202333795

(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 202333795 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：111137310 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 30 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/65 (2017.01)* *A61K31/712 (2006.01)*
C12N15/113 (2010.01) *A61P21/00 (2006.01)*
A61P31/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/09/30 美國 63/261,860
2022/09/20 美國 63/408,277

(71)申請人：美商薩羅塔治療公司 (美國) SAREPTA THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：奧利佛 萊恩 OLIVER, RYAN (US)；金 凱文 KIM, KEVIN (US)；艾亨 梅根 AHERN, MEGHAN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：55 項 圖式數：12 共 221 頁

(54)名稱

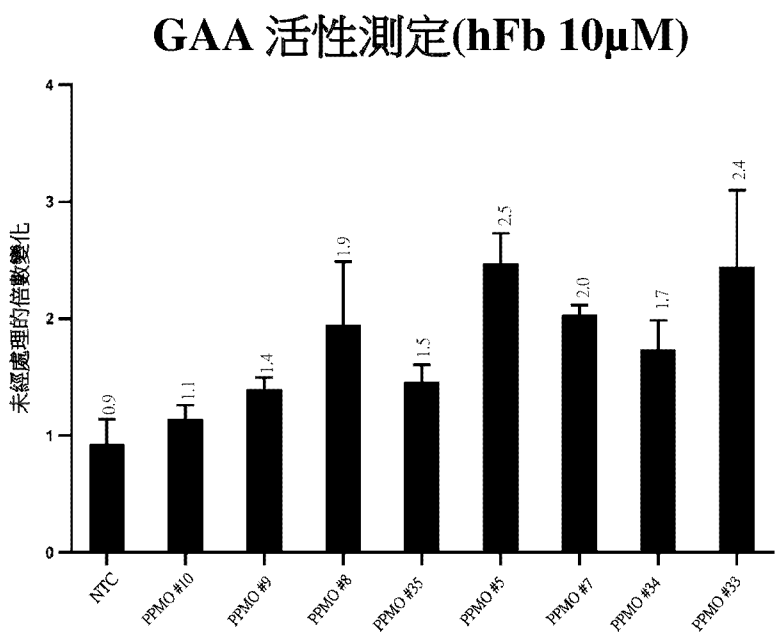
具有一或多個無鹼基單元之反義寡核苷酸

(57)摘要

本文係提供與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 內之具有至少一無嘌呤及無嘧啶之無鹼基亞單位的目標區域互補之寡核苷酸、肽-寡核苷酸共軛物、及靶向序列。本文亦提供在有需要之個體中治療肌肉疾病、病毒感染或細菌感染的方法，包含向該個體投與本文所述之寡核苷酸、肽、及肽-寡核苷酸共軛物。

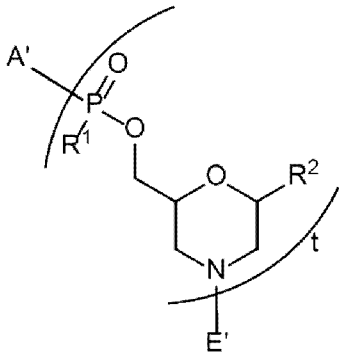
Provided herein are oligonucleotides, peptide-oligonucleotide-conjugates, and a targeting sequence complementary to a target region within intron 1 of a pre-mRNA of human acid alpha-glucosidase (GAA) gene having at least one purine and pyrimidine-free abasic subunit. Also provided herein are methods of treating a muscle disease, a viral infection, or a bacterial infection in a subject in need thereof, comprising administering to the subject oligonucleotides, peptides, and peptide-oligonucleotide-conjugates described herein.

指定代表圖：


GAA 活性測定(hFb 10μM)
未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
0.9
1.1
1.4
1.9
1.5
2.5
2.0
1.7
2.4
NTC
PPMO #10
PPMO #9
PPMO #8
PPMO #35
PPMO #5
PPMO #7
PPMO #34
PPMO #33

【圖 1】

特徵化學式：


A'
O
P
R1
O
O
R2
t
N
E'

式(I)

【發明摘要】

【中文發明名稱】　具有一或多個無鹼基單元之反義寡核苷酸

【英文發明名稱】　ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES HAVING ONE OR MORE ABASIC UNITS

【中文】

本文係提供與人類酸性α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅mRNA之內含子1內之具有至少一無嘌呤及無嘧啶之無鹼基亞單位的目標區域互補之寡核苷酸、肽-寡核苷酸共軛物、及靶向序列。本文亦提供在有需要之個體中治療肌肉疾病、病毒感染或細菌感染的方法，包含向該個體投與本文所述之寡核苷酸、肽、及肽-寡核苷酸共軛物。

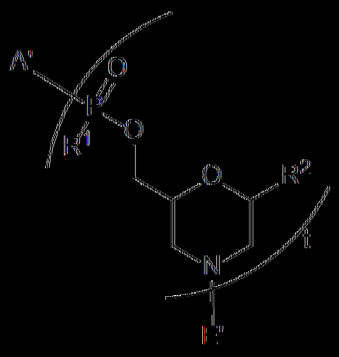
【英文】

Provided herein are oligonucleotides, peptide-oligonucleotide-conjugates, and a targeting sequence complementary to a target region within intron 1 of a pre-mRNA of human acid alpha-glucosidase (GAA) gene having at least one purine and pyrimidine-free abasic subunit. Also provided herein are methods of treating a muscle disease, a viral infection, or a bacterial infection in a subject in need thereof, comprising administering to the subject oligonucleotides, peptides, and peptide-oligonucleotide-conjugates described herein.

【指定代表圖】　圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】



式(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】　具有一或多個無鹼基單元之反義寡核苷酸

【英文發明名稱】　ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES HAVING ONE OR MORE ABASIC UNITS

【技術領域】
【先前技術】

【0001】　反義技術提供調節一或多種特定基因產物(包括替代剪接產物)之表現的手段，且在多種治療、診斷及研究應用中具有獨特用途。反義技術背後的原理為與目標核酸雜交之反義化合物(例如，寡核苷酸)經由多種反義機制中之任一者來調節基因表現活性(諸如，轉錄、剪接或轉譯)。反義化合物之序列特異性使其有吸引力作為用於靶標驗證及基因功能化之工具以及選擇性調節疾病中所涉及基因之表現的治療劑。

【0002】　第 II 型肝醣蓄積病(GSD-II)（亦稱為龐貝症、第 II 型肝醣病、酸性麥芽糖酶缺乏症(AMD)）係為缺乏一種稱作酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)的酶所引起之遺傳性體染色體隱性溶酶體蓄積病。GAA 在體內的角色為降解肝醣。GAA 活性水平減少或缺乏 GAA 活性會導致在受影響的組織（包括心臟、骨骼肌(包括該等涉及呼吸者)、肝臟及神經系統）中肝醣之堆積。據信此肝醣堆積在患有 GSD-II 的個體中會造成漸進的肌肉虛弱和呼吸不足。GSD-II 可發生於嬰兒、幼兒、或成人，且預後會根據發病之時間和症狀之嚴重性變化。臨床上，GSD-II 可從嚴重(嬰兒期)至較輕晚發成人形式展現出廣泛且連續的嚴重範圍。患者最終會因呼吸不足而死亡。在該疾病之嚴重性與殘餘的酸性 α-葡萄糖苷酶活性之間有相當大的關聯性，於該疾病之晚發形式中其活性為正常的 10-20%且於早發形式中為小於 2%。估計 GSD-II 在全世界影響大約 5,000 至 10,000 人。

【0003】　與該疾病成人發病形式有關的最常見突變為 IVS1-13T>G。在超過三分之二之成人發病 GSD-II 患者中發現，這種突變可在異型合子個體中

帶來選擇性優勢或為一種非常老的突變。帶有此突變的成人發病 GSD-II 個體中之廣泛種族差異提出了並沒有共同的初始者。

【0004】 *GAA* 基因由 20 個跨越約 20kb 的外顯子組成。該 3.4 kb mRNA 係編碼分子量約為 105 kD 的蛋白質。IVS1-13T>G 突變導致完全或部分地喪失含有該起始 AUG 密碼子之外顯子 2 (577 個鹼基)。

【0005】 GSD-II 治療涉及了藥物治療策略、飲食控制及無顯著成功之骨髓移植。近年來，酶代替療法(ERT)已為 GSD-II 患者提供新的希望。例如，在 2006 年於美國及歐洲，Myozyme® (重組 GAA 蛋白藥物)已被核准用於患有 GSD-II 疾病之患者。Myozyme®依賴於 GAA 蛋白表面上之 6-磷酸甘露糖(M6P)以遞送至溶酶體。美國食品藥物管理局亦已核准 Nexviazyme® (艾夫糖苷酶 α-ngpt (avalglucosidase alfa-ngpt))用於治療晚期發作龐貝症患者。Nexviazyme 是一種設計來專門靶向 M6P 受體的酶代替療法(ERT)。

【0006】 主要用於 RNA 向下調控之反義股技術最近已被改用於改變剪接過程。許多基因之主要基因轉錄物(前驅 mRNA)之處理涉及去除內含子及精確剪接外顯子(其中供體剪接位點連接至受體剪接位點)。剪接是一種精確的過程，其涉及供體與受體剪接位點、及分支點(受體前驅位點上游)之協調識別以及正性外顯子剪接增強子(主要位於外顯子內)及負性剪接基序(剪接沉默子主要位於內含子中)相平衡。

【0007】 儘管已在反義技術領域中獲得顯著進展，但在本領域中仍需要具有經改良反義或反基因效能之寡核苷酸及肽-寡核苷酸共軛物供改善對 GSD-II 的治療。

【發明內容】

【0008】 本文揭示內容係關於反義寡聚物及用於誘發外顯子之包含以作為用於第 II 型肝醣蓄積病(GSD-II)(亦稱為龐貝症、第 II 型肝醣病、酸性麥芽糖酶缺乏症(AMD)、酸性 α-葡萄糖苷酶缺乏症、及溶酶體 α-葡萄糖苷酶缺乏症)

的治療之相關組成物及方法，且更具體言之係關於誘發外顯子 2 之包含並從而恢復由 *GAA* 基因編碼之具酶活性的酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)蛋白水平。

【0009】　因此，本文提供一種反義寡聚物或其醫藥上可接受的鹽，其中該反義寡聚物之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡聚物之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0010】　該反義寡聚物係有益於治療有需要個體中之多種疾病，包括(但不限於)諸如龐貝症之疾病。

【0011】　該反義寡聚物可為二胺基磷酸酯嗎啉基寡聚物。該反義寡聚物可進一步包含細胞穿透肽。該肽可為本文所提供的任一種肽或本領域中已知的肽。

【0012】　在一實施例中，該目標區域包含一選自於由 SEQ ID NO: 2 (GAA-IVS1(-189-167))及 SEQ ID NO: 3 (GAA-IVS1(-80-24))組成之群的序列。在另一實施例中，該目標區域係選自 GAA-IVS1(-189-167)、GAA-IVS1(-72,-48)、GAA-IVS1(-71,-47)、GAA-IVS1(-70,-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-65,-41)、GAA-IVS1(-66,-42)。在進一步的實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-189-167)。在另一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-72,-48)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-71,-47)。在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-70,-46)。在一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-69-45)。在另一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-65,-41)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-66,-42)。

【0013】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0014】　在一實施例中，B 為 H。

【0015】　在另一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0016】　在一實施例中，B 為 H。

【0017】　在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基係連接至嗎啉環結構，其中該等嗎啉環結構係藉由含磷亞單元間鍵聯來連結，將一環結構之嗎啉氮連結至一相鄰環結構之 5’環外碳上。

【0018】　在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基係連接至肽核酸(PNA)，其中該磷酸-糖聚核苷酸骨架係被與核鹼基連接的彈性假(pseudo)肽聚合物取代。

【0019】　在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基之中至少一者為鎖核酸(LNA)，其中該鎖核酸結構為其中該鎖核酸結構為經過化學修飾且其中核糖部分具有一額外的橋聯聯結 2′氧與 4′碳之核苷酸類似物。

【0020】　在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為橋聯核酸(BNA)，其中該糖構形係受限制或藉由引入額外的橋聯結構至呋喃糖骨架而鎖住。在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為 2'-O,4'-C-乙烯-橋聯核酸(ENA)。

【0021】　在一些態樣中，該經修飾的反義寡聚物可含有解鎖核酸(UNA)亞單元。UNA 與 UNA 寡聚物為一種 RNA 類似物，其中該亞單元的 C2′-C3'鍵已經裂解。

【0022】　在一些態樣中，該經修飾反義寡聚物含有一或多個硫代磷酸酯(或 S-寡聚物)，其中未橋聯氧中之一者係經硫取代。在一些態樣中，該經修飾反義寡聚物含有一或多個 2' O-甲基、2' O-MOE、MCE 與 2'-F，其中該核糖之 2'-OH 係分別經甲基、甲氧基乙基、2-(N-甲基胺基甲醯基)乙基、或氟基取代。

【0023】　在一些態樣中，該經修飾反義寡聚物為三環-DNA (tc-DNA)，其為一種受限的 DNA 類似物，其中每一核苷酸藉由引入環丙烷環而進行修飾，以限制骨架的構形彈性並最佳化扭轉角 γ 的骨架幾何形狀。

【0024】　在一態樣中，該反義寡聚物為經修飾反義寡聚物，其中：

該經修飾反義寡聚物之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

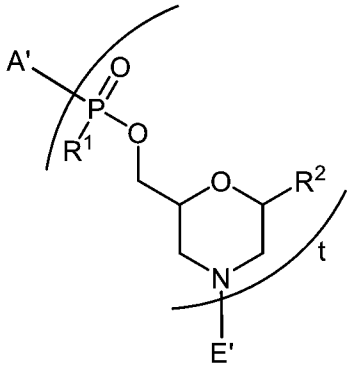
該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5’端至該反義寡核苷酸的 3’端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0025】 在一實施例中，本揭示係提供如式 I 之反義寡聚物：

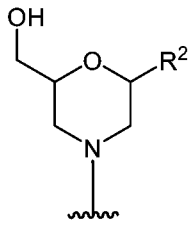


(I)

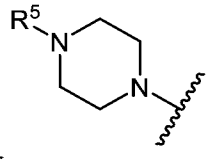
或其醫藥上可接受的鹽，

其中：

A′係選自–N(H)$CH_2C(O)NH_2$、-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



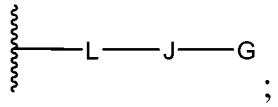
、及



，其中

R^5 為-C(O)(O-烷基)$_x$-OH，其中 x 為 3 至 10，且各個烷基基團在每次出現時係獨立地為 C_{2-6}-烷基，

或 R^5 係選自 H、-C(O)C_{1-6}-烷基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-(C_{1-6}-雜烷基)-R^6、芳基-R^6、雜芳基-R^6、-C(O)O-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-C(O)O-芳基-R^6、-C(O)O-雜芳基-R^6、及



;

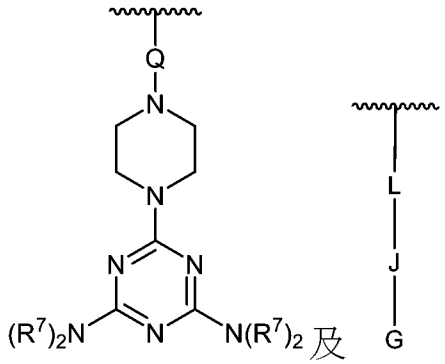
R^6 係選自 OH、SH 及 NH_2，或者 R^6 為 O、S 或 NH，其各者係共價連接至一固態撐體；

各個 R^1 係獨立地選自 OH 及–N(R^3)(R^4)，其中各 R^3 及 R^4 在每次出現時係獨立地為 H 或-C_{1-6}-烷基；

各個 R^2 在每次出現時係獨立地選自 H (無鹼基)、核鹼基、及經化學保護基團官能化之核鹼基，其中該核鹼基在每次出現時係獨立地包含選自吡啶、嘧啶、嘌呤及去氮-嘌呤之 C_{3-6}-雜環；

t 為 8 至 40；

E′係選自 H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、



及 ;

其中

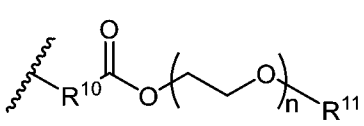
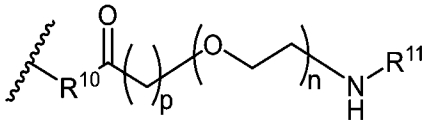
Q 為-C(O)$(CH_2)_6$C(O)-或-C(O)$(CH_2)_2S_2(CH_2)_2$C(O)-；

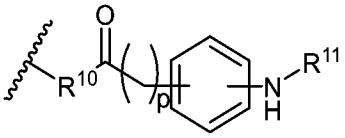
R^7 為-$(CH_2)_2$OC(O)N(R^8)$_2$，其中 R^8 為-$(CH_2)_6$NHC(=NH)NH_2；

L 係選自甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 或 R^9，其中 L 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；

W 為-C(O)-$(CH_2)_m$-NH-，其中 m 為 2 至 12；

R^9 係選自於由以下組成之群：

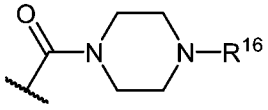

、

及


；

n 為 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

p 為 2、3、4 或 5；

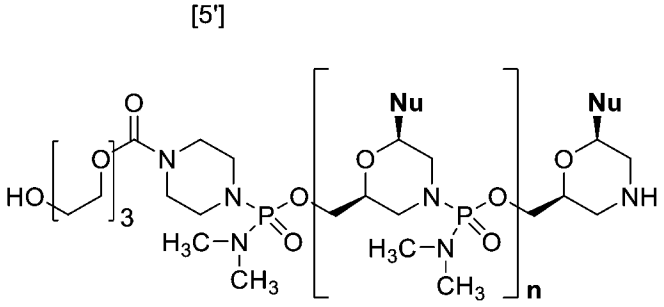
R^{10} 係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W 或 W-W；

R^{11} 係選自於由甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 及

組成之群；

R^{16} 係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W 或 W-W；其中 R^{16} 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；J 為細胞穿透肽；且

G 係選自 H、$C(O)C_{1-6}$-烷基、苯甲醯基及硬脂醯基，其中 G 係共價連接至 J。

【0026】　在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式 II：



(II)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13

GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0027】　在一實施例中，B 為 H。

【0028】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0029】　在一實施例中，B 為 H。

【0030】　在一實施例中，該反義寡聚物為一種包含有經修飾的反義寡核苷酸以及細胞穿透肽之共軛物，其中：

該經修飾反義寡聚物之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

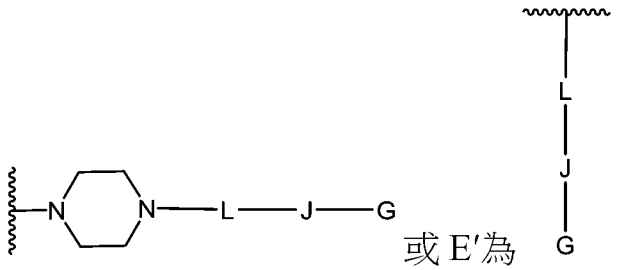
該反義寡核苷酸係共價連接至該細胞穿透肽；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5’端至該反義寡核苷酸的 3’端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

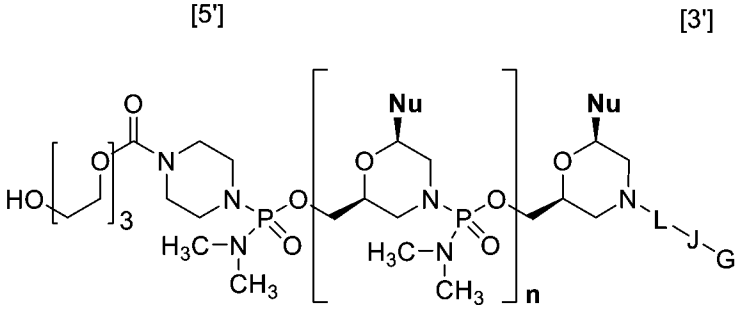
其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0031】　因此，在式 I 的一實施例中，A′為



。

【0032】　在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式(IIIa)：



(IIIa)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11

GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16.

