α -L) (二者皆以引用方式併入本文中)中所揭示。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-O-CR^aR^b-，其中R^a或R^b皆不為氫，W係O，且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及 R^{5*} 皆係氫。在一些實施例中，R^a及R^b

皆係甲基。該等6' 二取代LNA核苷揭示於WO 2009006478 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-S-CHR^a-，W係O，且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。該等6'取代硫代LNA核苷揭示於WO11156202 (其以引用方式併入本文中)中。在一些6'取代硫代LNA實施例中，R^a係甲基。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-C(=CH₂)-C(R^aR^b)- (例如-C(=CH₂)-CH₂-或-C(=CH₂)-CH(CH₃)-)，W係O，且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。該等乙烯基碓LNA核苷揭示於WO08154401及WO09067647 (二者皆以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-N(-OR^a)- W係O，且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。在一些實施例中，R^a係C₁₋₆烷基，例如甲基。該等LNA核苷亦稱為N取代LNA且揭示於WO2008/150729 (其以引用方式併入本文中)中。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-一起指定二價連接體基團-O-NR^a-CH₃- (Seth等人，2010, J. Org. Chem)。在一些實施例中，雙自由基-X-Y-係-N(R^a)-，W係O，且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。在一些實施例中，R^a係C₁₋₆烷基，例如甲基。

在一些實施例中，R⁵及R^{5*}中之一者或兩者係氫且(在取代時)R⁵及R^{5*}中之另一者係C₁₋₆烷基(例如甲基)。在此一實施例中，R¹、R²、R³可皆係氫，且雙自由基-X-Y-可選自-O-CH₂-或-O-C(HCR^a)- (例如-O-C(HCH₃)-)。

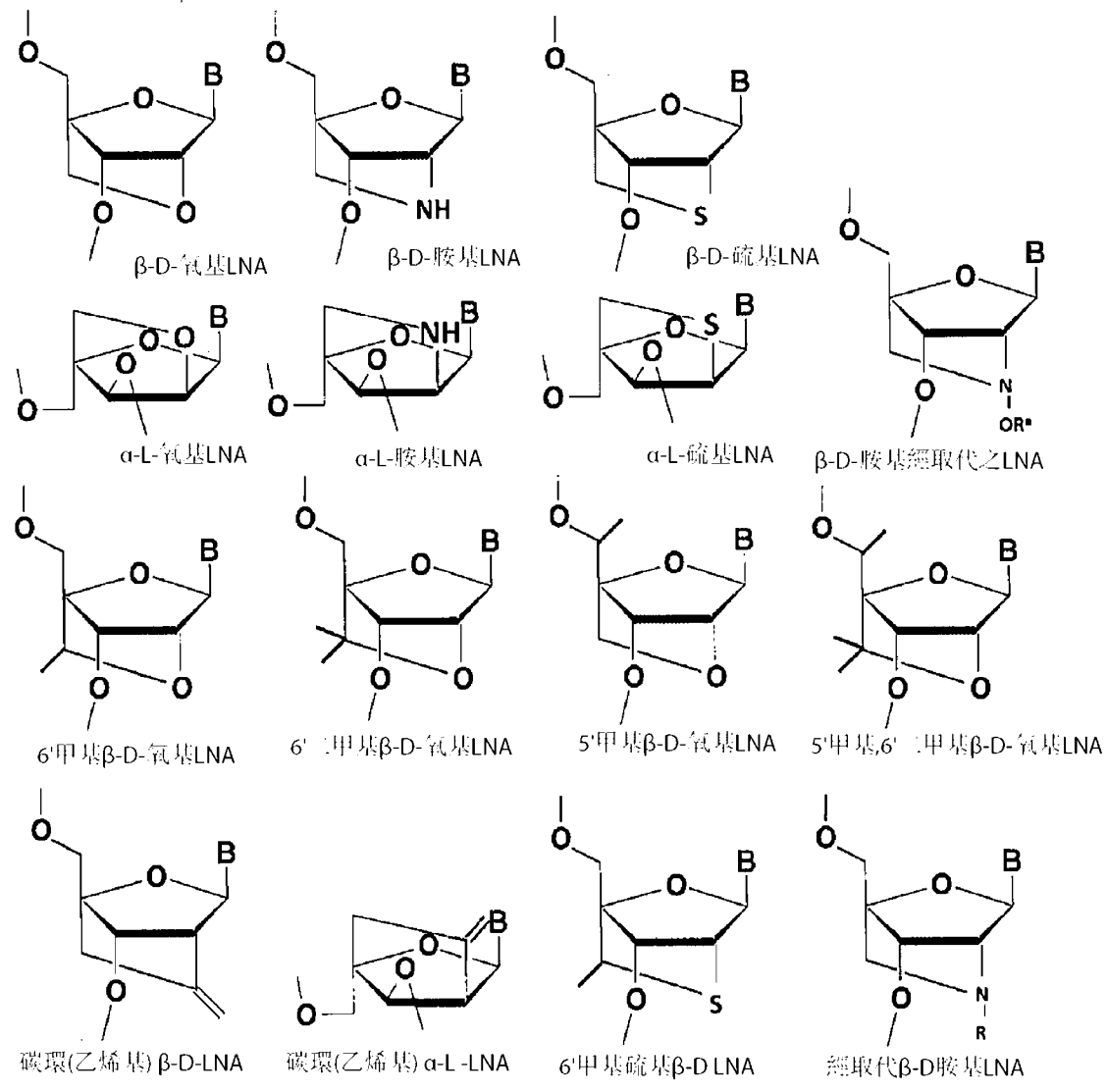
在一些實施例中，雙自由基係-CR^aR^b-O-CR^aR^b- (例如CH₂-O-CH₂-)，W係O且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。在一些實施例中，R^a係C₁₋₆烷基，例如甲基。該等LNA核苷亦稱為構象限制性核苷酸(CRN)且揭示於WO2013036868 (其以引用方式併入本文中)中。

在一些實施例中，雙自由基係-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b- (例如O-CH₂-O-CH₂-)，W係O且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。在一些實施例中，R^a係C₁₋₆烷基，例如甲基。該等LNA核苷亦稱為COC核苷酸且揭示於Mitsuoka等人，Nucleic Acids Research 2009 37(4), 1225-1238 (其以引用方式併入本文中)中。

應認識到，除非指定，否則LNA核苷可呈β-D或α-L立體異構體形式。

LNA核苷之某些實例呈現於結構圖1中。

結構圖1



如實例中所闡釋，在本發明之一些實施例中，寡核苷酸中之LNA核苷係 β -D-氧基-LNA核苷。

核酸酶調介之降解

核酸酶調介之降解係指在與互補核苷酸序列形成雙螺旋體時能夠調介此一序列之降解之寡核苷酸。

在一些實施例中，寡核苷酸可經由靶核酸之核酸酶調介之降解來發揮作用，其中本發明寡核苷酸能夠招募核酸酶、尤其內核酸酶、較佳地內核糖核酸酶(RNase) (例如RNase H)。經由核酸酶調介機制作用之寡核苷酸設計之實例係通常包括至少5或6個DNA核苷之區域且在一側或兩側側接有親和力增強性核苷(例如間隙聚體、頭聚體及尾聚體)的寡核苷酸。

***RNase H**活性及招募*

反義寡核苷酸之RNase H活性係指其在呈與互補RNA分子之雙螺旋體時招募RNase H之能力。WO01/23613提供測定RNaseH活性之活體外方法，該等方法可用於測定招募RNaseH之能力。通常，寡核苷酸在以下情況下可視為能夠招募RNase H：在與互補靶核酸序列一起提供時，其初始速率(如以pmol/l/min形式所量測)為在使用與所測試經修飾寡核苷酸具有相同鹼基序列但僅含有DNA單體且在寡核苷酸中之所有單體間具有硫代磷酸酯鏈接之寡核苷酸且使用由WO01/23613中實例91 - 95 (以引用方式併入本文中)提供之方法時所測定初始速率的至少5% (例如至少10%或大於20%)。

間隙聚體

本文所用之術語間隙聚體係指反義寡核苷酸包括招募RNase H之寡核苷酸區域(間隙)，該區域側接(5'及3')有包括一或多個親和力增強性經

修飾核苷之區域(側翼或翼)。本文闡述各種間隙聚體設計且其特徵在於能夠招募RNaseH。頭聚體及尾聚體係缺失一個側翼之能夠招募RNase H之寡核苷酸，亦即僅寡核苷酸之一端包括親和力增強性經修飾核苷。對於頭聚體而言，3'側翼缺失(亦即，5'側翼包括親和力增強性經修飾核苷)，且對於尾聚體而言，5'側翼缺失(亦即，3'側翼包括親和力增強性經修飾核苷)。

LNA間隙聚體

術語LNA間隙聚體係至少一個親和力增強性經修飾核苷係LNA核苷之間隙聚體寡核苷酸。

混合翼間隙聚體

術語混合翼間隙聚體或混合側翼間隙聚體係指至少一個側翼區域包括至少一個LNA核苷及至少一個非LNA經修飾核苷(例如至少一個2'取代經修飾核苷，例如2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA (MOE)、2'-胺基-DNA、2'-氟-RNA及2'-F-ANA核苷)之LNA間隙聚體。在一些實施例中，混合翼間隙聚體具有一個僅包括LNA核苷(例如5'或3')之側翼及包括2'取代經修飾核苷及視情況LNA核苷之另一側翼(分別3'或5')。

間隙中斷體

術語「間隙中斷體寡核苷酸」用於係指即使間隙區由非RNaseH招募性核苷(間隙中斷體核苷，E)破壞(從而間隙區包括小於5個連續DNA核苷)亦能夠維持RNaseH招募之間隙聚體。非RNaseH招募性核苷係(例如)呈3'內向構象之核苷，例如核苷之核糖糖環中C2'與C4'之間之橋係呈 β 構象的LNA，例如 β -D-氧基LNA或ScET核苷。間隙中斷體寡核苷酸招募

RNaseH之能力通常係序列或甚至化合物特異性-參見Rukov等人，2015 Nucl. Acids Res.第43卷第8476-8487頁，其揭示招募在一些情況下提供靶RNA之更特異性裂解之RNaseH之「間隙中斷體」寡核苷酸。

在一些實施例中，本發明寡核苷酸係間隙中斷體寡核苷酸。在一些實施例中，間隙中斷體寡核苷酸包括5'-側翼(F)、間隙(G)3'-側翼(F')，其中間隙藉由非RNaseH招募核苷(間隙中斷體核苷，E)破壞，從而間隙含有至少3或4個連續DNA核苷。在一些實施例中，間隙中斷體核苷(E)係如下LNA核苷：其中核苷之核糖糖環中C2'與C4'之間之橋係呈 β 構象且置於間隙區內，從而間隙中斷體LNA核苷側接(5'及3')有至少3 (5')及3 (3')或至少3 (5')及4 (3')或至少4(5')及3(3')個DNA核苷，且其中寡核苷酸能夠招募RNaseH。

間隙中斷體寡核苷酸可由下列各式代表：

F-G-E-G-F'；尤其 F_{1-7} - G_{3-4} - E_1 - G_{3-4} - F'_{1-7}

D'-F-G-F'，尤其 D'_{1-3} - F_{1-7} - G_{3-4} - E_1 - G_{3-4} - F'_{1-7}

F-G-F'-D''，尤其 F_{1-7} - G_{3-4} - E_1 - G_{3-4} - F'_{1-7} - D''_{1-3}

D'-F-G-F'-D''，尤其 D'_{1-3} - F_{1-7} - G_{3-4} - E_1 - G_{3-4} - F'_{1-7} - D''_{1-3}

其中區域D'及D''係如「間隙聚體設計」部分中所闡述。

在一些實施例中，間隙中斷體核苷(E)係 β -D-氧基LNA或ScET或結構圖1中所展示之另一 β -LNA核苷。

偶聯物

本文所用之術語偶聯物係指以共價方式連接至非核苷酸部分(偶聯物部分或區域C或第三區域)之寡核苷酸，其亦稱為寡核苷酸偶聯物。

本發明寡核苷酸至一或多個非核苷酸部分之偶聯可(例如)藉由影響寡

核苷酸之活性、細胞分佈、細胞攝取或穩定性來改良寡核苷酸之藥理學。在一些實施例中，偶聯物部分使寡核苷酸靶向肝。同時，偶聯用於降低寡核苷酸在非靶細胞類型、組織或器官中之活性，例如脫靶活性或非靶細胞類型、組織或器官中之活性。在本發明之一實施例中，本發明之寡核苷酸偶聯物顯示與未偶聯寡核苷酸相比PD-L1在靶細胞中之改良抑制。在另一實施例中，與未偶聯寡核苷酸相比，本發明之寡核苷酸偶聯物在肝與其他器官(例如脾或腎)之間具有改良之細胞分佈(亦即，與脾或腎相比，更多偶聯寡核苷酸去往肝)。在另一實施例中，與未偶聯寡核苷酸相比，本發明之寡核苷酸偶聯物展示偶聯寡核苷酸在肝中之改良之細胞攝取。

WO 93/07883及WO2013/033230提供適宜偶聯物部分，該等專利以引用方式併入本文中。其他適宜偶聯物部分係能夠結合至去唾液酸醣蛋白受體(ASGPr)者。特定而言，三價N-乙醯基半乳糖胺偶聯物部分適於結合至 ASGPr，例如參見 WO2014/076196、WO2014/207232 及 WO 2014/179620 (以引用方式併入本文中)。偶聯物部分基本上係反義寡核苷酸偶聯物中並非由核酸構成之部分。

寡核苷酸偶聯物及其合成亦報導於以下綜合性綜述中：Manoharan，Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications, S.T. Crooke 編輯，第16章，Marcel Dekker, Inc., 2001及Manoharan, Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 2002, 12, 103，其中之每一者之全部內容皆以引用方式併入本文中。

在一實施例中，非核苷酸部分(偶聯物部分)係選自由以下組成之群：碳水化合物、細胞表面受體配體、藥物物質、激素、親脂性物質、聚合物、蛋白質、肽、毒素(例如細菌毒素)、維他命、病毒蛋白(例如衣殼)或

其組合。

連接體

鏈接或連接體係兩個原子之間經由一或多個共價鍵連接一個所關注化學基團或區段與另一所關注化學基團或區段之連結。偶聯物部分可直接或經由連接部分(例如連接體或結合體)連接至寡核苷酸。連接體用於以共價方式將第三區域(例如偶聯物部分，區域C)連結至與靶核酸互補之第一區域(例如寡核苷酸或鄰接核苷酸序列，區域A)。

在本發明之一些實施例中，本發明之偶聯物或寡核苷酸偶聯物可視情況包括連接體區(第二區域或區域B及/或區域Y)，該區域定位於與靶核酸互補之寡核苷酸或鄰接核苷酸序列(區域A或第一區域)與偶聯物部分(區域C或第三區域)之間。

區域B係指包括生理上不穩定鍵或由其組成之生物可裂解連接體，該生理上不穩定鍵可在哺乳動物體內通常所遇到之條件或類似於哺乳動物體內所遇到條件之條件下裂解。生理上不穩定連接體發生化學轉變(例如裂解)之條件包含化學條件，例如pH、溫度、氧化或還原條件或試劑及在哺乳動物細胞中所發現鹽濃度或類似於在哺乳動物細胞中所遇到鹽濃度之鹽濃度。哺乳動物細胞內條件亦包含在哺乳動物細胞中通常存在酶促活性(例如來自蛋白水解酶或水解酶或核酸酶)。在一實施例中，生物可裂解連接體易於發生S1核酸酶裂解。在一較佳實施例中，核酸酶易感連接體包括1至10個含有至少兩個連續磷酸二酯鏈接(例如至少3或4或5個連續磷酸二酯鏈接)之核苷(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷、更佳地2至6個核苷及最佳地2至4個經連接核苷)。較佳地，核苷係DNA或RNA。含有磷酸二酯之生物可裂解連接體更詳細闡述於WO 2014/076195 (以引

用方式併入本文中)中。

區域Y係指未必生物可裂解但主要用於以共價方式連結偶聯物部分(區域C或第三區域)與與靶核酸互補之寡核苷酸或鄰接核苷酸序列(區域A或第一區域)之連接體。區域Y連接體可包括諸如乙二醇、胺基酸單元或胺基烷基等重複單元之鏈結構或寡聚物。本發明之寡核苷酸偶聯物可由下列區域要素構成：A-C、A-B-C、A-B-Y-C、A-Y-B-C或A-Y-C。在一些實施例中，連接體(區域Y)係胺基烷基，例如C2 - C36胺基烷基，包含(例如) C6 - C12胺基烷基。在一較佳實施例中，連接體(區域Y)係C6胺基烷基。

治療

本文所用之術語「治療」係指治療現有疾病(例如如本文所提及之疾病或病症)或預防疾病(亦即預防性)。因此應認識到，如本文所提及之治療可在一些實施例中為預防性。

針對病原體之免疫反應之恢復

將免疫反應分成先天性免疫反應及適應性免疫反應。先天性免疫系統提供立即但非特異性之反應。適應性免疫反應係藉由先天性免疫反應活化且對特定病原體具有高度特異性。在將病原體源抗原呈遞於抗原呈遞細胞表面上時，適應性免疫反應之免疫細胞(亦即T及B淋巴球)經由其抗原特異性受體發生活化，從而產生病原性特異性免疫反應且產生免疫記憶。慢性病毒感染(例如HBV及HCV)與特徵在於病毒特異性T細胞之無反應性之T細胞耗竭有關。已充分研究T細胞耗竭，其綜述可參見(例如) Yi等人，2010 Immunology 129, 474-481。慢性病毒感染亦與作為先天性免疫細胞之NK細胞之降低功能有關。增強病毒免疫反應對於慢性感染之清除較為

重要。可藉由量測增殖、細胞介素分泌及細胞溶解功能來評價由T細胞及NK細胞調介之針對病原體之免疫反應之恢復(Dolina等人，2013 Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2 e72及本文中之實例6)。

本發明的詳細敘述

本發明係關於反義寡核苷酸及其偶聯物及包括該等物質之醫藥組合物用以恢復針對感染動物、尤其人類之病原體之免疫反應的用途。本發明之反義寡核苷酸偶聯物尤其可用於抵抗感染肝之病原體、尤其慢性肝感染(例如HBV)。該等偶聯物容許靶向分佈寡核苷酸且防止靶核酸之全身性敲低。

本發明寡核苷酸

本發明係關於能夠調節PD-L1表現之寡核苷酸。可藉由雜交至編碼PD-L1或涉及PD-L1調控之靶核酸來達成該調節。靶核酸可為哺乳動物PD-L1序列，例如選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及/或SEQ ID NO: 3組成之群之序列。靶核酸可為mRNA前體、mRNA或任一自支持PD-L1之表現或調控之哺乳動物細胞表現之RNA序列。

本發明寡核苷酸係靶向PD-L1之反義寡核苷酸。

在本發明之一態樣中，本發明寡核苷酸偶聯至偶聯物部分、尤其靶向去唾液酸糖蛋白受體之偶聯物部分。

在一些實施例中，本發明之反義寡核苷酸能夠藉由抑制或下調靶來調節靶表現。較佳地，該調節使得與正常靶表現程度相比抑制至少20%之表現，更佳地與正常靶表現程度相比抑制至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。較佳地，該調節使得與在藉由傳染原攻擊細胞或有機體或使用模擬傳染原攻擊之試劑(例如聚I:C或LPS)處理細胞或有機體時之表現程度相比抑制至少20%之表現，更佳地與在藉由傳染原攻擊細胞或有

機體或使用模擬傳染原攻擊之試劑(例如聚I:C或LPS)處理細胞或有機體時之表現程度相比抑制至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些實施例中，在活體外使用KARPAS-299或THP1細胞，本發明寡核苷酸可能夠抑制PD-L1 mRNA之表現程度至少60%或70%。在一些實施例中，在活體外使用KARPAS-299或THP1細胞，本發明化合物可能夠抑制PD-L1蛋白之表現程度至少50%。適宜地，實例提供可用於量測PD-L1 RNA之分析(例如實例1)。藉由寡核苷酸之鄰接核苷酸序列與靶核酸之間之雜交來觸發靶調節。在一些實施例中，本發明寡核苷酸在寡核苷酸與靶核酸之間包括失配。儘管具有失配，但雜交至靶核酸仍可足以展示PD-L1表現之期望調節。源自失配之降低之結合親和力可有利地藉由寡核苷酸中增加數量之核苷酸及/或寡核苷酸序列內所存在增加數量之能夠增加靶結合親和力的經修飾核苷(例如2'修飾核苷，包含LNA)來予以補償。

在一些實施例中，本發明之反義寡核苷酸能夠恢復病原體特異性T細胞。在一些實施例中，在與未處理對照或使用標準護理處理之對照相比時，本發明寡核苷酸能夠增加病原體特異性T細胞至少40%、50%、60%或70%。在一實施例中，在與未處理對照或使用標準護理處理之對照相比時，本發明之反義寡核苷酸或偶聯物能夠增加HBV特異性T細胞。適宜地，實例提供可用於量測HBV特異性T細胞之分析(例如T細胞增殖、細胞介素分泌及細胞溶解活性)。在另一實施例中，在與未處理對照或使用標準護理處理之對照相比時，本發明之反義寡核苷酸或偶聯物能夠增加HCV特異性T細胞。在另一實施例中，在與未處理對照或使用標準護理處理之對照相比時，本發明之反義寡核苷酸或偶聯物能夠增加HDV特異性T細胞。

在一些實施例中，本發明之反義寡核苷酸能夠降低動物或人類中之HBsAg含量。在一些實施例中，在與治療之前之含量相比時，本發明寡核苷酸能夠降低HBsAg含量至少40%、50%、60%或70%、更佳地至少80%、90%或95%。最佳地，本發明寡核苷酸能夠達成HBsAg在感染HBV之動物或人類中之血清轉化。

本發明之一態樣係關於包括與PD-L1靶核酸具有至少90%互補性之長度為10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列之反義寡核苷酸。

在一些實施例中，寡核苷酸包括與靶核酸區域至少90%互補、例如至少91%、例如至少92%、例如至少93%、例如至少94%、例如至少95%、例如至少96%、例如至少97%、例如至少98%或100%互補之鄰接序列。

在一較佳實施例中，本發明寡核苷酸或其鄰接核苷酸序列與靶核酸區域完全互補(100%互補)，或在一些實施例中可在寡核苷酸與靶核酸之間包括一或兩個失配。

在一些實施例中，寡核苷酸包括與存在於SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 2中之靶核酸區域至少90%互補(例如完全(或100%)互補)之長度為10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列。在一些實施例中，寡核苷酸序列與存在於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2中之相應靶核酸區域100%互補。在一些實施例中，寡核苷酸序列與存在於SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 3中之相應靶核酸區域100%互補。

在一些實施例中，寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物包括與相應靶核酸區域至少90%互補(例如100%互補)之長度為10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列，其中該鄰接核苷酸序列與選自由SEQ ID NO: 1上之位置371-

3068、5467-12107及15317-19511組成之群之靶核酸的子序列互補。在另一實施例中，靶核酸之子序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1上之位置371-510、822-1090、1992-3068、5467-5606、6470-12107、15317-15720、15317-18083、18881-19494及1881-19494。在一較佳實施例中，靶核酸之子序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1上之位置7300-7333、8028-8072、9812-9859、11787-11873及15690-15735。

在一些實施例中，寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物包括與存在於SEQ ID NO: 1中之相應靶核酸區域至少90%互補(例如100%互補)之長度為10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列，其中該靶核酸區域係選自由表4中之區域a1至a449組成之群。

表4：可使用本發明寡核苷酸靶向之SEQ ID NO 1之區域

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a1	51	82	32	a151	6994	7020	27	a301	13092	13115	24
a2	87	116	30	a152	7033	7048	16	a302	13117	13134	18
a3	118	133	16	a153	7050	7066	17	a303	13136	13169	34
a4	173	206	34	a154	7078	7094	17	a304	13229	13249	21
a5	221	287	67	a155	7106	7122	17	a305	13295	13328	34
a6	304	350	47	a156	7123	7144	22	a306	13330	13372	43
a7	354	387	34	a157	7146	7166	21	a307	13388	13406	19
a8	389	423	35	a158	7173	7193	21	a308	13408	13426	19
a9	425	440	16	a159	7233	7291	59	a309	13437	13453	17
a10	452	468	17	a160	7300	7333	34	a310	13455	13471	17
a11	470	484	15	a161	7336	7351	16	a311	13518	13547	30
a12	486	500	15	a162	7353	7373	21	a312	13565	13597	33

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a13	503	529	27	a163	7375	7412	38	a313	13603	13620	18
a14	540	574	35	a164	7414	7429	16	a314	13630	13663	34
a15	576	649	74	a165	7431	7451	21	a315	13665	13679	15
a16	652	698	47	a166	7453	7472	20	a316	13706	13725	20
a17	700	750	51	a167	7474	7497	24	a317	13727	13774	48
a18	744	758	15	a168	7517	7532	16	a318	13784	13821	38
a19	774	801	28	a169	7547	7601	55	a319	13831	13878	48
a20	805	820	16	a170	7603	7617	15	a320	13881	13940	60
a21	827	891	65	a171	7632	7647	16	a321	13959	14013	55
a22	915	943	29	a172	7649	7666	18	a322	14015	14031	17
a23	950	982	33	a173	7668	7729	62	a323	14034	14049	16
a24	984	1000	17	a174	7731	7764	34	a324	14064	14114	51
a25	1002	1054	53	a175	7767	7817	51	a325	14116	14226	111
a26	1060	1118	59	a176	7838	7860	23	a326	14229	14276	48
a27	1124	1205	82	a177	7862	7876	15	a327	14292	14306	15
a28	1207	1255	49	a178	7880	7944	65	a328	14313	14384	72
a29	1334	1349	16	a179	7964	8012	49	a329	14386	14408	23
a30	1399	1425	27	a180	8028	8072	45	a330	14462	14481	20
a31	1437	1458	22	a181	8086	8100	15	a331	14494	14519	26
a32	1460	1504	45	a182	8102	8123	22	a332	14557	14577	21
a33	1548	1567	20	a183	8125	8149	25	a333	14608	14628	21
a34	1569	1586	18	a184	8151	8199	49	a334	14646	14668	23
a35	1608	1662	55	a185	8218	8235	18	a335	14680	14767	88
a36	1677	1700	24	a186	8237	8276	40	a336	14765	14779	15
a37	1702	1721	20	a187	8299	8344	46	a337	14815	14844	30
a38	1723	1745	23	a188	8346	8436	91	a338	14848	14925	78

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a39	1768	1794	27	a189	8438	8470	33	a339	14934	14976	43
a40	1820	1835	16	a190	8472	8499	28	a340	14978	15009	32
a41	1842	1874	33	a191	8505	8529	25	a341	15013	15057	45
a42	1889	1979	91	a192	8538	8559	22	a342	15064	15091	28
a43	1991	2011	21	a193	8562	8579	18	a343	15094	15140	47
a44	2013	2038	26	a194	8581	8685	105	a344	15149	15165	17
a45	2044	2073	30	a195	8688	8729	42	a345	15162	15182	21
a46	2075	2155	81	a196	8730	8751	22	a346	15184	15198	15
a47	2205	2228	24	a197	8777	8800	24	a347	15200	15221	22
a48	2253	2273	21	a198	8825	8865	41	a348	15232	15247	16
a49	2275	2303	29	a199	8862	8894	33	a349	15250	15271	22
a50	2302	2333	32	a200	8896	8911	16	a350	15290	15334	45
a51	2335	2366	32	a201	8938	8982	45	a351	15336	15369	34
a52	2368	2392	25	a202	8996	9045	50	a352	15394	15416	23
a53	2394	2431	38	a203	9048	9070	23	a353	15433	15451	19
a54	2441	2455	15	a204	9072	9139	68	a354	15453	15491	39
a55	2457	2494	38	a205	9150	9168	19	a355	15496	15511	16
a56	2531	2579	49	a206	9170	9186	17	a356	15520	15553	34
a57	2711	2732	22	a207	9188	9202	15	a357	15555	15626	72
a58	2734	2757	24	a208	9204	9236	33	a358	15634	15652	19
a59	2772	2786	15	a209	9252	9283	32	a359	15655	15688	34
a60	2788	2819	32	a210	9300	9331	32	a360	15690	15735	46
a61	2835	2851	17	a211	9339	9354	16	a361	15734	15764	31
a62	2851	2879	29	a212	9370	9398	29	a362	15766	15787	22
a63	2896	2912	17	a213	9400	9488	89	a363	15803	15819	17
a64	2915	2940	26	a214	9490	9537	48	a364	15846	15899	54

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a65	2944	2973	30	a215	9611	9695	85	a365	15901	15934	34
a66	2973	2992	20	a216	9706	9721	16	a366	15936	15962	27
a67	2998	3016	19	a217	9723	9746	24	a367	15964	15985	22
a68	3018	3033	16	a218	9748	9765	18	a368	15987	16023	37
a69	3036	3051	16	a219	9767	9788	22	a369	16025	16061	37
a70	3114	3139	26	a220	9794	9808	15	a370	16102	16122	21
a71	3152	3173	22	a221	9812	9859	48	a371	16134	16183	50
a72	3181	3203	23	a222	9880	9913	34	a372	16185	16281	97
a73	3250	3271	22	a223	9923	9955	33	a373	16283	16298	16
a74	3305	3335	31	a224	9966	10007	42	a374	16305	16323	19
a75	3346	3363	18	a225	10009	10051	43	a375	16325	16356	32
a76	3391	3446	56	a226	10053	10088	36	a376	16362	16404	43
a77	3448	3470	23	a227	10098	10119	22	a377	16406	16456	51
a78	3479	3497	19	a228	10133	10163	31	a378	16494	16523	30
a79	3538	3554	17	a229	10214	10240	27	a379	16536	16562	27
a80	3576	3597	22	a230	10257	10272	16	a380	16564	16580	17
a81	3603	3639	37	a231	10281	10298	18	a381	16582	16637	56
a82	3663	3679	17	a232	10300	10318	19	a382	16631	16649	19
a83	3727	3812	86	a233	10339	10363	25	a383	16655	16701	47
a84	3843	3869	27	a234	10409	10426	18	a384	16737	16781	45
a85	3874	3904	31	a235	10447	10497	51	a385	16783	16804	22
a86	3926	3955	30	a236	10499	10529	31	a386	16832	16907	76
a87	3974	3993	20	a237	10531	10546	16	a387	16934	16965	32
a88	3995	4042	48	a238	10560	10580	21	a388	16972	17035	64
a89	4053	4073	21	a239	10582	10596	15	a389	17039	17069	31
a90	4075	4123	49	a240	10600	10621	22	a390	17072	17109	38

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a91	4133	4157	25	a241	10623	10664	42	a391	17135	17150	16
a92	4158	4188	31	a242	10666	10685	20	a392	17167	17209	43
a93	4218	4250	33	a243	10717	10773	57	a393	17211	17242	32
a94	4277	4336	60	a244	10775	10792	18	a394	17244	17299	56
a95	4353	4375	23	a245	10794	10858	65	a395	17304	17344	41
a96	4383	4398	16	a246	10874	10888	15	a396	17346	17400	55
a97	4405	4446	42	a247	10893	10972	80	a397	17447	17466	20
a98	4448	4464	17	a248	10974	10994	21	a398	17474	17539	66
a99	4466	4493	28	a249	10996	11012	17	a399	17561	17604	44
a100	4495	4558	64	a250	11075	11097	23	a400	17610	17663	54
a101	4571	4613	43	a251	11099	11124	26	a401	17681	17763	83
a102	4624	4683	60	a252	11140	11157	18	a402	17793	17810	18
a103	4743	4759	17	a253	11159	11192	34	a403	17812	17852	41
a104	4761	4785	25	a254	11195	11226	32	a404	17854	17928	75
a105	4811	4858	48	a255	11235	11261	27	a405	17941	18005	65
a106	4873	4932	60	a256	11279	11337	59	a406	18007	18035	29
a107	4934	4948	15	a257	11344	11381	38	a407	18041	18077	37
a108	4955	4974	20	a258	11387	11411	25	a408	18085	18146	62
a109	4979	5010	32	a259	11427	11494	68	a409	18163	18177	15
a110	5012	5052	41	a260	11496	11510	15	a410	18179	18207	29
a111	5055	5115	61	a261	11512	11526	15	a411	18209	18228	20
a112	5138	5166	29	a262	11528	11551	24	a412	18230	18266	37
a113	5168	5198	31	a263	11570	11592	23	a413	18268	18285	18
a114	5200	5222	23	a264	11594	11634	41	a414	18287	18351	65
a115	5224	5284	61	a265	11664	11684	21	a415	18365	18395	31
a116	5286	5302	17	a266	11699	11719	21	a416	18402	18432	31

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a117	5317	5332	16	a267	11721	11746	26	a417	18434	18456	23
a118	5349	5436	88	a268	11753	11771	19	a418	18502	18530	29
a119	5460	5512	53	a269	11787	11873	87	a419	18545	18590	46
a120	5514	5534	21	a270	11873	11905	33	a420	18603	18621	19
a121	5548	5563	16	a271	11927	11942	16	a421	18623	18645	23
a122	5565	5579	15	a272	11946	11973	28	a422	18651	18708	58
a123	5581	5597	17	a273	11975	11993	19	a423	18710	18729	20
a124	5600	5639	40	a274	12019	12114	96	a424	18731	18758	28
a125	5644	5661	18	a275	12116	12135	20	a425	18760	18788	29
a126	5663	5735	73	a276	12137	12158	22	a426	18799	18859	61
a127	5737	5770	34	a277	12165	12192	28	a427	18861	18926	66
a128	5778	5801	24	a278	12194	12216	23	a428	18928	18980	53
a129	5852	5958	107	a279	12218	12246	29	a429	19001	19018	18
a130	6007	6041	35	a280	12262	12277	16	a430	19034	19054	21
a131	6049	6063	15	a281	12283	12319	37	a431	19070	19092	23
a132	6065	6084	20	a282	12334	12368	35	a432	19111	19154	44
a133	6086	6101	16	a283	12370	12395	26	a433	19191	19213	23
a134	6119	6186	68	a284	12397	12434	38	a434	19215	19240	26
a135	6189	6234	46	a285	12436	12509	74	a435	19255	19356	102
a136	6236	6278	43	a286	12511	12543	33	a436	19358	19446	89
a137	6291	6312	22	a287	12545	12565	21	a437	19450	19468	19
a138	6314	6373	60	a288	12567	12675	109	a438	19470	19512	43
a139	6404	6447	44	a289	12677	12706	30	a439	19514	19541	28
a140	6449	6482	34	a290	12708	12724	17	a440	19543	19568	26
a141	6533	6555	23	a291	12753	12768	16	a441	19570	19586	17
a142	6562	6622	61	a292	12785	12809	25	a442	19588	19619	32

Reg. a	SEQ ID NO 1中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度	Reg.a	SEQ ID NO 1 中之位置		長度
	起點	終點			起點	終點			起點	終點	
a143	6624	6674	51	a293	12830	12859	30	a443	19683	19739	57
a144	6679	6762	84	a294	12864	12885	22	a444	19741	19777	37
a145	6764	6780	17	a295	12886	12916	31	a445	19779	19820	42
a146	6782	6822	41	a296	12922	12946	25	a446	19822	19836	15
a147	6824	6856	33	a297	12948	12970	23	a447	19838	19911	74
a148	6858	6898	41	a298	12983	13003	21	a448	19913	19966	54
a149	6906	6954	49	a299	13018	13051	34	a449	19968	20026	59
a150	6969	6992	24	a300	13070	13090	21				

在一些實施例中，寡核苷酸或鄰接核苷酸序列與靶核酸區域互補，其中靶核酸區域係選自由以下組成之群：a7、a26、a43、a119、a142、a159、a160、a163、a169、a178、a179、a180、a189、a201、a202、a204、a214、a221、a224、a226、a243、a254、a258、269、a274、a350、a360、a364、a365、a370、a372、a381、a383、a386、a389、a400、a427、a435及a438。

在一較佳實施例中，寡核苷酸或鄰接核苷酸序列與靶核酸區域互補，其中靶核酸區域係選自由以下組成之群：a160、a180、a221、a269及a360。

在一些實施例中，本發明寡核苷酸包括8至35個核苷酸(長度)或由其組成，例如長9至30、例如10至22、例如11至20、例如12至18、例如13至17或14至16個鄰接核苷酸。在一較佳實施例中，寡核苷酸包括16至20個核苷酸(長度)或由其組成。應理解，本文所給出之任一範圍皆包含範圍端點。因此，若提及寡核苷酸包含10至30個核苷酸，則包含10及30個核苷酸。

酸。

在一些實施例中，鄰接核苷酸序列包括8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30個鄰接核苷酸(長度)或由其組成。在一較佳實施例中，寡核苷酸包括16、17、18、19或20個核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括選自由表5中所列示序列組成之群之序列或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與選自由SEQ ID NO: 5至743 (參見表5中所列示之基序序列)組成之群之序列具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與選自由SEQ ID NO: 5至743及771組成之群之序列具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與選自由以下組成之群之序列具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成：SEQ ID NO: 6、8、9、13、41、42、58、77、92、111、128、151、164、166、169、171、222、233、245、246、250、251、252、256、272、273、287、292、303、314、318、320、324、336、342、343、344、345、346、349、359、360、374、408、409、415、417、424、429、430、458、464、466、474、490、493、512、519、519、529、533、534、547、566、567、578、582、601、619、620、636、637、638、640、645、650、651、652、653、658、659、660、665、678、679、680、682、683、684、687、694、

706、716、728、733、734及735。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與SEQ ID NO: 287具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與SEQ ID NO: 342具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與SEQ ID NO: 640具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與SEQ ID NO: 466具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在一些實施例中，反義寡核苷酸或鄰接核苷酸序列包括10至30個與SEQ ID NO: 566具有至少90%一致性、較佳地100%一致性之核苷酸(長度)或由其組成。

在寡核苷酸長於鄰接核苷酸序列(其與靶核酸互補)之實施例中，表5中之基序序列形成本發明之反義寡核苷酸之鄰接核苷酸序列部分。在一些實施例中，寡核苷酸之序列等效於鄰接核苷酸序列(舉例而言，若不添加生物可裂解連接體)。

應理解，鄰接核鹼基序列(基序序列)可經修飾以(例如)增加核酸酶抗性及/或對靶核酸之結合親和力。修飾闡述於定義及「寡核苷酸設計」部分中。表5列列示每一基序序列之較佳設計。

寡核苷酸設計

寡核苷酸設計係指寡核苷酸序列中之核苷糖修飾模式。本發明寡核苷酸包括糖修飾性核苷且亦可包括DNA或RNA核苷。在一些實施例中，寡核苷酸包括糖修飾性核苷及DNA核苷。將經修飾核苷納入本發明寡核苷酸中可增強寡核苷酸對靶核酸之親和力。在該情形下，經修飾核苷可稱為親和力增強性經修飾核苷酸，經修飾核苷亦可稱為單元。

在一實施例中，寡核苷酸包括至少1個經修飾核苷，例如至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15或至少16個經修飾核苷。在一實施例中，寡核苷酸包括1至10個經修飾核苷，例如2至8個修飾核苷，例如3至7個經修飾核苷，例如4至6個經修飾核苷，例如3、4、5、6或7個經修飾核苷。

在一實施例中，寡核苷酸包括一或多個糖修飾性核苷，例如2'糖修飾性核苷。較佳地，本發明寡核苷酸包括一或多個獨立地選自由以下組成之群之2'糖修飾性核苷：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、阿拉伯糖核酸(ANA)、2'-氟-ANA及LNA核苷。甚至更佳地，一或多個經修飾核苷係鎖核酸(LNA)。

在另一實施例中，寡核苷酸包括至少一個經修飾核苷間鏈接。在一較佳實施例中，鄰接核苷酸序列內之所有核苷間鏈接係硫代磷酸酯或硼烷磷酸酯核苷間鏈接。在一些實施例中，寡核苷酸之鄰接序列中之所有核苷酸間鏈接係硫代磷酸酯鏈接。

在一些實施例中，本發明寡核苷酸包括至少一個LNA核苷，例如1、

2、3、4、5、6、7或8個LNA核苷，例如2至6個LNA核苷，例如3至7個LNA核苷，4至6個LNA核苷或3、4、5、6或7個LNA核苷。在一些實施例中，寡核苷酸中之至少75%之經修飾核苷係LNA核苷，舉例而言，80%、例如85%、例如90%之經修飾核苷係LNA核苷。在另一實施例中，寡核苷酸中之所有經修飾核苷皆係LNA核苷。在另一實施例中，寡核苷酸可包括 β -D-氧基-LNA及下列LNA核苷中之一或多者：硫代-LNA、胺基-LNA、氧基-LNA及/或ENA（呈 β -D或 α -L構形或其組合）。在另一實施例中，所有LNA胞嘧啶單元皆係5-甲基-胞嘧啶。在一較佳實施例中，寡核苷酸或鄰接核苷酸序列在核苷酸序列之5'端具有至少1個LNA核苷且在3'端具有至少2個LNA核苷。

在一些實施例中，本發明寡核苷酸包括至少一個係2'-MOE-RNA核苷之經修飾核苷，例如2、3、4、5、6、7、8、9或10個2'-MOE-RNA核苷。在一些實施例中，該等經修飾核苷中之至少一者係2'-氟DNA，例如2、3、4、5、6、7、8、9或10個2'-氟-DNA核苷。

在一些實施例中，本發明寡核苷酸包括至少一個LNA核苷及至少一個2'取代經修飾核苷。

在本發明之一些實施例中，寡核苷酸包括2'糖修飾性核苷及DNA單元。較佳地，寡核苷酸包括LNA及DNA核苷(單元)。較佳地，LNA及DNA單元之組合總數為8-30（例如10 - 25、較佳地12-22、例如12 - 18、甚至更佳地11-16）。在本發明之一些實施例中，寡核苷酸之核苷酸序列（例如鄰接核苷酸序列）係由至少一個或兩個LNA核苷組成且剩餘核苷係DNA單元。在一些實施例中，寡核苷酸僅包括LNA核苷及天然核苷（例如RNA或DNA、最佳地DNA核苷），且視情況包括經修飾核苷間鏈接（例如

硫代磷酸酯)。

在本發明之一實施例中，本發明寡核苷酸能夠招募RNase H。

本發明寡核苷酸之結構設計可選自間隙聚體、間隙中斷體、頭聚體及尾聚體。

間隙聚體設計

在一較佳實施例中，本發明寡核苷酸具有間隙聚體設計或結構，該間隙聚體設計或結構在本文中亦僅稱為「間隙聚體」。在間隙聚體結構中，寡核苷酸包括至少三個不同結構區域：5'-側翼、間隙及3'-側翼(F-G-F'，以「5 → 3」定向)。在此設計中，在寡核苷酸與靶核酸呈雙螺旋體形式時，側接區F及F'(亦稱為翼區)包括與PD-L1靶核酸互補之經修飾核苷之鄰接序列段，而間隙區G包括能夠招募核酸酶、較佳地內核酸酶(例如RNase，例如RNase H)之核苷酸之鄰接序列段。能夠招募核酸酶、尤其RNase H之核苷可選自由以下組成之群：DNA、 α -L-氧基-LNA、2'-氟-ANA及UNA。側接區G之5'及3'端之區域F及F'較佳地包括非核酸酶招募性核苷(具有3'內向結構之核苷)、更佳地一或多個親和力增強性經修飾核苷。在一些實施例中，3'側翼包括至少一個LNA核苷、較佳地至少2個LNA核苷。在一些實施例中，5'側翼包括至少一個LNA核苷。在一些實施例中，5'及3'側接區包括LNA核苷。在一些實施例中，側接區中之所有核苷皆係LNA核苷。在其他實施例中，側接區可包括LNA核苷及其他核苷(混合側翼)，例如DNA核苷及/或非LNA經修飾核苷(例如2'取代核苷)。在此情形下，間隙定義為在5'及3'端側接有由親和力增強性經修飾核苷、較佳地LNA(例如 β -D-氧基-LNA)之至少5個RNase H招募性核苷(具有2'內向結構之核苷，較佳係DNA)之鄰接序列。因此，毗鄰間隙區之5'側接

區及3'側接區之核苷係經修飾核苷，較佳係非核酸酶招募性核苷。

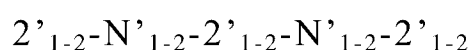
區域F

連接至區域G之'5端之區域F(5'側翼或5'翼)包括、含有至少一個經修飾核苷(例如至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7個經修飾核苷)或由其組成。在一實施例中，區域F包括1至7個經修飾核苷(例如2至6個經修飾核苷、例如2至5個經修飾核苷、例如2至4個經修飾核苷、例如1至3個經修飾核苷、例如1、2、3或4個經修飾核苷)或由其組成。F區域定義為在該區域之5'端及3'端具有至少一個經修飾核苷。

在一些實施例中，區域F中之經修飾核苷具有3'內向結構。

在一實施例中，區域F中之一或多個經修飾核苷係2'修飾核苷。在一實施例中，區域F中之所有核苷皆係2'修飾核苷。

在另一實施例中，除2'修飾核苷外，區域F亦包括DNA及/或RNA。包括DNA及/或RNA之側翼之特徵在於在F區域之5'端及3'端(毗鄰G區域)具有2'修飾核苷。在一實施例中，區域F包括DNA核苷，例如1至3個鄰接DNA核苷，例如1至3個或1至2個鄰接DNA核苷。側翼中之DNA核苷應較佳地不能招募RNase H。在一些實施例中，F區域中之2'修飾核苷及DNA及/或RNA核苷與1至3個2'修飾核苷及1至3個DNA及/或RNA核苷交替。該等側翼亦可稱為交替側翼。具有交替側翼之寡核苷酸中之5'側翼(區域F)之長度可為4至10個核苷，例如4至8個、例如4至6個核苷，例如4、5、6或7個經修飾核苷。在一些實施例中，僅寡核苷酸之5'側翼係交替性。具有交替核苷之區域F之具體實例如下：



其中2'指示經修飾核苷且N'係RNA或DNA。在一些實施例中，交替側翼中之所有經修飾核苷皆係LNA且N'係DNA。在另一實施例中，區域F中之一或多個2'修飾核苷係選自2'-O-烷基-RNA單元、2'-O-甲基-RNA、2'-胺基-DNA單元、2'-氟-DNA單元、2'-烷氧基-RNA、MOE單元、LNA單元、阿拉伯糖核酸(ANA)單元及2'-氟-ANA單元。

在一些實施例中，F區域包括LNA及2'取代經修飾核苷。該等形式通常稱為混合翼或混合側翼寡核苷酸。

在本發明之一實施例中，區域F中之所有經修飾核苷皆係LNA核苷。在另一實施例中，區域F中之所有核苷皆係LNA核苷。在另一實施例中，區域F中之LNA核苷獨立地選自由以下組成之群：氧基-LNA、硫代-LNA、胺基-LNA、cET及/或ENA（呈 β -D或 α -L構形或其組合）。在一較佳實施例中，區域F在鄰接序列之5'端至少包括1 β -D-氧基LNA單元。

區域G

區域G(間隙區)較佳地包括、含有至少4個(例如至少5、例如至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15或至少16個)能夠招募上文所提及之核酸酶、尤其RNaseH之連續核苷或由其組成。在另一實施例中，區域G包括、含有5至12或6至10或7至9、例如8個能夠招募上文所提及之核酸酶之連續核苷酸單元或由其組成。

區域G中能夠招募核酸酶之核苷單元在一實施例中係選自由以下組成之群：DNA、 α -L-LNA、C4'烷基化DNA（如PCT/EP2009/050349及Vester等人，Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 2296 - 2300（二者皆以引用方式併入本文中）中所闡述）、阿拉伯糖源核苷(例如ANA及2'F-ANA) (Mangos等人，2003 J. AM. CHEM. SOC. 125, 654-661)、UNA（非鎖定

核酸) (如Fluiter等人, Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039中所闡述, 該文獻以引用方式併入本文中)。UNA係非鎖定核酸, 通常其中去除核糖之C2與C3之間之鍵, 從而形成非鎖定「糖」殘基。

在另一實施例中, 區域G中之至少一個核苷單元係DNA核苷單元, 例如1至18個DNA單元、例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17個DNA單元、較佳地2至17個DNA單元、例如3至16個DNA單元、例如4至15個DNA單元、例如5至14個DNA單元、例如6至13個DNA單元、例如7至12個DNA單元、例如8至11個DNA單元、更佳地8至17個DNA單元或9至16個DNA單元、10至15個DNA單元或11至13個DNA單元、例如8、9、10、11、12、13、14、15、16、17個DNA單元。在一些實施例中, 區域G係由100%之DNA單元組成。

在其他實施例中, 區域G可由DNA及其他能夠介導RNase H裂解之核苷之混合物組成。區域G可由至少50% DNA、更佳地60%、70%或80% DNA及甚至更佳地90%或95% DNA組成。

在另一實施例中, 區域G中之至少一個核苷單元係 α -L-LNA核苷單元, 例如至少一個 α -L-LNA、例如2、3、4、5、6、7、8或9個 α -L-LNA。在另一實施例中, 區域G包括至少一個係 α -L-氧基-LNA之 α -L-LNA。在另一實施例中, 區域G包括DNA及 α -L-LNA核苷單元之組合。

在一些實施例中, 區域G中之核苷具有2'內向結構。

在一些實施例中, 區域G可包括間隙中斷體核苷, 從而產生間隙中斷體寡核苷酸, 其能夠招募RNase H。

區域F'

連接至區域G之'3端之區域F'(3'側翼或3'翼)包括、含有至少一個經

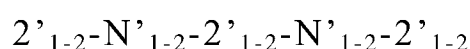
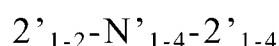
修飾核苷(例如至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7個經修飾核苷)或由其組成。在一實施例中，區域F'包括1至7個經修飾核苷(例如2至6個經修飾核苷，例如2至4個經修飾核苷，例如1至3個經修飾核苷，例如1、2、3或4個經修飾核苷)或由其組成。F'區域定義為在該區域之5'端及3'端具有至少一個經修飾核苷。

在一些實施例中，區域F'中之經修飾核苷具有3'內向結構。

在一實施例中，區域F'中之一或多個經修飾核苷係2'修飾核苷。在一實施例中，區域F'中之所有核苷皆係2'修飾核苷。

在一實施例中，區域F'中之一或多個經修飾核苷係2'修飾核苷。

在一實施例中，區域F'中之所有核苷皆係2'修飾核苷。在另一實施例中，除2'修飾核苷外，區域F'亦包括DNA或RNA。包括DNA或RNA之側翼之特徵在於在F'區域之5'端(毗鄰G區域)及3'端具有2'修飾核苷。在一實施例中，區域F'包括DNA核苷，例如1至4個鄰接DNA核苷、例如1至3或1至2個鄰接DNA核苷。側翼中之DNA核苷應較佳地不能招募RNase H。在一些實施例中，F'區域中之2'修飾核苷及DNA及/或RNA核苷與1至3個2'修飾核苷及1至3個DNA及/或RNA核苷交替，該等側翼亦可稱為交替側翼。具有交替側翼之寡核苷酸中之3'側翼(區域F')之長度可為4至10個核苷，例如4至8個、例如4至6個核苷，例如4、5、6或7個經修飾核苷。在一些實施例中，僅寡核苷酸之3'側翼係交替性。具有交替核苷之區域F'之具體實例如下：



其中2'指示經修飾核苷且N'係RNA或DNA。在一些實施例中，交替

側翼中之所有經修飾核苷皆係LNA且N'係DNA。在另一實施例中，區域F'中之經修飾核苷係選自2'-O-烷基-RNA單元、2'-O-甲基-RNA、2'-胺基-DNA單元、2'-氟-DNA單元、2'-烷氧基-RNA、MOE單元、LNA單元、阿拉伯糖核酸(ANA)單元及2'-氟-ANA單元。

在一些實施例中，F'區域包括LNA及2'取代經修飾核苷。該等形式通常稱為混合翼或混合側翼寡核苷酸。

在本發明之一實施例中，區域F'中之所有經修飾核苷皆係LNA核苷。在另一實施例中，區域F'中之所有核苷皆係LNA核苷。在另一實施例中，區域F'中之LNA核苷獨立地選自由以下組成之群：氧基-LNA、硫代-LNA、胺基-LNA、cET及/或ENA（呈 β -D或 α -L構形或其組合）。在一較佳實施例中，區域F'在鄰接序列之3'端至少具有2 β -D-氧基LNA單元。

區域D'及D''

區域D'及D''可分別連接至區域F之5'端或區域F'之3'端。區域D'或D''係可選的。

區域D'或D''可獨立地包括0至5個(例如1至5個，例如2至4個，例如0、1、2、3、4或5個)可與靶核酸互補或非互補之其他核苷酸。就此而言，在一些實施例中，本發明寡核苷酸可包括在5'及/或3'端側接有其他核苷酸能夠調節靶之鄰接核苷酸序列。該等其他核苷酸可用作核酸酶易感性生物可裂解連接體(參見連接體之定義)。在一些實施例中，其他5'及/或3'端核苷與磷酸二酯鏈接連接，且可為DNA或RNA。在另一實施例中，其他5'及/或3'端核苷係可(例如)經包含以增強核酸酶穩定性或便於合成之經修飾核苷。在一實施例中，本發明寡核苷酸在鄰接核苷酸序列之5'或3'端包括區域D'及/或D''。在另一實施例中，D'及/或D''區域係由1至5個與

靶核酸不互補之磷酸二酯連接之DNA或RNA核苷構成。

本發明之間隙聚體寡核苷酸可由下列各式代表：

5'-F-G-F'-3'；尤其F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇

5'-D'-F-G-F'-3'，尤其D'₁₋₃-F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇

5'-F-G-F'-D''-3'，尤其F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇-D''₁₋₃

5'-D'-F-G-F'-D''-3''，尤其D'₁₋₃-F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇-D''₁₋₃

區域F、G及F'、D'及D''中之核苷之較佳數量及類型已闡述於上文中。本發明之寡核苷酸偶聯物具有以共價方式連接至寡核苷酸、尤其上文所呈現之間隙聚體寡核苷酸之5'或3'端之區域C。

在一實施例中，本發明之寡核苷酸偶聯物包括具有式5'-D'-F-G-F'-3'或5'-F-G-F'-D''-3'之寡核苷酸，其中區域F及F'獨立地包括1 - 7個經修飾核苷，G係6至16個能夠招募RNaseH之核苷之區域且區域D'或D''包括1 - 5個磷酸二酯連接之核苷。較佳地，區域D'或D''存在於涵蓋至偶聯物部分之偶聯之寡核苷酸之末端。

具有交替側翼之寡核苷酸之實例可由下列各式代表：

2'₁₋₃-N'₁₋₄-2'₁₋₃-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₄-2'₁₋₄

2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂

F-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₄-2'₁₋₄

F-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂

2'₁₋₃-N'₁₋₄-2'₁₋₃-G₆₋₁₂-F'

2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-G₆₋₁₂-F'

其中側翼由F或F'指示，其僅含有2'修飾核苷(例如LNA核苷)。交替區域及區域F、G及F'、D'及D''中之核苷之較佳數量及類型已闡述於上文

中。

在一些實施例中，寡核苷酸係由16、17、18、19、20、21、22個核苷酸(長度)組成之間隙聚體，其中在與PD-L1靶核酸呈雙螺旋體形式時，區域F及F'中之每一者獨立地由1、2、3或4個與PD-L1靶核酸互補之經修飾核苷單元組成且區域G係由8、9、10、11、12、13、14、15、16、17個能夠招募核酸酶之核苷單元組成，且區域D'係由2磷酸二酯連接之DNA組成。

在另一實施例中，寡核苷酸係間隙聚體，其中區域F及F'中之每一者獨立地由3、4、5或6個經修飾核苷單元(例如含有2'-O-甲氧基乙基-核糖(2'-MOE)之核苷單元或含有2'-氟-去氧核糖之核苷單元及/或LNA單元)組成，且區域G係由8、9、10、11、12、13、14、15、16或17個核苷單元(例如DNA單元或其他核酸酶招募性核苷(例如 α -L-LNA)或DNA及核酸酶招募性核苷之混合物)組成。

在另一具體實施例中，寡核苷酸係間隙聚體，其中F及F'區域中之每一者區域係各自由兩個LNA單元組成，且區域G係由12、13、14個核苷單元、較佳地DNA單元組成。此性質之特定間隙聚體設計包含2-12-2、2-13-2及2-14-2。

在另一具體實施例中，寡核苷酸係間隙聚體，其中F及F'中之每一者區域獨立地由三個LNA單元組成，且區域G係由8、9、10、11、12、13或14個核苷單元、較佳地DNA單元組成。具有此性質之特定間隙聚體設計包含3-8-3、3-9-3 3-10-3、3-11-3、3-12-3、3-13-3及3-14-3。

在另一具體實施例中，寡核苷酸係間隙聚體，其中F及F'中之每一者區域各自由4個LNA單元組成，且區域G係由8或9、10、11或12個核苷單

元、較佳地DNA單元組成。具有此性質之特定間隙聚體設計包含4-8-4、4-9-4、4-10-4、4-11-4及4-12-4。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由6核苷間隙及獨立地翼中之1至4個經修飾核苷組成之群的F-G-F'設計，包含1-6-1、1-6-2、2-6-1、1-6-3、3-6-1、1-6-4、4-6-1、2-6-2、2-6-3、3-6-2、2-6-4、4-6-2、3-6-3、3-6-4及4-6-3間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由7核苷間隙及獨立地翼中之1至4個經修飾核苷組成之群的F-G-F'設計，包含1-7-1、2-7-1、1-7-2、1-7-3、3-7-1、1-7-4、4-7-1、2-7-2、2-7-3、3-7-2、2-7-4、4-7-2、3-7-3、3-7-4、4-7-3及4-7-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由8核苷間隙及獨立地翼中之1至4個經修飾核苷組成之群的F-G-F'設計，包含1-8-1、1-8-2、1-8-3、3-8-1、1-8-4、4-8-1、2-8-1、2-8-2、2-8-3、3-8-2、2-8-4、4-8-2、3-8-3、3-8-4、4-8-3及4-8-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由9核苷間隙及獨立地翼中之1至4個經修飾核苷組成之群的F-G-F'設計，包含1-9-1、2-9-1、1-9-2、1-9-3、3-9-1、1-9-4、4-9-1、2-9-2、2-9-3、3-9-2、2-9-4、4-9-2、3-9-3、3-9-4、4-9-3及4-9-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由10核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-10-1、2-10-1、1-10-2、1-10-3、3-10-1、1-10-4、4-10-1、2-10-2、2-10-3、3-10-2、2-10-4、4-10-2、3-10-3、3-10-4、4-10-3及4-10-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由11核苷間隙組成之群的

F-G-F'設計，包含1-11-1、2-11-1、1-11-2、1-11-3、3-11-1、1-11-4、4-11-1、2-11-2、2-11-3、3-11-2、2-11-4、4-11-2、3-11-3、3-11-4、4-11-3及4-11-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由12核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-12-1、2-12-1、1-12-2、1-12-3、3-12-1、1-12-4、4-12-1、2-12-2、2-12-3、3-12-2、2-12-4、4-12-2、3-12-3、3-12-4、4-12-3及4-12-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由13核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-13-1、2-13-1、1-13-2、1-13-3、3-13-1、1-13-4、4-13-1、2-13-2、2-13-3、3-13-2、2-13-4、4-13-2、3-13-3、3-13-4、4-13-3及4-13-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由14核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-14-1、2-14-1、1-14-2、1-14-3、3-14-1、1-14-4、4-14-1、2-14-2、2-14-3、3-14-2、2-14-4、4-14-2、3-14-3、3-14-4、4-14-3及4-14-4間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由15核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-15-1、2-15-1、1-15-2、1-15-3、3-15-1、1-15-4、4-15-1、2-15-2、2-15-3、3-15-2、2-15-4、4-15-2及3-15-3間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由16核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-16-1、2-16-1、1-16-2、1-16-3、3-16-1、1-16-4、4-16-1、2-16-2、2-16-3、3-16-2、2-16-4、4-16-2及3-16-3間隙聚體。

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由17核苷間隙組成之群的F-G-F'設計，包含1-17-1、2-17-1、1-17-2、1-17-3、3-17-1、1-17-4、

4-17-1、2-17-2、2-17-3及3-17-2間隙聚體。

在所有情況下，F-G-F'設計可進一步包含區域D'及/或D''，該等可具有1、2或3個核苷單元(例如DNA單元，例如2磷酸二酯連接之DNA單元)。較佳地，區域F及F'中之核苷係經修飾核苷，而區域G中之核苷酸較佳係未修飾核苷。

在每一設計中，較佳經修飾核苷係LNA。

在另一實施例中，間隙聚體中之間隙中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯及/或硼烷磷酸酯鏈接。在另一實施例中，間隙聚體中之側翼(F及F'區域)中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯及/或硼烷磷酸酯鏈接。在另一較佳實施例中，間隙聚體中之D'及D''區域中之所有核苷間鏈接皆係磷酸二酯鏈接。

對於如本文所揭示之特定間隙聚體而言，在胞嘧啶(C)殘基注釋為5-甲基-胞嘧啶時，在各個實施例中，存在於寡核苷酸中之一或多個C可為未修飾C殘基。

在一特定實施例中，間隙聚體係所謂的短聚體，如WO2008/113832(其以引用方式併入本文中)中所闡述。

其他間隙聚體設計揭示於WO2004/046160、WO2007/146511中且以引用方式併入本文中。

對於本發明之某些實施例而言，寡核苷酸係選自具有CMP-ID-NO: 5_1至743_1及771_1之寡核苷酸化合物之群。

對於本發明之某些實施例而言，寡核苷酸係選自具有以下編號之寡核苷酸化合物之群：CMP-ID-NO 6_1、8_1、9_1、13_1、41_1、42_1、58_1、77_1、92_1、111_1、128_1、151_1、164_1、166_1、169_1、

171_1、222_1、233_1、245_1、246_1、250_1、251_1、252_1、
256_1、272_1、273_1、287_1、292_1、303_1、314_1、318_1、
320_1、324_1、336_1、342_1、343_1、344_1、345_1、346_1、
349_1、359_1、360_1、374_1、408_1、409_1、415_1、417_1、
424_1、429_1、430_1、458_1、464_1、466_1、474_1、490_1、
493_1、512_1、519_1、519_1、529_1、533_1、534_1、547_1、
566_1、567_1、578_1、582_1、601_1、619_1、620_1、636_1、
637_1、638_1、640_1、645_1、650_1、651_1、652_1、653_1、
658_1、659_1、660_1、665_1、678_1、679_1、680_1、682_1、
683_1、684_1、687_1、694_1、706_1、716_1、728_1、733_1、734_1
及735_1。

在本發明之一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 287_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 342_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 640_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 466_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 566_1。

在本發明之另一實施例中，本發明之寡核苷酸基序及寡核苷酸化合物之鄰接核苷酸序列在鄰接核苷酸序列之5'端包括2至4個其他磷酸二酯連接之核苷(例如區域D')。在一實施例中，該等核苷用作生物可裂解連接體(參見生物可裂解連接體部分)。在一較佳實施例中，ca (胞苷-腺苷)二核苷酸經由磷酸二酯鏈接連接至鄰接核苷酸序列(亦即表5中所列示基序序列或寡核苷酸化合物中之任一者)之5'端。在一較佳實施例中，在鄰接核苷酸之其餘部分互補之位置，ca二核苷酸並不與靶序列互補。

在本發明之一些實施例中，寡核苷酸或鄰接核苷酸序列係選自由具有SEQ ID NO: 766、767、768、769及770之核苷酸基序序列組成之群。

在本發明之一些實施例中，寡核苷酸係選自由具有CMP-ID-NO 766_1、767_1、768_1、769_1及770_1之寡核苷酸化合物組成之群。

碳水化合物偶聯物部分

碳水化合物偶聯物部分包含(但不限於)半乳糖、乳糖、n-乙醯基半乳糖胺、甘露糖及甘露糖-6-磷酸鹽。可使用碳水化合物偶聯物來增強多種組織(例如肝及/或肌肉)中之遞送或活性。例如參見EP1495769、WO99/65925、Yang等人，Bioconj Chem (2009) 20(2): 213-21。Zatsepin & Oretskaya Chem Biodivers. (2004) 1(10): 1401-17。

在一些實施例中，碳水化合物偶聯物部分係多價的，舉例而言，2、3或4個相同或不同碳水化合物部分可視情況經由一或多個連接體以共價方式接合至寡核苷酸。在一些實施例中，本發明提供包括本發明寡核苷酸及碳水化合物偶聯物部分之偶聯物。

在一些實施例中，偶聯物部分係或可包括甘露糖或甘露糖-6-磷酸鹽。此尤其可用於靶向肌肉細胞，參見例如US 2012/122801。

能夠結合至去唾液酸醣蛋白受體(ASGPr)之偶聯物部分尤其可用於靶向肝中之肝細胞。在一些實施例中，本發明提供包括本發明寡核苷酸及靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分之寡核苷酸偶聯物。靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分包括一或多個能夠以等於或大於半乳糖之親和力結合至去唾液酸醣蛋白受體之碳水化合物部分(結合ASGPr之碳水化合物部分)。許多半乳糖衍生物對去唾液酸醣蛋白受體之親和力已經研究(參見例如：Jobst, S.T.及Drickamer, K. JB.C. 1996, 271, 6686)或輕易使用業內

典型方法測定。

本發明之一態樣係包括以下之反義寡核苷酸偶聯物：a)寡核苷酸(區域A)，其包括與PD-L1靶核酸具有至少90%互補性之長度10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列；及b)至少一個靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分(區域C)，其共價連接至a)中之寡核苷酸。寡核苷酸或鄰接核苷酸序列可如部分「本發明寡核苷酸」、「寡核苷酸設計」及「間隙聚體設計」中之任一者中所述。

在一些實施例中，靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分包括至少一個選自由以下組成之群之結合ASPG_r之碳水化合物部分：半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基-半乳糖胺、N-乙醯基半乳糖胺、N-丙醯基-半乳糖胺、N-正丁醯基-半乳糖胺及N-異丁醯基半乳糖胺。在一些實施例中，靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係單價、二價、三價或四價(亦即含有1、2、3或4個能夠結合至去唾液酸醣蛋白受體之末端碳水化合物部分)。較佳地，靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係二價，甚至更佳地係三價。在一較佳實施例中，靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分包括1至3個N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分(亦稱為GalNAc偶聯物)。在一些實施例中，寡核苷酸偶聯包括三價N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分之靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分。GalNAc偶聯物已與磷酸二酯、甲基膦酸酯及PNA反義寡核苷酸(例如US 5,994,517及Hangeland等人，Bioconjug Chem. 1995 Nov-Dec; 6(6):695-701；Biessen等人，1999 Biochem J. 340, 783-792及Maier等人，2003 Bioconjug Chem 14, 18-29)及siRNA(例如WO 2009/126933、WO 2012/089352及WO 2012/083046)以及LNA及2'-MOE修飾核苷(WO 2014/076196 WO 2014/207232及WO 2014/179620

(以引用方式併入本文中))一起使用。

為生成靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分，使ASPGGr結合碳水化合物部分(較佳係GalNAc)經由糖之C-1碳連接至支化劑分子。ASPGGr結合碳水化合物部分較佳地經由間隔體連接至支化劑分子。較佳間隔體係撓性親水性間隔體(美國專利5885968；Biessen等人。J. Med. Chem. 1995第39卷第1538-1546頁)。較佳撓性親水性間隔體係PEG間隔體。較佳PEG間隔體係PEG3間隔體(三個乙烯單元)。支化劑分子可為任一允許連接兩個或三個結合ASPGGr之末端碳水化合物部分且進一步允許將分支點連接至寡核苷酸之小分子。實例性支化劑分子係二離胺酸。二離胺酸分子含有三個胺基團(經由其可連接三個結合ASPGGr之碳水化合物部分)及羧基反應性基團(二離胺酸可經由其連接至寡核苷酸)。替代支化劑分子可為雙倍增體或三倍增體，例如由Glen Research所供應者。在一些實施例中，支化劑可選自由以下組成之群：1,3-雙-[5-(4,4'-二甲氧基三苯甲基氧基)戊基醯胺基]丙基-2-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]亞磷醯胺(Glen Research目錄號：10-1920-xx)、參-2,2,2-[3-(4,4'-二甲氧基三苯甲基氧基)丙基氧基甲基]乙基-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-亞磷醯胺(Glen Research目錄號：10-1922-xx)、參-2,2,2-[3-(4,4'-二甲氧基三苯甲基氧基)丙基氧基甲基]亞甲基氧基丙基-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-亞磷醯胺及1-[5-(4,4'-二甲氧基-三苯甲基氧基)戊基醯胺基]-3-[5-萸甲氧基-羰基-氧基-戊基醯胺基]-丙基-2-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-亞磷醯胺(Glen Research目錄號：10-1925-xx)。WO 2014/179620及PCT申請案第PCT/EP2015/073331號闡述各種GalNAc偶聯物部分之生成(以引用方式併入本文中)。可將一或多個連接體插入支化劑分子與寡核苷酸之間。在一

較佳實施例中，連接體係生物可裂解連接體。連接體可選自「連接體」部分及其子部分中所闡述之連接體。

可使用業內已知方法將靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分、尤其GalNAc偶聯物部分連接至寡核苷酸之3'-端或5'-端。在較佳實施例中，將靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分連接至寡核苷酸之5'-端。

與siRNA遞送相關之藥物動力學調節劑已闡述於WO2012/083046 (以引用方式併入本文中)中。在一些實施例中，碳水化合物偶聯物部分包括選自由以下組成之群之藥物動力學調節劑：具有16或更多個碳原子之疏水性基團、具有16-20個碳原子之疏水性基團、棕櫚醯基、十六-8-烯醯基、油烯基、(9E,12E)-十八-9,12二烯醯基、二辛醯基及C16-C20醯基及膽固醇。在一較佳實施例中，含有藥物動力學調節劑之碳水化合物偶聯物部分係GalNAc偶聯物。

較佳碳水化合物偶聯物部分包括一至三個結合ASPG_r之末端碳水化合物部分、較佳地N-乙醯基半乳糖胺部分。在一些實施例中，碳水化合物偶聯物部分包括三個經由間隔體連接至支化劑分子之結合ASPG_r之碳水化合物部分、較佳地N-乙醯基半乳糖胺部分。間隔體分子可長8至30個原子。較佳碳水化合物偶聯物部分包括三個經由PEG間隔體連接至二離胺酸支化劑分子之末端GalNAc部分。較佳地，PEG間隔體係3PEG間隔體。適宜靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分展示於圖1中。較佳靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分展示於圖3中。

其他GalNAc偶聯物部分可包含(例如)連接有GalNAc部分之小肽，例如Tyr-Glu-Glu-(胺基己基GalNAc)₃ (YEE(ahGalNAc)₃；結合至肝細胞上之去唾液酸醣蛋白受體之糖三肽，例如參見Duff等人，Methods

Enzymol, 2000, 313, 297)；基於離胺酸之半乳糖簇(例如L3G4；Biessen等人，Cardiovasc. Med., 1999, 214)；及基於膽烷之半乳糖簇(例如用於去唾液酸醣蛋白受體之碳水化合物識別基序)。

在本發明之一些實施例中，反義寡核苷酸偶聯物係選自由以下組成之群：CPM ID NO: 766_2、767_2、768_2、769_2及770_2。

在一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖4中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖5中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖6中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖7中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖8中所表示之化合物。

連接體

生物可裂解連接體(區域B)

使用偶聯物通常會增強藥物動力學或藥效動力學性質。然而，偶聯物部分之存在可(例如)經由妨礙雜交或核酸酶招募(例如RNAseH)之立體阻礙來干擾寡核苷酸針對其預期靶之活性。在寡核苷酸(區域A或第一區域)與偶聯物部分(區域C或第三區域)之間使用生理上不穩定鍵(生物可裂解連接體)使得因存在偶聯物部分而改良性質，同時確保在靶組織處偶聯基團不妨礙寡核苷酸之有效活性。

在含有生理上不穩定鍵之分子到達適當細胞內及/或細胞外環境時，該不穩定鍵自發發生裂解。舉例而言，在分子進入經酸化胞內體時，pH不穩定鍵可發生裂解。因此，pH不穩定鍵可視為胞內體可裂解鍵。酶可裂解鍵可在暴露於酶(例如存在於胞內體或溶酶體中或細胞質中者)時發生裂解。二硫鍵可在分子進入細胞質之較高還原環境時發生裂解。因此，二硫化物可視為細胞質可裂解鍵。如本文中所使用，pH不穩定鍵係在酸性條件(pH<7)下選擇性斷裂之不穩定鍵。該等鍵亦可稱為胞內體不穩定鍵，此乃因細胞胞內體及溶酶體之pH小於7。

對於與用於靶向遞送之偶聯物部分締合之生物可裂解連接體而言，較佳地，靶組織(例如肌肉、肝、腎或腫瘤)中所看到之裂解速率大於發現於血清中者。用於測定靶組織與血清中之裂解或S1核酸酶裂解之程度(%)之適宜方法闡述於「材料及方法」部分中。在一些實施例中，本發明偶聯物中之生物可裂解連接體(亦稱為生理上不穩定連接體或核酸酶易感連接體或區域B)與標準相比至少約20%裂解，例如至少約30%裂解、例如至少約40%裂解、例如至少約50%裂解、例如至少約60%裂解、例如至少約70%裂解、例如至少約75%裂解。

在一些實施例中，本發明之寡核苷酸偶聯物包括三個區域：i)第一區域(區域A)，其包括10 - 25個與靶核酸互補之鄰接核苷酸；ii)第二區域(區域B)，其包括生物可裂解連接體；及iii)第三區域(區域C)，其包括偶聯物部分，例如靶向去唾液酸糖蛋白受體之偶聯物部分，其中第三區域共價連接至以共價方式連接至第一區域之第二區域。

在本發明之一實施例中，寡核苷酸偶聯物在鄰接核苷酸序列(區域A)與靶向去唾液酸糖蛋白受體之偶聯物部分(區域C)之間包括生物可裂解連

接體(區域B)。

在一些實施例中，生物可裂解連接體可位於與靶核酸互補之鄰接核苷酸(區域A)之5'端及/或3'端。在一較佳實施例中，生物可裂解連接體位於5'端。

在一些實施例中，可裂解連接體易感可(例如)表現於靶細胞中之核酸酶。在一些實施例中，生物可裂解連接體係由2至5個連續磷酸二酯鏈接構成。連接體可為短區域(例如1 - 10，如連接體定義中所詳述)磷酸二酯連接之核苷。在一些實施例中，生物可裂解連接體區B中之核苷(視情況獨立地)選自由以下組成之群：DNA及RNA或其不干擾核酸酶裂解之修飾。不干擾核酸酶裂解之DNA及RNA核苷修飾可為非天然核鹼基。某些糖修飾性核苷亦可容許核酸酶裂解，例如 α -L-氧基-LNA。在一些實施例中，區域B中之所有核苷包括(視情況獨立地) 2'-OH核糖糖(RNA)或2'-H糖-亦即RNA或DNA。在一較佳實施例中，區域B之至少兩個連續核苷係DNA或RNA核苷(例如至少3或4或5個連續DNA或RNA核苷)。在一甚至更佳實施例中，區域B之核苷係DNA核苷。較佳地，區域B係由1至5或1至4 (例如2、3、4)個連續磷酸二酯連接之DNA核苷組成。在較佳實施例中，區域B較短以便其不招募RNaseH。在一些實施例中，區域B包括不超過3或不超過4個連續磷酸二酯連接之DNA及/或RNA核苷(例如DNA核苷)。

在區域B係由磷酸二酯連接之核苷構成之情形下，區域A及B可一起形成連接至區域C之寡核苷酸。在此背景下，區域A與區域B之不同之處可在於，區域A始於至少一個、較佳地至少兩個對靶核酸具有增加之結合親和力之經修飾核苷(例如LNA或具有2'取代糖部分之核苷)且區域A自身能夠調節靶核酸在相關細胞系中之表現。另外，若區域A包括DNA或RNA

核苷，則該等核苷與核酸酶抗性核苷間鏈接(例如硫代磷酸酯或硼烷磷酸酯)連接。另一方面，區域B在DNA與RNA核苷之間包括磷酸二酯鏈接。在一些實施例中，區域B並不與靶核酸互補或相對於靶核酸包括至少50%失配。

在一些實施例中，區域B並不與靶核酸序列或與區域A中之靶核酸互補之鄰接核苷酸互補。

在一些實施例中，區域B與靶核酸序列互補。就此而言，區域A及B一起可形成與靶序列互補之單一鄰接序列。

在本發明之一些態樣中，第一區域(區域A)及第二區域(區域B)之間之核苷間鏈接可視為第二區域之一部分。

在一些實施例中，基於存在於靶組織或細胞或子細胞腔室中之主要內核酸酶裂解酶，選擇區域B中之鹼基序列以提供最佳內核酸酶裂解位點。就此而言，藉由自靶組織及非靶組織分離細胞提取物，可基於期望靶細胞(例如肝/肝細胞)中與非靶細胞(例如腎)相比之優先裂解活性來選擇用於區域B中之內核酸酶裂解序列。就此而言，可針對期望組織/細胞最佳化合物關於靶下調之功效。

在一些實施例中，區域B包括序列AA、AT、AC、AG、TA、TT、TC、TG、CA、CT、CC、CG、GA、GT、GC或GG之二核苷酸，其中C可為5-甲基胞嘧啶，及/或T可經U代替。較佳地，核苷間鏈接係磷酸二酯鏈接。在一些實施例中，區域B包括序列AAA、AAT、AAC、AAG、ATA、ATT、ATC、ATG、ACA、ACT、ACC、ACG、AGA、AGT、AGC、AGG、TAA、TAT、TAC、TAG、TTA、TTT、TTC、TAG、TCA、TCT、TCC、TCG、TGA、TGT、TGC、TGG、CAA、CAT、

CAC、CAG、CTA、CTG、CTC、CTT、CCA、CCT、CCC、CCG、CGA、CGT、CGC、CGG、GAA、GAT、GAC、CAG、GTA、GTT、GTC、GTG、GCA、GCT、GCC、GCG、GGA、GGT、GGC及GGG之三核苷酸，其中C可為5-甲基胞嘧啶及/或T可經U代替。較佳地，核苷間鏈接係磷酸二酯鏈接。在一些實施例中，區域B包括序列AAAX、AATX、AACX、AAGX、ATAX、ATTX、ATCX、ATGX、ACAX、ACTX、ACCX、ACGX、AGAX、AGTX、AGCX、AGGX、TAAX、TATX、TACX、TAGX、TTAX、TTTX、TTCX、TAGX、TCAX、TCTX、TCCX、TCGX、TGAX、TGTX、TGCX、TGGX、CAAX、CATX、CACX、CAGX、CTAX、CTGX、CTCX、CTTX、CCAX、CCTX、CCCX、CCGX、CGAX、CGTX、CGCX、CGGX、GAAX、GATX、GACX、CAGX、GTAX、GTTX、GTCX、GTGX、GCAX、GCTX、GCCX、GCGX、GGAX、GGTX、GGCX及GGGX之三核苷酸，其中X可選自由以下組成之群：A、T、U、G、C及其類似物，其中C可為5-甲基胞嘧啶及/或T可經U代替。較佳地，核苷間鏈接係磷酸二酯鏈接。應識別到，在提及(天然)核鹼基A、T、U、G、C時，該等核鹼基可經用作等效天然核鹼基之核鹼基類似物(例如具有互補核苷之鹼基對)取代。

其他連接體(區域Y)

連接體可具有至少兩個官能基，一個官能基用於連接至寡核苷酸且另一個用於連接至偶聯物部分。實例性連接體官能基可為親電性以用於與寡核苷酸或偶聯物部分上之親核性基團進行反應，或為親核性以用於與親電性基團進行反應。在一些實施例中，連接體官能基包含胺基、羥基、羧

酸、硫醇、胺基磷酸酯、硫代磷酸酯、磷酸酯、亞磷酸酯、不飽和基團(例如雙鍵或三鍵)及諸如此類。一些實例性連接體(區域Y)包含8-胺基-3,6-二氧雜辛酸(ADO)、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺基酯(SMCC)、6-胺基己酸(AHEX或AHA)、6-胺基己基氧基、4-胺基丁酸、4-胺基環己基甲酸、琥珀醯亞胺基4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧基-(6-醯胺基-己酸酯) (LCSMCC)、間馬來醯亞胺基-苯甲酸琥珀醯亞胺基酯(MBS)、N-e-馬來醯亞胺基-辛酸琥珀醯亞胺基酯(EMCS)、6-(β -馬來醯亞胺基-丙醯胺基)己酸琥珀醯亞胺基酯(SMPH)、琥珀醯亞胺基N-(α -馬來醯亞胺基乙酸酯) (AMAS)、4-(p-馬來醯亞胺基苯基)丁酸琥珀醯亞胺基酯(SMPB)、 β -丙胺酸(β -ALA)、苯基甘胺酸(PHG)、4-胺基環己酸(ACHC)、 β -(環丙基)丙胺酸(β -CYPR)、胺基十二烷酸(ADC)、伸烷基二醇、聚乙二醇、胺基酸及諸如此類。在一些實施例中，連接體(區域Y)係胺基烷基，例如C2 - C36胺基烷基(包含(例如) C6 - C12胺基烷基)。在一較佳實施例中，連接體(區域Y)係C6胺基烷基。可(例如)使用(例如經保護)胺基烷基胺基磷酸胺基酯烷基酯添加至寡核苷酸(區域A或區域A-B)中以作為標準寡核苷酸合成之一部分。胺基烷基與寡核苷酸之間之鏈接基團可(例如)為硫代磷酸酯或磷酸二酯或本文所提及其他核苷鏈接基團中之一者。胺基烷基以共價方式連接至寡核苷酸之5'或3'端。市售胺基烷基連接體係(例如) 3'-胺基-修飾劑試劑(用於寡核苷酸之3'端處之鏈接)，且對於寡核苷酸之5'端處之鏈接而言，可使用5'-胺基-修飾劑C6。該等試劑可自Glen Research Corporation (Sterling, Va.)獲得。該等化合物或類似物在Krieg等人，Antisense Research and Development 1991, 1, 161中用於將螢光黃連接至寡核苷酸之5'-末端。業內已知眾多種其他連接體基團且可