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

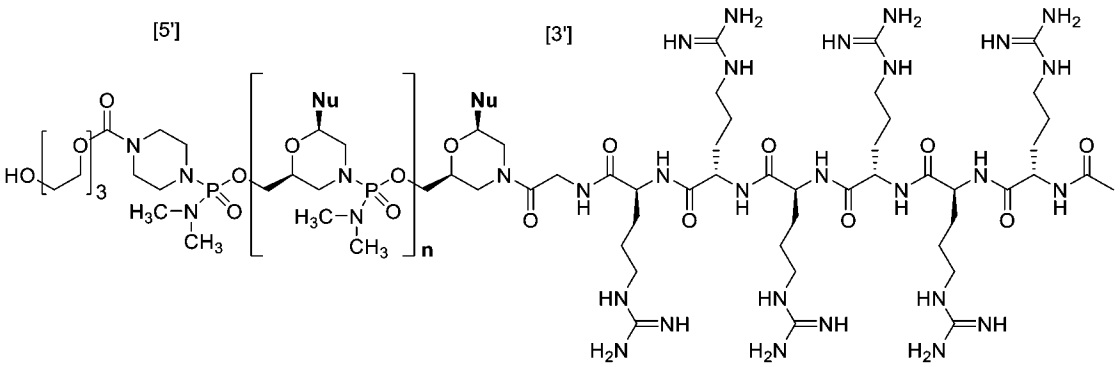
【0033】 在一實施例中，B 為 H。

【0034】 在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0035】 在一實施例中，B 為 H。

【0036】 在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式(III)：



(III)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0037】　在一實施例中，B 為 H。

【0038】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10

GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0039】　在一實施例中，B 為 H。

【0040】　該反義寡聚物可於該靶向序列與該目標區域結合時促進外顯子 2 保留在該 GAA mRNA 中。該反義寡聚物和完全與 SEQ ID NO: 1 中之目標區域互補的第二種反義寡核苷酸相比下，該反義寡聚物保留了 GAA 酶活性的效力。在另一態樣中，本文提供一種包含有本文所提供之反義寡聚物以及一醫藥上可接受的載劑之醫藥組成物。

【0041】　本文亦提供一種治療疾病的方法，其包含向一個體投與治療有效量之本文所提供的反義寡聚物。

【0042】　在一些實施例中，如本文所述之反義寡聚物可使用於治療龐貝症。

【圖式簡單說明】

【0043】　**圖 1** 顯示之長條圖係繪示出於篩選期間在多種 PMO 化合物中所發現到的 GAA 酶活性（酶測定）。Y 軸表示相對於未經處理之對照組 GAA 酶活性之增加倍數。個別化合物係以 10 μM 給藥。

【0044】　**圖 2A** 顯示之長條圖係繪示出於篩選期間在多種 PMO 化合物中所發現到的 GAA 酶活性（酶測定）。Y 軸表示相對於未經處理之對照組(UT) GAA 酶活性(mmol/mg 小時)之增加倍數。**圖 2B** 顯示之長條圖係係顯示繪示出

於篩選期間在多種 PMO 化合物中所發現到的 GAA 酶活性（酶測定）。Y 軸表示相對於未經處理之對照組 GAA 酶活性之增加倍數。個別化合物係以 20 μM 給藥。

【0045】 **圖 3** 顯示之長條圖係繪示出人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 內之-65 區域處的反義微步移(microwalk)數據。個別化合物係以 20 μM 給藥。

【0046】 **圖 4A** 顯示之長條圖係繪示出於篩選期間在多種 PPMO 化合物中所發現到的 GAA 酶活性（酶測定）。X 軸表示相對於非靶向對照組 GAA 酶活性之增加倍數。個別化合物係以 20 μM 給藥。

【0047】 **圖 4B** 顯示之長條圖係繪示出於篩選期間在多種 PPMO 化合物中所發現到的 *GAA* mRNA 轉錄程度（qPCR 測定）。X 軸表示相對於非靶向及未經處理之對照組 *GAA* mRNA 內的兩個位置處所測得之 *GAA* mRNA 轉錄物增加倍數。個別化合物係以 30 μM 給藥。

【0048】 **圖 5** 顯示之長條圖係繪示出 GAA 基因之前驅 mRNA 之內含子 1 之-169 區域處的反義微步移數據。個別化合物係以 10 μM 給藥。

【0049】 **圖 6** 顯示之長條圖係繪示出經以 PPMO #33、34、5 及 7 進行剝裸處理後之患者纖維母細胞中的 GAA 酶活性為劑量依存性增加。

【0050】 **圖 7** 顯示之長條圖係繪示出於篩選期間在該等 PPMO 化合物中所發現到的 *GAA* mRNA 轉錄水平（qPCR 測定）。Y 軸表示相對於非靶向及未經處理對照組 *GAA* mRNA 轉錄物之增加倍數。個別化合物係以 1、2.5、5、10、20 及 30 μM 給藥。

【0051】 **圖 8** 顯示之長條圖係繪示出經所選 PPMO #34、5 及 7 進行剝裸處理後之得自患者 iPSC 的肌小管中跨過外顯子 1-2 連接點所測得之 GAA 表現為劑量依存性增加。

【0052】 **圖 9** 顯示之數位凝膠影像及長條圖係繪示出經 PPMO #5、7 及 34 處理後之得自患者 iPSC 的肌小管之 GAA 蛋白在與總蛋白進行歸一化後的數量增加。

【0053】 **圖 10** 顯示之數位凝膠影像及長條圖係繪示出經 PPMO #12 及 15 處理後之得自患者 iPSC 的肌小管之 GAA 蛋白在與總蛋白進行歸一化後的數量增加。

【0054】 **圖 11** 顯示之長條圖係繪示出經 PPMO #7、5 及 12 處理後之得自患者 iPSC 的肌小管之 GAA 酶活性量增加。

【0055】 **圖 12** 顯示之長條圖係繪示出所選 PPMO 化合物之聚集位勢。其結果係以大小/強度分佈圖的形式繪製。

【實施方式】

相關申請案

【0056】 本申請案主張 2022 年 9 月 20 日提申之美國臨時申請案第 63/408,277 號及 2021 年 9 月 30 日提申之美國臨時申請案第 63/261,860 號之權益，其全部內容於此係以全文引用方式併入。

【0057】 本文係提供反義寡聚物以其醫藥上可接受的鹽，其中該反義寡聚物之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中至少一個亞單元為無鹼基亞單元。該反義寡聚物係有益於治療有需要個體中之多種疾病，包括(但不限於)龐貝症。

【0058】 某些實施方式係有關於用於在細胞中相較於外顯子 2 被刪除的 GAA mRNA 可增進含有外顯子 2 之編碼 GAA 的 mRNA 含量的方法，其包含使該細胞與帶有足夠的長度及互補性以專一性地雜合至 *GAA* 基因內的區域的反義寡聚物接觸，使得在該細胞中相較於外顯子 2 被刪除的 GAA mRNA 讓該

含外顯子 2 的 GAA mRNA 含量被提高。在一些實施例中，該細胞係於一個體中，且該方法包含向該個體投與該反義寡聚物。

【0059】　在一實施例中，本文係提供包含有細胞穿透肽之反義寡聚物，其中該反義寡聚物包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，且至少一個亞單元為無鹼基亞單元。

【0060】　本文亦提供一種治療龐貝症的方法。

I. 定義

【0061】　除非另有定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語皆具有與彼等熟習此項技術者通常所理解相同之含義。儘管任一類似或等效於彼等本文所述方法及材料之方法及材料皆可用於本文揭示內容之標的物之實踐或測試中，但描述較佳方法及材料。出於本文揭示內容之目的，下列術語定義於下文中。

【0062】　術語「約」將為熟習此項技術者所理解，且其將在使用其之上下文中在一定程度上有所變化。如本文所用，當提及可量測值（諸如，數量、持續時間及諸如此類）時，術語「約」意欲涵蓋所指定值的±10% (包括±5%、±1%及±0.1%)之變化，此乃因該等變化適用於進行所揭露的方法。

【0063】　術語「烷基」係指飽和、直鏈或具支鏈烴部分，其在某些實施例中分別含有在 1 至 6 個、或 1 至 8 個之間的碳原子。C_{1-6}-烷基部分之實例包括(但不限於)甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、新戊基、正己基部分；而 C_{1-8}-烷基部分之實例包括(但不限於)甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、新戊基、正己基、庚基及辛基部分。

【0064】　烷基取代基中之碳原子數可由前綴「C_{x-y}」指示，其中 x 係取代基中之最小碳原子數且 y 係最大碳原子數。同樣地，C_x 鏈意指含有 x 個碳原子之烷基鏈。

【0065】　除非另有說明，否則術語「雜烷基」本身或與另一術語組合係意指由所稱數目之碳原子及一或兩個選自由 O、N 及 S 組成之群之雜原子組成的穩定直鏈或具支鏈烷基，且其中氮及硫原子可視情況經氧化且氮雜原子可視情況經四級銨化。雜原子可置於雜烷基之任一位置，包括在雜烷基之其餘部分與其所附接之片段之間，以及附接至雜烷基中之最遠端碳原子。實例包括：-O-CH_2-CH_2-CH_3、-CH_2-CH_2-CH_2-OH、-CH_2-CH_2-NH-CH_3、-CH_2-S-CH_2-CH_3、及-CH_2-CH_2-S(=O)-CH_3。最多有兩個雜原子可相連，例如-CH_2-NH-OCH_3 或-CH_2-CH_2-S-S-CH_3。

【0066】　除非另外陳述，否則術語「芳基」單獨或與其他術語組合使用時意指含有一或多個環(通常一、二或三個環)之碳環芳香族系統，其中該等環可以懸垂方式附接在一起(諸如聯苯)，或可稠合(諸如萘)。芳基之實例包括苯基、蒽基及萘基。在多種實施例中，芳基之實例可包括苯基(例如 C_6-芳基)及聯苯(例如 C_{12}-芳基)。在一些實施例中，芳基具有 6 至 16 個碳原子。在一些實施例中，芳基具有 6 至 12 個碳原子(例如 C_{6-12}-芳基)。在一些實施例中，芳基具有 6 個碳原子(例如 C_6-芳基)。

【0067】　如本文所用，術語「雜芳基」或「雜芳香族」係指具有芳香族特徵之雜環。雜芳基取代基可藉由碳原子數定義，例如 C_{1-9}-雜芳基指示雜芳基中所含碳原子數，而不包括雜原子數。例如，C_{1-9}-雜芳基將包括額外的 1 至 4 個雜原子。多環雜芳基可包括一或多個部分飽和之環。雜芳基之非限制性實例包括吡啶基、吡嗪基、嘧啶基(包括例如 2-及 4-嘧啶基)、嗒嗪基、噻吩基、呋喃基、吡咯基(包括例如 2-吡咯基)、咪唑基、噻唑基、噁唑基、吡唑基(包括例如 3-及 5-吡唑基)、異噻唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,3,4-三唑基、四唑基、1,2,3-噻二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,3,4-噻二唑基及 1,3,4-噁二唑基。

【0068】　多環雜環及雜芳基之非限制性實例包括吲哚基(包括例如 3-、4-、5-、6-及 7-吲哚基)、吲哚啉基、喹啉基、四氫喹啉基、異喹啉基(包括例如 1-及 5-異喹啉基)、1,2,3,4-四氫異喹啉基、咔啉基、喹喏啉基(包括例如 2-及 5-

喹喏啉基)、喹唑啉基、酞嗪基、1,8-萘啶基、1,4-苯并二噁烷基、香豆素、二氫香豆素、1,5-萘啶基、苯并呋喃基(包括例如 3-、4-、5-、6-及 7-苯并呋喃基)、2,3-二氫苯并呋喃基、1,2-苯并異噁唑基、苯并噻吩基(包括例如 3-、4-、5-、6-及 7-苯并噻吩基)、苯并噁唑基、苯并噻唑基(包括例如，2-苯并噻唑基及 5-苯并噻唑基)、嘌呤基、苯并咪唑基(包括例如 2-苯并咪唑基)、苯并三唑基、噻噸基、咔唑基、吲啉基、吖啶基、吡咯聯啶基及喹嗪基。

【0069】　術語「保護基團」或「化學保護基團」係指阻斷化合物之一些或所有反應性部分並防止這類部分參與化學反應直到該保護基團被去除，例如於 T.W. Greene, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 第 3 版, John Wiley & Sons (1999)中所列舉描述的那些部分。在採用不同保護基團之情形下，每一(不同)保護基團可藉由不同方式去除是有益處的。在完全不同反應條件下裂解之保護基團可使這類保護基團有差別去除。例如，可藉由酸、鹼及氫解去除保護基團。諸如三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、乙縮醛及第三丁基二甲基矽烷基之基團係酸不穩定的且可用於在經 Cbz 基團(其可藉由氫解去除)及 Fmoc 基團(其係鹼不穩定的)保護之胺基存在下保護羧基及羥基反應性部分。可使用鹼不穩定基團(諸如但不限於甲基或乙基)阻斷羧酸部分，且可使用鹼不穩定基團(諸如乙醯基)在經酸不穩定基團(例如胺基甲酸第三丁基酯)或胺基甲酸酯(其係酸及鹼穩定但可以水解方式去除)阻斷之胺存在下阻斷羥基反應性部分。

【0070】　羧酸及羥基反應性部分亦可經水解可去除保護基團(諸如苄基)阻斷，而胺基團可經鹼不穩定基團(諸如 Fmoc)阻斷。一種用於合成式(I)化合物之特別有用的胺保護基團為三氟乙醯胺。羧酸反應性部分可經氧化可去除保護基團(諸如 2,4-二甲氧基苄基)阻斷，而共存之胺基可經氟化物不穩定之胺基甲酸矽烷基酯阻斷。

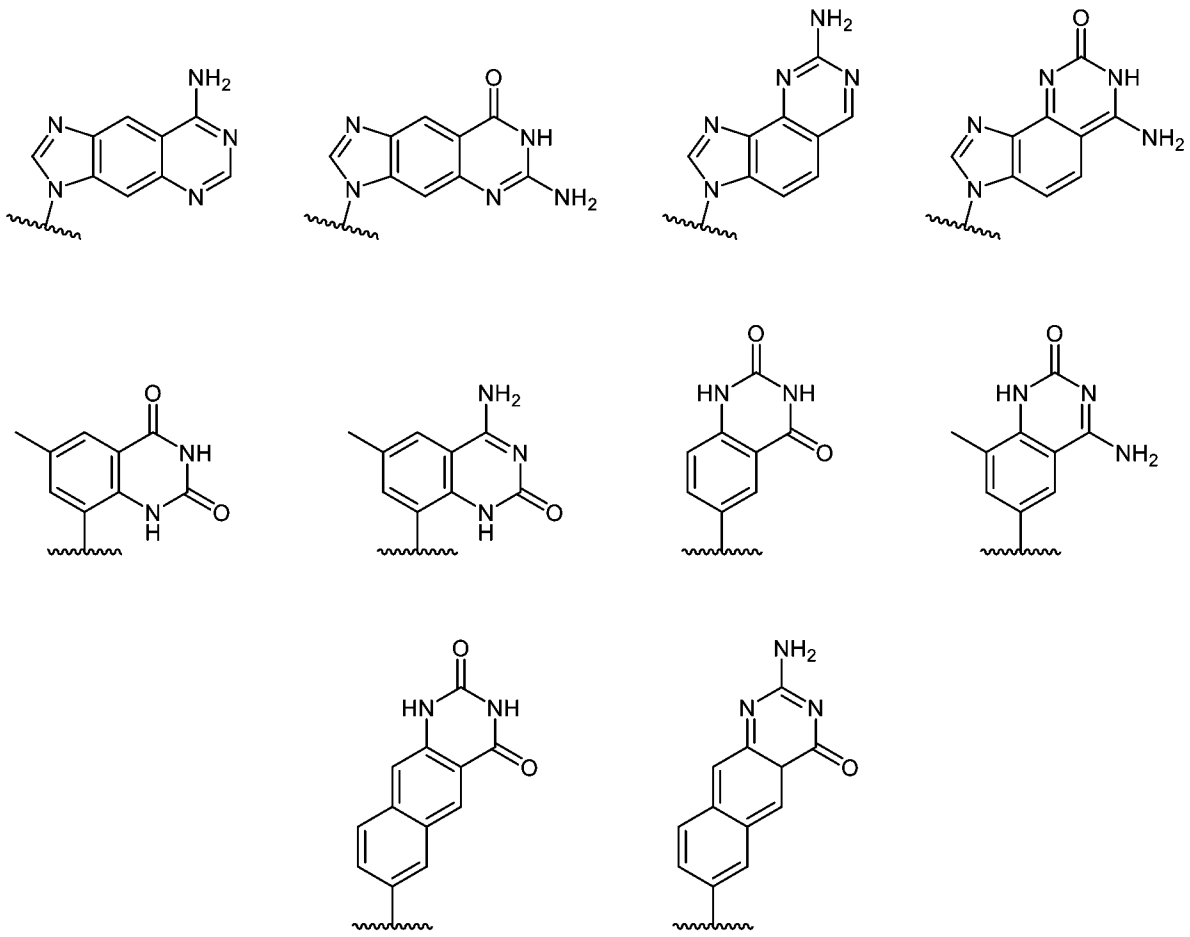
【0071】　烯丙基阻斷基團可在酸及鹼保護基團存在下使用，此乃因前者係穩定的且可隨後藉由金屬或 π 酸催化劑去除。例如，可使用鈀(0)催化反應