用於將偶聯物部分連接至寡核苷酸。許多有用連接體基團之綜述可參見(例如) Antisense Research and Applications, S. T. Crooke及B. Lebleu編輯, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1993, 第303-350頁。其他化合物(例如吡啶)經由聚亞甲基鏈接連接至寡核苷酸之3'-末端磷酸酯基團(Asseline等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81, 3297)。任一上述基團皆可用作單一連接體(區域Y)或與一或多個其他連接體組合使用(區域Y-Y'或區域Y-B或B-Y)。

連接體及其製備寡核苷酸偶聯物之用途已在業內廣泛提供, 例如WO 96/11205 及 WO 98/52614 及 U.S. Pat. No. 4,948,882 ; 5,525,465 ; 5,541,313 ; 5,545,730 ; 5,552,538 ; 5,580,731 ; 5,486,603 ; 5,608,046 ; 4,587,044 ; 4,667,025 ; 5,254,469 ; 5,245,022 ; 5,112,963 ; 5,391,723 ; 5,510,475 ; 5,512,667 ; 5,574,142 ; 5,684,142 ; 5,770,716 ; 6,096,875 ; 6,335,432 ; 及6,335,437 ; WO 2012/083046, 該等案件中之每一者之全部內容皆以引用方式併入本文中。

製造方法

在另一態樣中, 本發明提供製造本發明寡核苷酸之方法, 其包括使核苷酸單元進行反應且由此形成包括於寡核苷酸中之以共價方式連接之鄰接核苷酸單元。較佳地, 該方法使用亞磷醯胺化學(例如參見Caruthers等人, 1987, Methods in Enzymology第154卷, 第287-313頁)。在另一實施例中, 該方法進一步包括使鄰接核苷酸序列與偶聯物部分(配體)進行反應。在另一態樣中, 提供製造本發明組合物之方法, 其包括混合本發明之寡核苷酸或偶聯寡核苷酸與醫藥上可接受之稀釋劑、溶劑、載劑、鹽及/或佐劑。

醫藥組合物

在另一態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包括任一上文所提及之寡核苷酸及/或寡核苷酸偶聯物及醫藥上可接受之稀釋劑、溶劑、載劑、鹽及/或佐劑。醫藥上可接受之稀釋劑包含磷酸緩衝鹽水(PBS)且醫藥上可接受之鹽包含(但不限於)鈉鹽及鉀鹽。在一些實施例中，醫藥上可接受之稀釋劑係無菌磷酸鹽緩衝鹽水。在一些實施例中，寡核苷酸以 50 - 300 μ M 溶液之濃度用於醫藥上可接受之稀釋劑中。

用於本發明中之適宜調配物可參見 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa.，第 17 版，1985。關於藥物遞送方法之簡要綜述，參見(例如) Langer (Science 249:1527-1533, 1990)。WO2007/031091 提供醫藥上可接受之稀釋劑、載劑及佐劑之其他適宜及較佳實例(以引用方式併入本文中)。適宜劑量、調配物、投與途徑、組合物、劑型、與其他治療劑之組合、前藥調配物亦提供於 WO2007/031091 中。

可混合本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物與醫藥上可接受之活性或惰性物質以用於製備醫藥組合物或調配物。組合物及調配醫藥組合物之方法取決於諸多準則，包含(但不限於)投與途徑、疾病程度或擬投與劑量。

該等組合物可藉由習用滅菌技術進行滅菌，或可無菌過濾。可將所得水溶液包裝以供按原樣使用或將其凍乾，將凍乾製劑在投與之前與無菌水性載劑組合。製劑之 pH 通常介於 3 與 11 之間，更佳地介於 5 與 9 之間或介於 6 與 8 之間，且最佳地介於 7 與 8 之間(例如 7 至 7.5)。可將呈固體形式之所得組合物包裝成多個單一劑量單元，每一單元含有固定量之上文所提及之

一或多種藥劑，例如呈錠劑或膠囊之密封包裝形式。亦可將呈固體形式之組合物包裝成用於撓性量之容器，例如呈設計用於局部施加之乳霜或軟膏之可擠壓管形式。

在一些實施例中，本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物係前藥。特定而言，對於寡核苷酸偶聯物而言，在將前藥遞送至作用位點(例如靶細胞)後，偶聯物部分立即與寡核苷酸分離。

應用

本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物可用作用於(例如)診斷、治療及預防之研究試劑。

在研究中，可使用該等寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物來特異性調節PD-L1蛋白在細胞(例如活體外細胞培養物)及實驗動物中之合成，由此促進靶之功能分析或其作為用於治療干預之靶之有用性的評價。通常，藉由降解或抑制產生蛋白質之mRNA (由此防止形成蛋白質)或藉由降解或抑制產生蛋白質之基因或mRNA之調節劑來達成靶調節。

若在研究或診斷中採用本發明寡核苷酸，則靶核酸可為cDNA或衍生自DNA或RNA之合成核酸。

本發明提供調節表現PD-L1之靶細胞中之PD-L1表現之活體內或活體外方法，該方法包括向該細胞投與有效量之本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物。

在一些實施例中，靶細胞係哺乳動物細胞、尤其人類細胞。靶細胞可為哺乳動物中之組織之活體外細胞培養物或活體內細胞形成部分。在較佳實施例中，靶細胞存在於肝中。肝靶細胞可選自實質細胞(例如肝細胞)及非實質細胞(例如庫弗氏細胞、LSEC、星形細胞(或Ito細胞)、膽管上皮

細胞及肝相關白血球(包含T細胞及NK細胞))。在一些實施例中，靶細胞係抗原呈遞細胞。抗原呈遞細胞在其表面上顯示與種類I或種類II主要組織相容性複合物(MHC)複合之外來抗原。在一些實施例中，抗原呈遞細胞表現種類II MHC (亦即職業性抗原呈遞細胞，例如樹突狀細胞、巨噬球及B細胞)。

在診斷中，可使用寡核苷酸藉由北方印漬(北方印漬)、原位雜交或類似技術來檢測及量化細胞及組織中之PD-L1表現。

對於治療而言，可將本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或其醫藥組合物投與懷疑患有疾病或病症之動物或人類，該疾病或病症可藉由降低PD-L1表現、尤其藉由降低肝靶細胞中之PD-L1表現來予以緩解或治療。

本發明提供治療或預防疾病之方法，其包括向患有或易感該疾病之個體投與治療或預防有效量之本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

本發明亦係關於用作藥劑之本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物通常係以有效量來投與。

本發明亦提供本發明之所闡述寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物之用途，其用以製造用於治療如本文所提及之疾病或病症之藥劑。在一實施例中，該疾病係選自a)病毒性肝感染，例如HBV、HCV及HDV；b)寄生蟲感染，例如瘧疾、弓蟲症、利什曼病及錐蟲病；及c)肝癌或肝中轉移。

在一實施例中，本發明係關於用於治療選自病毒或寄生蟲感染之疾

病或病症之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。在另一實施例中，該疾病係選自a)病毒性肝感染，例如HBV、HCV及HDV；b)寄生蟲感染，例如瘧疾、弓蟲症、利什曼病及錐蟲病；及c)肝癌或肝中轉移。

如本文所提及之疾病或病症與免疫耗竭有關。特定而言，疾病或病症與病毒特異性T細胞反應之耗竭有關。在一些實施例中，可藉由降低PD-L1表現來緩解或治療疾病或病症。

本發明方法較佳用於治療或預防與免疫耗竭有關之疾病。

在本發明之一實施例中，本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物可用於恢復針對肝癌或肝中轉移之免疫反應。

在本發明之一實施例中，本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物可用於恢復針對病原體之免疫反應。在一些實施例中，病原體可發現於肝中。病原體可為病毒或寄生蟲，尤其係本文所闡述者。在一較佳實施例中，病原體係HBV。

本發明另外係關於如本文所定義之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物之用途，其用以製造用於恢復針對如本文所提及病毒或寄生蟲感染之免疫性之藥劑。

本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物可用於治療病毒感染、尤其影響PD-1路徑之肝中之病毒感染(例如參見Kapoor及Kottilil 2014 Future Virol第9卷第565-585頁及Salem及El-Badawy 2015 World J Hepatol第7卷第2449-2458頁)。病毒性肝感染可選自由以下組成之群：肝炎病毒、尤其HBV、HCV及HDV、尤其該等感染之慢性形式。在一實施例中，使用本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物來治療HBV、尤其慢性HBV。慢性HBV感染之指標係循環中之高病毒負荷值

(HBV DNA)及甚至較高含量之空HBsAg顆粒(>100倍過量病毒體)。

本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物亦可用於治療與HIV共感染發生之病毒性肝感染。可使用本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物治療之其他病毒感染係lcmv (淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒)及HIV (呈單菌性感染形式)、HSV-1及HSV-2及其他疱疹病毒。該等病毒並非感染肝細胞傾向性，然而，其可對PDL1下調敏感。

在一些實施例中，免疫性或免疫反應之恢復涉及改良T細胞及/或NK細胞反應及/或緩解T細胞耗竭，特定而言，恢復HBV特異性T細胞反應、HCV特異性T細胞反應及或HDV特異性T細胞反應。可(例如)將T細胞反應之改良評價為與對照(例如在治療之前之值或在媒劑治療個體中之值)相比肝中之T細胞增加、尤其CD8+及/或CD4+ T細胞增加。在另一實施例中，病毒特異性CD8+ T細胞與對照相比有所恢復或增加，特定而言，HBV特異性CD8+ T細胞或HCV特異性CD8+ T細胞或HDV特異性CD8+ T細胞與對照相比有所恢復或增加。在一較佳實施例中，在使用本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物治療之個體中，與對照相比，HBV s抗原(HBsAg)特異性CD8+ T細胞及/或HBV e抗原(HBeAg)特異性CD8+ T細胞及/或HBV核心抗原(HBcAg)特異性CD8+ T細胞有所增加。較佳地，HBV抗原特異性CD8+ T細胞產生一或多種細胞介素(例如干擾素- γ (IFN- γ)或腫瘤壞死因子 α (TNF- α))。尤其在肝中觀察到上述CD8+ T細胞之增加。在與對照相比時，本文所闡述之增加應在統計學上顯著。較佳地，在與對照相比時，增加至少20% (例如25%，例如50%，例如75%)。在另一實施例中，藉由本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物活化天然殺手(NK)細胞及/或天然殺手T (NKT)細胞。

本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物可用於治療寄生蟲感染、尤其影響PD-1路徑之寄生蟲感染(例如參見Bhadra等人， 2012 J Infect Dis第206卷第125-134頁；Bhadra等人， 2011 Proc Natl Acad Sci U S A第108卷第9196-9201頁；Esch等人， J Immunol第191卷第5542-5550頁；Freeman及Sharpe 2012 Nat Immunol第13卷第113-115頁；Gutierrez等人， 2011 Infect Immun第79卷第1873-1881頁；Joshi等人， 2009 PLoS Pathog第5卷e1000431；Liang等人， 2006 Eur J Immunol第36卷第58-64頁；Wykes等人， 2014 Front Microbiol第5卷第249頁)。寄生蟲感染可選自由以下組成之群：瘧疾、弓蟲症、利什曼病及錐蟲病。瘧疾感染係由瘧原蟲屬、尤其物種間日瘧原蟲、三日瘧原蟲及惡性瘧原蟲之原生動物引起。弓蟲症係由弓蟲(*Toxoplasma gondii*)引起之寄生蟲疾病。利什曼病係由利什曼原蟲(*Leishmania*)屬之原生動物寄生蟲引起之疾病。錐蟲病係藉由布魯氏錐蟲(*Trypanosoma*)屬之原生動物引起。查加斯病(Chaga disease)係由物種克魯斯錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)引起之熱帶形式，且睡眠疾病係由物種布魯氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)引起。

在一些實施例中，免疫性恢復涉及恢復寄生蟲特異性T細胞及NK細胞反應、尤其瘧原蟲屬特異性T細胞反應、弓蟲特異性T細胞及NK細胞反應、利什曼原蟲特異性T細胞及NK細胞反應、克魯斯錐蟲特異性T細胞及NK細胞反應或布魯氏錐蟲特異性T細胞及NK細胞反應。在另一實施例中，恢復寄生蟲特異性CD8+ T細胞及NK細胞反應。

投與

可局部(例如皮膚、吸入、眼部或耳部)或經腸(例如經口或經由胃腸道)或非經腸(例如靜脈內、皮下、肌內、大腦內、大腦心室內或鞘內)投

與本發明之寡核苷酸或醫藥組合物。

在一較佳實施例中，藉由非經腸途徑(包含靜脈內、動脈內、皮下、腹膜腔內或肌內注射或輸注、鞘內或顱內(例如大腦內)或心室內、玻璃體內投與)投與本發明之寡核苷酸或醫藥組合物。在一實施例中，經靜脈內投與活性寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物。在另一實施例中，經皮下投與活性寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物。

在一些實施例中，以0.1 - 15 mg/kg (例如0.1 - 10 mg/kg，例如0.2 - 10 mg/kg，例如0.25 - 10 mg/kg，例如0.1 - 5 mg/kg，例如0.2 - 5 mg/kg，例如0.25 - 5 mg/kg)之劑量投與本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。可每週一次、每第2週，每第三週或甚至每月一次進行投與。

組合療法

在一些實施例中，將本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物與另一治療劑用於組合治療。治療劑可為(例如)用於上述疾病或病症之標準護理。

為治療慢性HBV感染，推薦使用抗病毒藥物及免疫系統調節劑之組合作為標準護理。有效針對HBV之抗病毒藥物係(例如)核苷(酸)類似物。5種核苷(酸)類似物已經許可用於治療HBV，亦即拉米夫定(lamivudine) (Epivir)、阿德福韋(adefovir) (Hepsera)、替諾福韋(tenofovir) (Viread)、替比夫定(telbivudine) (Tyzeka)、恩替卡韋(entecavir) (Baraclude)，該等藥劑有效阻抑病毒複製(HBV DNA)，但對HBsAg含量並無效應。其他抗病毒藥物包含利巴韋林(ribavirin)及HBV抗體療法(單株或多株)。免疫系統調節劑可為(例如)干擾素 α -2a及聚乙二醇化干擾素 α -2a

(Pegasys)或TLR7激動劑(例如GS-9620)或治療疫苗。IFN- α 治療僅展示降低病毒負荷之極輕微效應，但產生一定程度之HBsAg下降，但該下降極低(在48週療法之後<10%)。

本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物亦可與其他有效抵抗HBV之抗病毒藥物(例如闡述於WO2012/145697及WO 2014/179629中之反義寡核苷酸或闡述於WO 2005/014806、WO 2012/024170、WO 2012/2055362、WO 2013/003520及WO 2013/159109中之siRNA分子)進行組合。

在組合療法中投與本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物與其他藥劑時，可依序或同時將其投與個體。或者，本發明之醫藥組合物可包括本發明之寡核苷酸或寡核苷酸偶聯物以及如本文所闡述醫藥上可接受之賦形劑及業內已知之另一治療性或預防性藥劑的組合。

實施例

本發明之下列實施例可與本文所闡述之任一其他實施例組合使用。

1. 一種反義寡核苷酸，其包括長度為10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列或由其組成且能夠降低PD-L1表現。

2. 如實施例1之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與PD-L1靶核酸至少90%互補。

3. 如實施例1或2之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與選自由以下組成之群之靶核酸互補：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及/或SEQ ID NO: 3。

4. 如實施例1至3之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與SEQ ID NO: 1上之位置1及15720內之區域互補。

5. 如實施例1至4之寡核苷酸，其中該寡核苷酸能夠以低於-10 kcal之 ΔG° 雜交至選自由以下組成之群之靶核酸：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及/或SEQ ID NO: 3。

6. 如實施例1至5之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸之子序列互補，其中該子序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1上之位置371至3068、5467至12107、15317至15720、15317-18083、15317至19511及18881至19494。

7. 如實施例6之寡核苷酸，其中該子序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1上之位置7300至7333、8028至8072、9812至9859、11787至11873及15690至15735。

8. 如實施例2至7之寡核苷酸，其中該靶核酸係RNA。

9. 如實施例8之寡核苷酸，其中該RNA係mRNA。

10. 如實施例9之寡核苷酸，其中該 mRNA 係 mRNA 前體或成熟 mRNA。

11. 如實施例1至10之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列包括至少14個鄰接核苷酸、尤其15、16、17、18、19、20、21、22、23或24個鄰接核苷酸或由其組成。

12. 如實施例1至10之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列包括16至20個核苷酸或由其組成。

13. 如實施例1至10之寡核苷酸，其中該寡核苷酸包括14至35個核苷酸(長度)或由其組成。

14. 如實施例13之寡核苷酸，其中該寡核苷酸包括18至22個核苷酸(長度)或由其組成。

15. 如實施例1至14之寡核苷酸，其中該寡核苷酸或鄰接核苷酸序列係單鏈。

16. 如實施例1至15之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸之子序列互補，其中該子序列係選自由以下組成之群：A7、A26、A43、A119、A142、A159、A160、A163、A169、A178、A179、A180、A189、A201、A202、A204、A214、A221、A224、A226、A243、A254、A258、269、A274、A350、A360、A364、A365、A370、A372、A381、A383、A386、A389、A400、A427、A435及A438。

17. 如實施例16之寡核苷酸，其中該子序列係選自由以下組成之群：A221、A360、A180、A160及A269。

18. 如實施例1至17之寡核苷酸，其中該寡核苷酸並非siRNA且並不自我互補。

19. 如實施例1至18之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列包括選自SEQ ID NO: 5至743或771之序列或由其組成。

20. 如實施例1至19之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列包括選自以下之序列或由其組成：SEQ ID NO: 6、8、9、13、41、42、58、77、92、111、128、151、164、166、169、171、222、233、245、246、250、251、252、256、272、273、287、292、303、314、318、320、324、336、342、343、344、345、346、349、359、360、374、408、409、415、417、424、429、430、458、464、466、474、490、493、512、519、519、529、533、534、547、566、567、578、582、601、619、620、636、637、638、640、645、650、651、652、653、658、659、660、665、678、679、680、682、683、684、687、694、706、

716、728、733、734及735。

21. 如實施例1至20之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列包括選自SEQ ID NO:466、640、342、287及566之序列或由其組成。

22. 如實施例1至21之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與其互補靶核酸相比具有零至三個失配。

23. 如實施例22之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸相比具有一個失配。

24. 如實施例22之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸相比具有兩個失配。

25. 如實施例22之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸序列完全互補。

26. 如實施例1至25之寡核苷酸，其包括一或多個經修飾核苷。

27. 如實施例26之寡核苷酸，其中該一或多個經修飾核苷係高親和力經修飾核苷。

28. 如實施例26或27之寡核苷酸，其中該一或多個經修飾核苷係2'糖修飾性核苷。

29. 如實施例28之寡核苷酸，其中該一或多個2'糖修飾性核苷獨立地選自由以下組成之群：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、2'-氟-ANA及LNA核苷。

30. 如實施例28之寡核苷酸，其中該一或多個經修飾核苷係LNA核苷。

31. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾LNA核苷係氧基-LNA。

32. 如實施例31之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係 β -D-氧基-LNA。
33. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係硫代-LNA。
34. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係胺基-LNA。
35. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係cET。
36. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係ENA。
37. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾LNA核苷係選自 β -D-氧基-LNA、 α -L-氧基-LNA、 β -D-胺基-LNA、 α -L-胺基-LNA、 β -D-硫代-LNA、 α -L-硫代-LNA、(S)cET、(R)cET β -D-ENA及 α -L-ENA。
38. 如實施例30至37之寡核苷酸，其中除該經修飾LNA核苷外存在至少一個2'取代經修飾核苷。
39. 如實施例38之寡核苷酸，其中該2'取代經修飾核苷係選自由以下組成之群：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA (MOE)、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、2'-氟-ANA。
40. 如實施例1至39中任一項之寡核苷酸，其中該寡核苷酸包括至少一個經修飾核苷間鏈接。
41. 如實施例40之寡核苷酸，其中該經修飾核苷間鏈接係核酸酶抗性。
42. 如實施例40或41之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列內之至少50%之該等核苷間鏈接係硫代磷酸酯核苷間鏈接或硼烷磷酸酯核苷間鏈接。
43. 如實施例40或41之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列內之所有該等核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯核苷間鏈接。
44. 如實施例1至43之寡核苷酸，其中該寡核苷酸能夠招募RNase

H。

45. 如實施例44之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係間隙聚體。

46. 如實施例44或45之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係式5'-F-G-F'-3'之間隙聚體，其中區域F及F'獨立地包括1至7個經修飾核苷或由其組成且G係能夠招募RNaseH之6至16個核苷之區域。

47. 如實施例44或45之寡核苷酸，其中該間隙聚體具有式5'-D'-F-G-F'-3'或5'-F-G-F'-D''-3'，其中區域F及F'獨立地包括1至7個經修飾核苷，G係能夠招募RNaseH之6至16個核苷之區域且區域D'或D''包括1至5個磷酸二酯連接之核苷。

48. 如實施例47之寡核苷酸，其中D'或D''係可選的。

49. 如實施例47之寡核苷酸，其中區域D'係由兩個磷酸二酯連接之核苷組成。

50. 如實施例49之寡核苷酸，其中該等磷酸二酯連接之核苷係ca (胞苷-腺苷)。

51. 如實施例46或47之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係獨立地選自由以下組成之群之2'糖修飾性核苷：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、阿拉伯糖核酸(ANA)、2'-氟-ANA及LNA核苷。

52. 如實施例46至51之寡核苷酸，其中區域F及F'中之該等經修飾核苷中之一或多者係LNA核苷。

53. 如實施例52之寡核苷酸，其中區域F及F'中之所有該等經修飾核苷皆係LNA核苷。

54. 如實施例53之寡核苷酸，其中區域F及F'係由LNA核苷組成。

55. 如實施例52至54之寡核苷酸，其中區域F及F'中之所有該等經修飾核苷皆係氧基-LNA核苷。

56. 如實施例52之寡核苷酸，其中區域F或F'中之至少一者進一步包括至少一個獨立地選自由以下組成之群之2'取代經修飾核苷：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA、2'-胺基-DNA及2'-氟-DNA。

57. 如實施例46至56之寡核苷酸，其中區域G中之該等招募RNaseH之核苷獨立地選自DNA、 α -L-LNA、C4'烷基化DNA、ANA及2'F-ANA及UNA。

58. 如實施例57之寡核苷酸，其中區域G中之該等核苷係DNA及/或 α -L-LNA核苷。

59. 如實施例57或58之寡核苷酸，其中區域G由至少75%之DNA核苷組成。

60. 如實施例1至59之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係選自CMP ID NO: 5_1至743_1及771_1 (表5)中之任一者。

61. 如實施例1至60之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係選自由以下組成之群：CMP ID NO: 6_1、8_1、9_1、13_1、41_1、42_1、58_1、77_1、92_1、111_1、128_1、151_1、164_1、166_1、169_1、171_1、222_1、233_1、245_1、246_1、250_1、251_1、252_1、256_1、272_1、273_1、287_1、292_1、303_1、314_1、318_1、320_1、324_1、336_1、342_1、343_1、344_1、345_1、346_1、349_1、359_1、360_1、374_1、408_1、409_1、415_1、417_1、424_1、429_1、430_1、458_1、464_1、466_1、474_1、490_1、493_1、

512_1、519_1、519_1、529_1、533_1、534_1、547_1、566_1、567_1、578_1、582_1、601_1、619_1、620_1、636_1、637_1、638_1、640_1、645_1、650_1、651_1、652_1、653_1、658_1、659_1、660_1、665_1、678_1、679_1、680_1、682_1、683_1、684_1、687_1、694_1、706_1、716_1、728_1、733_1、734_1及735_1。

62. 如實施例1至61之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係選自由以下組成之群：CMP ID NO:287_1、342_1、466_1、640_1、566_1、766_1、767_1、768_1、769_1及770_1。

63. 一種反義寡核苷酸偶聯物，其包括

- a. 如實施例1至62中任一項之寡核苷酸(區域A)；及
- b. 至少一個以共價方式連接至該寡核苷酸之偶聯物部分(區域C)。

64. 如實施例63之寡核苷酸偶聯物，其中該偶聯物部分係選自碳水化合物、細胞表面受體配體、藥物物質、激素、親脂性物質、聚合物、蛋白質、肽、毒素、維他命、病毒蛋白質或其組合。

65. 如實施例63或64之寡核苷酸偶聯物，其中該偶聯物部分係含有碳水化合物之部分。

66. 如實施例65之寡核苷酸偶聯物，其中該碳水化合物偶聯物部分包括至少一個共價連接至如實施例1至62中任一項之寡核苷酸之靶向去唾液酸醣蛋白受體之部分。

67. 如實施例66之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分包括至少一個選自由以下組成之群之碳水化合物部分：半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基-半乳糖胺、N-乙醯基半乳糖胺、N-丙醯基-半乳

糖胺、N-正丁醯基-半乳糖胺及N-異丁醯基半乳糖胺。

68. 如實施例66或67之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係單價、二價、三價或四價。

69. 如實施例68之寡聚物偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係由二至四個末端GalNAc部分、將每一GalNAc部分連接至支化劑分子之PEG間隔體組成。

70. 如實施例66至69之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係三價N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分。

71. 如實施例66至70之寡核苷酸偶聯物，其中該偶聯物部分係選自圖1中之三價GalNAc部分中之一者。

72. 如實施例71之寡核苷酸偶聯物，其中該偶聯物部分係圖3中之三價GalNAc部分。

73. 如實施例63至72之寡核苷酸偶聯物，其中連接體存在於該寡核苷酸或鄰接寡核苷酸序列與該偶聯物部分之間。

74. 如實施例73之寡核苷酸偶聯物，其中該連接體係生理上不穩定連接體(區域B)。

75. 如實施例74之寡核苷酸偶聯物，其中該生理上不穩定連接體係核酸酶易感連接體。

76. 如實施例74或75之寡核苷酸偶聯物，其中該生理上不穩定連接體係由2至5個連續磷酸二酯鏈接構成。

77. 如實施例76之寡核苷酸偶聯物，其中該生理上不穩定連接體等效於實施例47至50中所呈現之區域D'或D''。

78. 如實施例63至77中任一項之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸偶

聯物係選自CMP ID NO: 766_2、767_2、768_2、769_2及770_2。

79. 如實施例78之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸偶聯物係選自圖4、5、6、7及8中所表示之寡核苷酸偶聯物。

80. 如實施例63至76之寡核苷酸偶聯物，其與未偶聯寡核苷酸相比顯示靶細胞中之PD-L1之改良抑制，或在肝與脾之間顯示改良之細胞分佈，或顯示偶聯寡核苷酸在肝中之改良之細胞攝取。

81. 一種醫藥組合物，其包括如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63至80之偶聯物及醫藥上可接受之稀釋劑、載劑、鹽及/或佐劑。

82. 一種製造如實施例1至62之寡核苷酸之方法，其包括使核苷酸單元進行反應，由此形成包括於該寡核苷酸中之以共價方式連接之鄰接核苷酸單元。

83. 如實施例82之方法，其進一步包括使該鄰接核苷酸序列與非核苷酸偶聯物部分進行反應。

84. 一種製造如實施例81之組合物之方法，其包括混合該寡核苷酸與醫藥上可接受之稀釋劑、載劑、鹽及/或佐劑。

85. 一種調節表現PD-L1之靶細胞中之PD-L1表現之活體內或活體外方法，該方法包括向該細胞投與有效量之如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63-80之偶聯物或如實施例81之醫藥組合物。

86. 一種治療或預防疾病之方法，其包括向患有或易患該疾病之個體投與治療或預防有效量之如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63-80之偶聯物或如實施例81之醫藥組合物。

87. 一種恢復針對病毒或寄生蟲之免疫性之方法，其包括向感染病毒或寄生蟲之個體投與治療或預防有效量之如實施例63至80之寡核苷酸偶

聯物或如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例81之醫藥組合物。

88. 如實施例87之方法，免疫性之該恢復係在與對照相比時增加肝中之對一或多種HBV抗原具有特異性之CD8+ T細胞。

89. 如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63至80之偶聯物或如實施例81之醫藥組合物，其用作用於治療或預防個體之疾病之藥劑。

90. 一種如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63至80之偶聯物之用途，其用以製備用於治療或預防個體之疾病之藥劑。

91. 如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63至80之偶聯物或如實施例81之醫藥組合物，其用於恢復針對病毒或寄生蟲之免疫性。

92. 如實施例91之用途，其中免疫性之該恢復係在與對照相比時增加肝中之對一或多種HBV抗原具有特異性之CD8+ T細胞。

93. 如實施例92之用途，其中該HBV抗原係HBsAg。

94. 如實施例86至93之方法、寡核苷酸或用途，其中該疾病與PD-L1之活體內活性有關。

95. 如實施例86至94之方法、寡核苷酸或用途，其中該疾病與抗原呈遞細胞中之增加之PD-L1表現有關。

96. 如實施例95之方法、寡核苷酸或用途，其中與未治療或在使用如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例63至80之偶聯物或如實施例81之醫藥組合物進行治療之前之表現相比，該PD-L1降低至少30%或至少40%或至少50%或至少60%或至少70%或至少80%或至少90%或至少95%。

97. 如實施例86至95之方法、寡核苷酸或用途，其中該疾病係選自病毒性肝感染或寄生蟲感染。

98. 如實施例98之方法、寡核苷酸或用途，其中該病毒感染係

HBV、HCV或HDV。

99. 如實施例86至95之方法、寡核苷酸或用途，其中該疾病係慢性HBV。

100. 如實施例98之方法、寡核苷酸或用途，其中該寄生蟲感染係瘧疾、弓蟲症、利什曼病或錐蟲病。

101. 如實施例86至100之方法、寡核苷酸或用途，其中該個體係哺乳動物。

102. 如實施例101之方法、寡核苷酸或用途，其中該哺乳動物係人類。

實例

材料及方法

基序序列及寡核苷酸化合物

表5：靶向人類PD-L1轉錄物(SEQ ID NO: 1)之寡核苷酸基序序列(由SEQ ID NO指示)、該等序列之設計以及基於基序序列設計之特定反義寡核苷酸化合物(由CMP ID NO指示)之列表。

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
5	taattggctctactgc	2-11-3	TAattggctctacTGC	5_1	236	-20
6	tcgcataagaatgact	4-10-2	TCGCataagaatgaCT	6_1	371	-19
7	tgaacacacagtcgca	2-12-2	TGaacacacagtcgCA	7_1	382	-19
8	ctgaacacacagtcgc	3-10-3	CTGaacacacagtCGC	8_1	383	-22
9	tctgaacacacagtcg	3-11-2	TCTgaacacacagtCG	9_1	384	-19
10	ttctgaacacacagtc	3-11-2	TTCTgaacacacagTC	10_1	385	-17
11	acaagtcatgttacta	2-11-3	ACaagtcatgttaCTA	11_1	463	-16
12	acacaagtcatgttac	2-12-2	ACacaagtcatgttAC	12_1	465	-14
13	cttacttagatgctgc	2-11-3	CTtacttagatgcTGC	13_1	495	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
14	acttacttagatgctg	2-11-3	ACttacttagatgCTG	14_1	496	-18
15	gacttacttagatgct	3-11-2	GACttacttagatgCT	15_1	497	-19
16	agacttacttagatgc	2-11-3	AGacttacttagaTGC	16_1	498	-18
17	gcaggaagagacttac	3-10-3	GCAggaagagactTAC	17_1	506	-20
18	aataaattccgttcagg	4-9-4	AATAaattccgttCAGG	18_1	541	-22
19	gcaaataaattccgtt	3-10-3	GCAaataaattccGTT	19_2	545	-18
19	gcaaataaattccgtt	4-8-4	GCAAataaattcCGTT	19_1	545	-20
20	agcaaataaattccgt	4-9-3	AGCAataaattcCGT	20_1	546	-20
21	cagagcaaataaattcc	4-10-3	CAGAgcaaataaatTCC	21_1	548	-21
22	tggacagagcaaataaat	4-11-3	TGGAcagagcaaataAAT	22_1	551	-19
23	atggacagagcaaata	4-8-4	ATGGacagagcaAATA	23_1	554	-20
24	cagaatggacagagca	2-11-3	CAgaatggacagaGCA	24_1	558	-21
25	ttctcagaatggacag	3-11-2	TTCtcagaatggacAG	25_1	562	-17
26	ctgaactttgacatag	4-8-4	CTGAactttgacATAG	26_1	663	-20
27	aagacaaaccagactga	2-13-3	AAGacaaaccagacTGA	27_1	675	-21
28	tataagacaaaccagac	4-10-4	TATAagacaaaccAGAC	28_1	678	-22
29	ttataagacaaaccaga	4-10-4	TTATAagacaaaccCAGA	29_1	679	-23
30	tggtataagacaaacc	4-10-3	TGTTataagacaaaCCC	30_1	682	-22
31	tagaacaatggtacttt	4-9-4	TAGAacaatggtactTTT	31_1	708	-20
32	gtagaacaatggtact	4-10-2	GTAGaacaatggtactCT	32_1	710	-19
33	aggtagaacaatggta	3-10-3	AGGtagaacaatgGTA	33_1	712	-19
34	aagaggtagaacaatgg	4-9-4	AAGAggtagaacaATGG	34_1	714	-21
35	gcatccacagtaaatt	2-12-2	GCatccacagtaaaTT	35_1	749	-17
36	gaagggtattttaattc	2-11-3	GAagggtattttaTTC	36_1	773	-13
37	ctaatcgaatgcagca	4-9-3	CTAAtcgaatgcaGCA	37_1	805	-22
38	taccaatctaatega	3-10-3	TACccaatctaateCGA	38_1	813	-20
39	tagttaccaatctaa	3-10-3	TAGttaccaatctTAA	39_1	817	-19
40	catttagttaccaat	3-10-3	CATttagttacccAAT	40_1	821	-18

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
41	tcatttagttacccaa	3-10-3	TCAtttagttaccCAA	41_1	822	-19
42	ttcatttagttaccca	2-10-4	TTcatttagttaCCCA	42_1	823	-22
43	gaattaatttcatttagt	4-10-4	GAATtaatttcattTAGT	43_1	829	-19
44	cagtgaggaattaattt	4-9-4	CAGTgaggaattaATTT	44_1	837	-20
45	ccaacagtgaggaatt	4-8-4	CCAACagtgaggAATT	45_1	842	-21
46	cccaacagtgaggaat	3-10-3	CCCaacagtgaggAAT	46_1	843	-22
47	tatacccaacagtgagg	2-12-3	TAtaccaacagtgAGG	47_1	846	-21
48	ttatacccaacagtgag	2-11-4	TTatacccaacagTGAG	48_1	847	-21
49	tttatacccaacagtga	3-11-3	TTTatacccaacagTGA	49_1	848	-21
50	cctttatacccaacag	3-10-3	CCTttatacccaaCAG	50_1	851	-23
51	taacctttatacccaa	4-8-4	TAACctttatacCCAA	51_1	854	-22
52	aataacctttataccca	3-10-4	AATaacctttataCCCA	52_1	855	-23
53	gtaaataacctttata	3-11-2	GTAaataacctttaTA	53_1	859	-14
54	actgtaaataacctttat	4-10-4	ACTGtaaataacctTTAT	54_1	860	-20
55	atatatatgcaatgag	3-11-2	ATAtatatgcaatgAG	55_1	903	-14
56	agatatatatgcaatg	2-12-2	AGatatatatgcaaTG	56_1	905	-12
57	gagatatatatgcaat	3-10-3	GAGatatatatgcAAT	57_1	906	-15
58	ccagagatatatatgc	2-11-3	CCagagatatataTGC	58_1	909	-19
59	caatattccagagatat	4-9-4	CAATattccagagATAT	59_1	915	-20
60	gcaatattccagagata	4-10-3	GCAATattccagagATA	60_1	916	-22
61	agcaatattccagagat	3-11-3	AGCaatattccagaGAT	61_1	917	-22
62	cagcaatattccagag	3-9-4	CAGCaatattccAGAG	62_1	919	-22
63	aatcagcaatattccag	4-9-4	AATCagcaatattCCAG	63_1	921	-23
64	acaatcagcaatattcc	4-9-4	ACAATcagcaataTTCC	64_1	923	-21
65	actaagtagttacacttct	2-14-3	ACTaagtagttacactTCT	65_1	957	-20
66	ctaagtagttacacttc	4-11-2	CTAAgtagttacactTC	66_1	958	-18
67	gactaagtagttacactt	3-12-3	GACTaagtagttacaCTT	67_1	959	-20
68	tgactaagtaggttaca	3-9-4	TGActaagtagtTACA	68_1	962	-19