在酸不穩定胺基甲酸第三丁基酯或鹼不穩定乙酸酯胺保護基團存在下對烯丙基阻斷之羧酸實施去保護。保護基團之又一形式為化合物或中間產物可附接之樹脂。只要殘基附接至樹脂，官能基即受阻斷且不能反應。一旦自樹脂釋放，官能基便可用於反應。

【0072】　術語「核鹼基」、「鹼基配對部分」、「核鹼基-配對部分」或「鹼基」係指核苷、核苷酸及/或嗎啉基亞單元之雜環部分。核鹼基可為天然的，或經修飾的或是該等天然核鹼基之類似物，例如核鹼基之一或多個氮原子可在每次出現時獨立地由碳替代。例示性類似物包括次黃嘌呤(核苷肌苷之鹼基組分)；2,6-二胺基嘌呤；5-甲基胞嘧啶；C5-丙炔基修飾嘧啶；10-(9-(胺基乙氧基)吩噁嗪)(G 形夾)等。

【0073】　鹼基配對部分之進一步實例包括(但不限於)尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、鳥糞嘌呤及次黃嘌呤(其各別胺基由醯基保護基團保護)、2-氟尿嘧啶、2-氟胞嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、2,6-二胺基嘌呤、氮雜胞嘧啶、嘧啶類似物(例如假異胞嘧啶及假尿嘧啶)及其他經修飾核鹼基(諸如 8-取代嘌呤、黃嘌呤或次黃嘌呤(後兩者係天然降解產物))。亦涵蓋 Chiu 及 Rana (2003), *RNA* 9:1034-1048, Limbach 等人 (1994) *Nucleic Acids Res.* 22:2183-2196 以及 Revankar 及 Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, 第 7 卷, 313 中所揭示之經修飾核鹼基，其內容以引用的方式併入本文中。

【0074】　鹼基配對部分之其他實例包括(但不限於)其中添加了一或多個苯環之大小擴大的核鹼基。於 Glen Research 產品目錄(www.glenresearch.com); Krueger AT 等人 (2007) *Acc.* Chem. Res. 40:141-150; Kool ET (2002) *Acc.* Chem. Res. 35:936-943; Benner SA 等人 (2005) *Nat.* Rev. Genet. 6:553-543; Romesberg FE 等人 (2003) *Curr.* Opin. Chem. Biol. 7:723-733; Hirao, I (2006) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 10:622-627 中所述的核鹼基取代被認為是對本文所述寡聚物之合成有用，其內容以引用的方式併入本文中。大小擴大的核鹼基實例係顯示如下：



【0075】　術語「寡核苷酸」或「寡聚物」係指包含複數個鏈接之核苷、核苷酸、或核苷與核苷酸二者之組合之化合物。在本文所提供之特定實施例中，寡核苷酸為嗎啉基寡核苷酸。

【0076】　如本文所用，術語「反義寡聚物」或「反義化合物」可互換使用且指亞單元之序列，各亞單元係具有在由核糖或其他戊糖或嗎啉基組成之骨架亞單元上所帶的一個鹼基，且其中該骨架基團係由亞單元間鍵聯來連接，使該化合物中的鹼基可藉由華森-克里克鹼基配對而與一核酸(通常為 RNA)中的目標序列雜交，以在該目標序列內形成核酸:寡聚物異源雙螺旋。該寡聚物可與該目標序列有精確序列互補性或幾乎精確互補性。這類反義寡聚物係設計用來阻斷或抑制含有目標序列之 mRNA 轉譯，且可稱作「針對」其所雜交之序列。

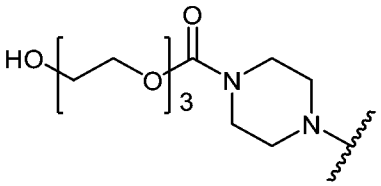
【0077】　本文亦考慮到的「反義寡聚物」或「反義化合物」類型還包括經硫代磷酸酯修飾的寡聚物、肽核酸(PNA)、鎖核酸(LNA)、經 2’-氟基修飾的寡聚物、經 2’-O,4’-C-伸乙基橋接的核酸(ENA)、三環-DNA、三環-DNA 硫

代磷酸酯修飾的寡聚物、經 2'-O-[2-(N-甲基胺甲醯基)乙基]修飾的寡聚物、經 2'-O-硫代磷酸甲酯修飾的寡聚物、經 2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)修飾的寡聚物、及 2'-O-甲基寡核苷酸、或其組合，以及本領域中已知的其他反義試劑。

【0078】　若反義寡聚物在生理條件下以大於 37°C、大於 45°C、較佳地至少 50°C、且通常 60°C-80°C 或更高的 Tm 雜合至目標聚核苷酸，則該反義寡聚物「專一性地雜合」至該目標聚核苷酸。寡聚物的「T_m」係為其 50%雜合至互補聚核苷酸的溫度。T_m係於(例如) Miyada 等人 (1987) *Methods Enzymol.* 154:94-107 中所述在標準條件下於生理食鹽水中測定。這類雜合可於反義寡聚物與目標序列「幾乎」或「實質上」互補、以及精確互補下發生。

【0079】　術語「互補」及「互補性」係指藉由鹼基配對規則相關之寡核苷酸(即，核苷酸序列)。例如，序列「T-G-A (5'-3')」與序列「T-C-A (5'-3')」互補。互補可為「局部的」，其中根據鹼基配對規則僅一些核酸之鹼基匹配。或者，核酸之間可為「完全」、「全部」或「完美」(100%)互補。核酸鏈之間之互補程度對核酸鏈間之雜交效率及強度具有顯著效應。儘管通常期望有完美互補，但一些實施例可包括相對於靶標 RNA 之一或多處、但較佳 6、5、4、3、2 或 1 處失配。這類雜合可於反義寡聚物與目標序列「幾乎」或「實質上」互補、以及精確互補下發生。在一些實施例中，寡聚物可在約 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%互補下與目標序列雜交。包括了寡聚物內之任何位置的變化。在某些實施例中，寡聚物末端附近之序列變化通常較內部變化更佳，且若存在通常在 5'-末端、3'-末端或兩個末端之約 6、5、4、3、2 或 1 個核苷酸內。

【0080】　術語「TEG」、「EG3」或「三乙二醇尾」係指與該寡聚物共軛的三乙二醇部分(例如於其 3'或 5'端)。例如，在一些實施方式中，「TEG」包括(例如)其中式(I)或式(IV)之共軛物的 A'為下式者：

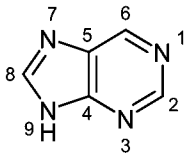


。

【0081】　天然核苷酸鹼基包括腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶及脲嘧啶，其符號分別為 A、G、C、T 及 U。核苷酸鹼基亦可涵蓋天然發生核苷酸鹼基的類似物。鹼基配對通常發生在嘌呤 A 與嘧啶 T 或 U 之間，以及嘌呤 G 與嘧啶 C 之間。

【0082】　寡核苷酸亦可包括核鹼基(在本領域中通常簡稱為「鹼基」)修飾或取代。含有經修飾或取代鹼基之寡核苷酸包括其中一或多個核酸中最常見之嘌呤或嘧啶鹼基被較不常見或非天然鹼基替代之寡核苷酸。在一些實施例中，核鹼基在嘌呤鹼基之 N9 原子或嘧啶鹼基之 N1 原子處共價鏈接至核苷酸或核苷之嗎啉環。

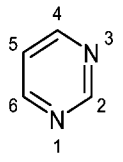
【0083】　嘌呤鹼基包含稠合至咪唑環之嘧啶環，如由以下通式所述：



。

【0084】　腺嘌呤及鳥糞嘌呤係核酸中最常見之兩種嘌呤核鹼基。其可經其他天然嘌呤取代，包括(但不限於) N6-甲基腺嘌呤、N2-甲基鳥糞嘌呤、次黃嘌呤及 7-甲基鳥糞嘌呤。

【0085】　嘧啶鹼基包含六員嘧啶環，如由以下通式所述：



。

【0086】　胞嘧啶、尿嘧啶及胸腺嘧啶為核酸中最常見之嘧啶鹼基。其可經其他天然嘧啶取代，包括(但不限於) 5-甲基胞嘧啶、5-羥基甲基胞嘧啶、假尿嘧啶及 4-硫尿嘧啶。在一實施例中，本文所述之寡核苷酸含有胸腺嘧啶鹼基替代嘧啶。

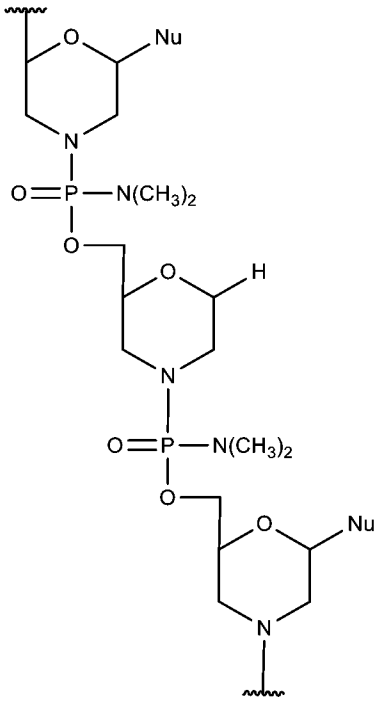
【0087】　其他經修飾或取代鹼基包括(但不限於) 2,6-二胺基嘌呤、乳清酸、阿馬替啶(agmatidine)、立西啶(lysidine)、2-硫嘧啶(例如 2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶)、G 形夾及其衍生物、5-經取代嘧啶(例如 5-鹵基尿嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、5-胺基甲基尿嘧啶、5-羥基甲基尿嘧啶、5-胺基甲基胞嘧啶、5-羥基甲基胞嘧啶、Super T)、7-去氮鳥糞嘌呤、7-去氮腺嘌呤、7-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、8-氮雜-7-去氮鳥糞嘌呤、8-氮雜-7-去氮腺嘌呤、8-氮雜-7-去氮-2,6-二胺基嘌呤、Super G、Super A 及 N4-乙基胞嘧啶或其衍生物；N2-環戊基鳥糞嘌呤(cPent-G)、N2-環戊基-2-胺基嘌呤(cPent-AP)及 N2-丙基-2-胺基嘌呤(Pr-AP)、假尿嘧啶或其衍生物；及簡併或通用鹼基，如 2,6-二氟甲苯或不存在鹼基，如無鹼基位點(例如 1-去氧核糖、1,2-二去氧核糖、1-去氧-2-O-甲基核糖；或環氧已經氮替代之吡咯啶衍生物(氮雜核糖))。假尿嘧啶為尿嘧啶之天然異構化形式，其具有 C-醣苷而非如尿苷中之常規 N-醣苷。

【0088】　某些經修飾或取代之核鹼基係特別有用於增加本揭示之反義寡核苷酸的結合親和力。其包括 5-經取代嘧啶、6-氮雜嘧啶及 N-2、N-6 及 O-6 經取代嘌呤，包括 2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及 5-丙炔基胞嘧啶。在多種實施例中，核鹼基可包括 5-甲基胞嘧啶取代，其已顯示使核酸雙鏈體穩定性增加 0.6-1.2°C。

【0089】　在一些實施例中，經修飾或取代之核鹼基可用於促進反義寡核苷酸之純化。例如，在某些實施例中，反義寡核苷酸可含有三個或以上(例如 3、4、5、6 個或以上)連續鳥糞嘌呤鹼基。在某些反義寡核苷酸中，一連串三個或以上連續鳥糞嘌呤鹼基可導致寡核苷酸聚集，此使其純化複雜化。在這類反義寡核苷酸中，連續鳥糞嘌呤中之一或多者可經次黃嘌呤取代。次黃嘌呤對一連串三個或以上連續鳥糞嘌呤鹼基中之一或多個鳥糞嘌呤的取代可減少反義寡核苷酸之聚集，藉以促進純化。

【0090】　術語「無鹼基亞單元」係指反義寡聚物中不含嘌呤及嘧啶。在一實施例中，「無鹼基亞單元」為氫。本文中所併入的無鹼基亞單元保留了

反義骨架但不含有嘌呤及嘧啶鹼基。反義寡聚物的非限制性實例包含以下所繪示之無鹼基亞單元。

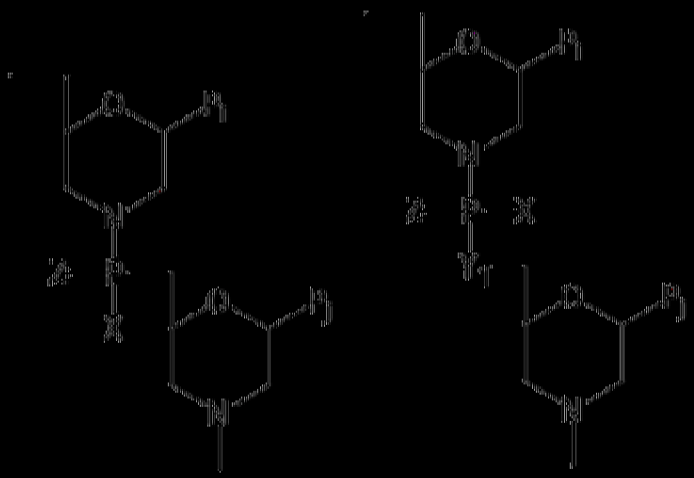


【0091】　本文所提供之寡核苷酸可經合成且不包括生物起源之反義組成物。本揭示之分子亦可與其他分子、分子結構或化合物混合物(例如脂質體、受體靶向分子、經口、直腸、外用或其他調配物)混合、囊封、共軛或以其他方式締合以幫助攝取、分佈或吸收或其組合。

【0092】　如本文所用，「核酸類似物」係指非天然核酸分子。核酸是一種核苷酸亞單元一起連接成線性結構的聚合物。各個核苷酸係由含氮芳香鹼基附接到五碳糖(五個碳)的糖類所組成，其進而附接至磷酸基團。連續的磷酸基團通過磷酸二酯鍵而連接一起以形成聚合物。兩種常見的天然核酸形式為去氧核醣核酸(DNA)及核醣核酸(RNA)。鏈的一端帶有一個附接在糖部分之 5'碳原子的游離磷酸基團；這被稱作為該分子的 5'端。另一端具有一個在糖部分之 3'碳處的游離羥基(-OH)基團且被稱作為該分子的 3'端。核酸類似物可包括一或多個非天然核鹼基、糖、及/或核苷酸間鍵聯，例如二胺基磷酸酯嗎啉基寡聚物(*PMO*)。如本文中所揭露，在某些實施例中，「核酸類似物」為 PMO，而在某些實施例中，「核酸類似物」為帶正電的陽離子 PMO。

[0093] 「嗎啉基寡聚物」或「PMO」係指具有藉有能夠與典型寡核苷酸氫鍵結之鹼基之主鏈的寡合分子，其中該寡合物缺乏戊糖主鏈部分，且更特定言之缺乏由核苷酸及核苷所特有之磷酸二酯鍵連結之核糖主鏈，但替代地含有經環氮偶合之環氮。例示性「嗎啉基」寡聚物包含由胺基磷酸酯或二胺基磷酸酯鍵聯而連結在一起之嗎啉基單元結構，其將一個單元之嗎啉基氮與相鄰單元之 5'環外碳接合，各單元包含有藉由鹼基特異性氫鍵結而有效結合於寡核苷酸中之鹼基的嘌呤或嘧啶鹼基配對部分。嗎啉基寡聚物(包括反義寡聚物)係詳述於例如美國專利第 5,034,506 號、第 5,142,047 號、第 5,166,315 號、第 5,185,444 號、第 5,217,866 號、第 5,506,337 號、第 5,521,063 號、第 5,698,685 號、第 8,076,476 號、及第 8,299,206 號；及 PCT 公開案第 WO 2009/064471 號中，其全部皆以全文引用的方式併入本文中。

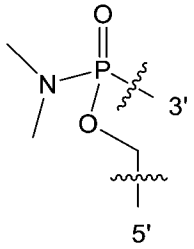
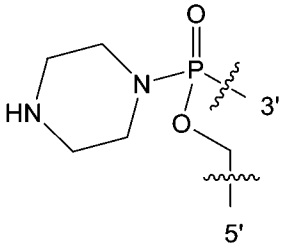
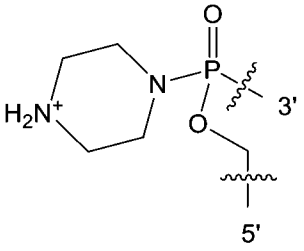
[0094] 一個較佳的嗎啉基寡聚物為二胺基磷酸酯鍵聯嗎啉基寡聚物，在本文中係稱為 PMO。這類寡聚物係由嗎啉基單元結構所組成，諸如以下所示者：



其中X為NH_2、NHR_3或NR_2（其中R為低級烷基，較佳為甲基），Y_1為O，且Z為O，而P_1及P_2為能藉由鹼基特異性氫鍵結來有效結合於寡核苷酸中之鹼基的嘌呤或嘧啶鹼基配對部分。較佳的還有具有另一種二胺基磷酸酯鍵聯的結構，其中X為低級烷氧基（諸如甲氧基或乙氧基），Y_1為NH或NR（其中R為低級烷基），而Z為O。

【0095】　代表性 PMO 包括其中的亞單元間鍵聯為鍵聯(A1)之 PMO。見**表 1**。

表 1. 代表性亞單元間鍵聯

編號	名稱	結構
A1	PMO	
A2	PMO^+ (已繪示未質子化形式)	
A3	PMO^+ (+)	

【0096】　「胺基磷酸酯」基團包含附接有三個氧原子且附接有一個氮原子的磷，而「二胺基磷酸酯」基團包含附接有兩個氧原子且附接有兩個氮原子的磷。一個代表性二胺基磷酸酯的例子如下：

各個 P_i 係獨立地選自 H、核鹼基、及經化學保護基團官能化之核鹼基，其中該核鹼基在每次出現時係獨立地包含選自吡啶、嘧啶、三嗪烷、嘌呤及去氧嘌呤之 C_{3-6} 雜環；而 n 為 6 至 38 的整數。在 PMO 之 3' 端處之末端位的環氧可用諸如乙醯基之封端基團封端，或可用一個游離氧去封端。

[0097] 在本文所述寡聚物之末帶電荷或經修飾的磷基團鍵聯中，一個氧始終側接於主鏈。二胺基磷酸酯鍵聯中之第二個氧通常為嗎啉基環結構中的環氧。

[0098] PMO 為水溶性、末帶電荷或實質上末帶電荷的反義分子，其通過阻止剪接或轉譯機制元件的結合或進度來抑制其內表現。也已顯示出 PMO 可抑制或阻止病毒複製(Stein, Skilling 等人, 2001; McCaffrey, Meuse 等人, 2003)。它們對酶消化具有高度抗性(Hudziak, Barofsky 等人, 1996)。在活體外的無細胞和細胞培養模型中(Stein, Foster 等人, 1997; Summerton 及 Weller 1997)，和在活體內的斑馬魚、青蛙和海膽胚胎中(Heasman, Kofron 等人, 2000; Nasevicius 及 Ekker 2000)，以及在成年動物模型中，諸如大鼠、小鼠、兔、狗和豬(比(例如) Arora 及 Iversen 2000; Qin, Taylor 等人, 2000; Iversen 2001; Kipshidze, Keane 等