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
69	ctttgactaagtagtta	4-10-3	CTTTgactaagtagTTA	69_1	964	-19
70	ctctttgactaagtag	3-10-3	CTCtttgactaagTAG	70_1	967	-19
71	gctctttgactaagta	4-10-2	GCTCtttgactaagTA	71_1	968	-21
72	ccttaaatactgttgac	2-11-4	CCtaaatactgtTGAC	72_1	1060	-20
73	cttaaatactgttgac	2-12-2	CTtaaatactgttgAC	73_1	1060	-13
74	tccttaaatactgttg	3-10-3	TCCtaaatactgtTTG	74_1	1062	-18
75	tctccttaaatactgtt	4-11-2	TCTCcttaaatactgtTT	75_1	1063	-19
76	tatcatagttctcctt	2-10-4	TAtcatagttctCCTT	76_1	1073	-21
77	agtatcatagttctcc	3-10-3	AGTatcatagttcTCC	77_1	1075	-22
78	gagtatcatagttctc	2-11-3	GAgtatcatagttCTC	78_1	1076	-18
79	agagtatcatagttct	2-10-4	AGagtatcatagTTCT	79_1	1077	-18
79	agagtatcatagttct	3-10-3	AGAgtatcatagTCT	79_2	1077	-19
80	cagagtatcatagttc	3-10-3	CAGagtatcatagTTC	80_1	1078	-18
81	ttcagagtatcatagt	4-10-2	TTCAgagtatcataGT	81_1	1080	-18
82	cttcagagtatcatag	3-9-4	CTTcagagtatcATAG	82_1	1081	-19
83	ttcttcagagtatcata	4-11-2	TTCTtcagagtatcaTA	83_1	1082	-19
84	tttcttcagagtatcat	3-10-4	TTTcttcagagtaTCAT	84_1	1083	-20
85	gagaaaggctaagttt	4-9-3	GAGAAaggctaagTTT	85_1	1099	-19
86	gacactcttgtaacatt	2-10-4	GAcactcttgtaCATT	86_1	1213	-19
87	tgagacactcttgtaaca	2-13-2	TGagacactcttgtaCA	87_1	1215	-18
88	tgagacactcttgtaac	2-11-3	TGagacactcttgTAC	88_1	1216	-18
89	ctttattaaactccat	2-10-4	CTttattaaactCCAT	89_1	1266	-18
90	accaaactttattaaa	4-10-2	ACCAaactttattaAA	90_1	1272	-14
91	aaacctctactaagtg	4-10-2	AAACctctactaagTG	91_1	1288	-16
92	agattaagacagttga	2-11-3	AGattaagacagtTGA	92_1	1310	-16
93	aagtaggagcaagaggc	2-12-3	AAgtaggagcaagaGGC	93_1	1475	-22
94	aaagtaggagcaagagg	4-10-3	AAAGtaggagcaagAGG	94_1	1476	-20
95	gttaagcagccaggag	2-12-2	GTtaagcagccaggAG	95_1	1806	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
96	agggtaggatgggtag	2-12-2	AGggtaggatgggTAG	96_1	1842	-20
97	aaggtaggatgggta	3-11-2	AAGggtaggatgggTA	97_1	1843	-20
98	caaggtaggatgggt	2-12-2	CAaggtaggatggGT	98_2	1844	-20
98	caaggtaggatgggt	3-11-2	CAAggtaggatggGT	98_1	1844	-21
99	ccaaggtaggatggg	2-12-2	CCaaggtaggatgGG	99_1	1845	-22
100	tccaaggtaggatgg	2-12-2	TCaaggtaggatGG	100_1	1846	-20
101	cttccaaggtaggat	4-10-2	CTTCaaggtaggAT	101_1	1848	-21
102	atctccaaggtagga	3-12-2	ATCtccaaggtagGA	102_1	1849	-22
103	agaagtgatggctcatt	2-11-4	AGaagtgatggctCATT	103_1	1936	-21
104	aagaagtgatggctcat	3-10-4	AAGaagtgatggcTCAT	104_1	1937	-21
105	gaagaagtgatggctca	3-11-3	GAAgaagtgatggcTCA	105_1	1938	-21
106	atgaaatgtaaactggg	4-9-4	ATGAaatgtaaactGGG	106_1	1955	-21
107	caatgaaatgtaaactgg	4-10-4	CAATgaaatgtaaactTGG	107_1	1956	-20
108	gcaatgaaatgtaaactg	4-10-4	GCAATgaaatgtaaactTG	108_1	1957	-20
109	agcaatgaaatgtaaact	4-10-4	AGCAatgaaatgtaaactT	109_1	1958	-20
110	gagcaatgaaatgtaaact	4-10-4	GAGCaatgaaatgtaaactT	110_1	1959	-19
111	tgaattcccatatccga	2-12-3	TGaattcccatatcCGA	111_1	1992	-22
112	agaattatgaccatat	2-11-3	AGaattatgaccaTAT	112_1	2010	-15
113	aggtaagaattatgacc	3-10-4	AGGtaagaattatGACC	113_1	2014	-21
114	tcaggtaagaattatgac	4-10-4	TCAGtaagaattatTGAC	114_1	2015	-22
115	cttcaggtaagaattatg	4-10-4	CTTCaggtaagaattatTATG	115_1	2017	-21
116	tcttcaggtaagaatta	4-9-4	TCTTcaggtaagaATTA	116_1	2019	-20
117	cttcttcaggtaagaat	4-9-4	CTTcttcaggtaaGAAT	117_1	2021	-21
118	tcttcttcaggtaagaa	4-10-3	TCTTcttcaggtaaGAA	118_1	2022	-20
119	tcttcttcaggtaaga	3-10-3	TCTtcttcaggtaAGA	119_1	2023	-20
120	tggtctaagagaagaag	3-10-4	TGGtctaagagaagaAG	120_1	2046	-20
121	gttggtctaagagaag	4-9-3	GTTGgtctaagagaAG	121_1	2049	-19
123	cagttggtctaagagaa	2-11-4	CAGttggtctaagAGAA	123_1	2050	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
124	gcagttggctaaagaaa	3-13-2	GCAgttggctaaagAA	124_1	2050	-22
122	agttggctaaagaaa	3-9-4	AGTtggctaaagAGAA	122_1	2050	-20
126	gcagttggctaaagaga	2-13-2	GCagttggctaaagaGA	126_1	2051	-21
125	cagttggctaaagaga	4-10-2	CAGTtggctaaagaGA	125_1	2051	-21
127	gcagttggctaaagag	2-11-3	GCagttggctaaGAG	127_1	2052	-21
128	ctcatatcagggcagt	2-10-4	CTcatatcagggCAGT	128_1	2063	-24
129	cacacatgttctttaac	4-11-2	CACAcatgttctttaAC	129_1	2087	-18
130	taaatacacacatgttet	3-11-4	TAAatacacacatgTTCT	130_1	2092	-19
131	gtaaatacacacatgttc	4-11-3	GTAAatacacacatgTTC	131_1	2093	-19
132	tgtaaatacacacatgtt	4-10-4	TGTAatacacacaTGTT	132_1	2094	-22
133	gatcatgtaaatacacac	4-10-4	GATCatgtaaatacACAC	133_1	2099	-20
134	agatcatgtaaatacaca	4-10-4	AGATcatgtaaataCACA	134_1	2100	-21
135	caaagatcatgtaaatacac	4-12-4	CAAagatcatgtaaatACAC	135_1	2101	-19
136	acaaagatcatgtaaataca	4-12-4	ACAAagatcatgtaaTACA	136_1	2102	-20
137	gaatacaaagatcatgta	4-10-4	GAATacaaagatcaTGTA	137_1	2108	-20
138	agaatacaaagatcatgt	4-10-4	AGAAatacaaagatcATGT	138_1	2109	-20
139	cagaatacaaagatcatg	4-10-4	CAGAatacaaagatCATG	139_1	2110	-21
140	gcagaatacaaagatca	4-9-4	GCAGaatacaaagATCA	140_1	2112	-22
141	aggcagaatacaaagat	4-11-2	AGGCagaatacaaagAT	141_1	2114	-19
142	aaggcagaatacaaaga	4-10-3	AAGGcagaatacaaAGA	142_1	2115	-19
143	attagtgaggacgaa	3-10-3	ATTagtgaggacGAA	143_1	2132	-18
144	cattagtgaggacga	2-11-3	CATTagtgaggacGA	144_1	2133	-20
145	gagggtgatggattag	2-11-3	GAgggtgatggatTAG	145_1	2218	-19
146	ttaggagtaataaagg	2-10-4	TTaggagtaataAAGG	146_1	2241	-14
147	ttaatgaatttggtg	3-11-2	TTAatgaatttggtTG	147_1	2263	-13
148	ctttaatgaatttggt	2-12-2	CTTaatgaatttgGT	148_1	2265	-14
149	catggattacaactaa	4-10-2	CATGgattacaactAA	149_1	2322	-16
150	tcatggattacaacta	2-11-3	TCatggattacaaCTA	150_1	2323	-16

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
151	gtcatggattacaact	3-11-2	GTCatggattacaaCT	151_1	2324	-18
152	cattaaatctagtc	2-10-4	CAttaaatctagTCAT	152_1	2335	-16
153	gacattaaatctagtc	4-10-3	GACAttaaatctagTCA	153_1	2336	-19
154	agggacattaaatcta	4-10-2	AGGGacattaaatcTA	154_1	2340	-18
155	caaagcattataacca	4-9-3	CAAAGcattataaCCA	155_1	2372	-18
156	acttactaggcagaag	2-10-4	ACttactaggcaGAAG	156_1	2415	-19
157	cagagttaactgtaca	4-10-2	CAGAgttaactgtCA	157_1	2545	-20
158	ccagagttaactgtac	4-10-2	CCAGagttaactgtAC	158_1	2546	-20
159	gccagagttaactgta	2-12-2	GCcagagttaactgTA	159_1	2547	-20
160	tgggccagagttaact	2-12-2	TGggccagagttaaCT	160_1	2550	-21
161	cagcatctatcagact	2-12-2	CAGcatctatcagaCT	161_1	2576	-19
162	tgaataacatgagtc	3-11-4	TGAaataacatgagTCAT	162_1	2711	-19
163	gtgaataacatgagtc	3-10-4	GTGaaataacatgAGTC	163_1	2713	-19
164	tctgtttatgtcactg	4-10-2	TCTGtttatgtcacTG	164_1	2781	-20
165	gtctgtttatgtcact	4-10-2	GTCTgtttatgtcaCT	165_1	2782	-22
166	tggctctgtttatgtca	2-10-4	TGgtctgtttatGTCA	166_1	2784	-21
167	ttggctctgtttatgtc	4-10-2	TTGGtctgtttatgTC	167_1	2785	-20
168	tcaccattgtttaa	2-12-2	TCaccattgtttaAA	168_1	2842	-15
169	ttcagcaaattatcgt	2-10-4	TTcagcaaattatTCGT	169_1	2995	-17
170	gtgtgttcagcaaattat	3-10-4	GTGtgttcagcaaATAT	170_1	2999	-21
171	tctattgttaggtatc	3-10-3	TCTattgttaggtATC	171_1	3053	-18
172	attgcccatcttactg	2-12-2	ATgcccatcttacTG	172_1	3118	-19
173	tattgcccatcttact	3-11-2	TATtgcccatcttaCT	173_1	3119	-21
174	aaatattgcccatctt	2-11-3	AAatattgcccatCTT	174_1	3122	-17
175	ataaccttatcataca	3-11-2	ATAaccttatcataCA	175_1	3174	-16
176	tataaccttatcat	2-11-3	TAtaaccttatcaTAC	176_1	3175	-14
177	ttataaccttatcata	3-11-2	TTAtaaccttatcaTA	177_1	3176	-14
178	ttataaccttatcat	3-10-3	TTTataaccttatCAT	178_1	3177	-16

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
179	actgctattgctatct	2-11-3	ACtgcattgctaTCT	179_1	3375	-19
180	aggactgctattgcta	2-11-3	AGgactgctattgCTA	180_1	3378	-21
181	gaggactgctattgct	3-11-2	GAGgactgctattgCT	181_1	3379	-22
182	acgtagaataataaca	2-12-2	ACgtagaataataaCA	182_1	3561	-11
183	ccaagtgatataatgg	2-10-4	CCaagtgatataATGG	183_1	3613	-19
184	ttagcagaccaagtga	2-10-4	TTagcagaccaaGTGA	184_1	3621	-21
185	gtttagcagaccaagt	2-12-2	GTttagcagaccaaGT	185_1	3623	-19
186	tgacagtgattatatt	2-12-2	TGacagtgattataTT	186_1	3856	-13
187	tgtccaagatattgac	4-10-2	TGTCcaagatattgAC	187_1	3868	-18
188	gaatatcctagattgt	3-10-3	GAAtatcctagatTGT	188_1	4066	-18
189	caaactgagaatatcc	2-11-3	CAaactgagaataTCC	189_1	4074	-16
190	gcaaactgagaatc	3-11-2	GCAaactgagaataTC	190_1	4075	-16
191	tcctattacaatcgta	3-11-2	TCCtattacaatcgTA	191_1	4214	-19
192	ttcctattacaatcgt	4-10-2	TTCCtattacaatcGT	192_1	4215	-19
193	actaatgggaggattt	2-12-2	ACtaatgggaggatTT	193_1	4256	-15
194	tagttcagagaataag	2-12-2	TAgttcagagaataAG	194_1	4429	-13
195	taacatatagttcaga	2-11-3	TAacatatagttcAGA	195_1	4436	-15
196	ataacatatagttcag	3-11-2	ATAacatatagttcAG	196_1	4437	-14
197	cataacatatagttca	2-12-2	CAtaacatatagttCA	197_1	4438	-13
198	tcataacatatagttc	2-12-2	TCataacatatagtTC	198_1	4439	-12
199	tagctcctaacaatca	4-10-2	TAGCtcctaacaatCA	199_1	4507	-22
200	ctccaatctttgtata	4-10-2	CTCCAatctttgtTA	200_1	4602	-20
201	tctccaatctttgtat	4-10-2	TCTCcaatctttgtAT	201_1	4603	-19
202	tctatttcagccaatc	2-12-2	TCtatttcagccaaTC	202_1	4708	-17
203	cggaagtcagagtgaa	3-10-3	CGGaagtcagagtGAA	203_1	4782	-19
204	ttaagcatgagggaata	4-10-2	TTAAgcatgaggaaTA	204_1	4798	-16
205	tgattgagcacctctt	3-10-3	TGAttgagcacctCTT	205_1	4831	-22
206	gactaattatttcggt	3-11-2	GACtaattatttcgTT	206_1	4857	-15

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
207	tgactaattatttcgt	3-10-3	TGActaattatttCGT	207_1	4858	-17
208	gtgactaattatttcg	3-10-3	GTGactaattattTCG	208_1	4859	-17
209	ctgcttgaaatgtgac	4-10-2	CTGCttgaaatgtgAC	209_1	4870	-20
210	cctgcttgaaatgtga	2-11-3	CCtgcttgaaatgTGA	210_1	4871	-21
211	atcctgcttgaaatgt	2-10-4	ATcctgcttgaaATGT	211_1	4873	-20
212	attataaatctattct	3-10-3	ATTataaatctatTCT	212_1	5027	-13
213	gctaaatactttcatc	2-11-3	GCtaaatactttcATC	213_1	5151	-16
214	cattgtaacataccta	2-10-4	CAttgtaacataCCTA	214_1	5251	-19
215	gcattgtaacatacct	2-12-2	GCattgtaacatacCT	215_1	5252	-18
216	taatattgcaccaa	2-12-2	TAatattgcaccaaAT	216_1	5295	-13
217	gataatattgcaccaa	2-11-3	GAtaatattgcacCAA	217_1	5297	-16
218	agataatattgcacca	2-12-2	AGataatattgcacCA	218_1	5298	-16
219	gccaagaagataatat	2-10-4	GCcaagaagataATAT	219_1	5305	-17
220	cacagccacataaact	4-10-2	CACAgccacataaaCT	220_1	5406	-21
221	ttgtaattgtggaaac	2-12-2	TTgtaattgtggaaAC	221_1	5463	-12
222	tgacttgtaattgtgg	2-11-3	TGacttgtaattgTGG	222_1	5467	-18
223	tctaactgaaatagtc	2-12-2	TCtaactgaaatagTC	223_1	5503	-13
224	gtggttctaactgaaa	3-11-2	GTGgttctaactgaAA	224_1	5508	-16
225	caatatgggacttggt	2-12-2	CAatatgggacttgGT	225_1	5522	-18
226	atgacaatatgggact	3-11-2	ATGacaatatgggaCT	226_1	5526	-17
227	tatgacaatatgggac	4-10-2	TATGacaatatgggAC	227_1	5527	-17
228	atatgacaatatggga	4-10-2	ATATgacaatatggGA	228_1	5528	-17
229	cttcacttaataatta	2-11-3	CTtcacttaataaTTA	229_1	5552	-13
230	ctgcttcacttaataa	4-10-2	CTGCttcacttaatAA	230_1	5555	-18
231	aagactgcttcactta	2-11-3	AAGactgcttcacTTA	231_1	5559	-17
232	gaatgccctaattatg	4-10-2	GAATgccctaattaTG	232_1	5589	-19
233	tggaatgccctaatta	3-11-2	TGGAatgccctaataTA	233_1	5591	-19
234	gcaaatgccagtaggt	3-11-2	GCAaatgccagtagGT	234_1	5642	-23

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
235	cta atggaaggattg	3-11-2	CTAatggaaggattTG	235_1	5673	-15
236	aata tagaaccta atg	2-12-2	AAatagAACctaaTG	236_1	5683	-10
237	gaa agaata ga atgtt	3-10-3	GAAagaata gaatGTT	237_1	5769	-12
238	atgg gtaata gattat	3-11-2	ATGggtaatagattAT	238_1	5893	-15
239	gaa agagcacagggtg	2-12-2	GAaagagcacagggTG	239_1	6103	-18
240	ctac atagaggga atg	4-10-2	CTACatagagggaTG	240_1	6202	-18
241	gctt ctac atagagg	2-10-4	GCttctacataGAGG	241_1	6207	-24
242	tgctt ctac atagag	4-10-2	TGCTtctacatagAG	242_1	6208	-22
243	tgg gcttgaa atatgt	2-11-3	TGggcttgaaataTGT	243_1	6417	-19
244	catt atattta aga ac	3-11-2	CATtatttttaagaAC	244_1	6457	-11
245	tcg gttatgtt atcat	2-10-4	TCggttatgttaTCAT	245_1	6470	-19
246	cactt tatctgg tcgg	2-10-4	CActttatctggTCGG	246_1	6482	-22
247	aa attggcac agcgtt	3-10-3	AAAttggcacagcGTT	247_1	6505	-18
248	acc gtgac agt aa atg	4-9-3	ACCGtgacagtaaATG	248_1	6577	-20
249	tgg gaaccgtgac agta	2-13-2	TGggaaccgtgacagTA	249_1	6581	-22
250	ccac atatagg tcctt	2-11-3	CCacatataggtcCTT	250_1	6597	-21
251	cat attgct accatac	2-11-3	CAtattgctaccaTAC	251_1	6617	-18
252	tcat attgct accata	3-10-3	TCAtattgctaccATA	252_1	6618	-19
253	ca attgtcat attgct	4-8-4	CAATgtgcatatTGCT	253_1	6624	-21
254	catt caattgtcat attg	3-12-3	CATtcaattgtcataTTG	254_1	6626	-18
255	ttt ctactgg ga atttg	4-9-4	TTTCtactgggaaTTTG	255_1	6644	-20
256	ca attagtgc agccag	3-10-3	CAAttagtgcagcCAG	256_1	6672	-21
257	ga ata atgtt ctatcc	4-10-3	GAATAatgttcttaTCC	257_1	6704	-20
258	caca aattga ata atgttct	4-13-3	CACAaattgaataatgtTCT	258_1	6709	-20
259	cat gcacaa attga ata at	4-11-4	CATGcacaaattgaaTAAT	259_1	6714	-20
260	atc ctgca atttcac at	3-11-3	ATCctgcaatttcaCAT	260_1	6832	-22
261	ccac catagct gatca	2-12-2	CCaccatagctgatCA	261_1	6868	-22
262	accac catagct gatca	2-12-3	ACCaccatagctgaTCA	262_1	6868	-23

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
263	caccaccatagctgac	2-13-2	CACCaccatagctgaTC	263_1	6869	-21
264	tagtcggcaccaccat	2-12-2	TAGtcggcaccaccAT	264_1	6877	-22
265	cttgtagtcggcaccac	1-14-2	CttgtagtcggcaccAC	265_1	6880	-21
266	cttgtagtcggcacca	1-13-2	CttgtagtcggcacCA	266_1	6881	-21
267	cgcttgtagtcggcac	2-12-2	CGcttgtagtcggcAC	267_1	6883	-21
268	tcaataaagatcaggc	3-11-2	TCAataaagatcagGC	268_1	6942	-17
269	tggacttacaagaatg	2-12-2	TGgacttacaagaaTG	269_1	6986	-14
270	atggacttacaagaat	3-11-2	ATGgacttacaagaAT	270_1	6987	-15
271	gctcaagaaattggat	4-10-2	GCTCaagaaattggAT	271_1	7073	-19
272	tactgtagaacatggc	4-10-2	TACTgtagaacatgGC	272_1	7133	-21
273	gcaattcatttgatct	4-9-3	GCAAttcatttgaTCT	273_1	7239	-20
274	tgaagggaggaggacac	2-14-2	TGaagggaggaggacAC	274_1	7259	-20
275	agtggggaagggaggag	2-13-2	AGtggtgaagggaggAG	275_1	7265	-21
276	tagtggtgaagggaggag	2-14-2	TAgtggtgaagggaggAG	276_1	7265	-21
277	atagtgggaagggaggag	1-16-2	AtagtgggaagggaggAG	277_1	7265	-20
278	tagtggtgaagggagga	2-13-2	TAgtggtgaagggaggGA	278_1	7266	-21
279	atagtgggaagggagga	2-14-2	ATagtgggaagggaggGA	279_1	7266	-21
280	tagtggtgaagggagg	3-11-2	TAGtggtgaagggaGG	280_1	7267	-21
281	atagtgggaagggagg	3-12-2	ATAgtggtgaagggaGG	281_1	7267	-22
282	gatatgggaagggagg	2-14-2	GAtagtgggaagggaGG	282_1	7267	-21
283	atagtgggaagggag	4-10-2	ATAGtggtgaagggaAG	283_1	7268	-20
284	gatatgggaagggag	2-12-3	GAtagtgggaaggGAG	284_1	7268	-21
285	gagatagtggtgaagg	2-10-4	GAgatagtggtGAAGG	285_1	7271	-20
286	catgggagatagtggt	4-10-2	CATGggagatagtGT	286_1	7276	-22
287	acaaataatggttactct	4-10-4	ACAAataatggttaCTCT	287_1	7302	-20
288	acacacaaataatggtta	4-10-4	ACACacaaataatGTTA	288_1	7306	-20
289	gaggacacacaaataat	3-11-4	GAGggacacacaaaTAAT	289_1	7311	-21
290	atatagagaggctcaa	4-8-4	ATATagagaggcTCAA	290_1	7390	-21

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
291	ttgatatagagaggct	2-10-4	TTgatatagagaGGCT	291_1	7393	-20
292	gcatttgatatagaga	4-9-3	GCA TtgatatagAGA	292_1	7397	-20
293	tttgcatttgatatag	2-11-3	TTtgcatttgataTAG	293_1	7400	-15
294	ctggaagaatagggttc	3-11-2	CTGgaagaataggTTC	294_1	7512	-17
295	actggaagaatagggtt	4-10-2	ACTGgaagaataggTT	295_1	7513	-18
296	tactggaagaatagggt	4-10-2	TACTggaagaataggGT	296_1	7514	-18
297	tggttctatcctgtact	4-10-2	TGGCttatcctgtactCT	297_1	7526	-25
298	atggcttctcctgtac	2-10-4	ATggcttctcctGTAC	298_1	7527	-22
299	tatggcttctcctgtga	4-10-2	TATGgcttctcctgTA	299_1	7528	-22
300	gtatggcttctcctgt	3-10-3	GTA tggcttctcctTGT	300_1	7529	-23
301	atgaatatatgccagct	2-11-4	ATgaatatatgccCAGT	301_1	7547	-22
302	gatgaatatatgccca	2-10-4	GATgaatatatgCCCA	302_1	7549	-22
303	caagatgaatatatgcc	3-10-4	CAAGatgaatatatTGCC	303_1	7551	-21
304	gacaacatcagtataga	4-9-4	GACAacatcagtaTAGA	304_1	7572	-22
305	caagacaacatcagta	4-8-4	CAAGacaacatcAGTA	305_1	7576	-20
306	cactcctagttccttt	3-10-3	CACtctagttccTTT	306_1	7601	-22
307	aacactcctagttcct	3-10-3	AACactcctagttCCT	307_1	7603	-22
308	taacactcctagttcc	2-11-3	TAacactcctagtTCC	308_1	7604	-20
309	ctaacactcctagttc	2-12-2	CTaacactcctagtTC	309_1	7605	-18
310	tgataacataactgtg	2-12-2	TGataacataactgTG	310_1	7637	-13
311	ctgataacataactgt	2-10-4	CTgataacataaCTGT	311_1	7638	-18
312	tttgaactcaagtgac	4-10-2	TTTGaactcaagtgAC	312_1	7654	-16
313	tcctttacttagctag	4-9-3	TCCTttacttagcTAG	313_1	7684	-23
314	gagtttgattagctg	2-11-3	GAgtttgattagCTG	314_1	7764	-20
315	tgggatatgacaggga	2-11-3	TGggatgacagGGA	315_1	7838	-21
316	tgtgggatatgacagg	4-10-2	TGTGggatgacagGG	316_1	7840	-22
317	atatggaagggatatc	4-10-2	ATATggaagggataTC	317_1	7875	-17
318	acagggatatggaaggg	3-10-3	ACA g gatatggaaGGG	318_1	7880	-21

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
319	atttcaacaggatatgg	4-9-4	ATTTcaacaggatATGG	319_1	7885	-20
320	gagtaatttcaacagg	2-11-3	GAGtaatttcaacAGG	320_1	7891	-17
321	agggagtaatttcaaca	4-9-4	AGGGagtaatttcAACA	321_1	7893	-22
322	attagggagtaatttca	4-9-4	ATTAgggagtaatTTCA	322_1	7896	-21
323	cttactattagggagt	2-10-4	CTtactattaggGAGT	323_1	7903	-20
324	cagcttactattaggg	2-11-3	CAGcttactattaGGG	324_1	7906	-20
326	atttcagcttactattag	3-11-4	ATTtcagcttactaTTAG	326_1	7908	-20
325	tcagcttactattagg	3-10-3	TCAgcttactattAGG	325_1	7907	-20
327	ttcagcttactattag	2-10-4	TTcagcttactaTTAG	327_1	7908	-17
328	cagatttcagcttact	4-10-2	CAGAtttcagcttaCT	328_1	7913	-21
329	gactacaactagaggg	3-11-2	GACtacaactagagGG	329_1	7930	-19
330	agactacaactagagg	4-10-2	AGACTacaactagaGG	330_1	7931	-19
331	aagactacaactagag	2-12-2	AAGactacaactagAG	331_1	7932	-13
332	atgatttaattctagtcaaa	4-12-4	ATGAtttaattctagtCAAA	332_1	7982	-20
333	tttaattctagtcaaa	3-10-3	TTTaatctagtcAAA	333_1	7982	-12
334	gatttaattctagtc	4-8-4	GATTtaattctaGTCA	334_1	7984	-20
771	tgatttaattctagtc	3-10-4	TGAtttaattctaGTCA	771_1	7984	-20
335	atgatttaattctagtc	4-11-3	ATGAtttaattctagTCA	335_1	7984	-20
336	gatgatttaattctagtc	4-13-2	GATGatttaattctagtCA	336_1	7984	-20
337	gatttaattctagtc	2-10-4	GAtttaattctaGTCA	337_1	7984	-18
338	gatgatttaattctagtc	4-11-3	GATGatttaattctaGTC	338_1	7985	-20
339	tgatttaattctagtc	2-12-2	TGatttaattctagTC	339_1	7985	-13
340	gagatgatttaattcta	4-9-4	GAGAtgatttaatTCTA	340_1	7988	-20
341	gagatgatttaattct	3-10-3	GAGatgatttaatTCT	341_1	7989	-16
342	cagattgatggtagtt	4-10-2	CAGAttgatggtagTT	342_1	8030	-19
343	ctcagattgatggtag	2-10-4	CTcagattgatgGTAG	343_1	8032	-20
344	gtagccctcagattg	3-10-3	GTTAgccctcagaTTG	344_1	8039	-23
345	tgtattgttagccctc	2-10-4	TGtattgttagcCCTC	345_1	8045	-24

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
346	acttgattgttagcc	2-10-4	ACttgtattgttAGCC	346_1	8048	-22
347	agccagtagatcaggac	3-11-2	AGCcagtagatcaggAC	347_1	8191	-23
348	ttgacaatagtggcat	2-10-4	TTgacaatagtGTCAT	348_1	8213	-20
349	acaagtggtagcttct	3-10-3	ACAagtggtagctTCT	349_1	8228	-19
350	aatctactttacaagt	4-10-2	AATCtactttacaaGT	350_1	8238	-16
351	cacagtagatgcctgata	2-12-4	CACagtagatgcctGATA	351_1	8351	-24
352	gaacacagtagatgcc	2-11-3	GAacacagtagatGCC	352_1	8356	-21
353	cttggaaacagtagat	4-11-2	CTTGgaacacagtagAT	353_1	8359	-20
354	atatcttggaaacag	3-10-3	ATAtcttggaaacCAG	354_1	8364	-18
355	tctttaatatcttggaaac	3-11-4	TCTttaatatcttGAAC	355_1	8368	-19
356	tgatttctttaatatcttg	2-13-4	TGatttctttaatatCTTG	356_1	8372	-19
357	tgatgatttctttaatac	2-13-4	TGatgatttctttaaTATC	357_1	8375	-18
358	aggctaagtcagtag	3-11-2	AGGctaagtcagTG	358_1	8389	-19
359	ttgatgaggctaagtc	4-10-2	TTGAtgaggctaagTC	359_1	8395	-19
360	ccaggattatactctt	3-11-2	CCAggattatactcTT	360_1	8439	-20
361	gccaggattatactct	2-10-4	GCcaggattataCTCT	361_1	8440	-23
362	ctgccaggattatact	3-11-2	CTGccaggattataCT	362_1	8442	-21
363	cagaaactatactttatg	4-13-2	CAGAAactatactttaTG	363_1	8473	-19
364	aagcagaaactatact	4-9-4	AAGCagaaacttaTACT	364_1	8478	-20
365	gaagcagaaactatact	3-11-4	GAAGcagaaacttaTACT	365_1	8478	-20
366	tggaagcagaaactatact	3-15-2	TGGAagcagaaactataCT	366_1	8478	-21
367	tggaagcagaaactatac	3-13-3	TGGAagcagaaacttaTAC	367_1	8479	-20
368	aagcagaaactatac	2-11-3	AAGcagaaacttaTAC	368_1	8479	-13
369	tggaagcagaaactata	3-11-4	TGGAagcagaaactTATA	369_1	8480	-21
370	aagggatattatggag	4-10-2	AAGGgatattatggAG	370_1	8587	-18
371	tgccggaagatttcct	2-12-2	TGccggaagatttcCT	371_1	8641	-21
372	atggattgggagtaga	4-10-2	ATGGattgggagtaGA	372_1	8772	-21
373	agatggattgggagta	2-12-2	AGatggattgggagTA	373_1	8774	-18

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
374	aagatggattgggagt	3-11-2	AAGatggattgggaGT	374_1	8775	-18
375	acaagatggattggga	2-10-4	ACaagatggattGGGA	375_1	8777	-20
375	acaagatggattggga	2-12-2	ACaagatggattggGA	375_2	8777	-17
376	agaaggttcagacttt	3-9-4	AGAaggttcagaCTTT	376_1	8835	-20
377	gcagaaggttcagact	2-11-3	GCagaaggttcagACT	377_1	8837	-21
377	gcagaaggttcagact	3-11-2	GCAGAaggttcagaCT	377_2	8837	-22
378	tgcagaaggttcagac	4-10-2	TGCAGAaggttcagAC	378_1	8838	-22
379	agtcagaaggttcag	2-11-3	AGtcagaaggttcAG	379_1	8840	-20
379	agtcagaaggttcag	4-10-2	AGTGcagaaggttcAG	379_2	8840	-21
380	aagtgcagaaggttca	4-10-2	AAGTgcagaaggttCA	380_1	8841	-20
381	taagtgcagaaggttc	2-10-4	TAagtgcagaagGTTC	381_1	8842	-19
382	tctaagtgcagaaggt	2-10-4	TCtaagtgcagaAGGT	382_1	8844	-21
383	ctcaggagttctacttc	3-12-2	CTCaggagttctactTC	383_1	8948	-20
384	ctcaggagttctactt	3-10-3	CTCaggagttctaCTT	384_1	8949	-21
385	atggaggtgactcaggag	1-15-2	AtggaggtgactcaggAG	385_1	8957	-20
386	atggaggtgactcagga	2-13-2	ATggaggtgactcagGA	386_1	8958	-21
387	atggaggtgactcagg	2-11-3	ATggaggtgactcAGG	387_1	8959	-21
388	tatggaggtgactcagg	2-12-3	TAtggaggtgactcAGG	388_1	8959	-21
389	atatggaggtgactcagg	2-14-2	ATatggaggtgactcaGG	389_1	8959	-21
390	tatggaggtgactcag	4-10-2	TATGgaggtgactcAG	390_1	8960	-21
391	atatggaggtgactcag	2-11-4	ATatggaggtgacTCAG	391_1	8960	-22
392	catatggaggtgactcag	2-14-2	CAtatggaggtgactcAG	392_1	8960	-20
393	atatggaggtgactca	3-10-3	ATAtggaggtgacTCA	393_1	8961	-20
394	catatggaggtgactca	2-12-3	CAtatggaggtgacTCA	394_1	8961	-21
395	catatggaggtgactc	2-10-4	CAtatggaggtgACTC	395_1	8962	-20
396	gcatatggaggtgactc	2-13-2	GCatatggaggtgacTC	396_1	8962	-21
397	tgcatatggaggtgactc	2-14-2	TGcatatggaggtgacTC	397_1	8962	-21
398	ttgcatatggaggtgactc	1-16-2	TtgcatatggaggtgacTC	398_1	8962	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
399	tttgcatatggaggtgactc	1-17-2	TttgcatatggaggtgacTC	399_1	8962	-21
400	gcatatggaggtgact	2-12-2	GCatatggaggtgaCT	400_1	8963	-20
401	tgcatatggaggtgact	2-13-2	TGcatatggaggtgaCT	401_1	8963	-20
402	ttgcatatggaggtgact	3-13-2	TTGcatatggaggtgaCT	402_1	8963	-22
403	tttgcatatggaggtgact	1-16-2	TttgcatatggaggtgaCT	403_1	8963	-20
404	tgcatatggaggtgac	3-11-2	TGCatatggaggtgAC	404_1	8964	-20
405	ttgcatatggaggtgac	3-11-3	TTGcatatggaggtGAC	405_1	8964	-21
406	tttgcatatggaggtgac	4-12-2	TTTGcatatggaggtgAC	406_1	8964	-21
407	tttgcatatggaggtga	4-11-2	TTTGcatatggaggtGA	407_1	8965	-21
408	tttgcatatggaggtg	2-10-4	TTtgcatatggaGGTG	408_1	8966	-21
409	aagtgaagttcaacagc	2-11-4	AAgtgaagttcaaCAGC	409_1	8997	-20
410	tgggaagtgaagttca	2-10-4	TGggaagtgaagTTCA	410_1	9002	-20
411	atgggaagtgaagttc	2-11-3	ATgggaagtgaagTTC	411_1	9003	-17
412	gatgggaagtgaagtt	4-9-3	GATGggaagtgaGTT	412_1	9004	-21
413	ctgtgatgggaagtgaa	3-11-3	CTGtgatgggaagtGAA	413_1	9007	-20
414	attgagtgaatccaaa	3-10-3	ATTgagtgaatccAAA	414_1	9119	-14
415	aattgagtgaatccaa	2-10-4	AAttgagtgaatCCAA	415_1	9120	-16
416	gataattgagtgaatcc	4-10-3	GATAattgagtgaTCC	416_1	9122	-20
417	gtgataattgagtgaa	3-10-3	GTGataattgagtGAA	417_1	9125	-16
418	aagaaaggtgcaataa	3-10-3	AAGaaaggtgcaaTAA	418_1	9155	-14
419	caagaaaggtgcaata	2-10-4	CAagaaaggtgcAATA	419_1	9156	-15
420	acaagaaaggtgcaat	4-10-2	ACAAGaaaggtgcaAT	420_1	9157	-16
421	atttaaacacaaaac	2-12-2	ATttaaacacaaaAC	421_1	9171	-10
422	ctgttaggttcagcga	2-10-4	CTgttaggttcaGCGA	422_1	9235	-24
423	tctgaatgaacatttcg	4-9-4	TCTGaatgaacatTTCG	423_1	9260	-20
424	ctcattgaaggttctg	2-10-4	CTcattgaaggtTCTG	424_1	9281	-20
425	ctaattctcattgaagg	3-11-2	CTAattctcattgaaGG	425_1	9286	-17
426	cctaattctcattgaag	2-12-2	CCtaattctcattgaAG	426_1	9287	-16

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
427	actttgatctttcagc	3-10-3	ACTTtgatctttcAGC	427_1	9305	-20
428	actatgcaacactttg	2-12-2	ACtatgcaacacttTG	428_1	9315	-15
429	caaatagctttatcgg	3-10-3	CAAatagctttatCGG	429_1	9335	-17
430	ccaaatagctttatcg	2-10-4	CCaaatagctttATCG	430_1	9336	-19
431	tccaaatagctttatc	4-10-2	TCCAatagctttaTC	431_1	9337	-18
432	gatccaaatagcttta	4-10-2	GATCcaaatagcttTA	432_1	9339	-18
433	atgatccaaatagctt	2-10-4	ATgatccaaataGCTT	433_1	9341	-19
434	tatgatccaaatagct	4-10-2	TATGatccaaatagCT	434_1	9342	-18
435	taaacagggtgggaat	4-9-4	TAAAcagggtggGAAT	435_1	9408	-22
436	acttaaacagggtgg	2-10-4	ACttaaacagggtCTGG	436_1	9412	-21
437	acacttaaacagggt	2-10-4	ACacttaaacagGGCT	437_1	9414	-22
438	gaacacttaaacagggt	4-8-4	GAACacttaaacAGGG	438_1	9416	-20
439	agagaacacttaaacag	4-9-4	AGAGaacacttaaACAG	439_1	9418	-20
440	ctacagagaacactta	4-8-4	CTACagagaacaCTTA	440_1	9423	-20
441	atgctacagagaacact	3-10-4	ATGctacagagaaCACT	441_1	9425	-22
442	ataaatgctacagagaaca	4-11-4	ATAAatgctacagagAACA	442_1	9427	-20
443	agataaatgctacagaga	2-12-4	AGataaatgctacaGAGA	443_1	9430	-20
444	tagagataaatgctaca	4-9-4	TAGAgataaatgcTACA	444_1	9434	-21
445	tagatagagataaatgct	4-11-3	TAGAtagagataaatGCT	445_1	9437	-20
446	caatatactagatagaga	4-10-4	CAATatactagataGAGA	446_1	9445	-21
447	tacacaatatactagatag	4-11-4	TACAcataatactagATAG	447_1	9448	-21
448	ctacacaatatactag	3-10-3	CTAcacaatatacTAG	448_1	9452	-16
449	gctacacaatatacta	4-8-4	GCTAcacaatatACTA	449_1	9453	-21
450	atatgctacacaatatac	4-10-4	ATATgctacacaatATAC	450_1	9455	-20
451	tgatatgctacacaat	4-8-4	TGATatgctacaCAAT	451_1	9459	-20
452	atgatatgatatgctac	4-9-4	ATGAtatgatatgCTAC	452_1	9464	-21
453	gaggagagagacaataaa	4-10-4	GAGGagagagacaaTAAA	453_1	9495	-20
454	ctaggaggagagagaca	3-11-3	CTAaggaggagagagACA	454_1	9500	-22

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
455	tattctaggaggagaga	4-10-3	TATTctaggaggagAGA	455_1	9504	-21
456	ttatattctaggaggag	4-10-3	TTATattctaggagGAG	456_1	9507	-21
457	gtttatattctaggag	3-9-4	GTTtatattctaGGAG	457_1	9510	-20
458	tggagtttatattctagg	2-12-4	TGgagtttatattcTAGG	458_1	9512	-22
459	cgtaccaccactctgc	2-11-3	CGtaccaccactcTGC	459_1	9590	-25
460	tgaggaaatcattcattc	4-10-4	TGAGgaaatcattcATTC	460_1	9641	-22
461	tttgaggaaatcattcat	4-10-4	TTTGaggaaatcatTCAT	461_1	9643	-20
462	aggctaatactatttg	4-10-2	AGGCtaatactattTG	462_1	9657	-22
463	tttaggctaatactat	4-8-4	TTTAGgctaatacCTAT	463_1	9660	-22
464	tgtccagtgtaccct	3-11-2	TGCtccagtgtaccCT	464_1	9755	-27
465	tagtagtactcgatag	2-10-4	TAgtagtactcgATAG	465_1	9813	-18
466	ctaattgtagtagtactc	3-12-3	CTAattgtagtagtaCTC	466_1	9818	-20
467	tgctaattgtagtagt	2-10-4	TGctaattgtagTAGT	467_1	9822	-19
468	agtgctaattgtagta	4-10-2	AGTGctaattgtagTA	468_1	9824	-19
469	gcaagtgctaattgta	4-10-2	GCAAgtgctaattgTA	469_1	9827	-20
470	gaggaaatgaactaattta	4-13-2	GAGGaaatgaactaattTA	470_1	9881	-18
471	caggaggaaatgaacta	4-11-2	CAGGaggaaatgaacTA	471_1	9886	-19
472	ccctagagtcatttcc	2-11-3	CCctagagtcattTCC	472_1	9902	-24
473	atcttacatgatgaagc	3-11-3	ATCttacatgatgaAGC	473_1	9925	-20
475	agacacactcagatttcag	2-15-2	AGacacactcagatttcAG	475_1	9967	-20
474	gacacactcagatttcag	3-13-2	GACacactcagatttcAG	474_1	9967	-20
476	aagacacactcagatttcag	3-15-2	AAGacacactcagatttcAG	476_1	9967	-21
477	agacacactcagatttca	2-13-3	AGacacactcagattTCA	477_1	9968	-20
478	aagacacactcagatttca	3-13-3	AAGacacactcagattTCA	478_1	9968	-21
479	aaagacacactcagatttca	2-14-4	AAagacacactcagatTTCA	479_1	9968	-20
480	gaaagacacactcagatttc	3-14-3	GAAagacacactcagatTTC	480_1	9969	-20
481	aagacacactcagatttc	4-11-3	AAGAcacactcagatTTC	481_1	9969	-21
482	aaagacacactcagatttc	4-11-4	AAAGacacactcagaTTTC	482_1	9969	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
483	tgaaagacacactcagattt	4-14-2	TGAAagacacactcagatTT	483_1	9970	-20
484	tgaaagacacactcagatt	2-13-4	TGaaagacacactcaGATT	484_1	9971	-21
485	tgaaagacacactcagat	3-12-3	TGAaagacacactcaGAT	485_1	9972	-20
486	attgaaagacacactca	4-10-3	ATTGaaagacacacTCA	486_1	9975	-19
487	tcattgaaagacacact	2-11-4	TCattgaaagacaCACT	487_1	9977	-18
488	ttccatcattgaaaga	3-9-4	TTCcatcattgaAAGA	488_1	9983	-18
489	ataataccacttatcat	4-9-4	ATAAtaccacttaTCAT	489_1	10010	-20
490	ttacttaatttctttgga	2-12-4	TTacttaatttcttTGGA	490_1	10055	-20
491	ttagaactagctttatca	3-12-3	TTAgaactagctttaTCA	491_1	10101	-20
492	gaggtacaaatatagg	3-10-3	GAGgtacaaatatAGG	492_1	10171	-18
493	cttatgatacaactta	3-10-3	CTTatgatacaacTTA	493_1	10384	-15
494	tcttatgatacaactt	2-11-3	TCttatgatacaaCTT	494_1	10385	-15
495	ttcttatgatacaact	3-11-2	TTCTtatgatacaaCT	495_1	10386	-15
496	cagtttcttatgatac	2-11-3	CAGtttcttatgaTAC	496_1	10390	-16
497	gcagtttcttatgata	3-11-2	GCAgtttcttatgaTA	497_1	10391	-19
498	tacaaatgtctattagggt	4-12-3	TACAaatgtctattagGTT	498_1	10457	-21
499	tgtacaaatgtctattag	4-11-3	TGTAc aaatgtctatTAG	499_1	10460	-20
500	agcatcacaaattagta	3-11-2	AGCatcacaaattagTA	500_1	10535	-18
501	cta atgatagtgaagc	3-11-2	CTAatgatagtgaGC	501_1	10548	-17
502	agcta atgatagtga	3-11-2	AGCta atgatagtgaAA	502_1	10550	-16
503	atgccttgacatatta	4-10-2	ATGCcttgacatatTA	503_1	10565	-20
504	ctcaagattattgacac	4-9-4	CTCAagattattgACAC	504_1	10623	-20
505	acctcaagattattga	2-10-4	ACctcaagattaTTGA	505_2	10626	-18
505	acctcaagattattga	3-9-4	ACCtcaagattaTTGA	505_1	10626	-20
506	aacctcaagattattg	4-10-2	AACCTcaagattatTG	506_1	10627	-17
507	cacaaacctcaagattatt	4-13-2	CACAaaacctcaagattaTT	507_1	10628	-20
508	gtacttaattagacct	3-9-4	GTActtaattagACCT	508_1	10667	-21
509	agtacttaattagacc	4-9-3	AGTActtaattagACC	509_1	10668	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
510	gtatgaggtggtaaac	4-10-2	GTATgaggtggtaaAC	510_1	10688	-18
511	aggaaacagcagaagtg	2-11-4	AGgaaacagcagaAGTG	511_1	10723	-21
512	gcacaacccagaggaa	2-12-2	GCacaacccagaggAA	512_1	10735	-20
513	caagcacaacccagag	3-11-2	CAAgcacaacccagAG	513_1	10738	-20
514	ttcaagcacaacccag	3-10-3	TTCaagcacaaccCAG	514_1	10740	-21
515	aattcaagcacaaccc	2-10-4	AAttcaagcacaACCC	515_1	10742	-20
516	taataattcaagcacaacc	4-13-2	TAATaattcaagcacaCC	516_1	10743	-20
517	actaataattcaagcac	4-9-4	ACTAataattcaaGCAC	517_1	10747	-20
518	ataataactaataattcaagc	4-12-4	ATAAtactaataattcAAGC	518_1	10749	-19
519	tagatttgtgaggtaa	2-10-4	TAgatttgtgagGTAA	519_1	11055	-18
520	agccttaattctccat	4-10-2	AGCCttaattctccAT	520_1	11091	-24
521	aatgatctagagcctta	4-9-4	AATGatctagagcCTTA	521_1	11100	-22
522	ctaatgatctagagcc	3-10-3	CTAatgatctagaGCC	522_1	11103	-22
523	actaatgatctagagc	3-9-4	ACTaatgatctaGAGC	523_1	11104	-21
524	cattaacatgttcttatt	3-11-4	CATtaacatgttctTATT	524_1	11165	-19
525	acaagtacattaacatgttc	4-12-4	ACAAGtacattaacatGTTC	525_1	11170	-22
526	ttacaagtacattaacatg	4-11-4	TTACAagtacattaaCATG	526_1	11173	-20
527	gctttattcatgtttat	4-9-4	GCTTtattcatgtTTAT	527_1	11195	-22
528	gctttattcatgttta	3-11-2	GCTTtattcatgttTA	528_1	11196	-18
529	agagctttattcatgttt	3-13-2	AGAgctttattcatgtTT	529_1	11197	-20
530	ataagagctttattcatg	4-10-4	ATAAgagctttattCATG	530_1	11200	-21
531	cataagagctttattca	4-9-4	CATAagagctttaTTCA	531_1	11202	-21
532	agcataagagctttat	4-8-4	AGCAtaagagctTTAT	532_1	11205	-22
533	tagattgtttagtgc	3-10-3	TAGattgtttagtGCA	533_1	11228	-20
534	gtagattgtttagtgc	2-10-4	GTagattgtttaGTGC	534_1	11229	-21
535	gacaattctagtagatt	4-9-4	GACAattctagtaGATT	535_1	11238	-21
536	ctgacaattctagtag	3-9-4	CTGacaattctaGTAG	536_1	11241	-20
537	gctgacaattctagta	4-10-2	GCTGacaattctagTA	537_1	11242	-21

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
538	aggattaagatacgta	2-12-2	AGgattaagatacgTA	538_1	11262	-15
539	caggattaagatacgt	2-11-3	CAGgattaagataCGT	539_1	11263	-17
540	tcaggattaagatacg	3-11-2	TCAggattaagataCG	540_1	11264	-16
541	ttcaggattaagatac	2-10-4	TTcaggattaagATAC	541_1	11265	-15
542	aggaagaaagtttgattc	4-10-4	AGGAagaaagtttgATTC	542_1	11308	-21
543	tcaaggaagaaagtttga	4-10-4	TCAAggaagaaagtTTGA	543_1	11311	-20
544	ctcaaggaagaaagtttg	4-10-4	CTCAaggaagaaagTTTG	544_1	11312	-20
545	tgctcaaggaagaaagt	3-10-4	TGCtcaaggaagaAAGT	545_1	11315	-21
546	aattatgctcaaggaaga	4-11-3	AATTatgctcaaggaAGA	546_1	11319	-20
547	taggataccacattatga	4-12-2	TAGGataccacattatGA	547_1	11389	-22
548	cataatttattccattcctc	2-15-3	CAtaatttattccattcCTC	548_1	11449	-22
549	tgcataattttattccat	4-10-3	TGCAtaattttattcCAT	549_1	11454	-22
550	actgcataattttattcc	4-10-3	ACTGcataattttatTCC	550_1	11456	-21
551	ctaaactgcataattttatt	4-11-4	CTAAactgcataattTATT	551_1	11458	-20
552	ataactaaactgcata	2-10-4	ATaactaaactgCATA	552_1	11465	-16
553	ttattaataactaaactgc	3-12-4	TTAttaataactaaaCTGC	553_1	11468	-19
554	tagtacattattaataact	4-13-2	TAGTactattattaataaCT	554_1	11475	-18
555	cataactaaggacggt	4-10-2	CATAactaaggacgTT	555_1	11493	-17
556	tcataactaaggacgt	2-11-3	TCataactaaggacGT	556_1	11494	-16
557	cgtcataactaaggac	4-10-2	CGTCataactaaggAC	557_1	11496	-17
558	tcgtcataactaagga	2-12-2	TCgtcataactaagGA	558_1	11497	-16
559	atcgtcataactaagg	2-10-4	ATcgtcataactAAGG	559_1	11498	-17
560	gttagtatcttacatt	2-11-3	GTtagtatcttacATT	560_1	11525	-15
561	ctctattgttagtadc	3-10-3	CTCtattgttagtATC	561_1	11532	-17
562	agtatagagtactgt	3-10-3	AGTatagagtactTGT	562_1	11567	-19
563	ttcctggtgatacttt	4-10-2	TTCCtggtgatactTT	563_1	11644	-21
564	gttcctggtgatactt	4-10-2	GTTCctggtgatactTT	564_1	11645	-21
565	tggtcctggtgatact	2-12-2	TGgtcctggtgataCT	565_1	11646	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
566	ataaacatgaatctctcc	2-12-4	ATaaacatgaatctCTCC	566_1	11801	-20
567	ctttataaacatgaatctc	3-12-4	CTTtataaacatgaaTCTC	567_1	11804	-19
568	ctgtctttataaacatg	3-10-4	CTGtctttataaaCATG	568_1	11810	-19
569	ttgttataaatctgtctt	2-12-4	TTgttataaatctgTCTT	569_1	11820	-18
570	ttaaatattattcttgata	3-12-4	TTAaatattattcttgGATA	570_1	11849	-19
571	cttaaattattcttgga	2-12-4	CTtaaattattctTGGA	571_1	11851	-19
572	cttcttaaattattcttg	4-13-2	CTTCtaaattattctTG	572_1	11853	-18
573	tatgtttctcagtaaag	4-9-4	TATGtttctcagtAAAG	573_1	11877	-19
574	gaattatctttaaacca	3-10-4	GAAttatctttaaACCA	574_1	11947	-18
575	cccttaaattctaca	3-11-2	CCCtaaattctcaCA	575_1	11980	-20
576	acactgctcttgtaacc	4-10-2	ACACtgctcttgtaCC	576_1	11995	-23
577	tgacaacactgctctt	3-10-3	TGAcaacactgctCTT	577_1	12000	-21
578	tacatttattgggctc	4-10-2	TACAttattgggcTC	578_1	12081	-19
579	gtacatttattgggct	2-10-4	GTacatttattgGGCT	579_1	12082	-23
580	ttggtacattattgg	3-10-3	TTGgtacatttatTGG	580_1	12085	-18
581	catgttggtacatttat	4-10-3	CATGttggtacattTAT	581_1	12088	-21
582	aatcatgttggtacat	4-10-2	AATCatgttggtacAT	582_1	12092	-16
583	aaatcatgttggtaca	2-12-2	AAatcatgttggtacaCA	583_1	12093	-14
584	gacaagtttggtataa	3-11-2	GACaagtttggtattAA	584_1	12132	-14
585	aatgttcagatgcctc	2-10-4	AAtgttcagatgCCTC	585_1	12197	-21
586	gcttaatgttcagatg	2-12-2	GCttaatgttcagaTG	586_1	12201	-17
587	cgtacatagcttgatg	4-10-2	CGTAcatagcttgaTG	587_1	12267	-20
588	gtgaggaattaggata	3-11-2	GTGaggaattaggataTA	588_1	12753	-17
589	gtaacaatatggtttg	3-11-2	GTAacaatatggttTG	589_1	12780	-15
590	gaaatattgtagacta	2-11-3	GAaatattgtagaCTA	590_1	13151	-14
591	ttgaaatattgtagac	3-11-2	TTGaaatattgtagAC	591_1	13153	-12
592	aagtctagtaatttgc	2-10-4	AAgtctagtaatTTGC	592_1	13217	-17
593	gctcagtagattataa	4-10-2	GCTCagtagattatAA	593_1	13259	-17

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
594	catacactgttgctaa	3-10-3	CATacactgttgcTAA	594_1	13296	-19
595	atggtctcaaattcatt	3-10-3	ATGgtctcaaattcATT	595_1	13314	-17
596	caatggtctcaaataca	4-10-2	CAATggtctcaaataCA	596_1	13316	-18
597	ttcctattgattgact	4-10-2	TTCCtattgattgaCT	597_1	13568	-20
598	tttctgttcacaacac	4-10-2	TTTCtgttcacaacAC	598_1	13600	-17
599	aggaaccactaatct	2-11-3	AGgaaccactaatTCT	599_1	13702	-20
600	taaatggcaggaaccc	3-11-2	TAAatggcaggaacCC	600_1	13710	-19
601	gtaaatggcaggaacc	4-10-2	GTAAatggcaggaacCC	601_1	13711	-20
602	ttgtaaatggcaggaa	2-11-3	TTgtaaatggcagGAA	602_1	13713	-16
603	ttatgagttaggcatg	2-10-4	TTatgagttaggCATG	603_1	13835	-19
604	ccaggtgaaactttaa	3-11-2	CCAggtgaaactttAA	604_1	13935	-17
605	cccttagtcagctcct	3-10-3	CCCtagtcagctCCT	605_1	13997	-30
606	acccttagtcagctcc	2-10-4	ACCcttagtcagCTCC	606_1	13998	-27
607	cacccttagtcagctc	2-11-3	CACCcttagtcagCTC	607_1	13999	-24
608	tctcttactaggctcc	3-10-3	TCTcttactaggcTCC	608_1	14091	-24
609	cctatctgtcatcatg	2-11-3	CCtatctgtcatcATG	609_1	14178	-20
610	tcctatctgtcatcat	3-11-2	TCCtatctgtcatcAT	610_1	14179	-20
611	gagaagtgtgagaagc	3-11-2	GAGaagtgtgagaaGC	611_1	14808	-19
612	catccttgaagtttag	4-10-2	CATCcttgaagtttAG	612_1	14908	-19
613	taataagatggctccc	3-10-3	TAAtaagatggctCCC	613_1	15046	-21
614	caaggcataataagat	3-11-2	CAAggcataataagAT	614_1	15053	-14
615	ccaaggcataataaga	2-10-4	CCAaggcataatAAGA	615_1	15054	-18
616	tgatccaattctcacc	2-12-2	TGatccaattctcaCC	616_1	15151	-19
617	atgatccaattctcac	3-10-3	ATGatccaattctCAC	617_1	15152	-19
618	cgttcatcttcaccc	3-11-2	CGCttcatcttcacCC	618_1	15260	-26
619	tatgacactgcatctt	2-10-4	TAtgacactgcaTCTT	619_1	15317	-19
620	gtatgacactgcatct	3-10-3	GTAtgacactgcaTCT	620_1	15318	-21
621	tgtatgacactgcatc	2-10-4	TGatgacactgCATC	621_1	15319	-20

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
622	ttctcttctgtaagtc	4-10-2	TTCTcttctgtaagTC	622_1	15363	-19
623	ttctacagaggaacta	2-10-4	TTctacagaggaACTA	623_1	15467	-17
624	actacagtctacaga	3-10-3	ACTacagtctacAGA	624_1	15474	-19
625	ttcccacaggtaaagtg	4-10-2	TTCCcacaggtaaaTG	625_1	15561	-21
626	attatttgaatatactcatt	4-12-4	ATTAttgaatatactCATT	626_1	15594	-20
627	tgggaggaaattatttg	4-10-3	TGGGaggaaattatTTG	627_1	15606	-20
628	tgactcatcttaaagtg	4-10-2	TGACtcatcttaaaTG	628_1	15621	-17
629	ctgactcatcttaaagtg	3-11-2	CTGactcatcttaaAT	629_1	15622	-16
630	tttactctgactcatc	3-10-3	TTTactctgactcATC	630_1	15628	-17
631	tattggaggaaattatt	3-11-2	TATtggaggaaattaTT	631_1	15642	-14
632	gtattggaggaaattat	3-11-2	GTAttggaggaaattAT	632_1	15643	-16
633	tggtatacttctctaagtat	2-15-3	TGgtatacttctctaagTAT	633_1	15655	-22
634	gatctcttggtatact	4-10-2	GATCtcttggtataCT	634_1	15666	-20
635	cagacaactctatacc	2-12-2	CAGacaactctataCC	635_1	15689	-18
636	aacatcagacaactcta	4-9-4	AACAtcagacaacTCTA	636_1	15693	-21
637	taacatcagacaactc	4-10-2	TAACAtcagacaacTC	637_1	15695	-16
638	tttaacatcagacaactc	4-10-4	TTTAacatcagacaACTC	638_1	15695	-20
639	atttaacatcagacaa	2-12-2	ATttaacatcagacAA	639_1	15698	-11
640	cctatttaacatcagac	2-11-4	CCtatttaacatcAGAC	640_1	15700	-20
641	tccctatttaacatca	3-10-3	TCCctatttaacaTCA	641_1	15703	-21
642	tcaacgactattggaat	4-9-4	TCAAcgactattgGAAT	642_1	15737	-20
643	cttatattctggctat	4-9-3	CTTAtattctggcTAT	643_1	15850	-20
644	atccttatattctggc	4-10-2	ATCCttatattctgGC	644_1	15853	-23
645	gatccttatattctgg	2-10-4	GATccttatattCTGG	645_1	15854	-21
646	tgatccttatattctg	3-10-3	TGATccttatattCTG	646_1	15855	-19
647	attgaaactgacacct	4-8-4	ATTGaaactgaTCCT	647_1	15864	-21
648	actgtcattgaaactt	2-10-4	ACgtgcattgaaACTT	648_1	15870	-16
649	tcttactgtcattgaa	3-11-2	TCTtactgtcattgAA	649_1	15874	-16

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
650	aggatcttactgtcatt	2-11-4	AGgatcttactgtCATT	650_1	15877	-21
651	gcaaatcaactccatc	3-10-3	GCAaatcaactccATC	651_1	15896	-20
652	gtgcaaatcaactcca	3-10-3	GTGcaaatcaactCCA	652_1	15898	-22
653	caattatttctttgtgc	4-10-3	CAATtatttctttgTGC	653_1	15910	-21
654	tggcaacaattatttctt	3-11-4	TGGcaacaattattTCTT	654_1	15915	-21
655	gctggcaacaattatt	3-9-4	GCTggcaacaatTATT	655_1	15919	-21
656	atccatttctactgcc	4-10-2	ATCCatttctactgCC	656_1	15973	-24
657	taatatctattgatttcta	4-11-4	TAATatctattgattTCTA	657_1	15988	-20
658	tcaatagtgtagggca	2-12-2	TCaatagtgtagggCA	658_1	16093	-18
659	ttcaatagtgtagggc	3-11-2	TTCaatagtgtaggGC	659_1	16094	-19
660	aggttaattaattcaatag	4-11-4	AGGTaattaattcaATAG	660_1	16102	-21
661	catttgtaatccctag	3-10-3	CATtgtaatcccTAG	661_2	16163	-20
661	catttgtaatccctag	3-9-4	CATtgtaatccCTAG	661_1	16163	-22
662	acatttgtaatcccta	3-10-3	ACAtttgtaatccCTA	662_1	16164	-20
663	aacatttgtaatccct	2-10-4	AACatttgtaatCCCT	663_2	16165	-21
663	aacatttgtaatccct	3-9-4	AACatttgtaatCCCT	663_1	16165	-22
664	taaatttcaagttctg	2-11-3	TAaatttcaagttCTG	664_1	16184	-14
665	gtttaaatttcaagttct	3-11-4	GTTtaaatttcaagTTCT	665_1	16185	-19
666	ccaagtttaaatttcaag	4-10-4	CCAagtttaaatttCAAG	666_1	16189	-21
667	acccaagtttaaatttc	4-9-4	ACCCaagtttaaaTTTC	667_1	16192	-22
668	catacagtgaccaagttt	2-14-3	CAtacagtgaccaagTTT	668_1	16199	-23
669	acatcccatacagtga	2-11-3	ACatcccatacagTGA	669_1	16208	-21
670	agcacagctctacatc	2-10-4	AGcacagctctaCATC	670_1	16219	-22
671	atatagcacagctcta	3-9-4	ATAtagcacagcTCTA	671_1	16223	-21
672	tccatatagcacagct	3-11-2	TCCatatagcacagCT	672_1	16226	-22
673	atttccatatagcaca	3-9-4	ATTtccatatagCACA	673_1	16229	-20
674	tttatttccatatagca	4-9-4	TTTAttccatatAGCA	674_1	16231	-22
675	tttatttccatatagc	3-10-3	TTTAttccatatAGC	675_1	16232	-18

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
676	aaggagaggagattatg	4-9-4	AAGGagaggagatTATG	676_1	16409	-21
677	agttcttgtagct	3-11-2	AGTtcttgtagCT	677_1	16456	-21
678	gagttcttgtagc	2-12-2	GAgttcttgtagGC	678_1	16457	-20
679	attaattatccatccac	3-10-4	ATTaattatccatCCAC	679_1	16590	-21
680	atcaattaattatccatc	3-11-4	ATCaattaattatcCATC	680_1	16593	-19
681	agaatcaattaattatcc	3-12-3	AGAatcaattaattaTCC	681_1	16596	-18
682	tgagataccgtgcatg	2-12-2	TGagataccgtgcaTG	682_1	16656	-18
683	aatgagataccgtgca	2-10-4	AAtgagataccgTGCA	683_1	16658	-21
684	ctgtggtaggcta	3-11-2	CTGtgtaggctaAT	684_1	16834	-19
685	aagagtaagggtctgtggtt	1-17-2	AagagtaagggtctgtggTT	685_1	16842	-21
686	gatgggttaagagtaa	4-9-3	GATGgggttaagagTAA	686_1	16854	-19
687	agcagatgggttaaga	3-11-2	AGCagatgggttaaGA	687_1	16858	-20
688	tgtaaacattgtagc	2-10-4	TGtaaacattgtAGC	688_1	16886	-19
689	cctgcttataaatgta	3-11-2	CCTgcttataaatgTA	689_1	16898	-19
690	tgccctgcttataaat	4-10-2	TGCCctgcttataaAT	690_1	16901	-23
691	tcttcttagttcaata	2-12-2	TCttcttagttcaaTA	691_1	16935	-15
692	tggtttctaactacat	2-10-4	TGgtttctaactACAT	692_1	16980	-18
693	agtttggtttctaacta	2-12-3	AGtttggtttctaaCTA	693_1	16983	-19
694	gaatgaaactgcctg	3-10-3	GAAtgaaactgcCTG	694_1	17047	-18
695	attatccttacatgat	3-10-3	ATTatccttacatGAT	695_1	17173	-17
696	gtaccaattatcctt	2-11-3	GTaccaattatcCTT	696_1	17180	-21
697	tgtaccaattatcct	3-10-3	TGTaccaattatCCT	697_1	17181	-24
698	ttgtaccaattatcc	2-11-3	TTgtaccaattaTCC	698_1	17182	-20
699	tttgtaccaattatc	3-11-2	TTTgtaccaattaTC	699_1	17183	-17
700	agcagcaggttatatt	4-10-2	AGCAgcaggttataTT	700_1	17197	-22
701	tgggaagtggctctggg	3-10-3	TGGgaagtggctctGGG	701_1	17292	-25
702	ctggagagtataata	3-11-2	CTGgagagtataaTA	702_1	17322	-17
703	aatgctggattacgtc	4-10-2	AATGctggattacgTC	703_1	17354	-19

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
704	caatgctggattacgt	2-11-3	CAatgctggattaCGT	704_1	17355	-19
705	ttgttcagaagtatcc	2-10-4	TTgttcagaagtATCC	705_1	17625	-19
706	gatgatttgcttgag	2-10-4	GAtgatttgcttGGAG	706_1	17646	-21
707	gaaatcattcacaacc	3-10-3	GAAatcattcacaACC	707_1	17860	-17
708	ttgtaacatctactac	3-10-3	TTGtaacatctacTAC	708_1	17891	-16
709	cattaagcagcaagtt	3-11-2	CATtaagcagcaagTT	709_1	17923	-17
710	ttactagatgtgagca	3-11-2	TTActagatgtgagCA	710_1	17942	-18
711	tttactagatgtgagc	2-11-3	TTtactagatgtgAGC	711_1	17943	-18
712	gaccaagcaccttaca	3-11-2	GACCaagcaccttaCA	712_1	17971	-22
713	agaccaagcaccttac	3-10-3	AGAccaagcacctTAC	713_1	17972	-22
714	atgggttaaataaagg	2-10-4	ATgggttaaataAAGG	714_1	18052	-15
715	tcaaccagagtattaa	2-12-2	TCaaccagagtattAA	715_1	18067	-13
716	gtcaaccagagtatta	3-11-2	GTCaaccagagtatTA	716_1	18068	-18
717	attgtaaagctgatat	2-11-3	ATgtgtaaagctgaTAT	717_1	18135	-14
718	cacataattgtaaagc	2-10-4	CACataattgttaAAGC	718_1	18141	-16
719	gaggctctgctatttac	2-11-3	GAggtctgctattTAC	719_1	18274	-19
720	tgtagattcaatgcct	2-11-3	TGtagattcaatgCCT	720_1	18404	-20
721	cctcattatactatga	2-11-3	CCtcattatactaTGA	721_1	18456	-19
722	ccttatgctatgacac	2-12-2	CCttatgctatgacAC	722_1	18509	-18
723	tccttatgctatgaca	4-10-2	TCCTtatgctatgaCA	723_1	18510	-22
724	aagatgtttaagtata	3-10-3	AAGatgtttaagtATA	724_1	18598	-13
725	ctgattattaagatgt	2-10-4	CTgattattaagATGT	725_1	18607	-17
726	tggaaagggtatgaatt	2-12-2	TGgaaagggtatgaaTT	726_1	18808	-13
727	acttgaatggcttgga	2-12-2	ACttgaatggcttgGA	727_1	18880	-18
728	aacttgaatggcttgg	3-10-3	AACttgaatggctTGG	728_1	18881	-19
729	caatgtgttactattt	4-10-2	CAATgtgttactatTT	729_1	19004	-16
730	acaatgtgttactatt	3-10-3	ACAatgtgttactATT	730_1	19005	-15
731	catctgctatataaga	4-10-2	CATCtgctatataaGA	731_1	19063	-18

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
732	cctagagcaaatactt	4-10-2	CCTAgagcaaatacTT	732_1	19223	-20
733	cagagttaataataag	3-10-3	CAGagttaataatAAG	733_1	19327	-13
734	gttcaagcacaacgaa	4-10-2	GTTCaagcacaacgAA	734_1	19493	-18
735	agggttcaagcacaac	2-11-3	AGggttcaagcacAAC	735_1	19496	-18
736	tggtggagacactgtt	2-12-2	TGgtggagacactgTT	736_1	19677	-17
737	aaggaggagtaggac	3-11-2	AAGgaggagtaggAC	737_1	19821	-18
738	ctatgccatttacgat	4-10-2	CTATgccatttacgAT	738_1	19884	-21
739	tcaaatgcagaattag	2-12-2	TCaaatgcagaattAG	739_1	19913	-12
740	agtgacaatcaaatgc	2-10-4	AGtgacaatcaaATGC	740_1	19921	-18
741	aagtgacaatcaaatg	2-11-3	AAgtgacaatcaaATG	741_1	19922	-12
742	gtgtaccaagtaacaa	3-11-2	GTGtaccaagtaacAA	742_1	19978	-16
743	tgggatgttaaactga	3-10-3	TGGgatgttaaacTGA	743_1	20037	-20

基序序列代表存在於寡核苷酸中之核鹼基之鄰接序列。

設計係指間隙聚體設計**F-G-F'**，其中每一數值代表連續經修飾核苷(例如2'修飾核苷)之數量(第一數值=5'側翼)，隨後係DNA核苷數量(第二數值=間隙區)，隨後係經修飾核苷(例如2'修飾核苷)之數量(第三數值=3'側翼)，視情況前接或後接有DNA及LNA之其他重複區域，該等重複區域未必係與靶核酸互補之鄰接序列之一部分。

寡核苷酸化合物代表基序序列之特定設計。大寫字母代表β-D-氧基LNA核苷，小寫字母代表DNA核苷，所有LNA C皆係5-甲基胞嘧啶，所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯核苷間鏈接。

表6：靶向小鼠PD-L1轉錄物(SEQ ID NO: 4)之寡核苷酸、該等寡核苷酸之設計以及基於基序序列設計之特定寡核苷酸化合物(由CMP ID NO指示)。

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	SEQ ID NO: 4上之起點	dG
744	agtttacattttctgc	3-10-3	AGTttacattttcTGC	744_1	4189	-20
745	tatgtgaagaggagag	3-10-3	TATgtgaagaggaGAG	745_1	7797	-19
746	cacctttaaaccacca	3-10-3	CACctttaaaccCCA	746_1	9221	-23
747	tcctttataatcacac	3-10-3	TCCtttataatcaCAC	747_1	10386	-19
748	acggtattttcacagg	3-10-3	ACGgtattttcacAGG	748_1	12389	-21
749	gacactacaatgagga	3-10-3	GACactacaatgaGGA	749_1	15088	-20
750	tggttttaggactgt	3-10-3	TGGtttttaggacTGT	750_1	16410	-21
751	cgacaaattctatcct	3-10-3	CGAcaaattctatCCT	751_1	18688	-20
752	tgatatacaatgctac	3-10-3	TGAtatacaatgcTAC	752_1	18735	-16
753	tcgttgggtaaattta	3-10-3	TCGttgggtaaatTTA	753_1	19495	-17
754	tgctttataaatgtg	3-10-3	TGCtttataaatGTG	754_1	19880	-19

基序序列代表存在於寡核苷酸中之核鹼基之鄰接序列。

設計係指間隙聚體設計F-G-F’，其中每一數值代表連續經修飾核苷(例如2’修飾核苷)之數量(第一數值=5’側翼)，隨後係DNA核苷數量(第二數值=間隙區)，隨後係經修飾核苷(例如2’修飾核苷)之數量(第三數值=3’側翼)，視情況前接或後接有DNA及LNA之其他重複區域，該等重複區域未必係與靶核酸互補之鄰接序列之一部分。

寡核苷酸化合物代表基序序列之特定設計。大寫字母代表β-D-氧基LNA核苷，小寫字母代表DNA核苷，所有LNA C皆係5-甲基胞嘧啶，所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯核苷間鏈接。

表7：寡核苷酸基序序列及具有5’ ca生物可裂解連接體之反義化合物。

SEQ ID NO	基序序列	具有ca連接體之寡核苷酸化合物	CMP ID NO
755	caagtttacattttctgc	c _o a _o AGTttacattttcTGC	755_1
756	catatgtgaaggaggagag	c _o a _o TATgtgaaggaggaGAG	756_1
757	cacctttaaacccca	c _o a _o CACctttaaaccCCA	757_1
758	catcctttataatcacac	c _o a _o TCCtttataatcaCAC	758_1
759	caacggtattttcacagg	c _o a _o ACGgtattttcacAGG	759_1
760	cagacactacaatgagga	c _o a _o GACactacaatgaGGA	760_1
761	catggttttttaggactgt	c _o a _o TGGtttttaggacTGT	761_1
762	cacgacaaattctatcct	c _o a _o CGAcaaattctatCCT	762_1
763	catgatatacaatgctac	c _o a _o TGAtatacaatgcTAC	763_1
764	catcgttgggtaaattta	c _o a _o TCGttgggtaaattTA	764_1
765	catgctttataaatggtg	c _o a _o TGCtttataaatgGTG	765_1
766	caacaaataatggttactct	c _o a _o ACAAataatggttaCTCT	766_1
767	cacagattgatggtagtt	c _o a _o CAGAttgatggtagTT	767_1
768	cacctatttaacatcagac	c _o a _o CCtatttaacatcAGAC	768_1
769	cactaattgtagtagtactc	c _o a _o CTAattgtagtagtaCTC	769_1
770	caataaacatgaatctctcc	c _o a _o ATAaacatgaatctCTCC	770_1

大寫字母代表β-D-氧基LNA核苷，小寫字母代表DNA核苷，所有LNA C皆係5-甲基胞嘧啶，下標o代表磷酸二酯核苷間鏈接且除非另外指示，否則其他核苷間鏈接係硫代磷酸酯核苷間鏈接。

表8：GalNAc偶聯之反義寡核苷酸化合物。

反義寡核苷酸偶聯物	CMP ID NO
GN2-C6 _o c _o a _o AGTttacattttcTGC	755_2
GN2-C6 _o c _o a _o TATgtgaaggaggaGAG	756_2
GN2-C6 _o c _o a _o CACctttaaaccCCA	757_2
GN2-C6 _o c _o a _o TCCtttataatcaCAC	758_2
GN2-C6 _o c _o a _o ACGgtattttcacAGG	759_2
GN2-C6 _o c _o a _o GACactacaatgaGGA	760_2

反義寡核苷酸偶聯物	CMP ID NO
GN2-C6 _o c _o a _o TGGtttttaggacTGT	761_2
GN2-C6 _o c _o a _o CGAcaaattctatCCT	762_2
GN2-C6 _o c _o a _o TGAtatacaatgcTAC	763_2
GN2-C6 _o c _o a _o TCGttgggtaaTTA	764_2
GN2-C6 _o c _o a _o TGCtttataaatGTG	765_2
GN2-C6 _o c _o a _o ACAAataatggttaCTCT	766_2
GN2-C6 _o c _o a _o CAGAttgatgtagTT	767_2
GN2-C6 _o c _o a _o CCtatttaacatcAGAC	768_2
GN2-C6 _o c _o a _o CTAattgtagtagtaCTC	769_2
GN2-C6 _o c _o a _o ATaaacatgaatctCTCC	770_2

GN2代表圖3中所展示之三價GalNAc簇，C6代表具有6個碳之胺基烷基，大寫字母代表β-D-氧基LNA核苷，小寫字母代表DNA核苷，所有LNA C皆係5-甲基胞嘧啶，下標o代表磷酸二酯核苷鏈接且除非另外指示，否則核苷間鏈接係硫代磷酸酯核苷間鏈接。代表一些分子之化學圖式展示於圖4至8中。

AAV/HBV小鼠模型

巴斯德(Pasteur)模型：

產生HLA-A2.1-/HLA-DR1-轉基因H-2種類I-/種類II-剔除(在本文中稱為HLA-A2/DR1)小鼠且在巴斯德研究院(Institut Pasteur)處飼餵。該等小鼠代表用於人類免疫功能研究之並無任何小鼠MHC反應干擾之活體內實驗模型(Pajot等人，2004 Eur J Immunol. 34(11):3060-9)。

在該等研究中使用攜載可複製HBV DNA基因體之腺相關病毒(AAV)載體AAV血清型2/8。在無菌磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中稀釋AAV-HBV載體(GVPN批號6163)以達到 5×10^{11} vg/mL之效價。在尾部靜脈中經靜脈內(i.v.)向小鼠注射100μL此經稀釋溶液(劑量/小鼠： 5×10^{10} vg)。在攜帶

HBV之小鼠之血液中檢測含有HBV DNA之完整病毒顆粒。在最多一年內檢測肝中之HBcAg以及血液中之HBV循環蛋白質HBeAg及HBsAg。在AAV2/8-HBV轉導小鼠中，HBsAg、HBeAg及HBV DNA在血清中持續至少一年(Dion等人，2013 J Virol 87:5554-5563)。

上海模型：

在此模型中，感染攜載HBV基因體(AAV/HBV)之重組腺相關病毒(AAV)之小鼠維持穩定病毒血症及抗原血症30週以上(Dan Yang等人，2014 Cellular & Molecular Immunology 11, 71–78)。

自SLAC (Shanghai Laboratory Animal Center of Chinese Academy of Sciences)購買無特定病原體之雄性C57BL/6小鼠(4-6週齡)且飼養於個別通風籠中之動物護理設施中。遵循如由WuXi IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee, WUXI IACUC方案編號R20131126-小鼠)所指示之動物護理及使用導則。使小鼠適應新環境3天且根據實驗設計進行分組。

在PBS中稀釋重組AAV-HBV，每一注射使用200 μ L。此重組病毒攜載1.3個HBV基因體(基因型D，血清型ayw)之拷貝。

在第0天，經由尾部靜脈向所有小鼠注射200 μ L AAV-HBV。在AAV注射之後第6、13及20天，下頷下對所有小鼠進行抽血(0.1 ml血液/小鼠)以用於收集血清。在注射後第22天，將患有穩定病毒血症之小鼠備用於寡核苷酸治療。寡核苷酸可未偶聯或偶聯GalNAc。

DNA疫苗

質體DNA無內毒素且由Plasmid-Factory (Germany)製得。pCMV-S2.S ayw編碼HBsAg (基因型D)之preS2及S結構域，且其表現由巨細胞病

毒極早期基因啟動子控制(Michel等人，1995 Proc Natl Acad Sci U S A 92:5307-5311)。pCMV-HBc編碼攜載肝炎核心(HBc) Ag之HBV衣殼(Dion等人，2013 J Virol 87:5554-5563)。

如本文中所闡述使用DNA疫苗實施治療。在接種疫苗之前5天，向小鼠之肌肉中注射心臟毒素(CaTx, Latoxan refL81-02, 50 μ l/肌肉)。CaTx使肌肉纖維去極化以誘導細胞退化，在注射後5天，出現新肌肉纖維且接受DNA疫苗以針對轉染獲得較佳效能。等量混合pCMV-S2.S_{ayw}及pCMVCore (各1 mg/ml)且使小鼠在麻醉下(100 μ L 12.5 mg/mL氯胺酮(ketamine)、1.25 mg/mL甲苯噻嗪(xylazine))藉由向經心臟毒素處理之脛骨前肌中進行雙側肌內注射來接受總共100 μ g該混合物，如先前在Michel等人，1995 Proc Natl Acad Sci U S A 92:5307-5311中所闡述。

抗PD-L1抗體

此係在Genetech處內部產生之小鼠抗小鼠PD-L1 IgG1抗體純系6E11。其係交叉阻斷阿替珠單抗(atezolizumab)且與在Roche處內部產生之阿替珠單抗具有類似活體外阻斷活性之替代抗體。藉由腹膜腔內(i.p.)注射在12.5 μ g/g之劑量下來投與抗體。

寡核苷酸合成

業內通常已知寡核苷酸合成。下文係可應用之方案。可藉由針對所使用裝置、載體及濃度略微改變之方法來產生本發明寡核苷酸。

在尿苷通用載體上使用亞磷醯胺方式在Oligomaker 48上以1 μ mol規模來合成寡核苷酸。在合成結束時，使用氨水溶液在60 $^{\circ}$ C下經5-16小時自固體載體裂解寡核苷酸。藉由反相HPLC (RP-HPLC)或藉由固相萃取純化寡核苷酸且藉由UPLC進行表徵，且藉由ESI-MS進一步證實分子質量。

寡核苷酸之延長:

藉由使用經5'-O-DMT保護之亞磷酰胺化物於乙腈之0.1 M溶液及於乙腈中之DCI (4,5-二氰基咪唑) (0.25 M)作為活化劑來偶合 β -氰基乙基-亞磷酰胺(DNA-A(Bz)、DNA- G(ibu)、DNA- C(Bz)、DNA-T、LNA-5-甲基-C(Bz)L、NA-A(Bz)、LNA- G(dmf)或LNA-T)。對於最終循環而言，可使用具有期望修飾之亞磷酰胺，例如用於連接偶聯物基團之C6連接體或偶聯物基團本身。藉由使用氫化黃元素(0.01 M於9:1乙腈/吡啶中)來實施硫醇化以用於引入硫代磷酸酯鏈接。可使用於7:2:1 THF/吡啶/水中之0.02 M碘來引入磷酸二酯鏈接。其餘試劑係通常用於寡核苷酸合成者。

對於後固相合成偶聯而言，可將市售C6胺基連接體亞磷酰胺用於固相合成之最後循環中，且在去保護及自固體載體裂解之後，分離胺基連接之去保護寡核苷酸。經由使用標準合成方法活化官能基來引入偶聯物。

或者，可在仍位於固體載體上時藉由使用GalNAc-或GalNAc簇亞磷酰胺將偶聯物部分添加至寡核苷酸，如PCT/EP2015/073331或EP appl. NO. 15194811.4中所闡述。

藉由RP-HPLC進行之純化：

藉由製備型RP-HPLC在Phenomenex Jupiter C18 10 μ 150 $\times$ 10 mm管柱上來純化粗製化合物。使用0.1 M pH 8乙酸銨及乙腈作為緩衝劑且流速為5 mL/min。凍乾收集部分以得到通常白色固體形式之純化化合物。

縮寫：

DCI：	4,5-二氰基咪唑
DCM：	二氯甲烷
DMF：	二甲基甲酰胺

DMT：	4,4'-二甲氧基三苯甲基
THF：	四氫呋喃
Bz：	苯甲醯基
Ibu：	異丁醯基
RP-HPLC：	反相高效液相層析

*T_m*分析

將寡核苷酸及RNA靶(磷酸酯連接，PO)雙螺旋體在500 ml無RNase水中稀釋至3 mM且與500 ml 2×*T_m*緩衝液(200mM NaCl、0.2mM EDTA、20mM pH 7.0磷酸鈉)混合。將溶液加熱至95℃保持3 min且然後將其在室溫下退火30 min。在配備有帕耳帖穩定程控器(Peltier temperature programmer) PTP6之λ 40 UV/VIS分光光度計上使用PE Templab軟體(Perkin Elmer)量測雙螺旋體熔融溫度(*T_m*)。將溫度自20℃斜升至95℃且然後斜降至25℃，且在260 nm下記錄吸收。使用熔融及退火之第一導數及局部最大值來評價雙螺旋體*T_m*。