人, 2001; Devi 2002; Devi, Oldenkamp 等人, 2002; Kipshidze, Kim 等人, 2002; Ricker, Mata 等人, 2002)，PMO 已展現出高度反義特異性及功效。

【0099】 已顯示出反義 PMO 寡聚物可被攝入到細胞內，且相比其他廣泛使用的反義寡核苷酸，在活體內更具一致的有效性與更少的非特異性效應(見(例如) P. Iversen, “Phosphoramidite Morpholino Oligomers,” in Antisense Drug Technology, S.T. Crooke 編, Marcel Dekker 公司, New York, 2001)。已顯示出 PMO 與富含精胺酸的肽共軛可增加其細胞攝取(見(例如)美國專利第 7,468,418 號，其係以全文引用方式併入本文中)。

【0100】 如本文所用之「帶電荷的」、「未帶電荷的」、「陽離子型」及「陰離子型」係指化學部分在接近中性 pH 值(例如約 6 至 8)下之主要狀態。例如，該術語係指化學部分在生理 pH 值(亦即約 7.4)下之主要狀態。

【0101】 「陽離子型 PMO」或「PMO+」係指二胺基磷酸酯嗎啉基寡聚物，其包含任何數目之(1-哌嗪基)亞膦氧基、(1-(4-(ω-胍基-烷醯基))-哌嗪基)亞膦氧基鍵聯(A2 及 A3；見**表 1**)，該等鍵聯先前已有描述(見(例如)PCT 公開案 WO 2008/036127，其係以全文引用方式併入本文中)。

【0102】 寡核苷酸類似物的「骨架」(例如，未帶電荷的寡核苷酸類似物)係指支撐鹼基配對部分的結構；例如，對於嗎啉基寡聚物，如本文中所述，「骨架」係包括藉由亞單元間鍵聯(例如，含磷鍵聯)所連接的嗎啉基環狀結構。「實質上未帶電荷的骨架」係指寡核苷酸類似物的骨架，其中少於 50%的亞單元間鍵聯在接近中性 pH 下為帶電荷的。例如，實質上未帶電荷的骨架可包含少於 50%、少於 40%、少於 30%、少於 20%、少於 10%、少於 5%或甚至 0%的亞單元間鍵聯，其在接近中性 pH 下為帶電荷的。在一些實施例中，實質上未帶電荷的骨架在每 4 個未帶電荷的(在生理 pH 下)鍵聯中包含至多 1 個帶電荷的(在生理 pH 下)亞單元間鍵聯、每 8 個包含至多 1 個或每 16 個包含至多 1 個未帶電荷的鍵聯。在一些實施例中，本文中所述的核酸類似物為完全未帶電荷的。

【0103】　術語「靶向鹼基序列」或僅「靶向序列」為核酸類似物中與RNA基因組中之目標序列互補(換言之，意謂實質上互補)之序列。類似物化合物之整個序列或僅一部分可與目標序列互補。例如，在具有20個鹼基之類似物中，僅12-14個可為靶向序列。一般而言，靶向序列係由該類似物中之相連鹼基形成，但可替代地由放置一起(例如自類似物之相對端)構成橫跨該目標序列之序列的非相連序列所形成。

【0104】　術語「肽」係指包含有複數個鏈接胺基酸之化合物。本文提供之肽可視為細胞穿透肽。

【0105】　如本文所用，術語「細胞穿透肽」(CPP)或「載體肽」係為能夠促進PMO被細胞攝取之相對較短的肽，藉以將PMO遞送至細胞內部(細胞質)。CPP或載體肽的長度通常為約12至約40個胺基酸。載體肽的長度並未特別限制且在不同實施例中有所變化。在一些實施例中，該載體肽包含4至40個胺基酸亞單元。在其他實施例中，該載體肽包含6至30、6至20、8至25、或10至20個胺基酸亞單元。在多種實施例中，本揭示的一個CPP實施例可包括下文進一步所描述之富含精胺酸的肽。

【0106】　如本文所用，「與肽共軛的二胺基磷酸酯鍵聯嗎啉基寡聚物」或「PPMO」係指與肽共價連接的PMO，諸如細胞穿透肽(CPP)或載體肽。該細胞穿透肽促進了PMO被細胞攝取，藉以將PMO遞送至細胞內部(細胞質)。取決於其胺基酸序列，CPP通常是有效的，或是其對於將PMO遞送至一或多種特定類型細胞是特異性地或選擇性地有效。PMO及CPP通常在其末端連接，例如CPP的C端末端可連接至PMO的5’末端，或是PMO的3’末端可連接至CPP的N端末端。PPMO可包括未帶電荷的PMO、帶電荷的（例如，陽離子型）PMO、及其混合。在一實施例中，本文所述之共軛物的連接部分可被裂解以釋出PPMO。

【0107】　該載體肽可直接或經由一可選的連接子而連接至該核酸類似物，該連接子例如為一或多種另外的天然胺基酸，例如半胱胺酸(C)、甘胺酸

(G)、或脯胺酸(P)，或為另外的胺基酸類似物，例如 6-胺基己酸(X)、β-丙胺酸(B)、或 XB。亦可利用本領域中已知的其他連接部分。

【0108】　「胺基酸單元」通常為 α-胺基酸殘基(–CO-CHR-NH-)；其亦可為 β-胺基酸殘基或其他胺基酸殘基(例如-CO-CH_2CHR-NH-)，其中 R 為胺基酸側鏈。

【0109】　術語「天然胺基酸」係指自然界中所見之蛋白質中存在的胺基酸；實例包括丙胺酸(A)、半胱胺酸(C)、天冬胺酸(D)、穀胺酸(E)、苯丙胺酸(F)、甘胺酸(G)、組胺酸(H)、異亮胺酸(I)、離胺酸(K)、亮胺酸(L)、甲硫胺酸(M)、天冬醯胺(N)、脯胺酸(P)、穀胺醯胺(Q)、精胺酸(R)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)、色胺酸(W)及酪胺酸(Y)。術語「非天然胺基酸」係指自然界中所見之蛋白質中不存在之胺基酸；實例包括 β-丙胺酸(β-Ala)及 6-胺基己酸(Ahx)。

【0110】　當試劑可藉由除了被動擴散以外之機制穿過細胞膜進入細胞時，該試劑為「由哺乳動物細胞主動吸收」。該試劑可例如藉由「主動輸送」（係指藉由例如 ATP 依賴性輸送機制穿過哺乳動物細胞膜輸送試劑）或藉由「促進輸送」（係指藉由需要試劑與輸送蛋白結合，隨後促進所結合之試劑通過細胞膜之輸送機制穿過細胞膜輸送反義試劑)來輸送。

【0111】　如本文所用，「有效量」係指足以達到所要生物性結果之任何數量的物質。「治療有效量」係指足以達到所要治療結果之任何數量的物質。

【0112】　如本文所用，「個體」為哺乳動物，其可包括小鼠、大鼠、倉鼠、豚鼠、兔子、山羊、綿羊、貓、狗、豬、牛、馬、猴子、非人類靈長類動物、或人類。在某些實施例中，個體為人類。

【0113】　對個體(例如哺乳動物，諸如人類)或細胞之「治療」係用於改變個體或細胞之自然進程之任何類型的干預。治療包括(但不限於)投與醫藥組成物，且可以預防性方式進行，或在病理事件開始後或與病原體接觸後進行。

II. 肽-寡核苷酸

【0114】　在一些實施例中，本文提供一種包含有經修飾反義寡核苷酸之反義寡聚物，其中：

該經修飾反義寡聚物之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5’端至該反義寡核苷酸的 3’端依序一起形成該靶向序列；

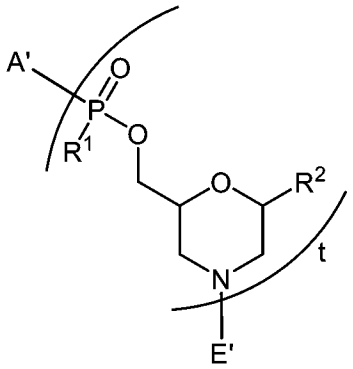
至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0115】　在一實施例中，該無鹼基亞單元是在該靶向序列的內部。

【0116】　在一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為 20 至 40 個亞單元。在另一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為 19 至 29 個亞單元。在另一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為 18 至 40、19 至 30、19 至 29、20 至 40、20 至 30、20 至 25、21 至 40、21 至 30、21 至 25、22 至 40、22 至 30、22 至 25、23 至 40、23 至 30、或 23 至 25 個亞單元。又在另一個實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為 19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 或 40 個亞單元。

【0117】　在一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸為式 I 之反義寡聚物：

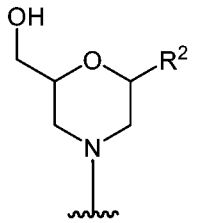
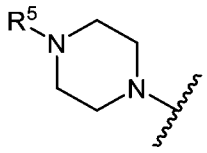


(I)

或其醫藥上可接受的鹽，

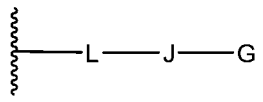
其中：

A′係選自–N(H)$CH_2C(O)NH_2$、-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、


、及

，其中

R^5為-C(O)(O-烷基)$_x$-OH，其中 x 為 3 至 10，且各個烷基基團在每次出現時係獨立地為 C_{2-6}-烷基，

或 R^5係選自 H、-C(O)C_{1-6}-烷基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-(C_{1-6}-雜烷基)-R^6、芳基-R^6、雜芳基-R^6、-C(O)O-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-C(O)O-芳基-R^6、-C(O)O-雜芳基-R^6、及


;

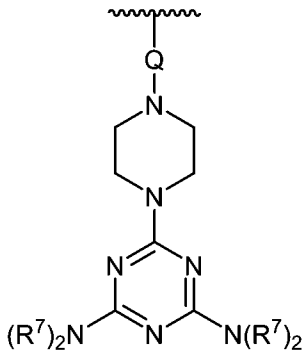
R^6係選自 OH、SH 及 NH_2，或者 R^6為 O、S 或 NH，其各者係共價連接至一固態撐體；

各個 R^1係獨立地選自 OH 及–N(R^3)(R^4)，其中各 R^3及 R^4在每次出現時係獨立地為 H 或-C_{1-6}-烷基；

各個 R^2在每次出現時係獨立地選自 H (無鹼基)、核鹼基、及經化學保護基團官能化之核鹼基，其中該核鹼基在每次出現時係獨立地包含選自吡啶、嘧啶、嘌呤及去氮-嘌呤之 C_{3-6}-雜環；

t 為 8 至 40；

E′係選自 H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、


及

；

其中

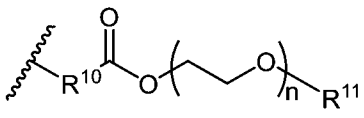
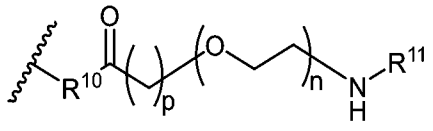
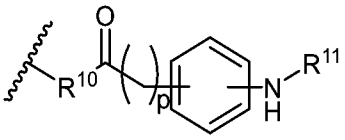
Q 為-C(O)$(CH_2)_6$C(O)-或-C(O)$(CH_2)_2S_2(CH_2)_2$C(O)-；

R^7 為-$(CH_2)_2$OC(O)N$(R^8)_2$，其中 R^8 為-$(CH_2)_6$NHC(=NH)NH_2；

L 係選自甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 或 R^9，其中 L 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；

W 為-C(O)-$(CH_2)_m$-NH-，其中 m 為 2 至 12；

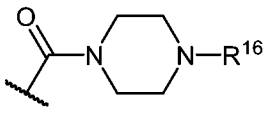
R^9 係選自於由以下組成之群：


、

及

；

n 為 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

p 為 2、3、4 或 5；

R^{10} 係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W 或 W-W；

R^{11} 係選自於由甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 及

組成之群；

R^{16}係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W或W-W；其中R^{16}係藉由醯胺鍵共價連接至J的N端或C端；J為細胞穿透肽；且

G係選自H、$C(O)C_{1-6}$-烷基、苯甲醯基及硬脂醯基，其中G係共價連接至J。

【0118】　在一態樣中，本文揭露一種其中的反義寡聚物為包含有經修飾的反義寡核苷酸以及細胞穿透肽之共軛物的反義寡聚物，其中：

該經修飾的反義寡核苷酸之長度為18至40個亞單元，其包含一與人類酸性α葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅mRNA之內含子1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸係共價連接至該細胞穿透肽；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的5’端至該反義寡核苷酸的3’端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0119】　在一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為20至40個亞單元。在另一實施例中，該經修飾的反義寡核苷酸長度為 19 至 29 個亞單元。

【0120】　在一實施例中，該目標區域包含一選自於由SEQ ID NO: 2 (GAA-IVS1(-189-167))及SEQ ID NO: 3 (GAA-IVS1(-80-24))組成之群的序列。在進一步的實施例中，該目標區域包含如SEQ ID NO: 2所述之序列。在另一實施例中，該目標區域包含如SEQ ID NO: 3所述之序列。

【0121】　在一實施例中，該目標區域係選自GAA-IVS1(-189-167)、GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)、及GAA-IVS1(-49-24)。在進一步的實施例

中，該目標區域為 GAA-IVS1(-189-167)。在另一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-72,-48)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-71,-47)。在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-70,-46)。在一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-69-45)。在另一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-65,-41)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-66,-42)。

【0122】 在一實施例中，該靶向序列包含序列 CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC (SEQ ID NO: 4)，其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在另一實施例中，該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)；

iii) SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)；

iv) SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)；

v) SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)；及

vi) SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)。

【0123】 在一實施例中，B 為 H。

【0124】 在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)。

【0125】 在一實施例中，該靶向序列係由序列 CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC (SEQ ID NO: 4)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由

SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)所組成。

【0126】 在一實施例中，該目標區域係選自於由 GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)及 GAA-IVS1(-49-24)所組成之群。在另一實施例中，該目標區域係選自於由 GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)及 GAA-IVS1(-65-41)所組成之群。

【0127】 在一實施例中，該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)；

ii) SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)；

iii) SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)；

iv) SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)；

vi) SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)；

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在一實施例中，該靶向序列係選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)；

ii) SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)；

iii) SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)；

iv) SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)；

vi) SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)；

vii) SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)；及

viii) SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【0128】 在一實施例中，B 為 H。

【0129】 在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【0130】　在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)所組成。

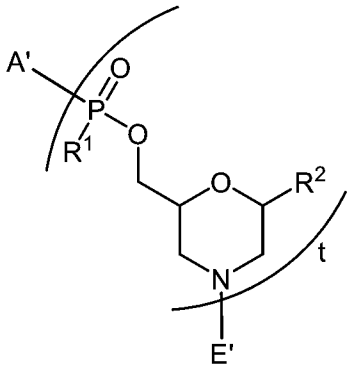
【0131】　在一實施例中，除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98、或 99%互補。在另一實施例中，除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 84%、至少 88%、或至少 92%互補。又在另一個實施例中，除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與

該目標區域至少 90%互補。在另一個實施例中，除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 95%互補。又在另一個實施例中，除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域 100%互補。

【0132】　在一實施例中，各個無鹼基亞單元為來自該靶向序列之 5’或 3’端的至少 8 個亞單元。

【0133】　該反義寡核苷酸可包含 1 至 5 個無鹼基亞單元。在一實施例中，該反義寡核苷酸包含 1、2、3 或 4 個無鹼基亞單元。

【0134】　在另一實施例中，該反義寡聚物為具有式 IV 之反義寡聚物共軛物：

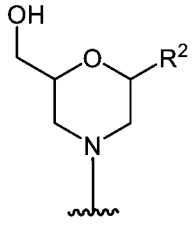


(IV)

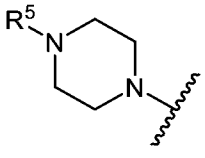
或其醫藥上可接受的鹽，

其中：

A′係選自–N(H)$CH_2C(O)NH_2$、-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



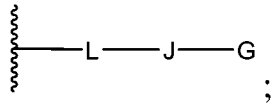
、及



，其中

R^5 為-C(O)(O-烷基)$_x$-OH，其中 x 為 3 至 10，且各個烷基基團在每次出現時係獨立地為 C_{2-6}-烷基，

或 R^5 係選自 H、-C(O)C_{1-6}-烷基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-(C_{1-6}-雜烷基)-R^6、芳基-R^6、雜芳基-R^6、-C(O)O-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-C(O)O-芳基-R^6、-C(O)O-雜芳基-R^6、及



;

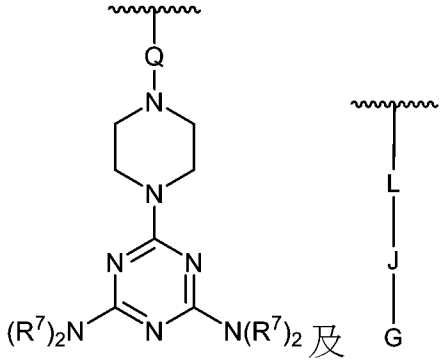
R^6 係選自 OH、SH 及 NH_2，或者 R^6 為 O、S 或 NH，其各者係共價連接至一固態撐體；

各個 R^1 係獨立地選自 OH 及–N(R^3)(R^4)，其中各 R^3 及 R^4 在每次出現時係獨立地為 H 或-C_{1-6}-烷基；

各個 R^2 在每次出現時係獨立地選自 H (無鹼基)、核鹼基、及經化學保護基團官能化之核鹼基，其中該核鹼基在每次出現時係獨立地包含選自吡啶、嘧啶、嘌呤及去氮-嘌呤之 C_{3-6}-雜環；

t 為 8 至 40；

E′係選自 H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、



;

其中

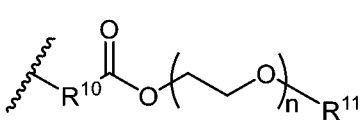
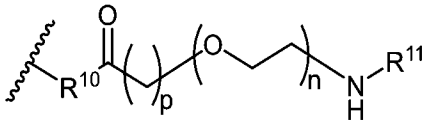
Q 為-C(O)$(CH_2)_6$C(O)-或-C(O)$(CH_2)_2S_2(CH_2)_2$C(O)-；