組織特異性活體外連接體裂解分析

使用相關組織(例如肝或腎)及血清之均質物對具有擬測試生物可裂解連接體(例如DNA磷酸二酯連接體(PO連接體))之經FAM標記之寡核苷酸實施活體外裂解。

自適宜動物(例如小鼠、猴、豬或大鼠)收集組織及血清試樣且在均質化緩衝液(0.5% Igepal CA-630、25 mM pH 8.0 Tris、100 mM pH 8.0 NaCl (使用1 N NaOH調節)。向組織均質物及血清中摻加寡核苷酸直至濃度為200 μg/g組織。將試樣在37℃下培育24小時且然後使用苯酚-氯仿萃取試樣。在Dionex Ultimate 3000上使用Dionex DNAPac p-100管柱及介

於10mM - 1 M過氯酸鈉(pH 7.5)之間之梯度對溶液實施AIE HPLC分析。針對標準使用615 nm下螢光檢測器及260 nm下uv檢測器來測定經裂解寡核苷酸及未裂解寡核苷酸之含量。

S1核酸酶裂解分析

在S1核酸酶提取物或血清中對具有S1核酸酶易感連接體(例如DNA磷酸二酯連接體(PO連接體))之經FAM標記之寡核苷酸實施活體外裂解。

藉由S1核酸酶在核酸酶緩衝液(60 U pr.100 µL)中對100 µM寡核苷酸實施活體外裂解20分鐘及120分鐘。藉由將EDTA添加至緩衝液溶液中來停止酶促活性。在Dionex Ultimate 3000上使用Dionex DNAPac p-100管柱及介於10mM - 1 M過氯酸鈉(pH 7.5)之間之梯度對溶液實施AIE HPLC分析。針對標準使用615 nm下螢光檢測器及260 nm下uv檢測器來測定經裂解寡核苷酸及未裂解寡核苷酸之含量。

肝單核細胞之製備

如下文所闡述且根據由Tupin等人，2006 Methods Enzymol 417:185-201所闡述之方法(具有輕微修改)來製備來自AAV/HBV小鼠之肝臟細胞。在小鼠安樂死之後，經由肝門靜脈使用具有G25針之注射器向肝灌注10 ml無菌PBS。在器官發白時，在漢克氏平衡鹽溶液(Hank's Balanced Salt Solution，HBSS) (GIBCO® HBSS, 24020) + 5 %去補體胎牛血清(FCS)中收穫器官。經由100 µm細胞過濾器(BD Falcon, 352360)輕微壓製所收穫肝且將細胞懸浮於30 ml HBSS + 5 % FCS中。將細胞懸浮液在50 g下離心5 min。然後將上清液在289 g及4°C下離心10 min。在離心之後，棄除上清液且將糰粒在室溫下再懸浮於15 mL 35 %等滲Percoll溶液(稀釋至RPMI 1640 (GIBCO, 31870)中之GE Healthcare Percoll 17-

0891-01號)且轉移至15 ml管中。將細胞在1360g及室溫下進一步離心25 min。藉由抽吸棄除上清液且使用HBSS + 5 % FCS將含有單核細胞之糰粒洗滌兩次。

在完整培養基(α -最小必需培養基(Gibco, 22571)，其補充有10 % FCS (Hyclone, SH30066 號，批號 APG21570)、100 U/mL 青黴素 (penicillin) + 100 μ g/mL 鏈黴素(streptomycin) + 0.3 mg/mL L-麩醯胺酸 (Gibco, 10378)、1X 非必須胺基酸 (Gibco, 11140)、10 mM Hepes (Gibco, 15630)、1 mM 丙酮酸鈉 (Gibco, 11360)及50 μ M β -巰基乙醇 (LKB, 1830))中培養細胞。

細胞之表面標記

將細胞接種於U形底96孔板中並使用PBS FACS (含有1 %牛血清白蛋白及0.01%疊氮化鈉之PBS)洗滌。將細胞與5 μ L含有大鼠抗小鼠CD16/CD32抗體及可固定黃色存活標記物LD (Thermofisher, L34959)之PBS FACS在4℃下於暗處一起培育10 min。然後，使用25 μ L含有針對NK P46 BV421 (大鼠Mab抗小鼠NK P46，Biolegend, 137612)及F4/80 (大鼠Mab抗小鼠F4/80 FITC, BD Biolegend, 123108)之單株抗體(Mab)之PBS FACS將細胞在4℃下於暗處染色20 min且亦添加兩種補充表面標記物：PD1 (大鼠Mab抗小鼠PD1 PE，BD Biosciences, 551892)及PDL1 (大鼠Mab抗小鼠PDL1 BV711，Biolegend, 124319)。

細胞內細胞介素染色(ICS)分析

對脾細胞及肝單核細胞實施ICS分析。將細胞接種於U形96孔板中。將含有細胞之板在37℃下於僅完整培養基(作為陰性對照)中或與表9中所闡述之肽(在2 μ g/ml之濃度下)過夜培育。在培育一小時之後添加2 μ g/mL

佈雷菲德菌素A (Brefeldin A) (Sigma, B6542)。

在過夜培養之後，使用PBS FACS洗滌細胞且與5 μ L含有大鼠抗小鼠CD16/CD32抗體及可固定黃色存活標記物LD (Thermofisher, L34959)之PBS FACS在4 $^{\circ}$ C下於暗處一起培育10min。然後，使用25 μ L含有Mab之PBS FACS將細胞在4 $^{\circ}$ C下於暗處染色20 min。混合物係由針對CD3 (倉鼠Mab抗小鼠CD3-PerCP，BD Biosciences, 553067)、CD8 (大鼠Mab抗小鼠CD8-APC-H7，BD Biosciences, 560182)、CD4 (大鼠Mab抗小鼠CD4-PE-Cy7，BD Biosciences, 552775)及NK細胞 (大鼠Mab抗小鼠NK P46 BV421，Biolegend, 137612)之單株抗體構成。在洗滌數次之後固定細胞且使用Cytotfix/Cytoperm在室溫下於暗處滲透20 min，使用Perm/Wash溶液(BD Biosciences, 554714)在4 $^{\circ}$ C下洗滌。

在4 $^{\circ}$ C下於暗處使用針對IFN γ (大鼠Mab抗小鼠IFN γ -APC，純系XMG1.2, BD Biosciences, 554413)及腫瘤壞死因子 α (TNF α) (大鼠Mab抗小鼠TNF α -FITC，純系MP6-XT22；1/250 (BD Biosciences 554418)之抗體實施細胞內細胞介素染色30 min。在藉由流式細胞術使用MACSQuant分析儀進行分析之前，使用Perm/Wash洗滌細胞且再懸浮於含有1%甲醛之PBS FACS中。

選通CD3+CD8+CD4-及細胞CD3+CD8-CD4+且呈現於點狀圖上。定義兩個區域以選通用於每一細胞介素之陽性細胞。將該等閘門中所發現之事件數除以親代群體中之事件總數以得到反應性T細胞之百分比。對於每一小鼠而言，在單獨培養基中所獲得之百分比可視為背景且自使用肽刺激獲得之百分比扣除。

根據實驗背景來定義陽性臨限值，亦即在單獨培養基條件中針對每

一組所獲得染色細胞之平均百分比+兩個標準偏差。僅代表至少5個事件之細胞介素之百分比可視為陽性。

表9：含於HBV核心蛋白及HBsAg之套膜蛋白結構域(S2+S)中之HLA-A2/DR1限制性表位。

蛋白質	起始位置	終止位置	序列	HLA限制	參考文獻
核心	18	27	FLPSDFFPSV (SEQ ID NO: 773)	A2	Bertoletti等人， Gastroenterology 1997;112:193-199
	111	125	GRETVLEYLVSFGVW (SEQ ID NO: 774)	DR1	Bertoletti等人， Gastroenterology 1997;112:193-199
套膜蛋白 (S2+S)	114	128	TTFHQTLQDPRVRGL (SEQ ID NO: 775)	DR1	Pajot等人，Microbes Infect 2006;8:2783- 2790。
	179	194	QAGFFLLTRILTIPQS (SEQ ID NO: 776)	A2 + DR1	Pajot等人，Microbes Infect 2006;8:2783- 2790。
	183	191	FLLTRILTI (SEQ ID NO: 777)	A2	Sette等人，J Immunol 1994;153:5586-5592。
	200	214	TSLNFLGGTTVCLGQ (SEQ ID NO: 778)	A2 + DR1	Pajot等人，Microbes Infect 2006;8:2783- 2790。
	204	212	FLGGTTVCL (SEQ ID NO: 779)	A2	Rehermann等人，J Exp Med 1995;181: 1047-1058。
	335	343	WLSLLVPFV (SEQ ID NO: 780)	A2	Nayersina等人，J Immunol 1993;150: 4659-4671。

蛋白質	起始位置	終止位置	序列	HLA限制	參考文獻
	337	357	SLLVPFVQWFVGLSPT VWLSV (SEQ ID NO: 781)	A2 + DR1	Loirat等人，J Immunol 2000;165: 4748-4755
	348	357	GLSPTVWLSV (SEQ ID NO: 782)	A2	Loirat等人，J Immunol 2000;165: 4748-4755
	370	379	SILSPFLPLL (SEQ ID NO: 783)	A2	Mizukoshi等人，J Immunol 2004;173: 5863-5871。

實例1 測試活體外效能

在人類PD-L1轉錄物中主要使用16至20具體間隙聚體來實施基因步移。在活體外實驗中於人類白血病單核球細胞系THP1及人類非何傑金氏K淋巴瘤(non-Hodgkin's K lymphoma)細胞系(KARPAS-299)中實施效能測試。

細胞系

THP1 及 Karpas-299 細胞系最初係購自 European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC)且如由供應商所推薦在37℃及5% CO₂下維持於加濕培育器中。

寡核苷酸效能

將THP-1細胞(3.104 in RPMI-GLutamax, 10% FBS, 1% Pen-Strep (Thermo Fisher Scientific)添加至96孔圓底板中之寡核苷酸(4-5 ul)中且以100 μl/孔之最終體積培養6天。在一種單一濃度(20 μM)下及在自25 μM至0.004 μM之劑量範圍濃度(1:3稀釋於水中)來篩選寡核苷酸。根據製造商說明書使用MagNA Pure 96 Cellular RNA大體積套組在MagNA Pure

96系統(Roche Diagnostics)上來提取總mRNA。對於基因表現分析而言，使用 TaqMan RNA-to-ct 1-Step 套組 (Thermo Fisher Scientific) 在 QuantStudio 機器(Applied Biosystems)上利用靶向人類PDL1之預設計 Taqman引子及用作內源性對照之ACTB (Thermo Fisher Scientific)來實施RT-qPCR。使用 $2(-\Delta\Delta C(T))$ 方法計算相對PD-L1 mRNA表現程度且將抑制百分比(呈%形式)與對照試樣(未處理細胞)進行比較。

在RPMI 1640、2 mM麩醯胺酸及20% FBS (Sigma)中培養Karpas-299細胞。將細胞以10000個細胞/孔平鋪於96孔板中，培育24小時，然後添加溶於PBS中之寡核苷酸。單一劑量中之寡核苷酸之最終濃度為5 μ M，最終培養體積為100 μ l/孔或以於100 μ L培養體積中自50 μ M、15.8 μ M、5.0 μ M、1.58 μ M、0.5 μ M、0.158 μ M、0.05 μ M至0.0158 μ M之劑量反應範圍來添加。在添加寡核苷酸化合物之後3天收穫細胞且根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)來提取RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen，PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析而言，使用TaqMan Fast Advanced Master Mix (2 $\times$) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1 (Applied Biosystems；Hs01125299_m1)及TBP (Applied Biosystems；4325803)來實施qPCR。相對PD-L1 mRNA表現程度以對照試樣(經PBS處理細胞)之%形式展示於表10中。

表10：抗PD-L1化合物在THP1及KARPAS-299細胞系中之活體外效能(來自n=3個實驗之平均值)。將PD-L1 mRNA含量正規化至KARPAS-299細胞中之TBP或THP1細胞中之ACTB且展示為對照% (經PBS處理之

細胞)。

CMP ID NO	KARPAS-299細胞 5 μM CMP		THP1細胞 20 μM CMP		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
4_1	50	1	32	11	TAattggctctacTGC	236
5_1	25	5	9	6	TCGCataagaatgaCT	371
6_1	29	2	15	5	TGaacacacagtcgCA	382
7_1	27	7	3	1	CTGaacacacagtCGC	383
8_1	23	4	11	3	TCTgaacacacagtCG	384
9_1	32	3	19	6	TTCTgaacacacagTC	385
10_1	57	5	39	16	ACaagtcatgttaCTA	463
11_1	75	5	37	12	ACacaagtcatgttAC	465
12_1	22	2	10	3	CTtacttagatgcTGC	495
13_1	33	4	23	11	ACTtacttagatgCTG	496
14_1	33	7	21	6	GACTtacttagatgCT	497
15_1	41	6	18	10	AGacttacttagaTGC	498
16_1	96	14	40	7	GCAggaagagactTAC	506
17_1	22	2	9	3	AATAaattccgttCAGG	541
18_1	34	6	21	9	GCAAaataaattcCGTT	545
18_2	51	4	27	11	GCAAaataaattccGTT	545
19_1	38	5	23	7	AGCAaataaattcCGT	546
20_1	73	8	56	15	CAGAgcaaataaatTCC	548
21_1	83	8	65	10	TGGAcagagcaaataAAT	551
22_1	86	6	80	8	ATGGacagagcaAATA	554
23_1	44	4	30	2	CAgaatggacagaGCA	558
24_1	63	10	40	11	TTCTcagaatggacAG	562
25_1	31	1	39	5	CTGAactttgacATAG	663
26_1	60	4	56	19	AAgacaaacccagacTGA	675
27_1	36	4	34	10	TATAagacaaacccAGAC	678

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
28_1	40	4	28	13	TTATAagacaaaccCAGA	679
29_1	30	2	18	6	TGTTataagacaaaCCC	682
30_1	77	3	67	10	TAGAacaatggtaCTTT	708
31_1	81	17	20	14	GTAGaacaatggtaCT	710
32_1	29	5	14	8	AGGtagaacaatgGTA	712
33_1	32	1	43	20	AAGAggtagaacaATGG	714
34_1	70	4	35	13	GCatccacagtaaaTT	749
35_1	83	2	66	21	GAaggttatttaaTTC	773
36_1	18	2	15	5	CTAAAtcgaatgcaGCA	805
37_1	64	7	35	10	TACccaatctaataCGA	813
38_1	69	1	49	13	TAGttacccaataTAA	817
39_1	49	5	26	9	CATttagttacccaAAT	821
40_1	23	7	8	2	TCAtttagttaccCAA	822
41_1	24	6	12	3	TTcatttagttaCCCA	823
42_1	51	7	40	5	GAATtaatttcattTAGT	829
43_1	71	9	45	3	CAGTgaggaattaATTT	837
44_1	60	5	45	17	CCAACagtgaggAATT	842
45_1	63	1	37	15	CCCaacagtgaggAAT	843
46_1	31	3	29	12	TAtacccaacagtAGG	846
47_1	44	3	27	0	TTatacccaacagTGAG	847
48_1	38	3	26	6	TTTatacccaacagTGA	848
49_1	20	4	7	1	CCTttatacccaaCAG	851
50_1	22	3	6	2	TAACctttatacCCAA	854
51_1	28	1	29	16	AATaacctttataCCCA	855
52_1	80	11	48	10	GTAaataacctttaTA	859
53_1	54	4	37	14	ACTGtaaataacctTTAT	860

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
54_1	81	4	53	15	ATAtatatgcaatgAG	903
55_1	86	12	70	15	AGatatatatgcaaTG	905
56_1	56	8	27	7	GAGatatatatgcAAT	906
57_1	28	7	13	5	CCagagatatataTGC	909
58_1	88	13	69	23	CAATattccagagATAT	915
59_1	29	3	14	6	GCAAtattccagagATA	916
60_1	25	3	14	3	AGCaatattccagaGAT	917
61_1	29	4	17	2	CAGcaatattccAGAG	919
62_1	27	3	14	3	AATCagcaatattCCAG	921
63_1	23	6	12	6	ACAAtcagcaataTTCC	923
64_1	53	9	43	15	ACtaagtagttacactTCT	957
65_1	32	5	14	6	CTAAgtagttacactTC	958
66_1	35	4	31	6	GACtaagtagttacaCTT	959
67_1	64	10	55	14	TGActaagtagtTACA	962
68_1	62	11	57	16	CTTTgactaagtagTTA	964
69_1	42	9	59	13	CTCtttgactaagTAG	967
70_1	81	6	56	12	GCTCtttgactaagTA	968
71_1	27	3	39	9	CCttaaatactgtTGAC	1060
72_1	75	5	36	7	CTtaaatactgttgAC	1060
73_1	35	6	43	13	TCCttaaatactgTTG	1062
74_1	57	4	79	25	TCTCcttaaatactgTT	1063
75_1	53	6	28	6	TAtcatagttctCCTT	1073
76_1	26	4	9	2	AGTatcatagttcTCC	1075
77_1	74	5	39	12	GAGtatcatagttCTC	1076
78_1	49	5	35	6	AGagtatcatagTTCT	1077
78_2	74	6	36	8	AGAgtatcatagfTCT	1077

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
79_1	19	2	19	13	CAGagtatcatagTTC	1078
80_1	23	2	26	2	TTCAgagtatcataGT	1080
81_1	35	3	36	11	CTTcagagtatcATAG	1081
82_1	24	6	20	7	TTCTtcagagtatcaTA	1082
83_1	20	2	16	2	TTTcttcagagtaTCAT	1083
84_1	33	4	37	10	GAGAAaggctaagTTT	1099
85_1	42	2	35	18	GAcactcttgtaCATT	1213
86_1	50	4	54	8	TGagacactcttgtaCA	1215
87_1	50	8	28	8	TGagacactcttgTAC	1216
88_1	61	4	33	6	CTttattaaactCCAT	1266
89_1	71	8	43	12	ACCAaactttattaAA	1272
90_1	62	5	42	9	AAACctctactaagTG	1288
91_1	22	3	12	5	AGattaagacagtTGA	1310
92_1	46	3	ND	ND	AAgtaggagcaagaGGC	1475
93_1	42	4	60	24	AAAGtaggagcaagAGG	1476
94_1	86	15	46	10	GTtaagcagccaggAG	1806
95_1	66	6	82	27	AGggtaggatgggtAG	1842
96_1	83	19	62	36	AAGggtaggatgggTA	1843
97_1	60	9	69	5	CAAgggtaggatggGT	1844
97_2	76	13	34	7	CAagggtaggatggGT	1844
98_1	65	8	76	28	CCaagggtaggatgGG	1845
99_1	61	2	75	17	TCcaagggtaggatGG	1846
100_1	83	4	82	13	CTTCaagggtaggAT	1848
101_1	45	3	52	14	ATCtccaagggtagGA	1849
102_1	29	2	17	7	AGaagtgatggctCATT	1936
103_1	26	3	22	1	AAGaagtgatggcTCAT	1937

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
104_1	34	6	22	2	GAAgaagtgatggcTCA	1938
105_1	41	5	21	5	ATGAaatgtaaacTGGG	1955
106_1	40	8	29	6	CAATgaaatgtaaaCTGG	1956
107_1	24	3	16	4	GCAATgaaatgtaaACTG	1957
108_1	30	4	20	6	AGCAatgaaatgtaAACT	1958
109_1	44	4	34	14	GAGCaatgaaatgtAAAC	1959
110_1	18	1	13	3	TGaattcccatatcCGA	1992
111_1	69	8	35	8	AGaattatgaccaTAT	2010
112_1	77	7	38	10	AGGtaagaattatGACC	2014
113_1	97	10	56	13	TCAGgtaagaattaTGAC	2015
114_1	69	8	54	21	CTTCaggtaagaatTATG	2017
115_1	91	7	115	42	TCTTcaggtaagaATTA	2019
116_1	88	6	104	36	CTTCttcaggtaaGAAT	2021
117_1	85	6	118	17	TCTTcttcaggtaaGAA	2022
118_1	105	14	102	9	TCTtcttcaggtaAGA	2023
119_1	37	2	76	18	TGGtctaagagaaGAAG	2046
120_1	46	6	81	11	GTTGgtctaagagAAG	2049
121_1	74	11	64	4	AGTtgggtctaagAGAA	2050
122_1	74	9	55	21	CAGttgggtctaagAGAA	2050
123_1	65	9	95	21	GCAgttgggtctaagagAA	2050
124_1	63	7	ND	ND	CAGTtgggtctaagaGA	2051
125_1	65	6	ND	ND	GCagttgggtctaagaGA	2051
126_1	67	14	104	34	GCagttgggtctaaGAG	2052
127_1	22	6	10	3	CTcatatcagggCAGT	2063
128_1	50	4	46	9	CACAcatgttctttaAC	2087
129_1	22	4	12	12	TAAatacacacatgTTCT	2092

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
130_1	24	2	43	28	GTAAatacacacatgTTC	2093
131_1	33	3	20	12	TGTAaatacacacaTGTT	2094
132_1	73	17	57	21	GATCatgtaaatacACAC	2099
133_1	47	5	28	14	AGATcatgtaaataCACA	2100
134_1	35	6	26	11	CAAAGatcatgtaaatACAC	2101
135_1	30	2	14	3	ACAAagatcatgtaaaTACA	2102
136_1	52	6	24	18	GAATacaaagatcaTGTA	2108
137_1	33	5	20	6	AGAAatacaaagatcATGT	2109
138_1	37	1	22	15	CAGAatacaaagatCATG	2110
139_1	85	6	53	8	GCAGaatacaaagATCA	2112
140_1	79	4	40	6	AGGCagaatacaaagAT	2114
141_1	56	2	53	20	AAGGcagaatacaaaAGA	2115
142_1	28	5	20	5	ATTagtgagggaGAA	2132
143_1	26	2	22	10	CAttagtgagggaCGA	2133
144_1	29	6	16	4	GAgggtgatggatTAG	2218
145_1	45	6	22	5	TTaggagtaataAAGG	2241
146_1	65	7	44	9	TTAatgaatttggTGT	2263
147_1	84	8	43	10	CTttaatgaatttGT	2265
148_1	32	0	15	3	CATGgattacaactAA	2322
149_1	33	2	20	4	TCatggattacaaCTA	2323
150_1	29	1	11	3	GTCatggattacaaCT	2324
151_1	64	2	40	9	CAttaaacttagTCAT	2335
152_1	97	8	63	22	GACAttaaacttagTCA	2336
153_1	92	7	ND	ND	AGGGacattaaatcTA	2340
154_1	35	4	25	15	CAAAGcattataaCCA	2372
155_1	34	3	24	6	ACttactaggcaGAAG	2415

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
156_1	102	6	113	18	CAGAgttaactgtaCA	2545
157_1	102	10	103	15	CCAGagttaactgtAC	2546
158_1	88	7	95	18	GCcagagttaactgTA	2547
159_1	78	10	ND	ND	TGggccagaggttaaCT	2550
160_1	59	5	26	5	CAGcatctatcagaCT	2576
161_1	78	8	42	10	TGAaataacatgagTCAT	2711
162_1	31	6	ND	ND	GTGaaataacatgAGTC	2713
163_1	18	2	11	3	TCTGtttatgtcacTG	2781
164_1	56	5	29	9	GTCTgtttatgtcaCT	2782
165_1	37	8	12	5	TGgtctgtttatGTCA	2784
166_1	39	1	19	3	TTGGtctgtttatgTC	2785
167_1	41	3	35	14	TCaccattgtttaAA	2842
168_1	18	3	14	4	TTcagcaaatatTCGT	2995
169_1	36	8	13	2	GTGgttcagcaaATAT	2999
170_1	18	2	11	4	TCTattgttaggtATC	3053
171_1	67	4	26	12	ATtgcccatcttacTG	3118
172_1	71	2	33	9	TATtgcccatcttaCT	3119
173_1	47	4	20	5	AAatattgcccatCTT	3122
174_1	74	4	34	7	ATAaccttatcataCA	3174
175_1	98	19	44	12	TAtaaccttatcaTAC	3175
176_1	100	10	64	11	TTAtaaccttatcaTA	3176
177_1	72	38	28	5	TTTataaccttatCAT	3177
178_1	47	6	34	6	ACtgctattgctaTCT	3375
179_1	41	3	23	6	AGgactgctattgCTA	3378
180_1	32	6	27	7	GAGgactgctattgCT	3379
181_1	83	1	46	20	ACgtagaataataaCA	3561

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
182_1	94	4	52	9	CCaagtgatataATGG	3613
183_1	49	2	16	3	TTagcagaccaaGTGA	3621
184_1	96	3	26	5	GTtagcagaccaaGT	3623
185_1	78	3	46	10	TGacagtgattataTT	3856
186_1	88	5	45	21	TGTCcaagatattgAC	3868
187_1	46	6	23	6	GAAatcctagatTGT	4066
188_1	79	3	45	14	CAaactgagaataTCC	4074
189_1	63	5	27	8	GCAaactgagaataTC	4075
190_1	77	9	37	11	TCCtattacaatcgTA	4214
191_1	74	10	36	9	TTCCtattacaatcGT	4215
192_1	91	8	51	28	ACtaatgggaggatTT	4256
193_1	95	14	67	24	TAgttcagagaataAG	4429
194_1	86	5	47	16	TAacatatagttcAGA	4436
195_1	87	4	81	20	ATAacatatagttcAG	4437
196_1	101	6	67	20	CAtaacatatagttCA	4438
197_1	91	6	60	13	TCataacatatagtTC	4439
198_1	61	3	31	10	TAGCtcctaacaatCA	4507
199_1	79	12	49	11	CTCCaatctttgtaTA	4602
200_1	74	2	58	13	TCTCcaatctttgtAT	4603
201_1	53	3	33	10	TCtatttcagccaaTC	4708
202_1	25	4	30	9	CGGaagtcagagtGAA	4782
203_1	32	5	21	7	TTAAgcatgaggaaTA	4798
204_1	34	10	26	11	TGAttgagcacctCTT	4831
205_1	81	12	62	12	GACtaattatttcgTT	4857
206_1	57	7	37	7	TGActaattatttCGT	4858
207_1	26	5	21	6	GTGactaattattTCG	4859

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
208_1	48	3	33	13	CTGCttgaaatgtgAC	4870
209_1	32	1	34	13	CCtgcttgaaatgTGA	4871
210_1	60	5	50	19	ATcctgcttgaaATGT	4873
211_1	111	8	110	26	ATTataaatctatTCT	5027
212_1	107	1	67	12	GCtaaatactttcATC	5151
213_1	26	3	19	6	CAttgtaacataCCTA	5251
214_1	33	2	20	4	GCattgtaacatacCT	5252
215_1	89	8	53	16	TAatattgcaccaaAT	5295
216_1	25	2	29	9	GAtaatattgcacCAA	5297
217_1	27	1	27	6	AGataatattgcacCA	5298
218_1	79	6	45	11	GCcaagaagataATAT	5305
219_1	159	16	68	14	CACAgccacataaaCT	5406
220_1	90	2	72	12	TTgtaattgtggaaAC	5463
221_1	10	2	11	5	TGacttgtaattgTGG	5467
222_1	82	1	67	18	TCtaactgaaatagTC	5503
223_1	30	1	32	9	GTGgttctaactgaAA	5508
224_1	53	7	53	15	CAatatgggacttgGT	5522
225_1	44	1	33	10	ATGacaatatgggaCT	5526
226_1	49	1	41	14	TATGacaatatgggAC	5527
227_1	77	1	54	15	ATATgacaatatggGA	5528
228_1	100	3	98	29	CTtcacttaataaTTA	5552
229_1	90	12	80	19	CTGCttcacttaatAA	5555
230_1	91	0	79	23	AAgactgcttcacTTA	5559
231_1	49	8	77	34	GAATgccctaattaTG	5589
232_1	17	7	88	33	TGGaatgccctaataTA	5591
233_1	40	5	35	10	GCAaatgccagtagGT	5642

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
234_1	81	6	72	25	CTAatggaaggattTG	5673
235_1	97	17	87	25	AAtatagaacctaaTG	5683
236_1	98	4	83	21	GAAagaatagaatGTT	5769
237_1	93	2	102	26	ATGggtaatagattAT	5893
238_1	110	24	44	14	GAAgagcacagggTG	6103
239_1	66	5	36	10	CTACatagagggaTG	6202
240_1	70	4	34	8	GCttectacataGAGG	6207
241_1	64	NA	33	6	TGCTtcctacatagAG	6208
242_1	30	NA	19	7	TGggcttgaaataTGT	6417
243_1	88	6	69	15	CATtatatttaagaAC	6457
244_1	8	2	5	2	TCggttatgttaTCAT	6470
245_1	18	9	12	4	CActttatctggTCGG	6482
246_1	37	2	19	5	AAAttggcacagcGTT	6505
247_1	46	12	29	8	ACCGtgacagtaaATG	6577
248_1	31	2	25	2	TGggaaccgtgacagTA	6581
249_1	17	2	23	9	CCacatataggtcCTT	6597
250_1	15	6	23	7	CAtattgctaccaTAC	6617
251_1	4	2	9	2	TCAtattgctaccATA	6618
252_1	65	12	85	14	CAATtgtcatatTGCT	6624
253_1	20	2	51	7	CATtcaattgcataTTG	6626
254_1	48	8	91	41	TTTCtactgggaaTTTG	6644
255_1	11	5	23	8	CAAttagtgcagcCAG	6672
256_1	43	7	62	13	GAATAatgttcttaTCC	6704
257_1	28	2	36	19	CACAaattgaataatgtTCT	6709
258_1	64	4	78	22	CATGcacaattgaaTAAT	6714
259_1	53	8	104	73	ATCctgcaatttcaCAT	6832

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
260_1	54	5	59	14	CCaccatagctgatCA	6868
261_1	42	8	52	22	ACcaccatagctgaTCA	6868
262_1	68	5	118	66	CaccaccatagctgaTC	6869
263_1	40	2	73	20	TAgtcggcaccaccAT	6877
264_1	64	6	72	35	CttgtagtcggcaccAC	6880
265_1	56	4	82	35	CttgtagtcggcacCA	6881
266_1	41	5	46	21	CGctttagtcggcAC	6883
267_1	51	4	33	14	TCAataaagatcagGC	6942
268_1	61	2	49	10	TGgacttacaagaaTG	6986
269_1	45	7	40	9	ATGgacttacaagaAT	6987
270_1	51	12	36	12	GCTCaagaaattggAT	7073
271_1	17	0	14	5	TACTgtagaacatgGC	7133
272_1	15	3	11	3	GCAAttcatttgaTCT	7239
273_1	64	11	ND	ND	TGaagggaggaggacAC	7259
274_1	52	6	50	28	AGtggtgaagggaggAG	7265
275_1	79	7	ND	ND	TAgtggtgaagggaggAG	7265
276_1	81	6	ND	ND	AtagtgtgaagggaggAG	7265
277_1	70	9	ND	ND	TAgtggtgaagggagGA	7266
278_1	84	9	ND	ND	ATagtgtgaagggagGA	7266
279_1	40	6	64	53	TAGtggtgaaggggaGG	7267
280_1	42	10	ND	ND	ATAgtggtgaaggggaGG	7267
281_1	63	7	ND	ND	GAtagtgtgaaggggaGG	7267
282_1	27	7	38	11	ATAGtggtgaagggAG	7268
283_1	60	22	ND	ND	GAtagtgtgaaggGAG	7268
284_1	23	3	97	54	GAgatagtgtgAAGG	7271
285_1	51	6	72	19	CATGggagatagtGT	7276

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
286_1	7	1	21	9	ACAAataatggttaCTCT	7302
287_1	66	8	48	20	ACACacaaataatgGTTA	7306
288_1	67	6	58	20	GAGggacacacaaaTAAT	7311
289_1	46	2	50	21	ATATagagaggcTCAA	7390
290_1	22	6	ND	ND	TTgatatagagaGGCT	7393
291_1	11	2	17	3	GCATttgatatagAGA	7397
292_1	70	18	44	8	TTtgcatttgataTAG	7400
293_1	30	1	30	9	CTGgaagaataggTC	7512
294_1	53	5	42	10	ACTGgaagaataggTT	7513
295_1	56	2	41	15	TACTggaagaatagGT	7514
296_1	80	8	53	13	TGGCttatcctgtaCT	7526
297_1	73	6	52	14	ATggccttatcctGTAC	7527
298_1	75	7	89	25	TATGgccttatcctgTA	7528
299_1	52	5	50	11	GTAatggccttatccTGT	7529
300_1	27	3	31	6	ATgaatatatgccCAGT	7547
301_1	41	8	33	9	GATgaatatatgCCCA	7549
302_1	8	2	ND	ND	CAAgatgaatataTGCC	7551
303_1	32	5	37	14	GACAacatcagtaTAGA	7572
304_1	28	5	30	23	CAAGacaacatcAGTA	7576
305_1	47	5	41	9	CACtctagttccTTT	7601
306_1	39	6	33	7	AACactcctagttCCT	7603
307_1	68	3	42	14	TAacactcctagtTCC	7604
308_1	115	5	69	22	CTaacactcctagtTC	7605
309_1	97	16	57	14	TGataacataactgTG	7637
310_1	36	1	23	10	CTgataacataaCTGT	7638
311_1	38	5	24	5	TTTGaactcaagtgAC	7654

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
312_1	42	3	39	5	TCCTTtacttagcTAG	7684
313_1	15	2	14	3	GAgtttgattagCTG	7764
314_1	49	28	ND	ND	TGggatatgacagGGA	7838
315_1	34	6	ND	ND	TGTGggatatgacaGG	7840
316_1	47	3	37	8	ATATggaaggataTC	7875
317_1	11	3	ND	ND	ACAggatatggaaGGG	7880
318_1	48	4	ND	ND	ATTTcaacaggatATGG	7885
319_1	18	2	16	4	GAgtaatttcaacAGG	7891
320_1	74	6	44	5	AGGGagtaatttcAACA	7893
321_1	38	5	56	28	ATTAgggagtaatTTCA	7896
322_1	66	9	32	11	CTtactattaggGAGT	7903
323_1	13	1	15	5	CAgcttactattaGGG	7906
324_1	26	4	20	9	TCAgcttactattAGG	7907
325_1	43	4	17	2	ATTtcagcttactaTTAG	7908
326_1	54	5	57	16	TTcagcttactaTTAG	7908
327_1	28	3	8	2	CAGAtttcagcttaCT	7913
328_1	43	4	37	16	GACtacaactagagGG	7930
329_1	45	12	36	10	AGACtacaactagaGG	7931
330_1	99	8	94	32	AAgactacaactagAG	7932
331_1	59	4	52	19	ATGAtttaattctagtCAAA	7982
332_1	100	2	84	23	TTTaattctagtcAAA	7982
333_1	91	9	60	19	GATTtaattctaGTCA	7984
771_1	74	6	50	5	TGAtttaattctaGTCA	7984
334_1	73	5	54	12	ATGAtttaattctagTCA	7984
335_1	15	1	26	3	GATGatttaattctagtCA	7984
336_1	71	22	49	16	GAtttaattctaGTCA	7984

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
337_1	43	5	30	11	GATGatttaattctaGTC	7985
338_1	98	5	90	27	TGatttaattctagTC	7985
339_1	87	21	86	2	GAGAtgatttaatTCTA	7988
340_1	92	5	85	27	GAGatgatttaatTCT	7989
341_1	7	1	7	1	CAGAttgatggtagTT	8030
342_1	7	2	24	11	CTcagattgatgGTAG	8032
343_1	3	1	14	9	GTTagccctcagaTTG	8039
344_1	14	5	20	7	TGtattgttagcCCTC	8045
345_1	10	2	11	5	ACttgtattgttAGCC	8048
346_1	52	4	52	17	AGCcagtatcagggAC	8191
347_1	33	3	18	8	TTgacaatagtgGCAT	8213
348_1	7	2	13	5	ACAagtggtatctTCT	8228
349_1	63	8	44	15	AATCtactttacaaGT	8238
350_1	36	2	ND	ND	CACagtagatgcctGATA	8351
351_1	24	2	30	9	GAacacagtagatGCC	8356
352_1	23	4	103	14	CTTGgaacacagtagAT	8359
353_1	20	2	45	2	ATAtcttgaacaCAG	8364
354_1	25	3	24	6	TCTttaatatcttgGAAC	8368
355_1	39	2	41	10	TGatttctttaatatCTTG	8372
356_1	54	5	88	43	TGatgatttctttaaTATC	8375
357_1	31	4	45	27	AGGctaagtcatgaTG	8389
358_1	18	3	43	20	TTGAtgaggctaagTC	8395
359_1	6	2	11	2	CCAggattatactcTT	8439
360_1	43	5	40	14	GCcaggattataCTCT	8440
361_1	56	8	73	13	CTGccaggattataCT	8442
362_1	23	1	33	7	CAGAAacttatactttaTG	8473

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
363_1	49	8	45	14	AAGCagaaacttaTACT	8478
364_1	39	6	37	4	GAAGcagaaacttaTACT	8478
365_1	26	4	45	13	TGGaagcagaaacttataCT	8478
366_1	21	4	44	5	TGGaagcagaaacttaTAC	8479
367_1	97	4	70	22	AAgcagaaacttaTAC	8479
368_1	34	3	32	11	TGGaagcagaaactTATA	8480
369_1	71	7	46	19	AAGGgatattatggAG	8587
370_1	51	9	79	38	TGccggaagatttcCT	8641
371_1	45	6	52	25	ATGGattgggagtaGA	8772
372_1	27	7	30	8	AGatggattgggagTA	8774
373_1	13	3	28	6	AAGatggattgggaGT	8775
374_1	42	10	44	11	ACaagatggattGGGA	8777
374_2	41	3	45	14	ACaagatggattggGA	8777
375_1	83	9	88	32	AGAaggttcagaCTTT	8835
376_1	40	5	33	3	GCAGAaggttcagaCT	8837
376_2	28	5	20	4	GCagaaggttcagACT	8837
377_1	70	2	43	8	TGCAGAaggttcagAC	8838
378_1	23	3	55	17	AGtcagaaggttCAG	8840
378_2	51	6	41	8	AGTGcagaaggttcAG	8840
379_1	34	6	35	7	AAGTgcagaaggttCA	8841
380_1	44	11	24	6	TAagtgcagaagGTTC	8842
381_1	37	5	45	9	TCtaagtgcagaAGGT	8844
382_1	75	5	147	26	CTCaggagtctactTC	8948
383_1	90	10	141	55	CTCaggagtcttaCTT	8949
384_1	73	8	234	116	AtggaggtgactcaggAG	8957
385_1	33	4	42	7	ATggaggtgactcagGA	8958

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
386_1	24	3	29	14	ATggaggtgactcAGG	8959
387_1	37	2	65	15	TAtggaggtgactcAGG	8959
388_1	50	10	81	19	ATatggaggtgactcaGG	8959
389_1	42	5	61	10	TATGgaggtgactcAG	8960
390_1	36	2	76	50	ATatggaggtgacTCAG	8960
391_1	52	6	64	6	CAtatggaggtgactcAG	8960
392_1	63	5	57	6	ATAtggaggtgacTCA	8961
393_1	53	7	64	12	CAtatggaggtgacTCA	8961
394_1	51	5	56	24	CAtatggaggtgACTC	8962
395_1	23	3	41	34	GCatatggaggtgacTC	8962
396_1	34	3	54	10	TGcatatggaggtgacTC	8962
397_1	54	5	71	24	TtgcatatggaggtgacTC	8962
398_1	61	11	59	13	TttgcatatggaggtgacTC	8962
399_1	25	2	30	6	GCatatggaggtgaCT	8963
400_1	34	4	25	9	TGcatatggaggtgaCT	8963
401_1	25	4	31	20	TTGcatatggaggtgaCT	8963
402_1	51	6	37	11	TttgcatatggaggtgaCT	8963
403_1	26	1	33	5	TGCatatggaggtgAC	8964
404_1	25	2	69	19	TTGcatatggaggtGAC	8964
405_1	26	4	24	4	TTTGcatatggaggtgAC	8964
406_1	19	3	20	7	TTTGcatatggaggtGA	8965
407_1	16	5	46	16	TTtgcatatggaGGTG	8966
408_1	9	2	9	6	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
409_1	26	8	109	52	TGggaagtgaagTTCA	9002
410_1	31	5	24	5	ATgggaagtgaagTTC	9003
411_1	49	9	19	10	GATGggaagtgaagGTT	9004

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
412_1	28	10	17	9	CTGtgatgggaagtGAA	9007
413_1	54	4	34	8	ATTgagtgaatccAAA	9119
414_1	11	1	14	2	AAttgagtgaatCCAA	9120
415_1	58	6	14	2	GATAattgagtgaatTCC	9122
416_1	5	1	16	3	GTGataattgagtGAA	9125
417_1	73	5	61	14	AAGaaaggtgcaaTAA	9155
418_1	86	6	64	13	CAagaaaggtgcAATA	9156
419_1	75	19	64	14	ACAAGaaaggtgcaAT	9157
420_1	75	8	50	13	ATttaaactcaciaAC	9171
421_1	21	8	23	6	CTgttaggttcaGCGA	9235
422_1	54	10	30	5	TCTGaatgaacatTTCG	9260
423_1	11	4	15	5	CTcattgaaggtTCTG	9281
424_1	87	3	52	8	CTAatctcattgaaGG	9286
425_1	95	1	85	13	CCtaatctcattgaAG	9287
426_1	31	7	22	7	ACTttgatctttcAGC	9305
427_1	64	7	49	16	ACtatgcaacacttTG	9315
428_1	18	6	21	3	CAAatagctttatCGG	9335
429_1	19	6	17	4	CCaaatagctttATCG	9336
430_1	35	4	27	8	TCCAaatagctttaTC	9337
431_1	75	8	43	7	GATCcaaatagcttTA	9339
432_1	67	11	32	8	ATgatccaaataGCTT	9341
433_1	53	5	43	6	TATGatccaaatagCT	9342
434_1	97	9	66	29	TAAAcagggtctggGAAT	9408
435_1	58	12	44	17	ACttaaacagggtCTGG	9412
436_1	58	10	30	12	ACacttaaacagGGCT	9414
437_1	87	38	41	3	GAACacttaaacAGGG	9416

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
438_1	70	4	59	33	AGAGaacacttaaACAG	9418
439_1	83	17	28	9	CTACagagaacaCTTA	9423
440_1	49	12	27	4	ATGctacagagaaCACT	9425
441_1	53	10	24	13	ATAAatgctacagagAACAA	9427
442_1	23	6	20	10	AGataaatgctacaGAGA	9430
443_1	48	6	27	7	TAGAGataaatgcTACA	9434
444_1	51	3	32	8	TAGAtagagataaatGCT	9437
445_1	38	5	ND	ND	CAATatactagataGAGA	9445
446_1	52	3	31	1	TACAcaatatactagATAG	9448
447_1	65	6	48	11	CTAcacaatatacTAG	9452
448_1	67	9	29	2	GCTAcacaatatACTA	9453
449_1	103	17	65	15	ATATgctacacaatATAC	9455
450_1	71	13	129	22	TGATatgctacaCAAT	9459
451_1	19	4	9	1	ATGAtatgatatgCTAC	9464
452_1	75	10	45	21	GAGGagagagacaaTAAA	9495
453_1	68	6	43	10	CTAggaggagagagACA	9500
454_1	72	7	79	25	TATTctaggaggagAGA	9504
455_1	31	3	29	9	TTATattctaggagGAG	9507
456_1	38	5	62	17	GTTtatattctaGGAG	9510
457_1	15	6	15	8	TGgagtttatattcTAGG	9512
458_1	34	3	21	3	CGtaccaccactcTGC	9590
459_1	41	5	55	22	TGAGgaaatcattcATTC	9641
460_1	81	8	47	22	TTTGaggaaatcatTCAT	9643
461_1	76	8	39	5	AGGCtaatcctattTG	9657
462_1	93	12	216	12	TTTAggctaateCTAT	9660
463_1	15	6	30	9	TGCtccagtgtaccCT	9755

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
464_1	27	3	25	6	TAgtagtactcgATAG	9813
465_1	9	2	7	3	CTAattgtagtagtaCTC	9818
466_1	52	3	32	6	TGctaattgtagTAGT	9822
467_1	68	11	36	16	AGTGctaattgtagTA	9824
468_1	35	6	32	3	GCAAgtgctaattgTA	9827
469_1	91	9	ND	ND	GAGGaaatgaactaattTA	9881
470_1	92	5	ND	ND	CAGGaggaaatgaacTA	9886
471_1	67	5	42	6	CCctagagtcattTCC	9902
472_1	35	5	20	8	ATCttacatgatgaAGC	9925
473_1	13	1	20	5	GACacactcagatttcAG	9967
474_1	24	4	20	2	AGacacactcagatttcAG	9967
475_1	25	4	24	7	AAGacacactcagatttcAG	9967
476_1	26	6	19	4	AGacacactcagattTCA	9968
477_1	28	4	32	13	AAGacacactcagattTCA	9968
478_1	31	8	37	6	AAagacacactcagatTTCA	9968
479_1	63	7	51	26	GAAagacacactcagatTTC	9969
480_1	37	10	ND	ND	AAGAcacactcagatTTC	9969
481_1	41	4	ND	ND	AAAGacacactcagaTTTC	9969
482_1	19	5	48	14	TGAAagacacactcagatTT	9970
483_1	60	8	68	10	TGaaagacacactcaGATT	9971
484_1	42	8	63	22	TGAaagacacactcaGAT	9972
485_1	48	9	41	20	ATTGaaagacacacTCA	9975
486_1	27	6	27	12	TCattgaaagacaCACT	9977
487_1	88	13	121	33	TTCcatcattgaAAGA	9983
488_1	80	12	ND	ND	ATAAtaccacttaTCAT	10010
489_1	13	4	27	15	TTacttaatttcttTGGA	10055

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
490_1	32	5	60	24	TTAgaactagctttaTCA	10101
491_1	58	10	55	17	GAGgtacaaatatAGG	10171
492_1	4	1	12	3	CTTatgatacaacTTA	10384
493_1	37	6	35	5	TCttatgatacaaCTT	10385
494_1	30	0	27	6	TTCttatgatacaaCT	10386
495_1	27	8	18	3	CAGtttcttatgaTAC	10390
496_1	25	10	25	6	GCAgtttcttatgaTA	10391
497_1	77	6	72	29	TACAaatgtctattagGTT	10457
498_1	66	5	69	17	TGTACaaatgtctatTAG	10460
499_1	27	10	20	4	AGCatcacaaattagTA	10535
500_1	31	10	25	5	CTAatgatagtgaGC	10548
501_1	21	7	30	8	AGCtaatgatagtgaAA	10550
502_1	35	5	39	8	ATGCcttgacataTA	10565
503_1	64	11	79	26	CTCAagattattgACAC	10623
504_2	25	4	83	32	ACctcaagattaTTGA	10626
504_1	94	7	22	6	ACCtcaagattaTTGA	10626
505_1	31	6	34	10	AACCtcaagattatTG	10627
506_1	55	6	62	17	CACAaacctcaagattaTT	10628
507_1	66	12	40	4	GTActtaattagACCT	10667
508_1	78	5	80	10	AGTActtaattagACC	10668
509_1	36	5	42	15	GTATgaggtggtaaAC	10688
510_1	40	4	48	22	AGgaaacagcagaAGTG	10723
511_1	27	7	13	6	GCacaaccagaggAA	10735
512_1	54	5	ND	ND	CAAgcacaaccagAG	10738
513_1	35	7	ND	ND	TTCaagcacaaccCAG	10740
514_1	49	6	52	15	AAttcaagcacaACCC	10742

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
515_1	72	4	106	49	TAATaattcaagcacaaCC	10743
516_1	43	4	57	21	ACTAataattcaaGCAC	10747
517_1	37	3	60	12	ATAAtactaataattcAAGC	10749
518_1	9	3	6	1	TAgatttgtgagGTAA	11055
519_1	59	10	31	5	AGCCttaattctccAT	11091
520_1	41	4	34	9	AATGatctagagcCTTA	11100
521_1	34	6	34	7	CTAatgatctagaGCC	11103
522_1	52	6	52	17	ACTaatgatctaGAGC	11104
523_1	60	4	54	10	CATtaacatgttctTATT	11165
524_1	57	4	55	8	ACAAGtacattaacatGTTC	11170
525_1	53	6	44	5	TTACAagtacattaaCATG	11173
526_1	54	11	49	17	GCTTtattcatgtTTAT	11195
527_1	34	7	17	5	GCTtattcatgttTA	11196
528_1	11	2	21	4	AGAgctttattcatgtTT	11197
529_1	22	4	33	7	ATAAGagctttattCATG	11200
530_1	30	5	32	15	CATAagagctttaTTCA	11202
531_1	77	8	24	4	AGCAtaagagctTTAT	11205
532_1	8	3	15	6	TAGattgttagtGCA	11228
533_1	4	2	10	2	GTagattgtttaGTGC	11229
534_1	41	6	33	11	GACAattctagtaGATT	11238
535_1	50	1	37	7	CTGacaattctaGTAG	11241
536_1	49	7	36	6	GCTGacaattctagTA	11242
537_1	59	2	42	11	AGgattaagatacgTA	11262
538_1	28	11	28	4	CAGgattaagataCGT	11263
539_1	96	5	20	6	TCAGgattaagataCG	11264
540_1	70	11	59	11	TTcaggattaagATAC	11265

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
541_1	53	5	28	4	AGGAagaaagtttgATTC	11308
542_1	92	13	59	12	TCAAggaagaaagtTTGA	11311
543_1	44	3	67	7	CTCAaggaagaaagTTTG	11312
544_1	43	4	32	4	TGCTcaaggaagaAAGT	11315
545_1	41	7	44	20	AATTatgctcaaggaAGA	11319
546_1	11	4	26	8	TAGGataccacattatGA	11389
547_1	25	4	26	12	CAtaattattccattcCTC	11449
548_1	64	6	ND	ND	TGCAtaatttattcCAT	11454
549_1	48	17	49	7	ACTGcataatttatTCC	11456
550_1	91	10	92	15	CTAAactgcataattTATT	11458
551_1	85	8	38	9	ATaactaaactgCATA	11465
552_1	86	4	ND	ND	TTAttaataactaaaCTGC	11468
553_1	91	13	92	21	TAGTactattattaataaCT	11475
554_1	50	4	37	7	CATAactaaggacgTT	11493
555_1	41	5	30	7	TCataactaaggaCGT	11494
556_1	80	7	55	13	CGTCataactaaggAC	11496
557_1	86	3	59	11	TCgtcataactaagGA	11497
558_1	51	9	33	12	ATcgtcataactAAGG	11498
559_1	91	6	65	26	GTtagtatcttacATT	11525
560_1	30	3	41	8	CTCtattgttagtATC	11532
561_1	59	8	18	6	AGTatagagttacTGT	11567
562_1	65	11	41	11	TTCCtggtgatactTT	11644
563_1	57	13	45	13	GTTCctggtgatacTT	11645
564_1	57	15	30	7	TGttcctggtgataCT	11646
565_1	17	4	35	4	ATaaacatgaatctCTCC	11801
566_1	16	3	30	4	CTTataaacatgaaTCTC	11804

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
567_1	60	5	45	11	CTGtctttataaaCATG	11810
568_1	20	2	19	5	TTgttataaatctgTCTT	11820
569_1	68	9	44	4	TTAaatttattcttgGATA	11849
570_1	76	8	48	12	CTtaaatttattctTGGA	11851
571_1	62	5	66	5	CTTCttaaatttattctTG	11853
572_1	28	4	44	10	TATGtttctcagtAAAG	11877
573_1	29	6	36	11	GAAttatctttaaACCA	11947
574_1	74	6	34	7	CCCttaaatttctaCA	11980
575_1	37	8	30	9	ACACtgctcttgtaCC	11995
576_1	45	14	27	6	TGAcaacactgctCTT	12000
577_1	2	1	12	5	TACAtttattgggcTC	12081
578_1	65	14	39	9	GTacatttattgGGCT	12082
579_1	34	4	53	12	TTGgtacatttatTGG	12085
580_1	41	7	35	6	CATGttggtacattTAT	12088
581_1	11	4	12	5	AATCatgttggtacAT	12092
582_1	96	16	48	9	AAatcatgttggtacaCA	12093
583_1	71	15	42	13	GACaagtttggtattAA	12132
584_1	46	34	39	6	AAtgttcagatgCCTC	12197
585_1	37	26	28	12	GCttaatgttcagaTG	12201
586_1	75	8	43	12	CGTAcatagcttgaTG	12267
587_1	41	10	28	5	GTGaggaattaggaTA	12753
588_1	41	5	27	9	GTAacaatatggttTG	12780
589_1	67	10	37	7	GAAatattgtagaCTA	13151
590_1	97	10	80	12	TTGaaatattgtagAC	13153
591_1	64	10	47	9	AAgtctagtaatTTGC	13217
592_1	84	7	60	9	GCTCagtagattatAA	13259

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
593_1	42	8	32	9	CATacactgttgcTAA	13296
594_1	101	6	79	17	ATGgtctcaaatcATT	13314
595_1	53	14	46	7	CAATggtctcaaatCA	13316
596_1	47	6	36	6	TTCCtattgattgaCT	13568
597_1	97	12	41	6	TTTCtggtcacaacAC	13600
598_1	85	1	49	11	AGgaaccctactaaTCT	13702
599_1	56	3	34	7	TAAatggcaggaacCC	13710
600_1	15	4	24	8	GTAAatggcaggaaCC	13711
601_1	40	6	26	8	TTgtaatggcagGAA	13713
602_1	59	12	26	6	TTatgagttaggCATG	13835
603_1	62	2	42	10	CCAggtgaaactttAA	13935
604_1	77	9	55	18	CCCtagtcagctCCT	13997
605_1	82	13	42	11	ACccttagtcagCTCC	13998
606_1	74	1	39	10	CACCtagtcagCTC	13999
607_1	76	9	30	8	TCTcttagtaggcTCC	14091
608_1	82	5	50	13	CCtatctgtcatcATG	14178
609_1	82	1	48	12	TCCtatctgtcatcAT	14179
610_1	41	6	50	13	GAGaagtgtgagaaGC	14808
611_1	70	5	84	19	CATCcttgaagtttAG	14908
612_1	64	14	61	16	TAAtaagatggctCCC	15046
613_1	85	2	51	14	CAAggcataataagAT	15053
614_1	47	1	35	10	CCaaggcataatAAGA	15054
615_1	74	8	53	11	TGatccaattctcaCC	15151
616_1	63	4	41	11	ATGatccaattctCAC	15152
617_1	46	7	42	9	CGCttcatcttcacCC	15260
618_1	104	4	15	4	TAtgacactgcaTCTT	15317

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
619_1	8	3	8	5	GTAtgacactgcaTCT	15318
620_1	21	3	27	10	TGtatgacactgCATC	15319
621_1	37	7	38	11	TTCTcttctgtaagTC	15363
622_1	49	7	36	11	TTctacagaggaACTA	15467
623_1	47	1	32	10	ACTacagttctacAGA	15474
624_1	78	8	69	6	TTCCcacaggtaaaTG	15561
625_1	70	7	ND	ND	ATTAttgaataactCATT	15594
626_1	73	7	49	25	TGGGaggaaattatTTG	15606
627_1	80	5	64	11	TGACtcactcttaaTG	15621
628_1	71	6	66	19	CTGactcatcttaaAT	15622
629_1	31	6	41	6	TTTactctgactcATC	15628
630_1	88	2	68	18	TATtggagggaattaTT	15642
631_1	53	2	27	6	GTAttggagggaattAT	15643
632_1	23	3	39	7	TGgtatacttctctaagTAT	15655
633_1	42	9	33	3	GATCtcttggtataCT	15666
634_1	38	1	30	16	CAGacaactctataCC	15689
635_1	10	2	19	3	AACAtcagacaacTCTA	15693
636_1	13	1	11	3	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	14	2	27	2	TTTAacatcagacaACTC	15695
638_1	101	14	81	16	ATttaacatcagacAA	15698
639_1	14	1	17	1	CCtatttaacatcAGAC	15700
640_1	65	2	ND	ND	TCCctatttaacaTCA	15703
641_1	41	6	42	12	TCAAcgactattgGAAT	15737
642_1	37	2	29	5	CTTAtattctggcTAT	15850
643_1	31	7	35	4	ATCCttatattctgGC	15853
644_1	13	3	8	1	GAtccttatattCTGG	15854

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
645_1	25	5	20	4	TGAtccttatattCTG	15855
646_1	33	6	54	10	ATTGaaacttgaTCCT	15864
647_1	43	3	27	6	ACgtgcattgaaACTT	15870
648_1	54	7	32	12	TCTtactgtcattgAA	15874
649_1	12	1	25	2	AGgatcttactgtCATT	15877
650_1	13	4	11	3	GCAaatcaactccATC	15896
651_1	10	5	16	3	GTGcaaactcaactCCA	15898
652_1	7	0	36	18	CAATtatttctttgTGC	15910
653_1	21	3	31	7	TGGcaacaattattTCTT	15915
654_1	75	9	73	24	GCTggcaacaatTATT	15919
655_1	21	6	39	6	ATCCatttctactgCC	15973
656_1	25	3	38	8	TAATatctattgattTCTA	15988
657_1	14	2	11	5	TCaatagtgtagggCA	16093
658_1	11	4	10	3	TTCaatagtgtaggGC	16094
659_1	18	1	32	12	AGGTaattaattcaATAG	16102
660_1	33	7	25	10	CATttgtaatccCTAG	16163
660_2	64	14	31	8	CATttgtaatcccTAG	16163
661_1	48	6	34	6	ACAtttgtaatccCTA	16164
662_2	29	6	23	5	AAcatttgtaatCCCT	16165
662_1	30	6	18	6	AACatttgtaatCCCT	16165
663_1	49	1	26	6	TAaatttcaagttCTG	16184
664_1	17	3	30	10	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
665_1	22	7	40	9	CCAAGtttaaatttCAAG	16189
666_1	89	11	ND	ND	ACCCaagtttaaaTTTC	16192
667_1	60	16	87	8	CAtacagtgaccaagTTT	16199
668_1	65	9	50	12	ACatcccatacagTGA	16208

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
669_1	83	8	103	4	AGcacagctctaCATC	16219
670_1	80	9	150	36	ATAtagcacagcTCTA	16223
671_1	57	14	ND	ND	TCCatatagcacagCT	16226
672_1	53	10	106	8	ATTtccatatagCACA	16229
673_1	78	3	96	14	TTTAttccatatAGCA	16231
674_1	77	9	31	7	TTTatttccatatAGC	16232
675_1	32	6	ND	ND	AAGGagaggagatTATG	16409
676_1	32	5	24	6	AGTtcttggttagCT	16456
677_1	19	4	17	4	GAgttcttggttaGC	16457
678_1	14	3	25	3	ATTaattatccatCCAC	16590
679_1	11	2	20	6	ATCaattaattatcCATC	16593
680_1	31	5	40	11	AGAatcaattaattaTCC	16596
681_1	8	3	30	10	TGagataccgtgcaTG	16656
682_1	11	3	ND	ND	AAtgagataccgTGCA	16658
683_1	15	3	33	10	CTGtggttaggctaAT	16834
684_1	45	7	38	7	AagagtaagggctctgtggTT	16842
685_1	24	5	ND	ND	GATGgggtaagagTAA	16854
686_1	11	2	ND	ND	AGCagatggggttaaGA	16858
687_1	ND	ND	51	7	TGtaaacatttgTAGC	16886
688_1	83	1	54	11	CCTgcttataaatgTA	16898
689_1	103	4	73	14	TGCCctgcttataaAT	16901
690_1	104	2	64	22	TCttcttagttcaaTA	16935
691_1	ND	ND	60	9	TGgtttctaactACAT	16980
692_1	ND	ND	94	22	AGtttggtttctaaCTA	16983
693_1	8	2	17	5	GAAtgaaacttgcCTG	17047
694_1	98	6	51	9	ATTatccttacatGAT	17173

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
695_1	48	4	18	4	GTaccaattatcCTT	17180
696_1	94	2	48	9	TGTaccaattatCCT	17181
697_1	31	5	42	13	TTgtaccaattaTCC	17182
698_1	41	4	39	6	TTTgtaccaattaTC	17183
699_1	63	0	28	12	AGCAgcaggttataTT	17197
700_1	99	6	43	12	TGGgaagtggctctGGG	17292
701_1	103	2	28	5	CTGgagagtataTA	17322
702_1	52	6	27	9	AATGctggattacgTC	17354
703_1	67	3	37	7	CAatgctggattaCGT	17355
704_1	36	10	80	12	TTgttcagaagtATCC	17625
705_1	19	9	47	9	GAtgatttgcttGGAG	17646
706_1	44	NA	60	9	GAAatcattcacaACC	17860
707_1	46	9	32	9	TTGtaacatctacTAC	17891
708_1	56	0	79	17	CATtaagcagcaagTT	17923
709_1	30	9	46	7	TTActagatgtgagCA	17942
710_1	29	4	36	6	TTtactagatgtgAGC	17943
711_1	41	13	41	6	GACcaagcaccttaCA	17971
712_1	36	19	49	11	AGAccaagcacctTAC	17972
713_1	30	6	34	7	ATgggttaaataAAGG	18052
714_1	70	2	24	8	TCaaccagagtattAA	18067
715_1	11	4	26	8	GTCaaccagagtatTA	18068
716_1	126	56	26	6	ATtgtaaagctgaTAT	18135
717_1	73	1	42	10	CAcataattgtaAAGC	18141
718_1	23	9	55	18	GAggtctgctattTAC	18274
719_1	50	1	42	11	TGtagattcaatgCCT	18404
720_1	79	3	39	10	CCtcattatactaTGA	18456

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
721_1	27	6	30	8	CCttatgctatgacAC	18509
722_1	26	7	50	13	TCCTtatgctatgaCA	18510
723_1	59	1	48	12	AAGatgtttaagtATA	18598
724_1	54	2	50	13	CTgattattaagATGT	18607
725_1	92	10	84	19	TGgaaaggtatgaaTT	18808
726_1	24	8	61	16	ACttgaatggcttgGA	18880
727_1	8	4	51	14	AACttgaatggctTGG	18881
728_1	35	4	35	10	CAATgtgttactatTT	19004
729_1	36	9	53	11	ACAatgtgttactATT	19005
730_1	70	2	41	11	CATCtgctatataaGA	19063
731_1	38	NA	42	9	CCTAgagcaaatacTT	19223
732_1	102	15	15	4	CAGagttaataatAAG	19327
733_1	37	10	8	5	GTTCaagcacaacgAA	19493
734_1	13	1	38	11	AGggttcaagcacAAC	19496
735_1	49	NA	36	11	TGttggagacactgTT	19677
736_1	48	NA	32	10	AAGgaggagttaggAC	19821
737_1	36	NA	64	11	CTATgccatttacgAT	19884
738_1	105	19	66	19	TCaaatgcagaattAG	19913
739_1	44	NA	41	6	AGtgacaatcaaATGC	19921
740_1	107	NA	68	18	AAgtgacaatcaaATG	19922
741_1	102	4	27	6	GTGtaccaagtaacAA	19978
742_1	110	10	30	16	TGGgatgttaaacTGA	20037

實例2-以劑量反應曲線測試活體外效能

在實例1中所闡述之活體外效能分析中於KARPAS-299細胞中使用於PBS中之半對數連續稀釋液(50 μM、15.8μM、5.0μM、1.58μM、

0.5μM、0.158μM、0.05μM至0.0158μM寡核苷酸)來測試來自表10之所選寡核苷酸。評價寡核苷酸之IC 50及最大抑制(殘餘PD-L1表現%)。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算。IC50及最大PD-L1敲低量展示於表11中(以經對照(PBS)處理之細胞之%形式)。

表 11：KARPAS-299細胞系中之最大抑制(呈鹽水之%形式)及EC50。

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	11	3.3	0.69	0.11	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	29	1.7	0.06	0.01	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	19	1.7	0.23	0.02	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	14	4.7	0.45	0.12	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	10	1.8	0.19	0.02	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	17	1.3	0.19	0.02	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	23	1.5	0.17	0.01	CCagagatatataTGC	909
77_1	24	2.4	0.16	0.02	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	12	2.4	0.25	0.03	AGattaagacagtTGA	1310
111_1	3	2.0	0.27	0.03	TGaattcccatatcCGA	1992
128_1	11	1.8	0.25	0.03	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	16	2.7	0.28	0.05	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	19	1.6	0.15	0.01	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	36	1.7	0.11	0.02	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	10	1.6	0.22	0.02	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	12	2.0	0.21	0.02	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	1	2.0	0.21	0.02	TGacttgtaattgTGG	5467

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
233_1	1	4.3	0.89	0.17	TGGaatgccctaataTA	5591
245_1	4	2.0	0.17	0.02	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	7	2.1	0.25	0.03	CActttatctggTCGG	6482
250_1	0	2.5	0.23	0.03	CCacatataggtcCTT	6597
251_1	0	2.8	0.75	0.10	CAtattgctaccaTAC	6617
252_1	3	2.2	0.19	0.02	TCAatttgctaccATA	6618
256_1	5	2.2	0.32	0.03	CAAtttagtcagcCAG	6672
272_1	1	3.2	0.69	0.10	TACTgtagaacatgGC	7133
273_1	3	2.8	0.28	0.04	GCAAttcatttgaTCT	7239
287_1	1	1.4	0.13	0.01	ACAAataatgggttaCTCT	7302
292_1	2	2.1	0.21	0.02	GCATttgatatagAGA	7397
303_1	0	1.2	0.21	0.01	CAAgatgaatataTGCC	7551
314_1	3	2.1	0.39	0.04	GAgtttggttagCTG	7764
318_1	3	1.4	0.14	0.01	ACAaggatatggaaGGG	7880
320_1	2	2.4	0.22	0.03	GAGtaatttcaacAGG	7891
324_1	0	2.4	0.44	0.05	CAGcttactattaGGG	7906
336_1	0	2.5	0.21	0.03	GATGatttaattctagtCA	7984
342_1	1	2.2	0.12	0.01	CAGAttgatggttagTT	8030
343_1	4	1.8	0.11	0.01	CTcagattgatgGTAG	8032
344_1	0	0.9	0.12	0.01	GTTagccctcagaTTG	8039
345_1	0	2.3	0.36	0.04	TGtattgttagcCCTC	8045
346_1	1	2.1	0.22	0.02	ACttgtattgttAGCC	8048
349_1	4	2.9	0.21	0.03	ACAagtgggtatctTCT	8228
359_1	6	2.9	0.39	0.05	TTGAtgaggctaagTC	8395
360_1	0	1.7	0.18	0.02	CCAggattatactcTT	8439

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
374_1	5	1.7	0.33	0.03	AAGatggattgggaGT	8775
408_1	3	1.8	0.21	0.02	TTtgcatatggaGGTG	8966
409_1	0	1.8	0.21	0.02	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
415_1	0	1.4	0.23	0.02	AAttgagtgaatCCAA	9120
417_1	7	0.9	0.15	0.01	GTGataattgagtGAA	9125
424_1	6	3.2	0.19	0.03	CTcattgaaggtTCTG	9281
429_1	5	2.5	0.48	0.05	CAAatagctttatCGG	9335
430_1	1	2.7	0.68	0.09	CCaaatagctttATCG	9336
458_1	0	4.1	0.35	0.07	TGgagtttatattcTAGG	9512
464_1	0	4.1	0.56	0.10	TGCtccagtgtagcCT	9755
466_1	1	2.1	0.21	0.02	CTAattgtagtagtaCTC	9818
474_1	0	2.4	0.27	0.03	GACacactcagatttcAG	9967
490_1	0	1.9	0.29	0.03	TTacttaatttctTGGA	10055
493_1	3	1.8	0.20	0.02	CTTatgataacaacTTA	10384
512_1	0	3.3	0.63	0.10	GCacaaccagaggAA	10735
519_1	5	1.5	0.15	0.01	TAgatttgtgagGTAA	11055
529_1	0	2.7	0.24	0.03	AGAgctttattcatgtTT	11197
533_1	6	1.5	0.14	0.01	TAGattgttagtGCA	11228
534_1	5	0.9	0.06	0.00	GTagattgtttaGTGC	11229
547_1	1	1.6	0.26	0.02	TAGGataccacattatGA	11389
566_1	0	3.0	0.40	0.06	ATaaacatgaatctCTCC	11801
567_1	2	2.5	0.34	0.04	CTTataaacaatgaaTCTC	11804
578_1	2	1.3	0.09	0.01	TACAttattgggcTC	12081
582_1	1	1.6	0.20	0.02	AATCatgttggtacAT	12092
601_1	1	2.1	0.47	0.05	GTAAatggcaggaaCC	13711

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
619_1	4	3.4	0.44	0.08	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	1	1.2	0.12	0.01	GTAtgacactgcaTCT	15318
636_1	0	1.3	0.19	0.01	AACAtcagacaacTCTA	15693
638_1	0	2.2	0.36	0.04	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	0	2.1	0.21	0.02	TTTAacatcagacaACTC	15695
640_1	2	3.3	0.42	0.06	CCtattttaacatcAGAC	15700
645_1	1	2.9	0.34	0.04	GATccttatattCTGG	15854
650_1	0	2.4	0.24	0.03	AGgatcttactgtCATT	15877
651_1	4	3.4	0.33	0.05	GCAaatcaactccATC	15896
652_1	0	1.3	0.16	0.01	GTGcaaatcaactCCA	15898
653_1	4	2.0	0.09	0.01	CAATtatttctttgTGC	15910
658_1	3	1.6	0.32	0.02	TCaatagtgtagggCA	16093
659_1	5	1.4	0.20	0.01	TTCaatagtgtaggGC	16094
660_1	4	2.1	0.22	0.02	AGGTtaattaattcaATAG	16102
665_1	3	1.8	0.18	0.02	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
678_1	3	2.1	0.43	0.04	GAgttcttgtgttaGC	16457
679_1	0	3.5	0.31	0.05	ATTaattatccatCCAC	16590
680_1	4	1.6	0.12	0.01	ATCaattaattatcCATC	16593
682_1	3	2.4	0.27	0.03	TGagataccgtgcaTG	16656
683_1	0	3.2	0.16	0.03	AAtgagataccgTGCA	16658
684_1	2	2.3	0.25	0.03	CTGtggttaggctaAT	16834
687_1	5	1.3	0.13	0.01	AGCagatgggttaaGA	16858
694_1	0	1.7	0.16	0.02	GAAtgaaacttgcCTG	17047
706_1	15	3.6	0.27	0.06	GAtgatttgcttGGAG	17646
716_1	10	2.1	0.15	0.02	GTCaaccagagtatTA	18068

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
728_1	5	1.2	0.09	0.01	AACttgaatggctTGG	18881
733_1	0	12.7	8.01	3.62	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	0	14.6	3.49	2.39	GTTCaagcacaacgAA	19493
735_1	0	2.5	0.30	0.04	AGggttcaagcacAAC	19496

在實例1中所闡述之活體外效能分析中在THP-1中使用1:3連續水溶液 (25 μM至0.004 μM)來測試來自表6之所選寡核苷酸。評價寡核苷酸之IC50及最大抑制(殘餘PD-L1表現百分比)。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算。IC50及最大PD-L1敲低量展示於表12中(以經對照(PBS)處理之細胞之%形式)。

表12：THP1細胞系中之最大抑制(呈鹽水之%形式)及EC50。

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上 之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	12	11.5	0.73	0.38	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	6	5.6	0.11	0.04	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	1	14.3	0.36	0.27	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	2	12.4	0.49	0.31	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	14	14.6	0.38	0.27	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	21	10.4	0.22	0.10	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	6	19.8	0.97	0.81	CCagagatatataTGC	909
77_1	5	4.8	0.14	0.04	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	0	12.9	0.57	0.39	AGattaagacagtTGA	1310

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上 之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
128_1	15	10.1	0.23	0.13	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	9	14.4	0.18	0.15	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	16	22.0	0.57	0.60	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	13	11.9	0.17	0.11	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	0	9.3	0.22	0.11	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	11	12.9	0.28	0.20	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	16	19.7	0.68	0.64	TGacttgaattgTGG	5467
245_1	14	6.1	0.26	0.08	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	28	7.3	0.10	0.20	CActttatctggTCGG	6482
252_1	19	8.0	0.29	0.12	TCAtattgtctaccATA	6618
272_1	3	9.7	0.25	0.14	TACTgtagaacatgGC	7133
314_1	13	9.6	0.31	0.15	GAgtttggttagCTG	7764
344_1	11	8.0	0.14	0.06	GTTagccctcagaTTG	8039
349_1	12	12.5	0.18	0.14	ACAagtggatatctTCT	8228
415_1	11	9.6	0.26	0.12	AAttgagtgaatCCAA	9120
493_1	15	16.5	0.48	0.34	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	43	14.1	0.31	0.68	GCacaaccagaggAA	10735
519_1	9	12.2	0.45	0.26	TAgatttgtgagGTAA	11055
533_1	11	13.6	0.29	0.21	TAGattgtttagtGCA	11228
534_1	9	6.5	0.09	0.03	GTagattgtttaGTGC	11229
582_1	0	12.3	0.33	0.23	AATCatgttggtacAT	12092
619_1	8	10.4	0.32	0.18	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	12	24.6	1.10	1.08	GTAtgacactgcaTCT	15318
638_1	2	5.4	0.00	0.00	TAACatcagacaacTC	15695
645_1	20	29.6	1.10	1.50	GAtccttatattCTGG	15854
651_1	0	11.2	0.14	0.09	GCAaatcaactccATC	15896

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
658_1	11	13.8	0.48	0.32	TCaatagtgtaggCA	16093
659_1	0	8.2	0.11	0.06	TTCaatagtgtaggGC	16094
733_1	0	69.6	11.03	26.95	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	36	16.8	2.84	2.12	GTTCaagcacaacgAA	19493

表7及8中之結果亦展示於圖2中(與其靶向SEQ ID NO: 1之PD-L1 mRNA前體之位置相關)。

自此圖可看到，幾乎所有化合物皆具有低於1 μM之EC50值及低於25%之對照細胞(經鹽水處理)中之PD-L1表現程度之靶敲低。

實例3 -聚(I:C)誘導之小鼠中使用裸及GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸之活體外功效及效能及活體內PD-L1降低

在活體外實驗之劑量-反應研究中於MCP-11細胞中使用表6中之寡核苷酸來實施效能及功效測試。在聚(I:C)誘導之C57BL/6J雌性小鼠中於活體內測試相同寡核苷酸以及GalNAc偶聯形式(表8 CMP ID NO 755_2 - 765_2)降低PD-L1 mRNA及蛋白質表現之能力。

活體外分析

將懸浮於DMEM (Sigma目錄編號D0819，補充有10%馬血清、2 mM L-麩醯胺酸、0.025 mg/ml慶大黴素(gentamicin)及1 mM丙酮酸鈉)中之MCP-11細胞(最初購自ATCC)以8000細胞/孔之密度添加至96孔圓底板中之寡核苷酸(10μl)中且以200 μl/孔之最終體積在37℃及5% CO₂下於加濕培育器中培養3天。以劑量範圍濃度(50 μM、15.8 μM、5.0 μM、1.58 μM、0.5 μM、0.158 μM、0.05 μM及0.0158 μM)篩選寡核苷酸。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen, PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析,使用TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1)及Gusb (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm01197698-m1)來實施qPCR。相對PD-L1 mRNA表現程度以殘餘PD-L1表現%於PBS對照試樣(經PBS處理細胞)之%示於表9中。在GraphPad Prism6中實施EC50計算。EC50及最大PD-L1敲低量以對照(PBS)細胞之%示於表13中。

活體內分析

向C57BL/6J雌性小鼠(20-23 g; 5隻小鼠/組)經皮下注射5 mg/kg靶向小鼠PD-L1之未偶聯寡核苷酸或2.8 mg/kg靶向小鼠PD-L1之GalNAc偶聯之寡核苷酸。3天後,小鼠經靜脈內注射10 mg/kg聚(I:C) (LWM, Invivogen)。在聚(I:C)注射之後5 h將小鼠處死且將肝試樣置於RNAlater (Thermo Fisher Scientific)中用於RNA提取或冷凍於乾冰上用於蛋白質提取。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)自均質化肝試樣來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen, PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析,使用TaqMan® Fast Advanced Master Mix TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1

mRNA (Thermo Fisher Scientific ; FAM-MGB Mm00452054-m1)及TBP (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1) 來實施 qPCR。相對PD-L1 mRNA表現程度示於表13中(以使用鹽水及聚(I:C)注射之小鼠之對照試樣之%)。

藉由在 2 ml/100 mg 組織之 T-PER® 組織蛋白提取試劑(Thermo Fisher Scientific) (與 1× Halt 蛋白酶抑制劑混合劑混合，無 EDTA (Thermo Fisher Scientific))中均質化肝試樣來製備肝均質物。根據製造商說明書使用Coomassie Plus (Bradford)分析試劑(Thermo Scientific)來量測肝均質物中之蛋白質濃度。在4-12% Bis-Tris Plus聚丙稀醯胺凝膠(Thermo Fisher Scientific)上於1×MOPS運行緩衝液中分離肝均質物(40 µg蛋白質)且根據製造商說明書使用iBLOT乾燥印漬系統(Thermo Fisher Scientific)轉移至硝基纖維素膜中。在64 kDa帶處將每一印漬水平切割成兩個部分。在含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中阻斷後，將膜與兔單株抗紐蛋白(Abcam目錄編號ab129002，以1:10000稀釋於含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中，上膜)或山羊多株抗mPD-L1 (R&D Systems目錄編號AF1019，以1:1000稀釋，下膜)一起在4℃下於培育過夜。在含有0.05% Tween20之TBS中洗滌膜，且在室溫下暴露與HRP偶聯之豬抗兔IgG (DAKO，以1:3000稀釋於含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中，上膜)或HRP偶聯之兔抗山羊IgG (DAKO，以1:2000稀釋) 1 h。在洗滌膜後，使用ECL select (Amersham GE Healthcare)檢測反應性。對於使用寡核苷酸治療之每一組小鼠而言，藉由與注射有鹽水及聚(I:C) (對照)之小鼠之PD-L1/紐蛋白帶強度進行比較來評估與紐蛋白帶相關之PD-L1帶的強度。結果展示於表13中，且使用裸寡核苷酸及偶聯

寡核苷酸之對之西方印漬展示於圖9 A-E中。

表13：靶向小鼠PD-L1之寡核苷酸之活體外及活體內效能

CMP ID NO	化合物CMP	最大抑制 (PBS%)	EC50 (μM)	PD-L1 mRNA (對照%)	PD-L1蛋白 (相對於對照)
744_1	AGTttacattttcTGC	9.1	0.56	86	++
746_1	CACctttaaaaccCCA	5.0	0.46	181	nd
747_1	TCCtttataatcaCAC	4.4	0.52	104	++
748_1	ACGgtattttcacAGG	1.8	0.26	102	+++
749_1	GACactacaatgaGGA	7.6	1.21	104	nd
750_1	TGGtttttaggacTGT	12.4	0.74	84	nd
751_1	CGAcaaattctatCCT	9.9	0.69	112	nd
752_1	TGAtatacaatgcTAC	10.5	1.11	142	+++
753_1	TCGttgggtaaatTTA	5.7	0.53	116	+++
754_1	TGCtttataaatgGTG	5.2	0.35	98	nd
755_2	5'-GN2-C6-caAGTttacattttcTGC	nd	nd	58	+
757_2	5'-GN2-C6-caCACctttaaaaccCCA	nd	nd	62	nd
758_2	5'-GN2-C6-caTCCtttataatcaCAC	nd	nd	53	+
759_2	5'-GN2-C6-caACGgtattttcacAGG	nd	nd	66	+
760_2	5'-GN2-C6-caGACactacaatgaGGA	nd	nd	101	nd
761_2	5'-GN2-C6-caTGGtttttaggacTGT	nd	nd	99	nd
762_2	5'-GN2-C6-caCGAcaaattctatCCT	nd	nd	84	nd
763_2	5'-GN2-C6-caTGAtatacaatgcTAC	nd	nd	93	+++
764_2	5'-GN2-C6-caTCGttgggtaaatTTA	nd	nd	53	+
765_2	5'-GN2-C6-caTGCtttataaatgGTG	nd	nd	106	nd

+++：類似於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；++：弱於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；+：遠弱於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；nd=未測定。

自表13中之數據可看到，寡核苷酸之GalNAc偶聯明顯改良活體內

PD-L1降低。mRNA之降低通常與PD-L1蛋白之降低相關。除CMP ID NO: 754_1外，在寡核苷酸偶聯至GalNAc後，低活體外EC50值通常反映良好活體內PD-L1 mRNA降低。

實例4 -來自聚(I:C)誘導之小鼠中之經分選肝細胞及非實質細胞中之活體內PK/PD

在自聚(I:C)誘導之小鼠分離之肝細胞及非實質細胞中探究裸寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸之分佈以及PD-L1 mRNA降低。