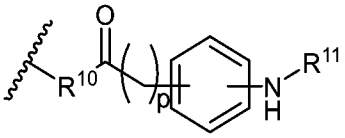
R^7 為-$(CH_2)_2$OC(O)N(R^8)$_2$，其中 R^8 為-$(CH_2)_6$NHC(=NH)NH_2；

L 係選自甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 或 R^9，其中 L 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；

W 為-C(O)-$(CH_2)_m$-NH-，其中 m 為 2 至 12；

R^9係選自於由以下組成之群：

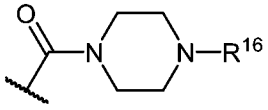

、

及


；

n為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

p為2、3、4或5；

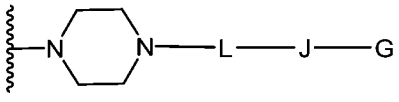
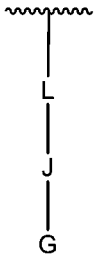
R^{10}係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W或W-W；

R^{11}係選自於由甘胺酸、脯胺酸、W、W-W及

組成之群；

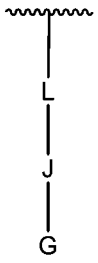
R^{16}係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W或W-W；其中R^{16}係藉由醯胺鍵共價連接至J的N端或C端；J為細胞穿透肽；且

G係選自H、C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基及硬脂醯基，其中G係共價連接至J；

其條件為

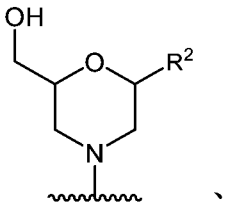
A′為 
或E′為

。

【0135】　在一實施例中，E′係選自H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、及

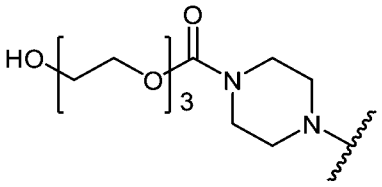


。

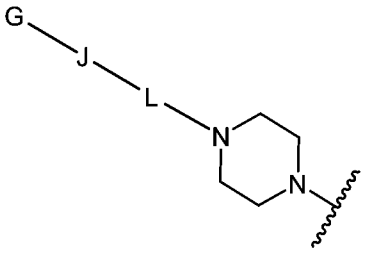
【0136】　在一實施例中，A′係選自-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



、

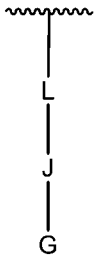


、及



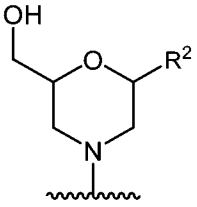
。

【0137】　在一實施例中，E′係選自 H、-$C(O)CH_3$、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、及

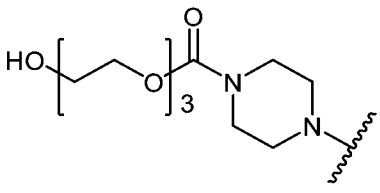


。

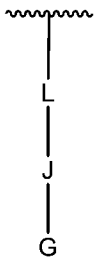
【0138】　在一實施例中，A′係選自-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



、及

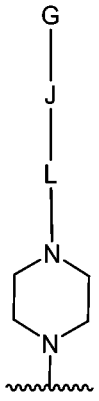


；且



E′為　。

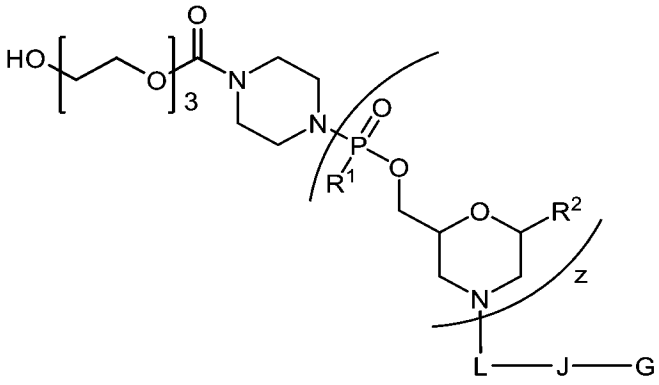
【0139】　在一實施例中，A′為



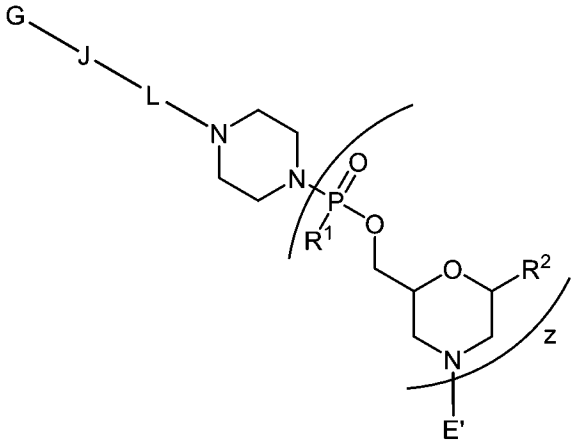
，且

E′係選自 H、-C(O)CH_3、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、苯甲醯基及硬脂醯基。

【0140】　在一實施例中，式 IV 之共軛物為選自以下之共軛物：



(IVa)；及



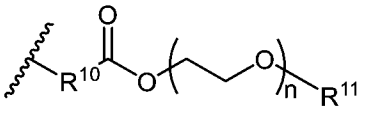
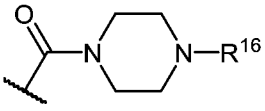
(IVb)

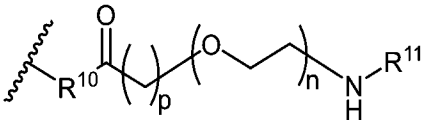
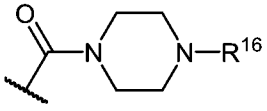
其中 E′係選自 H、C_{1-6}-烷基、-C(O)CH_3、苯甲醯基及硬脂醯基。

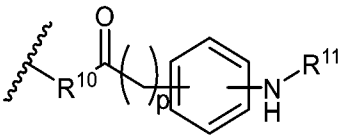
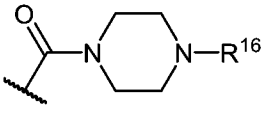
【0141】　在一實施例中，該共軛物為式(IVa)。在一實施例中，該共軛物為式(IVb)。

【0142】　在一實施例中，各個 R^1 為-$N(CH_3)_2$。

【0143】　在一實施例中，各個核鹼基在每次出現時係獨立地選自腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶、5-甲基-胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶及次黃嘌呤。在一實施例中，L 為甘胺酸。在一實施例中，L 為脯胺酸。在一實施例中，L 為-$C(O)-(CH_2)_5-NH-$。在一實施例中，L 為-$C(O)-(CH_2)_2-NH-$。在一實施例中，L 為-$C(O)-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_5-NH-$。

【0144】　在一實施例中，L 為  ，其中 R^{10} 為一鍵，且 R^{11} 係選自：甘胺酸及  。

【0145】　在一實施例中，L 為  ，其中 R^{10} 為一鍵；且 R^{11} 係選自：甘胺酸及  。

【0146】　在一實施例中，L 為  ，其中 R^{10} 為一鍵；且 R^{11} 係選自：甘胺酸及  。

【0147】　在一實施例中，J 係選自 rTAT、TAT、R_9F_2、$R_5F_2R_4$、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8、R_9、$(RXR)_4$、$(RXR)_5$、$(RXRRBR)_2$、$(RAR)_4F_2$、$(RGR)_4F_2$。

【0148】　在一實施例中，G 係選自 H、$C(O)CH_3$、苯甲醯基及硬脂醯基。在一實施例中，G 為 H 或-$C(O)CH_3$。在一實施例中，G 為 H。在一實施例中，G 為-$C(O)CH_3$。

【0149】　在一實施例中，該靶向序列係與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補，其中至少一

個亞單元為無鹼基亞單元。在另一實施例中，該目標區域包含一選自於由 SEQ ID NO: 2 (GAA-IVS1(-189-167))及 SEQ ID NO: 3 (GAA-IVS1(-80-24))組成之群的序列。

【0150】 在一實施例中，該靶向序列包含以下序列：

i) SEQ ID NO: 4 (CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)；

iii) SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)；

iv) SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)；

v) SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)；

vi) SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)；

vii) SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)；

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

【0151】 在一實施例中，B 為 H。

【0152】 在進一步的實施例中，該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)；

iii) SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)；

iv) SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)；

v) SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)；

vi) SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)；

vii) SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)；

viii) SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)；

ix) SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)；

x) SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)；

xi) SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)；

xii) SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)；

xiii) SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)；及

xiv) SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【0153】 在一實施例中，B 為 H。

【0154】 在一實施例中，該共軛物為其醫藥上可接受的鹽，以及至少一醫藥上可接受的載劑。

【0155】 在一實施例中，本文提供一種治療有需要之個體之疾病的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之共軛物或醫藥組成物。

【0156】 在一實施例中，該疾病為龐貝症。在一實施例中，該個體為人類。在進一步的實施例中，該個體為兒童。在另一實施例中，該個體為成人。

III. 寡聚物化學特徵

【0157】 本文中亦提供了反義寡聚物，其中該反義寡聚物為經修飾的反義寡聚物。經修飾的反義寡聚物實例包括(但不限於)嗎啉基寡聚物、經硫代磷酸酯修飾的寡聚物、2'-O-甲基修飾的寡聚物、肽核酸(PNA)、鎖核酸(LNA)、硫代磷酸酯寡聚物、經 2'-O-MOE 修飾的寡聚物、經 2'-氟基-修飾的寡聚物、2'-O,4'-C-伸乙基-橋接核酸(ENA)、三環-DNA、三環-DNA 硫代磷酸酯亞單位、經 2'-O-[2-(N-甲基胺甲醯基)乙基]修飾的寡聚物，包括前述任一者之組合。可合併硫代磷酸酯及經 2'-O-Me 修飾的化學物質以生成 2'-O-Me-硫代磷酸酯骨架。參見(例如) PCT 公開案第 WO/2013/112053 號及第 WO/2009/008725 號，其係以全文引用的方式併入本文中。

【0158】 在一些實施例中，該經修飾的反義寡聚物之核鹼基係連接至嗎啉環結構，其中該等嗎啉環結構係藉由含磷亞單元間鍵聯來連結，將一環結構之嗎啉氮連結至一相鄰環結構之 5'環外碳上。

【0159】　在一些實施例中，該反義寡聚物之核鹼基係連接至肽核酸(PNA)，其中該磷酸-糖聚核苷酸骨架係被與核鹼基連接的彈性假(pseudo)肽聚合物取代。在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基中至少一者係連接至鎖核酸(LNA)，其中該鎖核酸結構為經過化學修飾的核苷酸類似物，其中核糖部分具有一額外的橋聯聯結 2′氧與 4′碳。

【0160】　在一些實施例中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為橋聯核酸(BNA)，其中該糖構形係受限制或藉由引入額外的橋聯結構至呋喃糖骨架而鎖住。在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為 2'-O,4'-C-乙烯-橋聯核酸(ENA)。

【0161】　在一些實施例中，該經修飾的反義寡聚物可含有解鎖核酸(UNA)亞單元。UNA 與 UNA 寡聚物為一種亞單元之 C2′-C3'鍵已經裂解的 RNA 類似物。

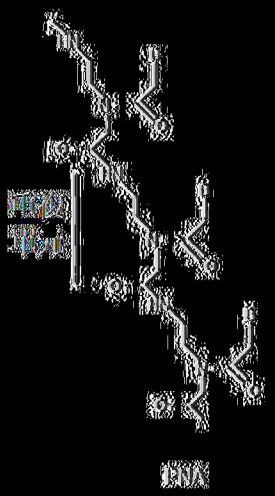
【0162】　在一些實施例中，該經修飾反義寡聚物含有一或多個硫代磷酸酯(或 S-寡聚物)，其中未橋聯氧之一者係經硫取代。在一些態樣中，該經修飾反義寡聚物含有一或多個 2' O-甲基、2' O-MOE、MCE 與 2'-F，其中該核糖之 2'-OH 係分別經甲基、甲氧基乙基、2-(N-甲基胺基甲醯基)乙基或氟基取代。

【0163】　在一些實施例中，該經修飾反義寡聚物為三環-DNA (tc-DNA)，其為一種受限的 DNA 類似物，其中每一核苷酸係藉由引入環丙烷環而進行修飾，以限制骨架的構形彈性並最佳化扭轉角 γ 的骨架幾何形狀。

【0164】　在一些實施例中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為橋聯核酸(BNA)，其中該糖構形係受限制或藉由引入額外的橋聯結構至呋喃糖骨架而鎖住。在一些態樣中，該反義寡聚物之核鹼基中之至少一者為 2'-O,4'-C-乙烯-橋聯核酸(ENA)。在這類態樣中，每個連接至 BNA 或 ENA 的核鹼基係包含一個 5-甲基基團。本揭示之寡聚物化學物質之例示性實施例係進一步於下文中描述。

1. 肽核酸(PNA)

[0165] 肽核酸(PNA)為 DNA 之類似物，其中骨架之結構與去氧核糖主鏈由形，由嘧啶或嘌呤鹼基所附接之 N-(2-胺基乙基)甘胺酸單元組成。含有天然嘧啶及嘌呤鹼基之 PNA 遵從華森-克里克鹼基配對規則與互補寡聚物雜合，且模擬 DNA 之鹼基對識別。PNA 之骨架係藉由肽鍵而非磷酸二酯鍵形成，此使其充分適於反義應用(以下列結構)。該骨架為未帶電荷的，從而產生展現大於正常熱穩定性之 PNA/DNA 或 PNA/RNA 雙鏈體。PNA 並不由核酸酶或蛋白酶識別。PNA 之非限制性實例係描繪於下。

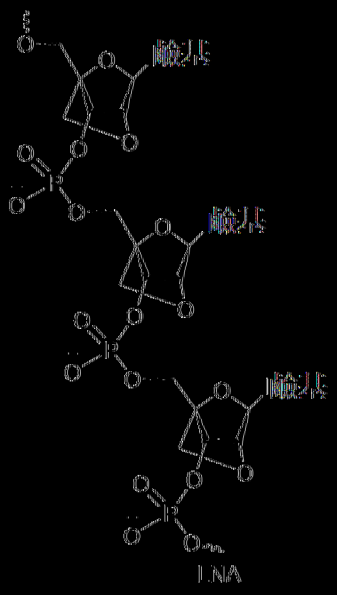


[0166] 儘管與天然結構有劇烈結構變化，但 PNA 能夠以螺旋形式序列特異性結合至 DNA 或 RNA。PNA 之特徵在於與互補 DNA 或 RNA 之高結合親和力、由單鹼基錯配引起之去穩定效應、核酸酶及蛋白酶抗性、與鹽濃度無關之 DNA 或 RNA 雜合，及與由嘌呤 DNA 形成三鏈體。PANAGENE™已研發出其專有 Bts PNA 單體(Bts：苯并噻唑-2-磺醯基)及專有寡聚化製程。使用 Bts PNA 單體之 PNA 寡聚化係由去保護、偶合及封端之重複循環構成。可使用本領域中已知之任一技術來合成產生 PNA。參見(例如)美國專利第 6,969,766 號；第 7,211,668 號；第 7,022,851 號；第 7,125,994 號；第 7,145,006 號；及第 7,179,896 號。關於 PNA 之製備亦參見美國專利第 5,539,082 號；第 5,714,331 號；及第 5,719,262 號。PNA 化合物之進一步揭示可見於 Nielsen 等人，*Science*, 254:1497-1500, 1991。前述每一者係以全文引用方式併入本文中。

2. 鎖核酸(LNA)

[0167] 反義寡聚物亦可含有「鎖核酸」單元(LNA)。「LNA」係稱為橋聯核酸(BNA)之一類修飾之成員。BNA之特徵在於將核糖環之組態鎖定於C30-內式(北方(northern))糖構中之共價鍵聯。對於LNA，橋聯係由2'-O與4'-C位置之間之單一亞甲基構成。LNA增強骨架預組織及鹼基堆疊，以增加雜合及熱穩定性。

[0168] LNA之結構可見於(例如) Wengel等人, *Chemical Communications* (1998) 455；Koshkin等人, *Tetrahedron* (1998) 54:3607；Jesper Wengel, *Accounts of Chem. Research* (1999) 32:301；Obika等人, *Tetrahedron Letters* (1997) 38:8735；Obika等人, *Tetrahedron Letters* (1998) 39:5401；及Obika等人, *Bioorganic Medicinal Chemistry* (2008) 16:9230，其係以全文引用方式併入本文中。LNA之非限制性實例係描繪於下。

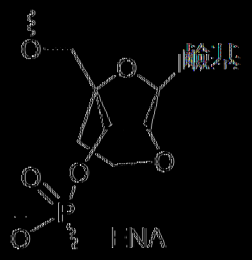


[0169] 本揭示之反義寡聚物可併入一或多個LNA；在一些情形下，該反義寡聚物可完全由LNA構成。用於合成個別LNA核苷單元及將其併入寡聚物中之方法係描述於例如美國專利：第7,572,582號；第7,569,575號；第7,084,125號；第7,060,809號；第7,053,207號；第7,034,133號；第6,794,499號；及第6,670,461號中；其每一者係以全文引用方式併入本文中。典型單元間連接子包括磷酸二酯及硫代磷酸酯部分；或者，可採用非含磷連接子。進

一步的實施例包括含 LNA 之反義寡聚物，其中每一 LNA 單元係由 DNA 單元分開。某些反義寡聚物係由交替 LNA 及 DNA 單元構成，其中單元間連接子為硫代磷酸酯。

3. 伸乙基橋聯核酸(ENA)

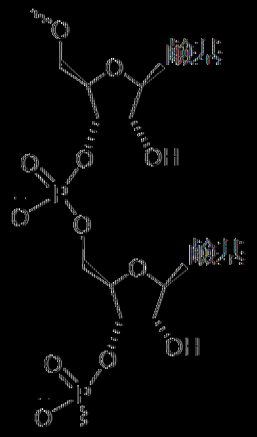
[0170] 2'O,4'C 伸乙基橋聯核酸(ENA)係為 BNA 類之另一成員。非限制性實例係描繪於下。



[0171] ENA 寡聚物及其製備係描述於 Obika 等人，*Tetrahedron Lett* (1997) 38 (50): 8735 中，其於此以全文引用方式併入本文中。本揭示之反義寡聚物可併入一或多個 ENA 單元。

4. 解鎖核酸(UNA)

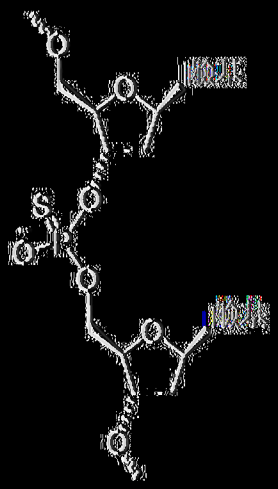
[0172] 反義寡聚物亦可含有解鎖核酸(UNA)單元。UNA 與 UNA 寡聚物為一種 RNA 類似物，其中該單元的 C2' C3'鍵已經裂解。而 LNA 係組態受限的(相對於 DNA 及 RNA)，UNA 係極具彈性的。UNA 係揭示於例如 WO 2016/0/0166 中。UNA 之非限制性實例係描繪於下。



[0173] 典型單元間連接子包括磷酸二酯及硫代磷酸酯部分；或者，可採用非含磷連接子。

5. 硫代磷酸酯

[0174] 「硫代磷酸酯」(或S-寡核苷酸)係為正常DNA之變異體，其中非橋聯氧係經硫替代。硫代磷酸酯之非限制性實例係描繪於下。



[0175] 核苷酸間鍵之硫化會降低內及外核酸酶之作用，該等核酸酶包括5'至3'及3'至5' DNA POL 1外核酸酶、核酸酶S1及P1、RNase、血清核酸酶及蛇毒磷酸二酯酶。硫代磷酸酯係藉由兩條主要途徑製得：藉由元素硫於二硫化碳中之溶液對氫膦酸酯之作用，或藉由用二硫化四乙基秋蘭姆(TETD)或3H-1,2-苯并二硫雜環戊烯-3-酮1,1-二氧化物(BDTD)硫化亞磷酸三酯之方法(見(例如) Iyer等人，*J. Org. Chem.* 55, 4693-4699, 1990，其於此係以全文引用方式

併入本文中)。後面的方法避免了元素硫在大多數有機溶劑中不溶解及二硫化碳毒性之問題。TETD 及 BDTD 方法亦產生較高純度之硫代磷酸酯。

6. 三環 DNA 及三環硫代磷酸酯單元

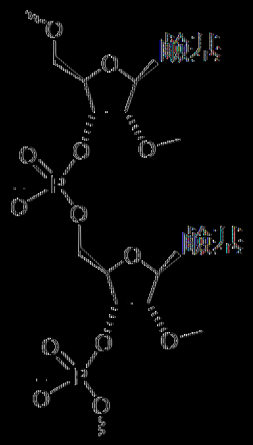
[0176] 三環 DNA (tc-DNA)係為一類受限 DNA 類似物，其中每一核苷酸係藉由引入環內烷環修飾以限制骨架之組態彈性且最佳化扭轉角γ之骨架幾何學。含有鹼性腺嘌呤及胸腺嘧啶之 tc-DNA 係與互補 RNA 形成異常穩定之 A-T 鹼基對。三環 DNA 及其合成係描述於國際專利申請公開案第 WO 2010/115993 號中，其係以全文引用方式併入本文中。本揭示之反義寡聚物可併入一或多個三環 DNA 單元；在一些情形下，該反義寡聚物可完全由三環 DNA 單元構成。

[0177] 三環硫代磷酸酯單元係為具有硫代磷酸酯單元間鍵聯之三環 DNA 單元。三環硫代磷酸酯單元及其合成係描述於國際專利申請公開案第 WO 2013/053928 號中，其係以全文引用方式併入本文中。本揭示之反義寡聚物可併入一或多個三環 DNA 單元；在一些情形下，該反義寡聚物可完全由三環 DNA 單元構成。三環 DNA/三環硫代磷酸酯單元之非限制性實例係描繪於下。

7. 2'-O-甲基、2'-O-MOE 及 2'-F 寡聚物

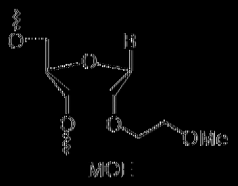
[0178] 「2'-O-Me 寡聚物」分子在核糖分子之 2'-OH 殘基處攜載甲基。2'-O-Me RNA 顯示與 DNA 相同(或相似)之行為，但經保護免於核酸酶降

解。2’-O-Me-RNA亦可與硫代磷酸酯寡聚物(PTO)組合以進一步穩定化。2’-O-Me寡聚物(磷酸二酯或硫代磷酸酯)可根據本領域之常規技術合成(Li(例如) Yoo等人，*Nucleic Acids Res.* 32:2008-16, 2004，其係以全文引用方式併入本文中)。2’-O-Me寡聚物之非限制性實例係描繪於下。

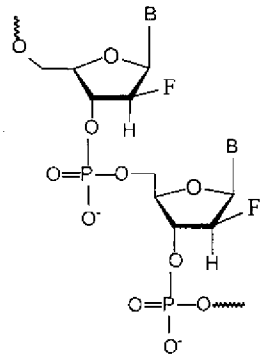


2’-O-Me

[0179] 2’-O-甲氧基乙基寡聚物(2’-O-MOE)在核糖分子之2’-OH殘基處攜載甲氧基乙基且已於Martin等人，*Helv.* Chim. Acta, 78, 486-504, 1995中有討論，其係以全文引用方式併入本文中。2’-O-MOE單元之非限制性實例係描繪於下。



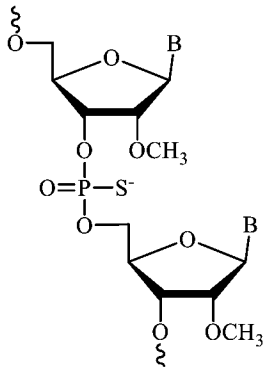
[0180] 2’-氟(2’-F)寡聚物在2’位置具有氟且已用其替代2’-OH。2’-F寡聚物之非限制性實例係描繪於下。



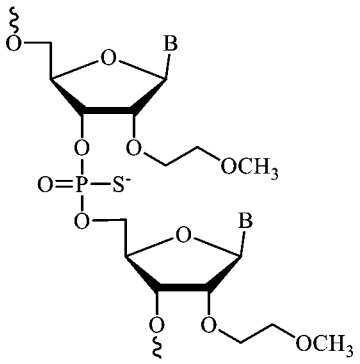
2'-F

【0181】　2’-氟寡聚物係進一步描述於 WO 2004/043977 中，其係以全文引用方式併入本文中。

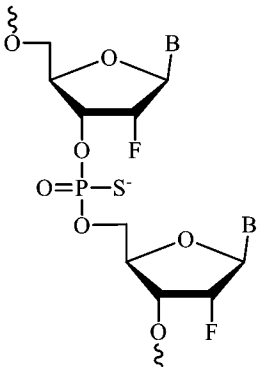
【0182】　2’-O-甲基、2’-O-MOE 及 2’-F 寡聚物亦可包含一或多個硫代磷酸酯(PS)鍵聯，如下所繪示。



2'-O-甲基 PS

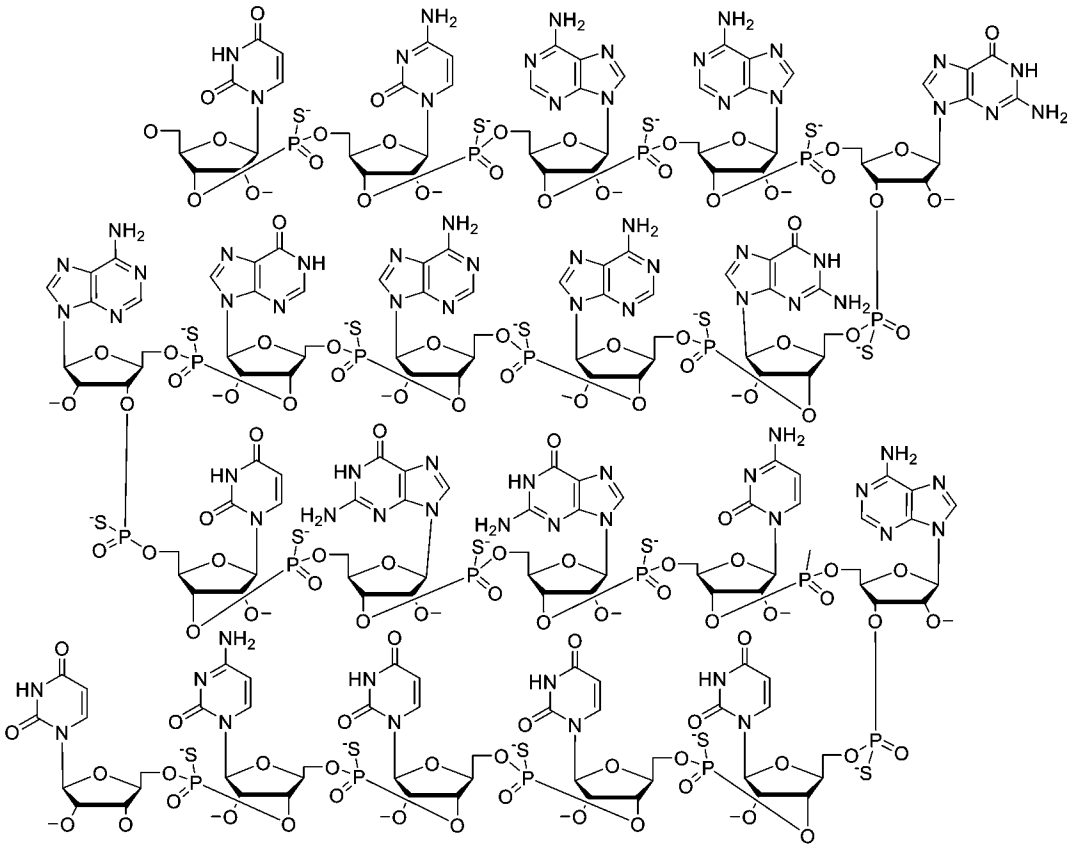


2'-O-MOE PS

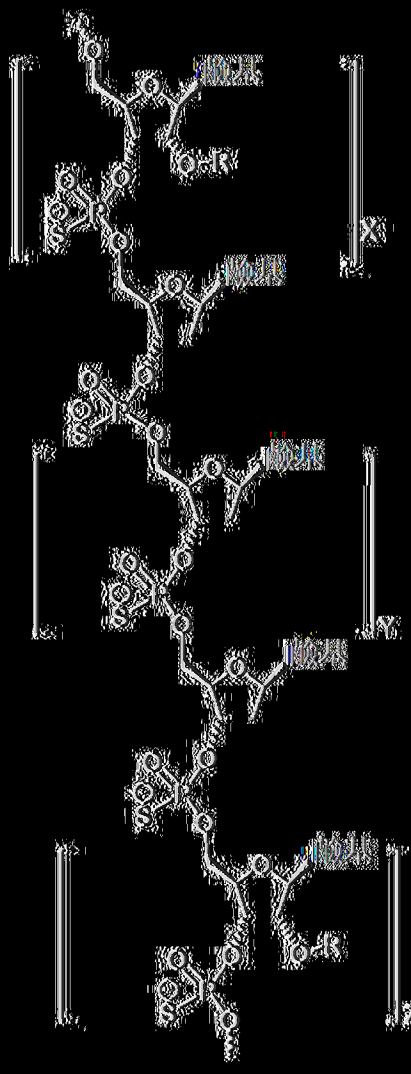


2'-F PS

【0183】　另外，2’-O-甲基、2’-O-MOE 及 2’-F 寡聚物可在整個寡聚物中（例如於下所描繪之 2’-O-甲基 PS 寡聚物屈沙培森(drisapersen)中）包含 PS 亞單元間鍵聯。



或者，2’-O-甲基、2’-O-MOE 及/或 2’-F 寡聚物可在該寡聚物的末端包含 PS 鍵聯，如下所繪示：



其中：

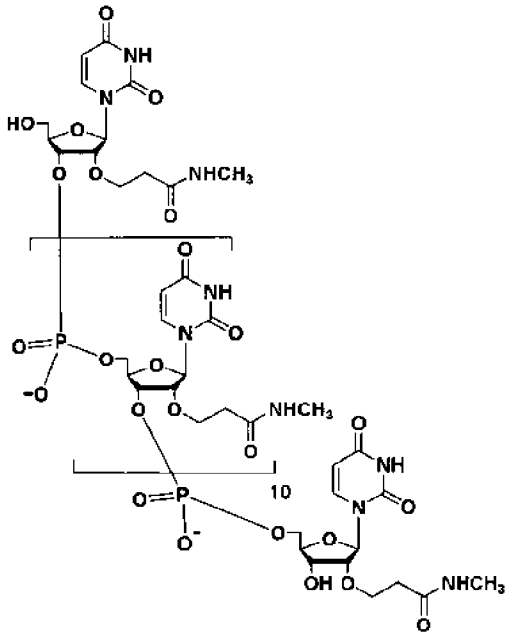
R 為 $CH_2CH_2OCH_3$ (甲氧基乙基或 MOE)；且

X、Y 與 Z 分別表示各於所指定 5' 區區、中心間隙區及 3' 區區中每一者內之核苷酸數。

[0184] 本揭示之反義寡聚物可併入一或多個 2'-O-甲基、2'-O-MOE 及 2'-F 糖單元，且可利用本文所述之任一糖單元間鍵聯。在一些情況下，本揭示之反義寡聚物可完全由 2'-O-甲基、2'-O-MOE 或 2'-F 糖單元構成。本揭示之反義寡聚物之一些實施例係完全由 2'-O-甲基糖單元構成。

8. 2'-O-[2-(N-甲基胺甲醯基)乙基]寡聚物(MCE)

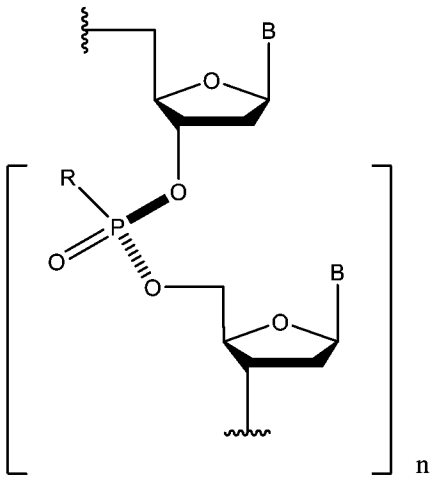
【0185】 MCE 為可用於本揭示反義寡聚物之經 2'-O 修飾的核糖核苷之另一實例。在此處，2'-OH 係衍生成 2-(N-甲基胺甲醯基)乙基部分，以增加核酸酶抗性。MCE 寡聚物之非限制性實例係描繪於下。



【0186】 MCE 及其合成係描述於 Yamada 等人，*J. Org.* Chem. (2011) 76(9):3042-53 中，其係以全文引用方式併入本文中。本揭示之反義寡聚物可併入一或多個 MCE 亞單元。

9. 立體特異性寡聚物

【0187】 立體特異性寡聚物為其中每一含磷鍵聯之立體化學係藉由合成方法固定、使得產生實質上立體純之寡聚物者。立體特異性寡聚物之非限制性實例係描繪於下。



【0188】　在上述實例中，寡聚物之每個磷係具有相同的立體組態。其他實例包括上文所述之寡聚物。例如，基於 LNA、ENA、三環-DNA、MCE、2'-O-甲基、2'-O-MOE、2'-F 及嗎啉基之寡聚物，其可以立體特異性含磷核苷間鍵聯（諸如(例如)硫代磷酸酯、磷酸二酯、胺基磷酸酯、二胺基磷酸酯或其他含磷核苷間鍵聯）製備。立體特異性寡聚物、用於製備該等寡聚物之製備方法、手性控制合成、手性設計及手性助劑係詳述於(例如) WO2017192664、WO2017192679、WO2017062862、WO2017015575、WO2017015555、WO2015107425、WO2015108048、WO2015108046、WO2015108047、WO2012039448、WO2010064146、WO2011034072、WO2014010250、WO2014012081、WO20130127858 及 WO2011005761 中，其每一者係以全文引用方式併入本文中。

【0189】　立體特異性寡聚物可具有呈 R_P 或 S_P 組態之含磷核苷間鍵聯。其中鍵聯之立體組態受控之手性含磷鍵聯稱為「立體純」，而其中鍵聯之立體組態不受控之手性含磷鍵聯稱為「立體無規」。在某些實施例中，本揭示之寡聚物包含複數個立體純及立體無規鍵聯，使得所得寡聚物在寡聚物之預定位置具有立體純亞單元。立體純亞單元之位置之實例係提供於國際專利申請公開案第 WO 2017/062862 A2 號之圖 7A 及 7B 中。在一實施例中，寡聚物中之所有手性含磷鍵聯為立體無規。在一實施例中，寡聚物中之所有手性含磷鍵聯為立體純。

【0190】 在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中之所有 n 個手性含磷鍵聯為立體無規。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中之所有 n 個手性含磷鍵聯為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 10% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 20% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 30% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 40% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 50% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 60% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 70% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 80% (至最接近整數)為立體純。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物中 n 個含磷鍵聯之至少 90% (至最接近整數)為立體純。

【0191】 在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 2 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 3 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 4 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。

在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 5 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 6 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 7 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 8 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 9 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 10 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 11 個具有相同立體定向(即 S_P 或 RP)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 12 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 13 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 14 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 15 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 16 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 17 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之

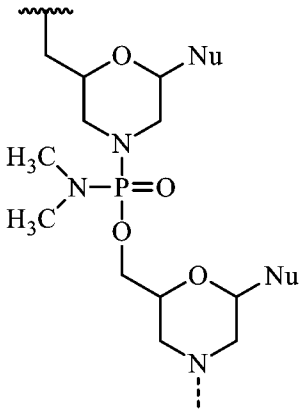
寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 18 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 19 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 係 1 或更大之整數)之寡聚物之實施例中，寡聚物含有至少 20 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯。

【0192】　在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 為 1 或更大之整數)之寡聚物的實施例中，該寡聚物含有至少 2 個具有相同立體定向(即 S_P 或 R_P)之鄰接立體純含磷鍵聯以及至少 2 個具有其它立體定向之鄰接立體純含磷鍵聯。例如，該寡聚物可含有至少 2 個 S_P 定向之鄰接立體純含磷鍵聯以及至少 2 個 R_P 定向之鄰接立體純含磷鍵聯。

【0193】　在具有 n 個手性含磷鍵聯(其中 n 為 1 或更大之整數)之寡聚物的實施例中，該寡聚物以交替形式含有至少 2 個具有相同立體定向之鄰接立體純含磷鍵聯以及至少 2 個具有其它立體定向之鄰接立體純含磷鍵聯。例如，該寡聚物可依序含有以下：2 或多個 R_P、2 或多個 S_P、及 2 或多個 R_P 等。

10.　嗎啉基寡聚物

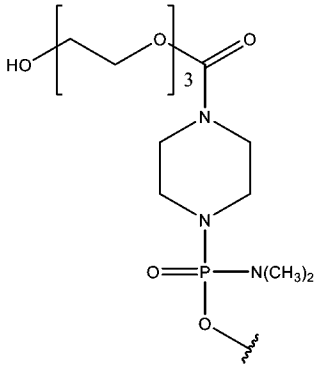
【0194】　本揭示之例示性實施例係關於以下一般結構之二胺基磷酸酯嗎啉基寡聚物：