向C57BL/6J雌性小鼠(n=3隻/組)經皮下注射靶向小鼠PD-L1 mRNA之5 mg/kg未偶聯寡核苷酸(748_1)或7 mg/kg GalNAc偶聯之寡核苷酸(759_2)。2天後，向小鼠經腹膜腔內注射15 mg/kg聚(I:C) (LWM, Invivogen)。在聚(I:C)注射之後將小鼠麻醉18-20 h且使用含有15 mM HEPES及0.38 mM EGTA之漢克氏平衡鹽溶液經由腔靜脈以7 ml/min之流速灌注肝5 min，隨後使用膠原酶溶液(含有0.17 mg/ml膠原酶類型2 (Worthington 4176)、0.03% BSA、3.2 mM CaCl₂及1.6 g/l NaHCO₃之漢克氏平衡鹽溶液)灌注12 min。在灌注後，取出肝且打開肝囊，經由70 μ m細胞過濾器使用威廉E培養基(William E medium)過濾肝懸浮液且取出細胞懸浮液之等分試樣(=混合肝臟細胞)以用於隨後分析。將其餘細胞懸浮液在50×g下離心3 min。收集上清液以用於非實質細胞之隨後純化。將糰粒再懸浮於25 ml威廉E培養基(Sigma目錄編號W1878，補充有1× Pen/Strep、2 mM L-麩醯胺酸及10% FBS (ATCC 30-2030號))中，與含有90% percoll之25 ml威廉E培養基混合且藉由在50×g下離心10 min來沈澱肝細胞。在威廉E培養基中洗滌2次後，將沈澱之肝細胞再懸浮於威廉E培養基中。將含有非實質細胞之上清液在500×g下離心7 min且將細胞再

懸浮於4 ml RPMI培養基中並經由兩層percoll (25%及50% percoll)在1800×g下離心30 min。在收集兩個percoll層之間之非實質細胞後，洗滌細胞且再懸浮於RPMI培養基中。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)自純化肝細胞、非實質細胞及總肝懸浮液(未分級分離之肝臟細胞)來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen，PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析而言，使用TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1 (Thermo Fisher Scientific；FAM-MGB Mm00452054-m1)及TBP (Thermo Fisher Scientific；VIC-MGB-PL Mm00446971_m1)。相對PD-L1 mRNA表現程度展示於表10中(以來自使用鹽水及聚(I:C)注射之小鼠之對照試樣之%形式)。

使用ELISA採用利用序列5'-TACCGT-s-Bio-3'之生物素化捕獲探針及利用序列5'- DIG-C12-S1-CCTGTG - 3'之地高辛偶聯檢測探針來實施寡核苷酸含量分析。該等探針僅由具有磷酸二酯主鏈之LNA組成。將肝試樣(大約50 mg)在含有一種5mm不銹鋼珠粒之2 mL埃彭道夫管(Eppendorf tube)中於1.4 mL MagNa純裂解緩衝液(Roche目錄編號03604721001)中均質化。將試樣在Retsch MM400均質器(Merck Eurolab)上均質化直至獲得均勻裂解物為止。將試樣在室溫下培育30 min。藉由將未偶聯反義寡核苷酸化合物(CMP ID NO 748_1)以界定濃度摻加至未處理肝試樣中且將其處理為試樣來生成標準。選擇摻加濃度以匹配預期試樣寡核苷酸含量(在約10倍內)。

將均質化試樣在5 × SSCT緩衝液(750 mM NaCl及75 mM檸檬酸鈉，含有0.05 % (v/v) Tween-20，pH 7.0)中稀釋最少10倍且使用捕獲-檢測溶液(於5×SSCT緩衝液中之35 nM捕獲探針及35 nM檢測探針)製備經6次2倍稀釋之一系列稀釋液並在室溫下培育30 min。將試樣轉移至96孔鏈黴抗生物素蛋白(Streptavidin)塗覆板(Nunc目錄編號436014)中且使每孔含有100 μL。將板在室溫及輕微攪動下培育1小時。使用2 × SSCT緩衝液洗滌三次且向每一孔中添加以1:4000稀釋於PBST (磷酸鹽緩衝鹽水，含有0.05 % (v/v) Tween-20，pH 7.2，新製)中之100 μL抗DIG-AP Fab片段(Roche Applied Science，目錄編號11 093 274 910)，並在室溫及輕微攪動下培育1小時。使用2 × SSCT緩衝液洗滌三次且添加100 μL鹼性磷酸酶(AP)受質溶液(藍磷基質(Blue Phos Substrate)，KPL產品代碼50-88-00，新製)。在培育30分鐘之後於輕微攪動下以分光光度方式在615 nm下量測色彩強度。將原始數據自讀數器(Gen5 2.0軟體)輸出為excel格式且在excel中進一步分析。使用GraphPad Prism 6軟體及邏輯4PL回歸模型生成標準曲線。

表14：來自使用未偶聯寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸治療之聚(I:C)小鼠(n=3)之總肝懸浮液、肝細胞及非實質細胞中的PD-L1表現及寡核苷酸含量。

細胞類型	CMP ID no	PD-L1表現 (鹽水-聚(I:C)之%)		寡核苷酸含量 (ng/10 ⁵ 個細胞)	
		Avg	SD	Avg	SD
總肝臟細胞	748_1	31	12.4	2.3	0.3
	759_2	28	5.3	8.3	1.1
肝細胞	748_1	33	8.0	5.1	3.7
	759_2	7	1.0	43.8	18.9

細胞類型	CMP ID no	PD-L1表現 (鹽水-聚(I:C)之%)		寡核苷酸含量 (ng/10 ⁵ 個細胞)	
		Avg	SD	Avg	SD
非實質細胞	748_1	31	10.1	2.2	0.7
	759_2	66	1.6	1.7	0.9

結果展示，裸(CMP ID NO: 748_1)及偶聯(CMP ID NO: 759_2)寡核苷酸同等程度地降低總肝臟細胞中之PD-L1 mRNA。在經分離肝細胞中，偶聯寡核苷酸之效應幾乎強於裸寡核苷酸之效應5倍，而裸寡核苷酸展示其效應強於非實質細胞中之GalNAc偶聯之寡核苷酸兩倍。在肝細胞及非實質細胞中，PD-L1 mRNA表現之降低在一定程度上與該等細胞類型中之寡核苷酸含量相關。

實例5 -使用裸及GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸之AAV/HBV小鼠中之活體內PD-L1敲低

在本發明研究中，使用裸或GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸治療AAV/HBV小鼠，且在肝中評估PD-L1 mRNA表現及HBV基因表現。

在第-1週使用媒劑(鹽水)、裸PD-L1反義寡核苷酸(CMP ID NO 752_1，在5 mg/kg下，經皮下)及GalNAc PD-L1反義寡核苷酸(CMP ID NO 763_2，在7 mg/kg下，經皮下)預處理5-8週齡雌性HLA-A2/DR1小鼠(5隻動物/組)，該等劑量對應於等莫耳濃度之寡核苷酸。在第0週藉由5×10¹⁰ vg AAV-HBV轉導小鼠(關於其他細節，參見材料及方法部分中之AAV/HBV小鼠模型闡述)。自AAV-HBV轉導後W1至W4，使小鼠接受4次PD-L1寡核苷酸或媒劑(鹽水溶液)之其他皮下注射且相隔一週給予。

在轉導之前一週及在每一注射之後一週獲取血樣。

在最後注射之後兩週將小鼠處死且在PBS灌注後取出其肝。將肝切

割成較小切片且直接冷凍。

為量測HBV基因表現，利用Qiagen Biorobot使用 the QIAamp One for all核酸套組(目錄編號965672)自血清提取DNA，將血清以1:20稀釋度稀釋於PBS中，在200ul緩衝液AL中裂解總共100 μ l。自套組在100 μ l中洗脫DNA。

對於實時qPCR而言，將TaqMan Gene Expression Master Mix (目錄編號 4369016，Applied Biosystems)與藉由添加1:1:0.5之下列引子F3_core、R3_core、P3_core (Integrated DNA Technologies，皆各自以100uM重構)來製得之引子混合物一起使用：

正向(F3_core)：CTG TGC CTT GGG TGG CTT T (SEQ ID NO: 784)

反向(R3_core)：AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA(SEQ ID NO: 785)

探針 (P3_core)：56-FAM-AGC TCC AAA/ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G-3IABkFQ(SEQ ID NO: 786)

使用10倍稀釋液(始於 1×10^9 個拷貝/ μ l至1個拷貝/ μ l且以5 μ l/反應使用)製得使用HBV質體(基因型D，GTD)之標準曲線。

對於每一反應而言，添加10 μ l Gene Expression Master Mix、4.5 μ l水、0.5 μ l引子混合物及5 μ l試樣或標準且運行qPCR。

對於分析而言，使用標準曲線計算拷貝數/ml/孔。結果展示於表15中。

使用qPCR量測PD-L1 mRNA表現。

自添加至含有陶瓷珠粒(Lysing Matrix D管，116913500, mpbio)及

1ml Trizol之2ml管中之經冷凍肝切片提取mRNA。

使用Precellys組織破碎器將肝切片均質化。將200μl氯仿添加至均質物中，渦旋且在4℃及10000rpm下離心20min。將含有RNA之澄清相(大約500ul)轉移至新管中且添加相同體積之70% EtOH。在充分混合之後，將溶液轉移至RNeasy自旋管柱上且遵循RNeasy套組之人工RNeasy微型套組(目錄編號74104，Qiagen) (包含RNA消解RNase-free DNase Set，目錄編號79254) 進一步提取RNA。在50μl H₂O中洗脫。對於所有試樣而言，量測最終RNA濃度且調節至100ng/ul。

根據製造商說明書在7.5μl RNA下使用Taqman RNA-to-ct 1-step套組(目錄編號4392938，Thermo Fisher)實施qPCR。所用引物混合物含有PD-L1_1-3 (引物編號 Mm00452054_m1、Mm03048247_m1及Mm03048248_m1)及內源性對照(ATCB Mm00607939_s1、CANX Mm00500330_m1、YWHAZ Mm03950126_s1及GUSB Mm01197698_m1)

使用2^{-ddct}方法分析數據。使用所有4種內源性對照之平均值來計算dct值。PD-L1表現係相對於內源性對照之平均值且以鹽水之%形式

表15：使用未偶聯及GalNAc偶聯之寡核苷酸治療之AAV/HBV小鼠(n=5)中之PD-L1 mRNA表現及HBV DNA。

	CMP ID no	PD-L1 mRNA表現 (鹽水之%)		HBV DNA表現 (鹽水之%)	
		Avg	SD	Avg	SD
裸	752_1	55	35	72	16
GalNAc偶聯	763_2	34	3	79	9

自該等結果可看到，裸寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸能夠降低

AAV/HBV小鼠之肝中之PD-L1 mRNA表現，其中GalNAc偶聯之寡核苷酸略微較佳。兩種寡核苷酸亦使得血清中之HBV DNA略有降低。

實例6 -對AAV/HBV小鼠中之T細胞反應之活體內效應

在本發明研究中，使用靶向PD-L1之抗體或反義寡核苷酸治療來自巴斯德之AAV/HBV小鼠。反義寡核苷酸係裸反義寡核苷酸或偶聯至GalNAc。在治療期間，使用針對HBs及HBc抗原之DNA疫苗對動物實施免疫(參見材料及方法部分)以確保T細胞由抗原呈遞細胞有效引發。評估該治療如何影響肝及脾中之細胞群體以及該等群體上之PD-L1表現及是否可鑑別HBV特異性T細胞反應。

治療方案：

根據下文方案來治療雌性HLA-A2/DR1小鼠。在兩個單獨子研究中實施研究，其中投與方案略有差異，如下表16及17中所指示。

如材料及方法部分中所闡述來投與DNA疫苗及抗PD-L1抗體。所用反義寡核苷酸係5 mg/kg CMP ID NO 748_1 (裸)及7mg/kg CMP ID NO: 759_2 (GalNAc偶聯)，二者皆係以皮下注射(s.c.)形式來投與。

表16：使用DNA疫苗及DNA疫苗+抗PD-L1抗體之AAV/HBV小鼠治療方案，每組6隻小鼠

天	媒劑 (第10組)	DNA疫苗 (第11組)	DNA疫苗+抗PDL-1 Ab (第13組)
0	AAV/HBV		
29*	動物隨機化		
34	鹽水+同型	-	Ab
41	鹽水+同型	-	Ab
48	鹽水+同型	-	Ab
50	-	CaTx	CaTx

55*	PBS+同型	DNA	DNA+Ab
62	鹽水+同型	-	Ab
69	PBS+同型	DNA	DNA+Ab
76*	鹽水+同型	-	Ab
83	鹽水+同型	-	Ab
97*	處死		

同型=小鼠IgG對照Ab，CaTx =心臟毒素，DNA = DNA疫苗，Ab=抗PD-L1 Ab且*=血清收集

表17：使用DNA疫苗及DNA疫苗+裸或偶聯PD-L1寡核苷酸(ASO)之AAV/HBV小鼠治療方案，每組7隻小鼠

天	媒劑 (第1組)	DNA疫苗 (第2組)	DNA疫苗 + PDL-1 ASO (第7組)	DNA疫苗 + GN- PDL-1 ASO (第8組)
0	AAV/HBV			
29*	動物隨機化			
39	鹽水	鹽水		
41		鹽水	ASO	GN-ASO
46	鹽水	鹽水		
49		鹽水	ASO	GN-ASO
53	鹽水	鹽水		
55	CaTx	CaTx	CaTx	CaTx
56		鹽水	ASO	GN-ASO
59	PBS+鹽水	DNA+PBS	DNA	DNA
62*		鹽水	ASO	GN-ASO
67	鹽水	鹽水		
70		鹽水	ASO	GN-ASO
74	PBS+鹽水	DNA+PBS	DNA	DNA
77		鹽水	ASO	GN-ASO
81	鹽水	鹽水		

天	媒劑 (第1組)	DNA疫苗 (第2組)	DNA疫苗 + PDL-1 ASO (第7組)	DNA疫苗 + GN- PDL-1 ASO (第8組)
84*		鹽水	ASO	GN-ASO
88	鹽水	鹽水		
91		鹽水	ASO	GN-ASO
102	處死			

DNA = DNA疫苗，CaTx =心臟毒素，Ab=抗PD-L1 Ab，ASO=裸PDL-1寡核苷酸，GN-ASO= GalNAc-PDL-1寡核苷酸且*=血清收集

在處死時，收集來自每一組之每一小鼠之血液、脾及肝單核細胞且消耗紅血球(裂解緩衝液，BD biosciences, 555899)。肝單核細胞需要如材料及方法部分中所闡述之特定製備。

細胞群體：

在肝中，藉由肝單核細胞上之表面標記(參見材料及方法)使用細胞術來分析細胞群體。

與對照組(亦即媒劑及DNA免疫化組)相比，經治療小鼠之脾及肝中之NK細胞頻率並未發現顯著變化。表18展示，在肝中，使用裸PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO 748_1)及GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO: 759_2)治療之組之T細胞數與亦呈現於圖10 A中的任一對照組(亦即媒劑及DNA免疫化組)相比顯著增加。此增加係源於CD4+及CD8+ T細胞群體有所增加(分別在表18及圖10B及10C中)。

表18：在治療後之肝中之T細胞(以百萬個細胞之形式)

	T細胞 (百萬)		CD4+ T細胞 (百萬)		CD8+ T細胞 (百萬)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑(組1)	0.77	0.44	0.51	0.35	0.11	0.05
DNA疫苗(組2)	0.90	0.24	0.58	0.16	0.16	0.08
DNA疫苗+ 抗PD-L1 Ab (組13)	1.98	0.90	1.40	0.81	0.41	0.23
媒劑(組10)	1.73	0.87	1.13	0.55	0.40	0.25
DNA疫苗(組11)	1.27	0.97	0.79	0.58	0.32	0.32
DNA疫苗+ PD-L1 ASO(組7)	3.78	1.31	2.46	0.72	0.79	0.39
DNA疫苗+ GN-PD-L1 ASO(組8)	3.33	0.66	2.18	0.40	0.67	0.17

PD-L1表現：

在處死時，在來自脾及肝之巨噬球、B及T細胞上評估PD-L1蛋白之表現。PD-L1抗體在表面標記抗體混合物(參見材料及方法)中之存在使得可藉由細胞術量化PD-L1表現細胞。

在脾中，據觀察，在治療之間表現PD-L1之巨噬球、B細胞及CD4+ T細胞之%並無顯著差異。使用裸PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO 748_1)及GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO: 759_2)治療之小鼠中之表現PD-L1之CD8+ T細胞的%低於其他治療(數據未展示)。

在肝中，PD-L1主要以32%之平均頻率表現於CD8+ T細胞上且在對照組(分別係兩個媒劑及DNA接種疫苗組組合，圖11A)中為41%。使用裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸進行治療使得表現PD-L1之CD8+ T細胞之頻率有所降低(參見表19及圖11A)。亦在ASO治療之後針

對B細胞及CD4+ T細胞觀察到表現PD-L1之細胞%具有顯著差異，但該等細胞類型表現顯著小於CD8+ T細胞之PD-L1（參見表19及圖11B及C）。使用抗PD-L1 Ab進行治療亦使得所有細胞類型中之PD-L1表現明顯降低。然而，此降低可能係由於PD-L1表位由用於治療之抗PD-L1抗體部分地阻斷，從而防止表面標記抗體混合物中之PD-L1檢測抗體預防結合至PD-L1。因此，藉由用於治療之抗PD-L1抗體所達成之PD-L1下調似乎可為治療抗體與檢測抗體之間之表位競爭的結果。

表19：具有PD-L1表現之肝臟細胞群體之%

	CD8+ T細胞之%		CD4+ T細胞之%		B細胞之%	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑(組10)	35.5	4.7	0.75	0.52	5.9	1.5
DNA疫苗 (第11組)	36.8	7.7	0.61	0.08	5.5	1.1
DNA疫苗+ 抗PD-L1 Ab (第13組)	18.6	12.3	0.33	0.10	2.9	1.7
媒劑 (第1組)	28.5	11.5	0.64	0.21	5.9	1.7
DNA疫苗 (第2組)	44.9	14.4	1.43	0.69	8.7	3.1
DNA疫苗+ PD-L1 ASO (第7組)	9.6	2.4	0.37	0.21	2.9	0.8
DNA疫苗+ GN-PD-L1 ASO (第8組)	14.6	3.3	0.31	0.11	2.8	0.8

HBV特異性T細胞反應：

使用檢測IFN γ 及TNF α 產生之細胞內細胞介素染色分析(參見材料及方法部分)檢測產生促發炎性細胞介素之NK細胞及CD4+及CD8+ T細胞。

在脾中，在處死時，未檢測到分泌IFN γ -及TNF α 之NK細胞且可檢測到少量CD4+ T細胞(頻率< 0.1%)。在使用裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸治療之小鼠以及此研究中僅接受DNA疫苗之小鼠中檢測靶向兩種HBV抗原之產生IFN γ 之CD8+ T細胞(數據未展示)。

在DNA免疫化HBV攜載小鼠之肝中，在處死時並未檢測到產生IFN γ 之NK細胞，而在少數DNA免疫化小鼠之肝中以低頻率檢測到對核心或S2+S具有特異性之產生IFN γ 之CD4+ T細胞(< 0.4%，數據未展示)。在大部分DNA免疫化小鼠中檢測到產生IFN γ 之HBV S2+S 特異性CD8+ T細胞。在使用DNA疫苗及裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸之組合治療之小鼠中，分泌IFN γ 之CD8+ T細胞之頻率有所增加，而使用抗PD-L1抗體之治療並不向DNA接種疫苗增加任何明顯額外效應(圖12)。在大部分DNA免疫化組(除抗PD-L1抗體外)中檢測到靶向套膜蛋白及核心抗原之產生IFN γ 之CD8+ T細胞(圖12B)。大部分S2-S特異性T細胞產生IFN γ 及TNF α (圖12C)。結果亦展示於表20中。

表20：來自總IFN γ 或IFN γ + TNF α 細胞群體之HBV抗原(S2-S或核心)特異性CD8+ T細胞之%

	PreS2-S特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		核心特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		S2-S特異性T細胞 (IFN γ + TNF α 之%)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑 (第10組)	0.15	0.37	0.18	0.43	0.00	0.00
DNA疫苗 (第11組)	1.48	1.10	0.47	0.53	0.42	1.02

	PreS2-S特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		核心特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		S2-S特異性T細胞 (IFN γ + TNF α 之%)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
DNA疫苗+ 抗PDL-1 Ab	1.18	0.95	0	0	0.38	0.49
媒劑 (第1組)	0.17	0.45	0.11	0.28	0.00	0.00
DNA疫苗 (第2組)	1.70	1.02	0.27	0.51	0.98	0.90
DNA疫苗+ PDL-1 ASO	2.56	1.60	0.78	0.80	1.44	1.55
DNA疫苗+ GN-PDL-1 ASO	3.83	2.18	0.68	1.16	2.62	1.62

實例7 -對AAV/HBV小鼠血清中之HBV抗原及HBV DNA之活體內效應

在本發明研究中，使用GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸CMP ID NO 759_2治療來自上海之AAV/HBV小鼠(參見材料及方法部分)。

評估該治療與媒劑治療動物相比如何影響血清中之HBe及HBs抗原及HBV DNA含量。

治療方案：

在此研究中使用如在材料及方法部分中之上海模型下所闡述感染攜載HBV基因體(AAV/HBV)之重組腺相關病毒(AAV)之雄性C57BL/6小鼠。經8週每週一次向小鼠(6小鼠/組)注射5 mg/kg反義寡核苷酸CMP ID NO: 759_2或媒劑(鹽水)，其中二者皆係如皮下注射(s.c.)所投與。在治療期間每週以及在治療後6週收集血樣。如下文所闡述在血清試樣中量測HBV DNA、HBsAg及HBeAg含量。前10週之結果展示於表21及圖13中。在歸檔時研究仍在進行，因此，剩餘4週之數據尚未獲得。

HBsAg及HBeAg檢測：

在經感染AAV-HBV小鼠中使用HBsAg化學發光免疫分析(CLIA)及HBeAg CLIA套組(Autobio diagnostics Co. Ltd., Zhengzhou, China, 目錄編號分別為CL0310-2及CL0312-2)根據製造商方案在血清中來測定血清HBsAg及HBeAg含量。簡言之，將50 μ l血清轉移至各別抗體塗覆微量滴定板中且添加50 μ l酶偶聯物試劑。將板在室溫下於振盪器上培育60 min，然後利用洗滌緩衝液使用自動洗滌器將所有孔洗滌6次。向每一孔中添加25 μ l受質A且然後添加25 μ l受質B。將板在室溫下培育10 min，然後使用Envision發光讀數儀量測發光。以單位IU/ml給出HBsAg；其中1 ng HBsAg = 1.14 IU。以單位NCU/ml血清給出HBeAg。

HBV DNA提取及qPCR：

首先，使用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)將小鼠血清稀釋10倍(1:10)。使用MagNA Pure 96 (Roche)機器人提取DNA。將50 μ l經稀釋血清在處理柱中與200 μ l MagNA Pure 96 外部裂解緩衝液(Roche, 目錄編號06374913001)一起混合且培育10分鐘。然後使用「MagNA Pure 96 DNA及Viral Nucleic Acid Small Volume Kit」(Roche, 目錄編號06543588001)及「Viral NA Plasma SV external lysis 2.0」方案提取DNA。DNA洗脫體積為50 μ l。

使用Taqman qPCR機器(ViiA7, life technologies)來量化所提取HBV DNA。一式兩份在PCR中測試每一DNA試樣。將5 μ l DNA試樣添加至384孔板中含有10 μ l TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, 目錄編號4369016)、0.5 μ l PrimeTime XL qPCR引子/探針(IDT)及4.5 μ l蒸餾水之15 μ l PCR標準混合物中且使用下列設置實施PCR：

UDG培育(2min, 50℃)，酶活化(10min, 95℃)及PCR (40個循環，其中在95℃下變性15sec且在60℃下退火及延伸1min)。自C_t值基於HBV質體DNA標準曲線藉由ViiA7軟體來計算DNA拷貝數。

用於TaqMan引子及探針(IDT)之序列：

正向核心引子(F3_core)：CTG TGC CTT GGG TGG CTT T(SEQ ID NO: 784)

反向引子(R3_core)：AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA (SEQ ID NO: 785)

Taqman探針(P3_core)：56-FAM/AGC TCC AAA /ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G/3IABkFQ (SEQ ID NO: 786)。

表 21：在使用GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸治療後來自AAV/HBV小鼠之血中之清HBV-DNA、HBsAg及HBeAg含量。

	鹽水						CMP ID NO: 759_2，在5 mg/kg下					
	HBV-DNA		HBsAg		HBeAg		HBV-DNA		HBsAg		HBeAg	
天數	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
0	7.46	0.35	3.96	0.48	3.23	0.14	7.44	0.29	3.87	0.40	3.17	0.13
7	7.53	0.23	4.17	0.45	3.35	0.10	7.53	0.20	3.91	0.42	3.19	0.18
14	7.57	0.24	4.12	0.49	3.19	0.11	7.45	0.22	3.90	0.50	2.99	0.27
21	7.47	0.27	3.93	0.51	3.12	0.05	7.33	0.47	3.71	0.76	2.78	0.26
28	7.68	0.26	3.88	0.67	3.18	0.13	7.45	0.46	3.65	0.93	2.67	0.38
35	7.69	0.21	4.03	0.54	2.95	0.08	7.13	0.75	2.98	1.05	2.04	0.38
42	7.58	0.23	3.89	0.65	3.34	0.10	6.69	0.89	2.60	1.05	1.98	0.45
49	7.77	0.17	3.54	1.06	3.08	0.26	6.56	1.26	2.19	0.70	1.47	0.37
56	7.71	0.24	3.99	0.86	3.28	0.05	6.21	1.48	2.28	0.84	1.38	0.30
63	7.59	0.28	3.67	1.07	3.25	0.13	6.08	1.39	2.08	0.71	1.35	0.30

自此研究可看到，在治療6週之後，GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核

苷酸CMP NO 759_2對血清中之HBV-DNAH、BsAg及HBeAg含量降低具有顯著效應，且在治療之後持續至少2週之效應已終止。

實例8 -使用GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸之人類原代肝細胞中之活體外PD-L1敲低

使用基因體學探究GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸化合物降低原代人類肝細胞中之PD-L1轉錄之能力。

細胞培養物

將經冷藏保存之人類肝細胞以大約 5×10^6 個細胞/ml之密度懸浮於補充有10%胎牛血清、青黴素(100 U/ml)、鏈黴素(0.1 mg/ml)及L-麩醯胺酸(0.292 mg/ml)之WME中且以 2×10^5 細胞/孔之密度接種至膠原塗覆之24孔板中(Becton Dickinson AG, Allschwil, Switzerland)。在開始使用寡核苷酸以100 μ M之最終濃度進行處理之前，將細胞預培養4h以使得連接至細胞培養板。所用寡核苷酸展示於表21及表8中，媒劑係PBS。將接種培養基更換為315 μ l無血清WME (補充有青黴素(100 U/ml)、鏈黴素(0.1 mg/ml)、L-麩醯胺酸(0.292 mg/ml))且將35 μ l於PBS中之1 mM寡核苷酸儲備溶液添加至細胞培養物中並在細胞上保留24小時或66小時。

文庫製備

使用Illumina Stranded mRNA化學在Illumina測序平臺上利用 2×51 bp配對端讀數及每一樣品中30M之最小讀取深度之測序策略(Q squared EA)來描述轉錄物表現。藉由添加350 μ l Qiagen RLT緩衝液來在孔中裂解細胞且登錄於隨機化方案中。

使用Qiagen RNeasy微型套組純化mRNA。量化mRNA且使用Agilent生物分析儀評價完整性。在經分離RNA之初始品質評價後，據觀

察，所有試樣皆符合100ng之輸入品質度量且RIN評分>7.0。

使用Illumina TruSeq Stranded mRNA文庫製備自100 ng總RNA開始來生成用於所有試樣之測序文庫。使用Agilent生物分析儀(DNA 1000套組)分析最終cDNA文庫之大小分佈，藉由qPCR (KAPA Library Quant套組)量化且在製備中正規化至2 nM以用於測序。使用標準簇生成套組v5來使cDNA文庫以等溫方式結合至流動槽表面及cBot以將連接cDNA構築體各自擴增至最高約1000個拷貝之純系簇。藉由邊合成邊測序技術使用TruSeq SBS套組測定DNA序列。

數據處理

使用GSNAP短讀數比對程式將長2×51 bp之Illumina配對端測序讀數定位於人類參考基因體hg19上。使用SAMTOOLS程式將SAM格式比對轉換成分選比對BAM格式檔案。基於來自NCBI RefSeq之外顯子注釋(由hg19之相應GTF檔案指定)來估計PD-L1之基因讀取計數。使用DESeq2 R套件應用考慮每一試樣之不同文庫大小之正規化步驟。

在與GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸化合物一起培育之後之PD-L1轉錄降低展示於表22中。

表22：在使用GalNAc偶聯之寡核苷酸處理後原代一級肝細胞中之PD-L1轉錄降低，n=4

化合物	PD-L1表現程度，24 h (文庫大小調節之計數)	PD-L1表現程度，66 h (文庫大小調節之計數)
媒劑	259	156
	159	168
	192	136
	202	211

化合物	PD-L1表現程度，24 h (文庫大小調節之計數)	PD-L1表現程度，66 h (文庫大小調節之計數)
767_2	7	7
	11	14
	22	9
	28	15
766_2	16	13
	15	10
	17	11
	29	13
769_2	15	21
	18	18
	25	18
	26	25
768_2	41	25
	27	48
	31	25
	34	22
770_2	21	16
	44	62
	67	51
	38	63

在培育24及66小時之後，在與使用媒劑處理之試樣相比時，所有5種GalNAc偶聯之反義化合物皆展示顯著PD-L1轉錄降低。

實例9 -偶聯及裸PD-L1反義寡核苷酸在HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中之EC50

在HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中比較兩種裸及等效GalNAc偶聯PD-L1反義寡核苷酸之功效。

細胞系

將HepaRG細胞(Biopredic International, Saint-Gregoire, France)培養於威廉E培養基(補充有10% HepaRG生長補充物(Biopredic))中。自此細胞系，使用慢病毒方法生成穩定過度表現人類ASGPR1及ASGPR2之HepaRG細胞系。以MOI 300使用由Sirion biotech按需產生之編碼人類ASGPR1及2之慢病毒(CLV-CMV-ASGPR1-T2a_ASGPR2-IRES-Puro)在CMV啟動子及嘌呤黴素抗性基因之控制下來轉導增殖HepaRG細胞。使用1µg/ml嘌呤黴素經11天選擇轉導細胞且然後維持於相同濃度之抗生素中以確保轉基因之穩定表現。在mRNA層面下藉由RT-qPCR (ASGPR1：8560倍對非轉導，ASGPR2：2389倍對非轉導)及在蛋白質層面下藉由流式細胞術分析來證實ASGPR1/2過度表現。

在感染之前使用1.8% DMSO分化細胞至少2週。HBV基因型D係衍生自HepG2.2.15細胞培養上清液且使用PEG沈澱濃縮。為評估測試化合物針對HBV之活性，使用HBV以20至30之MOI感染96孔板中之分化ASGPR-HepaRG細胞20 h，然後使用PBS將細胞洗滌4次以去除HBV接種物。

寡核苷酸功效

將下列寡核苷酸

裸PD-L1 ASO	等效GalNAc偶聯PD-L1 ASO
CPM ID NO: 640_1	CPM ID NO: 768_2
CPM ID NO: 466_1	CPM ID NO: 769_2

在感染後第7天及第10天使用25µM至0.4 nM之連續稀釋液(於PBS中以1:4稀釋)添加至HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中。在感染後第13天收穫細胞。

根據製造商說明書使用MagNA Pure 96 Cellular RNA大體積套組在MagNA Pure 96系統(Roche Diagnostics)上來提取總mRNA。對於基因表現分析而言，如實例5中所闡述來實施RT-qPCR。

使用 2^{-ddct} 方法分析數據。使用肌動蛋白B作為內源性對照以計算dct值。PD-L1表現係相對於內源性對照及鹽水媒劑。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算且展示於表23中。

表23：ASGPR-HepaRG HBV感染細胞中之EC50，n=4。

CMP ID NO	EC50 (μM)
640_1	2.25
768_2	0.10
466_1	5.82
769_2	0.13

該等數據明確展示，PD-L1反義寡核苷酸之GalNAc偶聯物顯著改良EC50值。

實例10 -衍生自慢性HBV患者之PBMC中之T細胞功能刺激

探究在末梢血單核細胞(PBMC)之離體HBV抗原刺激之後裸PD-L1反義化合物是否可增加慢性感染HBV (CHB)患者之T細胞功能。

將來自三名慢性HBV感染患者之冷凍PBMC解凍且以200’000個細胞/孔之密度接種於100μl培養基(RPMI1640 + GlutaMax+ 8% 人類血清+ 25mM Hepes + 1% PenStrep)中。第二天，使用1μM PepMix HBV大套膜蛋白或1μM PepMix HBV核心蛋白(參見表9)使用或不使用5μM CMP ID NO: 466_1或CMP ID NO: 640_1在100μl含有100pg/ml IL-12及5ng/ml IL-7之培養基中刺激細胞(在第8天僅施加伴刀豆球蛋白(Concanavalin)刺激)。4天後，使用含有50IU IL-2之培養基更新PD-L1反義寡核苷酸處

理。在第一刺激之後第8天，使用PepMix或5 μ g/ml伴刀豆球蛋白A以及PD-L1反義寡核苷酸再刺激細胞24h。對於最後5h刺激而言，添加0.1 μ l佈雷菲德菌素A（佈雷菲德菌素A）、0.1 μ l莫能菌素(monensin)及3 μ l抗人類CD-107 (APC)。

在24h之後，使用染色緩衝液(PBS + 1% BSA + 0.09%疊氮化鈉+ EDTA)洗滌細胞且在4 $^{\circ}$ C下施加表面染色30min [抗人類CD3 (BV 605)、抗人類CD4 (FITC)、抗人類CD8 (BV711)、抗人類PDL1 (BV421)、抗人類PD1 (PerCP-Cy5.5)及活及死亡染色(BV510) (BD Biosciences)]。將細胞在4 $^{\circ}$ C下固定於BD固定緩衝液中保持15min。次日早上，使用BD Perm/Wash緩衝液將細胞在4 $^{\circ}$ C下滲透15min且在4 $^{\circ}$ C下實施細胞內染色30mi [抗人類INF((PE)]。在Perm/Wash緩衝液中洗滌之後，將細胞溶於250 μ l染色緩衝液中。

在BD Fortessa (BD Biosciences)上實施FACS量測。對於分析而言，首先將整個細胞群體選通於活細胞上(活及死亡染色，BV510)，且然後選通於CD3+ (BV605)細胞上。然後將CD3+細胞繪圖為CD107a+ (APC)對IFN γ + (PE)。

結果展示於表24中。

表 24：PD-L1 ASO處理對來自分離自三名慢性HBV感染患者之PBMC之CD3+ T細胞之效應。

	無抗原刺激			套膜蛋白抗原			核心抗原		
	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1
INFγ-/ CD107+	1.16	4.95	4.81	4.7	9.12	8.62	3.84	9.66	7.31
	2.7	3.59	2.74	2.57	3.69	3.2	3.25	3.34	2.92
	3	3.87	3.98	4.59	12.5	10.9	9.23	6.11	6.88
INFγ+/ CD107+	0.12	1.03	1.15	3.19	17.3	18.9	2.38	15.1	5.75
	0.49	3.12	1.75	2.73	7	5.34	1.63	2.35	1.9
	0.24	1.13	1.5	1.6	8.16	3.06	1.68	1.9	1.91
INFγ+/ CD107-	0.33	1.43	1.08	5.11	7.74	9.47	3.14	7.76	2.83
	0.61	2.9	2.26	7.84	5.79	5.78	2.33	2.82	2.95
	0.17	1.57	1.72	1.22	2.58	0.99	0.1	0.61	1.04

自該等數據可看到，抗原刺激本身能夠誘導CHB患者(n=3)之PBMC中之T細胞活化(增加表現INF γ (及/或CD107a之CD3+細胞之%)。添加PD-L1反義寡核苷酸CMP 466_1或640_1使得額外增加CD3+ T細胞反應。此增加主要於HBV套膜蛋白刺激組中觀察到。



201734209

申請日: 106/03/14

IPC分類: **C12N 15/113** (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於降低PD-L1表現之寡核苷酸

【英文發明名稱】

OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1

EXPRESSION

【中文】

本發明係關於能夠降低靶細胞中之PD-L1表現之反義寡核苷酸。該等寡核苷酸雜交至PD-L1 mRNA。本發明另外關於該寡核苷酸之偶聯物及醫藥組合物以及使用該寡核苷酸治療病毒性肝感染(諸如HBV、HCV及HDV)、寄生蟲感染(諸如瘧疾、弓蟲症、利什曼病(leishmaniasis)及錐蟲病)或肝癌或肝中轉移之方法。

【英文】

The present invention relates to antisense oligonucleotides that are capable of reducing expression of PD-L1 in a target cell. The oligonucleotides hybridize to PD-L1 mRNA. The present invention further relates to conjugates of the oligonucleotide and pharmaceutical compositions and methods for treatment of viral liver infections such as HBV, HCV and HDV; a parasite infections such as malaria, toxoplasmosis, leishmaniasis and trypanosomiasis or liver cancer or metastases in the liver using the oligonucleotide.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種反義寡核苷酸偶聯物(conjugate)，其包括：

- a. 寡核苷酸(區域A)，其包括與PD-L1靶核酸具有至少90%互補性之長度10至30個核苷酸之鄰接核苷酸序列；及
- b. 至少一個靶向去唾液酸糖蛋白受體之偶聯物部分(區域C)，其共價連接至a)中之寡核苷酸。

【第2項】

如請求項1之寡核苷酸偶聯物，其中該鄰接核苷酸序列與選自由以下組成之群之靶核酸互補：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及/或SEQ ID NO: 3。

【第3項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸之子序列互補，其中該子序列係選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 1上之位置371至3068、5467至12107及15317至19511。

【第4項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該鄰接核苷酸序列與該靶核酸之子序列互補，其中該子序列係選自由以下組成之群：A221、A360、A180、A160及A269。

【第5項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸包括選自SEQ ID NO: 466、640、342、287及566之序列。

【第6項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該鄰接核苷酸序列包括一或多個經修飾核苷，例如一或多個2'糖修飾性核苷。

【第7項】

如請求項6之寡核苷酸偶聯物，其中該一或多個2'糖修飾性核苷獨立地選自由以下組成之群：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、阿拉伯糖核酸(ANA)、2'-氟-ANA及LNA核苷。

【第8項】

如請求項6之寡核苷酸偶聯物，其中所有該等經修飾核苷皆係LNA核苷。

【第9項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該鄰接核苷酸序列包括至少一個經修飾核苷間鏈接，例如至少一個硫代磷酸酯核苷間鏈接。

【第10項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸係間隙聚體(gapmer)

【第11項】

如請求項10之寡核苷酸偶聯物，其中該間隙聚體具有式5'-D'-F-G-F'-3'或5'-F-G-F'-D''-3'，其中區域F及F'獨立地包括1至7個經修飾核苷，G係能夠招募RNaseH之6至16個核苷之區域，且區域D'或D''係可選的且包括0至5個磷酸二酯連接之核苷。

【第12項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體

之偶聯物部分包括至少一個選自由以下組成之群之碳水化合物部分：半乳糖、半乳糖胺、N-甲醯基-半乳糖胺、N-乙醯基半乳糖胺、N-丙醯基-半乳糖胺、N-正丁醯基-半乳糖胺及N-異丁醯基半乳糖胺。

【第13項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係單價、二價、三價或四價。

【第14項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係三價N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分。

【第15項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該靶向去唾液酸醣蛋白受體之偶聯物部分係圖3中之三價GalNAc部分。

【第16項】

如請求項1或2之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸偶聯物係選自CMP ID NO: 766_2、767_2、768_2、769_2及770_2。

【第17項】

一種反義寡核苷酸，其包括如請求項1至11中任一項之寡核苷酸或鄰接核苷酸序列。

【第18項】

一種醫藥組合物，其包括如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸及醫藥上可接受之稀釋劑、溶劑、載劑、鹽及/或佐劑。

【第19項】

一種調節表現PD-L1之靶細胞中PD-L1表現之活體外方法，該方法包括向該細胞投與有效量之如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸。

【第20項】

一種如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸之用途，其用以製備用於調節PD-L1表現之藥劑。

【第21項】

一種如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸或如請求項18之醫藥組合物之用途，其用以製備用於恢復針對病毒或寄生蟲之免疫反應之藥劑。

【第22項】

如請求項21之用途，其中該免疫反應之恢復係在與對照相比時肝中特異性針對一或多種HBV抗原之CD8+ T細胞增加。

【第23項】

一種如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸或如請求項18之醫藥組合物之用途，其用於製備藥劑。

【第24項】

一種如請求項1至16中任一項之寡核苷酸偶聯物或如請求項17之寡核苷酸或如請求項18之醫藥組合物之用途，其用以製備用於治療或預防病毒性肝感染(諸如HBV、HCV及HDV)、寄生蟲感染(諸如瘧疾、弓蟲症、利什曼病(leishmaniasis)及錐蟲病)或肝癌或肝中轉移之藥劑。