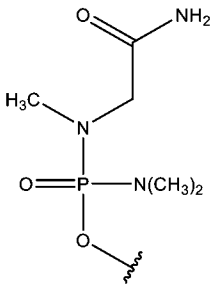
且如 Summerton, J.等人, *Antisense & Nucleic Acid Drug Development*, 7: 187-

195 (1997)之圖 2 中所述。如本文所述之嗎啉基係意欲涵蓋前述一般結構之所有立體異構物及互變異構物。嗎啉基寡聚物之合成、結構及結合特徵係詳述於美國專利第 5,698,685 號、第 5,217,866 號、第 5,142,047 號、第 5,034,506 號、第 5,166,315 號、第 5,521,063 號、第 5,506,337 號、第 8,076,476 號及第 8,299,206 號中，該等文獻全部係以引用的方式併入本文中。

【0195】　在某些實施例中，嗎啉基在寡聚物之 5’或 3’末端與「尾」部分共軛以增加其穩定性及/或溶解度。例示性的尾部包括：



；



；及

。

【0196】　在不同態樣中，本揭示係提供如式(IV)之反義寡聚物或其醫藥上可接受的鹽。

【0197】　在一實施例中，該靶向序列係與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補，其中至少一個亞單元為無鹼基亞單元。在另一實施例中，該目標區域包含一選自於由 SEQ ID NO: 2 (GAA-IVS1(-189-167))及 SEQ ID NO: 3 (GAA-IVS1(-80-24))組成之群的序列。在進一步的實施例中，該目標區域包含如 SEQ ID NO: 2 所述之序列。在另一實施例中，該目標區域包含如 SEQ ID NO: 3 所述之序列。

【0198】　在一實施例中，該目標區域係選自 GAA-IVS1(-189-167)、GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)、及 GAA-IVS1(-49-24)。在進一步的實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-189-167)。在另一實施例中，該目標區域為

GAA-IVS1(-72,-48)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-71,-47)。在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-70,-46)。在一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-69-45)。在另一實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-65,-41)。又在另一個實施例中，該目標區域為 GAA-IVS1(-66,-42)。

【0199】 在一實施例中，該靶向序列包含序列 CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC (SEQ ID NO: 4)，其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在另一實施例中，該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)；

iii) SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)；

iv) SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)；

v) SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)；及

vi) SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)。

【0200】 在一實施例中，B 為 H。

【0201】 在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)。

【0202】 在一實施例中，該靶向序列係由序列 CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC (SEQ ID NO: 4)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)所組成。又在另一個

實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)所組成。

【0203】 在一實施例中，該目標區域係選自於由 GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)及 GAA-IVS1(-49-24)所組成之群。在另一實施例中，該目標區域係選自於由 GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)及 GAA-IVS1(-65-41)所組成之群。

【0204】 在一實施例中，該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)；

ii) SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)；

iii) SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)；

iv) SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)；

vi) SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)；

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在一實施例中，該靶向序列係選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)；

ii) SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)；

iii) SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)；

iv) SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)；

vi) SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)；

vii) SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)；及

viii) SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

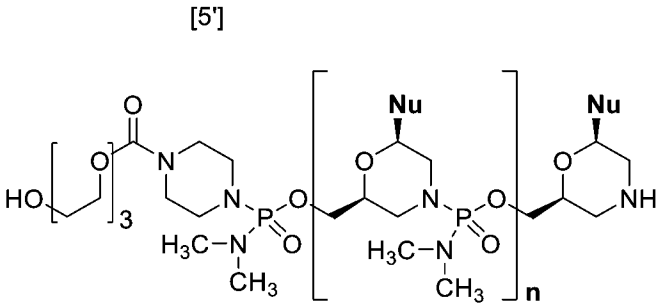
【0205】 在一實施例中，B 為 H。

【0206】 在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)。又在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)。在另一個實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)。在一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)。在另一實施例中，該靶向序列包含 SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【0207】 在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由

SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)所組成。又在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一個實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)所組成。在一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)所組成。在另一實施例中，該靶向序列係由 SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)所組成。

【0208】　在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式 II：



(II)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0209】 在一實施例中，B 為 H。

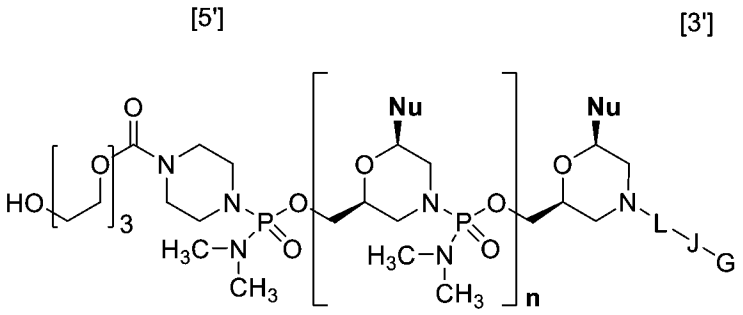
【0210】 在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0211】 在一實施例中，B 為 H。

【0212】　在一些實施例中，式(II)之反義寡聚物係呈游離鹼形式。在一些實施例中，式(II)之反義寡聚物為其醫藥上可接受的鹽。在一些實施例中，式(II)之反義寡聚物為其 HCl (鹽酸)鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 1 HCl、2 HCl、3 HCl、4 HCl、5 HCl 或 6 HCl 鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 6 HCl 鹽。

【0213】　在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式(IIIa)：



(IIIa)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0214】　在一實施例中，B 為 H。

【0215】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

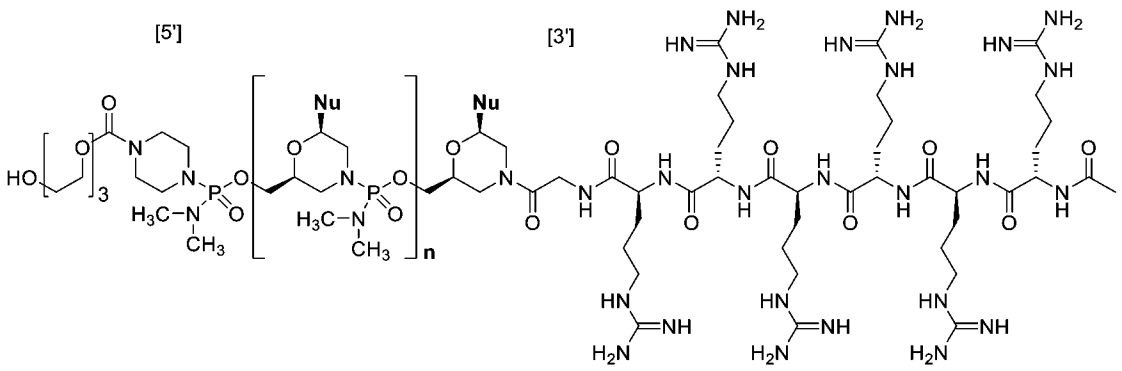
名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5

GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0216】 在一實施例中，B 為 H。

【0217】 在一些實施例中，式(IIIa)之反義寡聚物係呈游離鹼形式。在一些實施例中，式(IIIa)之反義寡聚物為其醫藥上可接受的鹽。在一些實施例中，式(IIIa)之反義寡聚物為其 HCl (鹽酸)鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 5 HCl 鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 6 HCl 鹽。

【0218】 在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式(III)：



(III)

或其醫藥上可接受的鹽，其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0219】　在一實施例中，B 為 H。

【0220】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

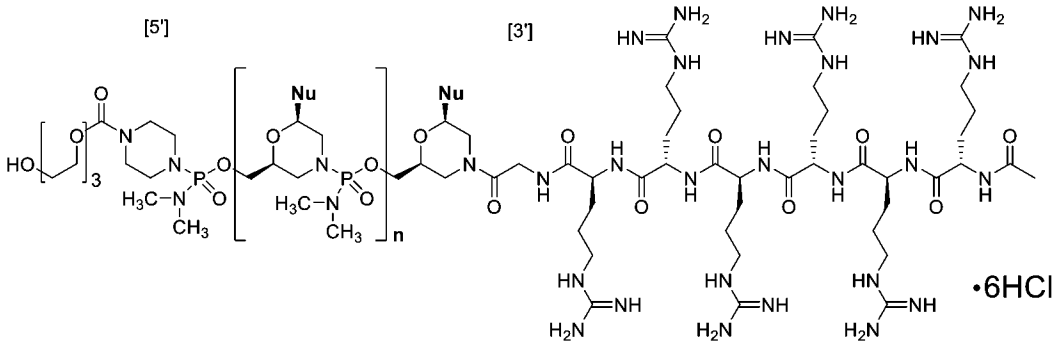
名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21

GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0221】 在一實施例中，B 為 H。

【0222】 在一些實施例中，式(III)之反義寡聚物係呈游離鹼形式。在一些實施例中，式(III)之反義寡聚物為其醫藥上可接受的鹽。在一些實施例中，式(III)之反義寡聚物為其 HCl (鹽酸)鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 5 HCl 鹽。在某些實施例中，該 HCl 鹽為 6 HCl 鹽。

【0223】 在一些實施例中，本揭示之反義寡聚物係如式(V)：



(V)

其中自 1 至 **n** 之每一 **Nu** 及其 5'至 3'對應於下列之一者的核鹼基：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC	4
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T	11
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C	12
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T	13
GAA-IVS1(-69-45)	GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C	14
GAA-IVS1(-65,-41)	GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C	15
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G	16

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。在 X 為無鹼基(B)的情況下，氫係代替核鹼基 A、C、T 或 G 存在。

【0224】 在一實施例中，B 為 H。

【0225】 在式(V)的一些態樣中，X 的一個例子為無鹼基，而 X 的其它例子係各為 G。在某些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，且一個例子為 G。在

式(V)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一個 X 例子為無鹼基，而 X 的其它兩個例子為 G。在式(V)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第三個例子為 G。在式(V)的某些態樣中，從 5'至 3'的第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第二個例子為 G。

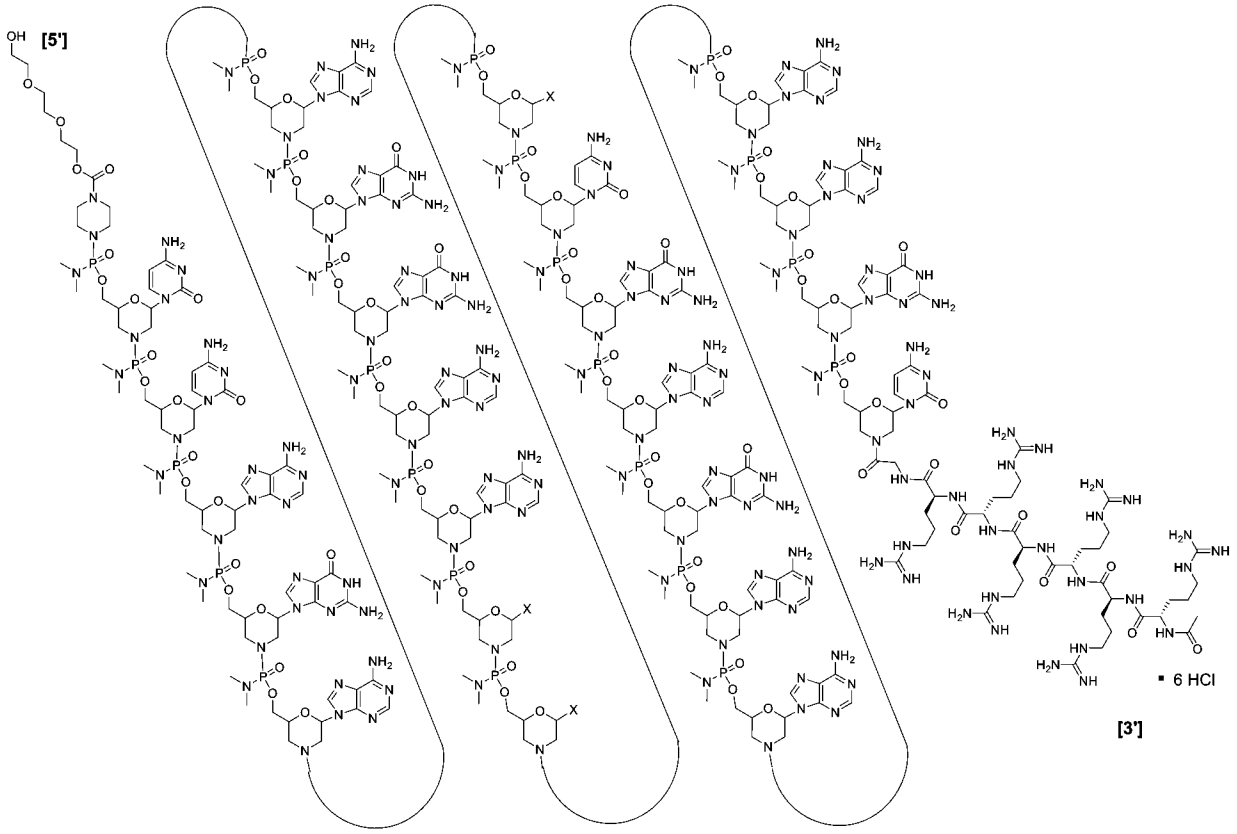
【0226】　在式(V)的一些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，而 X 的其它例子為 G。在式(V)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第三個例子為 G。在式(V)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第二個例子為 G。在式(V)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一個例子為 G。

【0227】　在一實施例中，該靶向序列包含以下序列中之任一者或是由其組成：

名稱	靶向序列[5'至 3']	SEQ ID NO:
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5
GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

【0228】　在一實施例中，B 為 H。

【0229】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(Va)：



其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

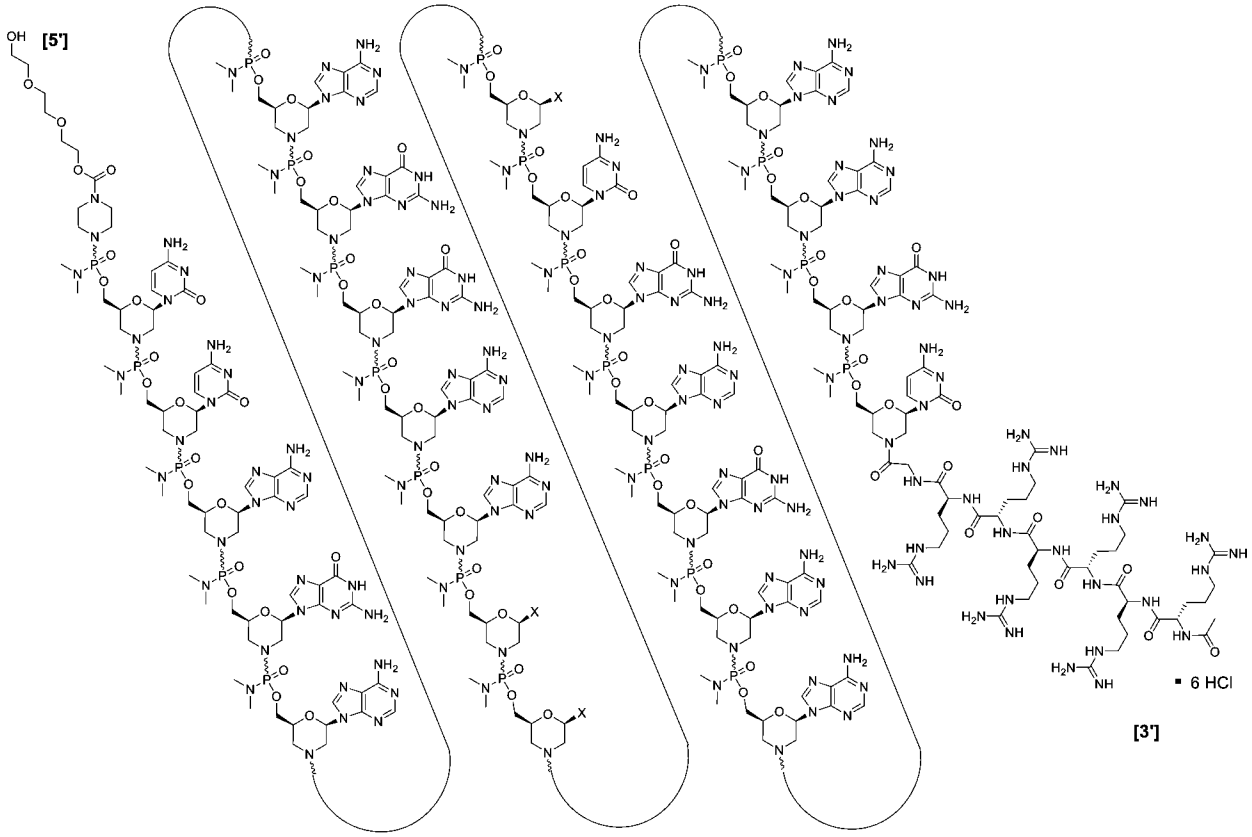
【0230】　在一實施例中，B 為 H。

【0231】　在式(Va)的一些態樣中，X 的一個例子為無鹼基，而 X 的其它例子係各為 G。在式(Va)的某些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，且一個例子為 G。在式(Va)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一個 X 例子為無鹼基，而 X 的其它兩個例子為 G。在式(Va)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第三個例子為 G。在式(Va)的某些態樣中，從 5'至 3'的第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第二個例子為 G。

【0232】　在式(Va)的一些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，而 X 的其它例子為 G。在式(Va)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第二個 X 例子為無鹼

基，而 X 的第三個例子為 G。在式(Va)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第二個例子為 G。在式(Va)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一個例子為 G。

【0233】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(Vb)：



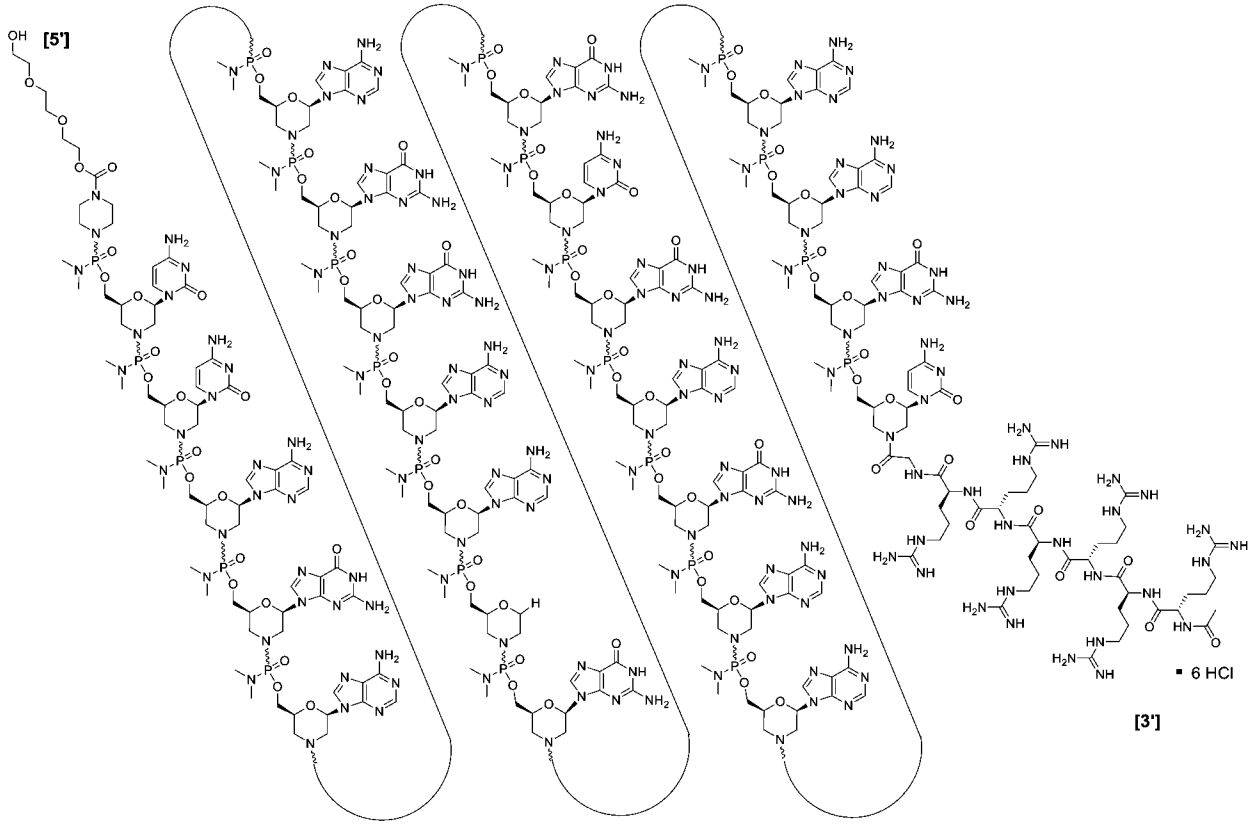
其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

【0234】　在一實施例中，B 為 H。

【0235】　在式(Vb)的一些態樣中，X 的一個例子為無鹼基，而 X 的其它例子係各為 G。在某些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，且一個例子為 G。在式(Vb)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一個 X 例子為無鹼基，而 X 的其它兩個例子為 G。在式(Vb)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第三個例子為 G。在式(Vb)的某些態樣中，從 5'至 3'的第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第二個例子為 G。

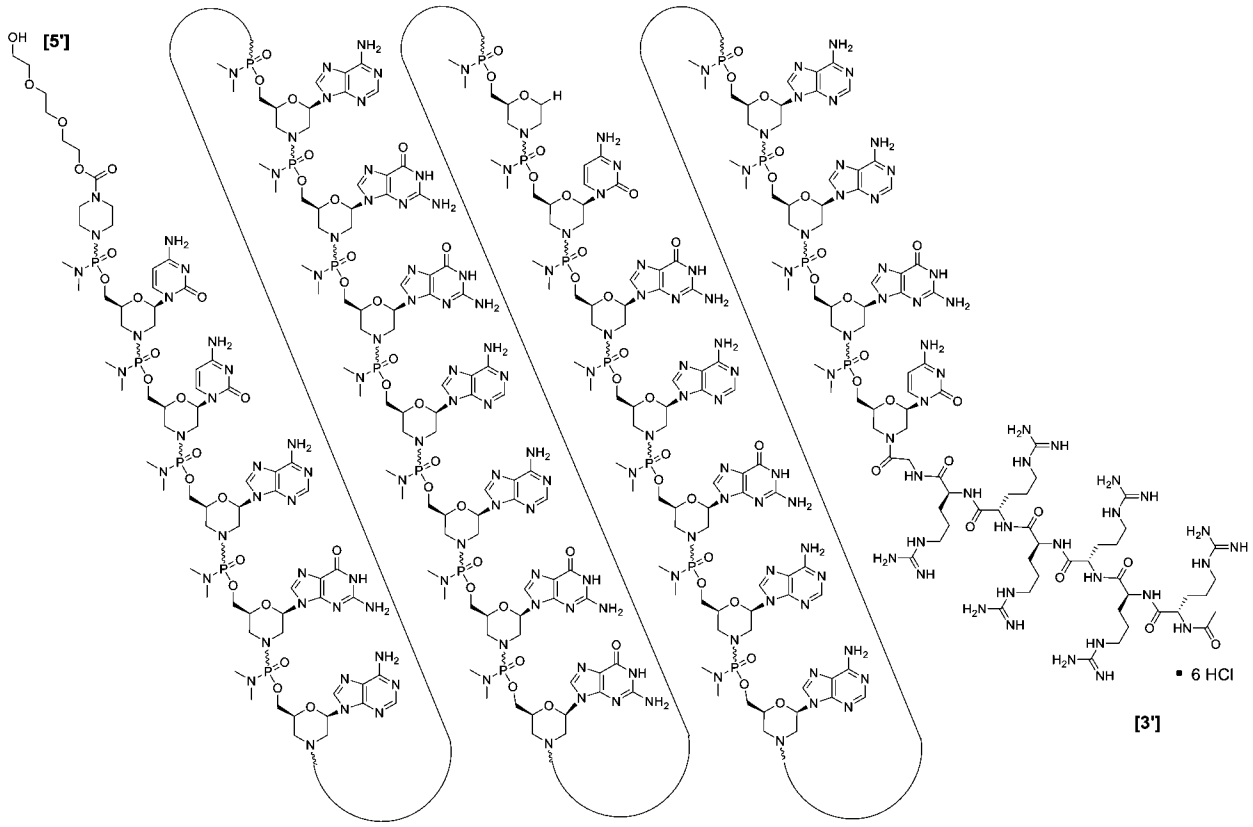
【0236】　在式(Vb)的一些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，而 X 的其它例子為 G。在式(Vb)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第三個例子為 G。在式(Vb)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第二個例子為 G。在式(Vb)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一個例子為 G。

【0237】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(VII)：



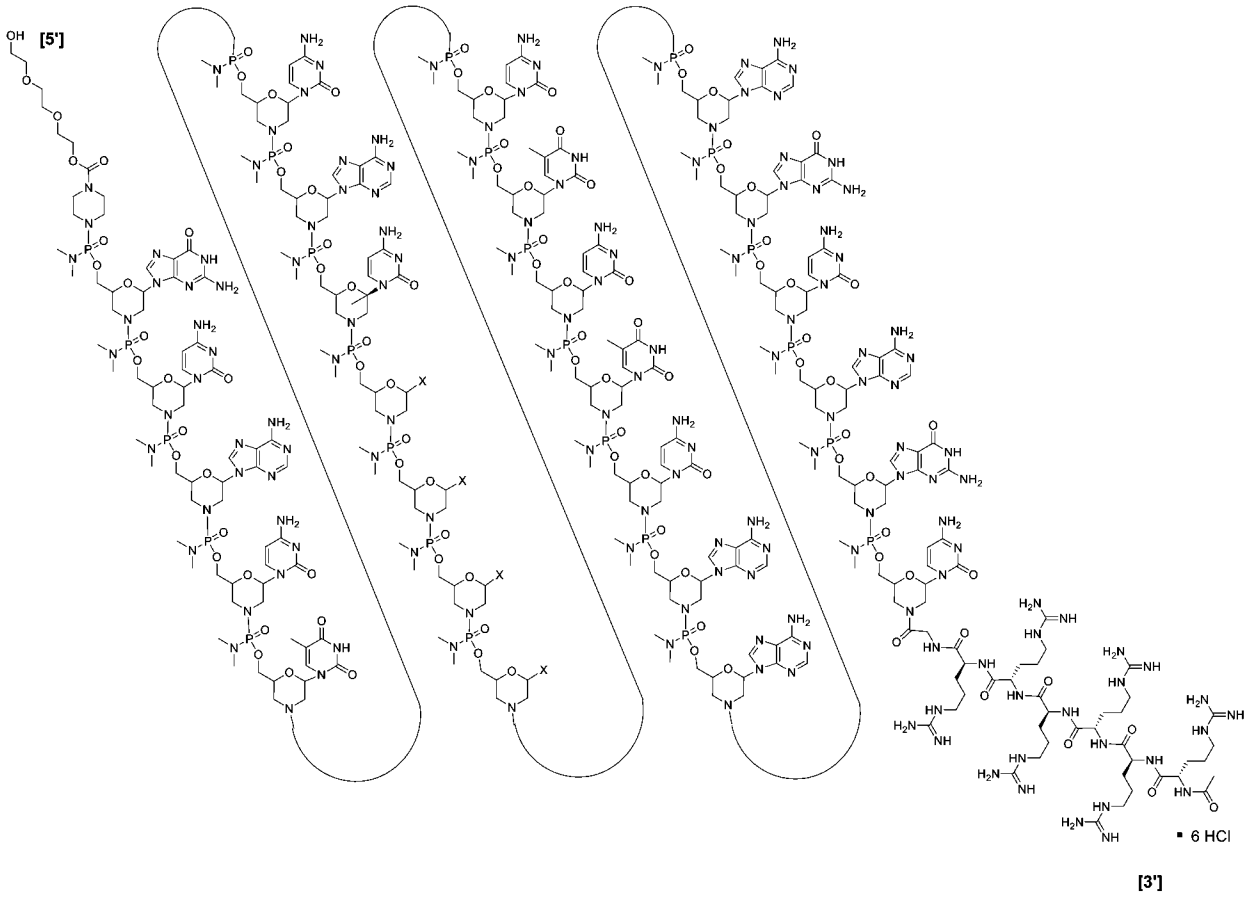
(VII)。

【0238】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(VIII)：



(VIII)。

【0239】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(Vc)：



其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

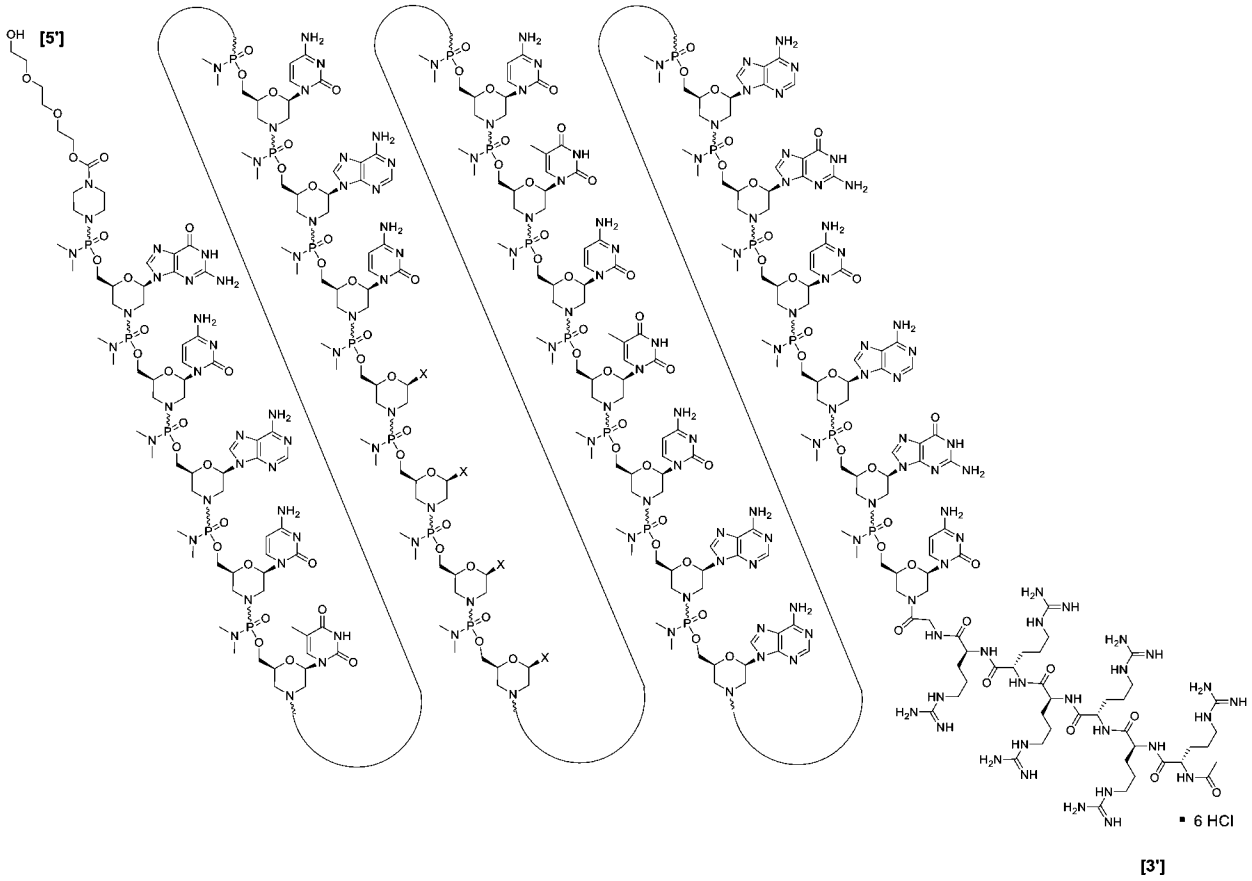
【0240】　在一實施例中，B 為 H。

【0241】　在式(Vc)的一些態樣中，X 的一個例子為無鹼基，而 X 的其它例子係各為 G。在式(Vc)的某些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，且一個例子為 G。在式(Vc)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一個 X 例子為無鹼基，而 X 的其它兩個例子為 G。在式(Vc)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第三個例子為 G。在式(Vc)的某些態樣中，從 5'至 3'的第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第二個例子為 G。

【0242】　在式(Vc)的一些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，而 X 的其它例子為 G。在式(Vc)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第三個例子為 G。在式(Vc)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第三

個 X 例子為無鹼基，而 X 的第二個例子為 G。在式(Vc)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一個例子為 G。

【0243】　在一些實施例中，包括(例如)式(V)之一些實施例，該反義寡聚物係如(Vd)：



其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

【0244】　在一實施例中，B 為 H。

【0245】　在式(Vd)的一些態樣中，X 的一個例子為無鹼基，而 X 的其它例子係各為 G。在式(Vd)的某些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，且一個例子為 G。在式(Vd)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一個 X 例子為無鹼基，而 X 的其它兩個例子為 G。在式(Vd)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第三個例子為 G。在式(Vd)的某些態樣中，從 5'至 3'的第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一及第二個例子為 G。

【0246】　在式(Vd)的一些態樣中，X 的兩個例子為無鹼基，而 X 的其它例子為 G。在式(Vd)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第二個 X 例子為無鹼基，而 X 的第三個例子為 G。在式(Vd)的一些態樣中，從 5'至 3'的第一及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第二個例子為 G。在式(Vd)的一些態樣中，從 5'至 3'的第二及第三個 X 例子為無鹼基，而 X 的第一個例子為 G。

IV. 目標序列及目標區域

【0247】　在反義應用之一些實施例中，寡聚物可與核酸目標序列 100%互補（不包括至少一個無鹼基亞單位），或其可包括錯配以例如容納變異體，只要寡聚物與核酸目標序列之間形成的異源雙螺旋足夠穩定而經受住細胞核酸酶作用及可在活體內發生之其他降解模式即可。錯配若存在，則其對雜合雙螺旋之末端區域比對中間區域之失穩作用小。根據充分瞭解之雙螺旋穩定性原理，所允許之錯配數目將取決於寡聚物之長度、雙螺旋中 G：C 鹼基對之百分比、和該(等)錯配在該雙螺旋中的位置。儘管此種反義寡聚物未必與核酸目標序列 100%互補，但其有效穩定且特異性地結合於目標序列，從而調節核酸標靶之生物活性，例如經編碼蛋白質之表現。

【0248】　寡聚物與目標序列之間形成的雙螺旋之穩定性隨著結合 T_m 及雙螺旋對細胞酶促裂解之易感性而變。反義化合物相對於互補序列 RNA 之 T_m 可由習知方法來量測，諸如由 Hames 等人，Nucleic Acid Hybridization, IRL Press, 1985, 第 107-108 頁所述或如在 Miyada CG.及 Wallace RB (1987) Oligonucleotide hybridization techniques, *Methods Enzymol.* 第 154 卷第 94-107 頁中所述之方法。

【0249】　在一些實施例中，各反義寡聚物相對於互補序列 RNA 之結合 T_m 係高於體溫，或在其他實施例中高於 50°C。在其他實施例中，T_m 在 60-80°C 之範圍內或更高。根據眾所周知的原理，寡聚物化合物之 T_m (相對於鹼基互補的 RNA 雜合體)係可藉由增加雙鏈中 C: G 配對鹼基之比率、及/或藉由增

加異源雙螺旋之長度(在鹼基對中)來增加。同時，出於優化細胞攝取之目的，宜限制寡聚物之大小。為此原因，在長度為 20 個鹼基或少於 20 個鹼基下能顯示出高 T_m (50°C 或更高)之化合物係通常優於對於高 T_m 而言需要超過 20 個鹼基之化合物。對於一些應用而言，較長寡聚物(例如長超過 20 個鹼基)可具有某些優勢。

【0250】　靶向序列鹼基可為常規 DNA 鹼基或其類似物，例如能夠與目標序列 RNA 鹼基進行華森-克里克鹼基配對之尿嘧啶及肌苷。

【0251】　可將反義寡聚物設計成會封阻或抑制或調節 mRNA 之轉譯或會抑制或調節前驅 mRNA 剪接加工、或誘發所靶向的 mRNA 之降解，且其可被稱為「針對」或「靶向」其與之雜合的目標序列。在某些實施例中，該目標序列包括包括經預加工的 mRNA 之 3'或 5'剪接位置、分支點、或其他涉及剪接之調節的序列的區域。該目標序列可位於外顯子內或位於內含子內或跨越內含子/外顯子連接點。

【0252】　對目標 RNA 序列具有足夠的序列互補性以調節該目標 RNA 之剪接的反義寡聚物意謂該反義劑具有足以觸發對於會以其他方式調節剪接的天然蛋白質之結合位置之遮蔽及/或改變所靶向的 RNA 之三維結構的序列。同樣地，具有與目標 RNA 序列足夠互補以調節該目標 RNA 之剪接的序列的寡聚物試劑意謂該寡聚物試劑具有足以觸發對於會以其他方式調節剪接的天然蛋白質之結合位置之遮蔽及/或改變所靶向的 RNA 之三維結構的序列。

【0253】　在某些實施例中，該反義寡聚物對人類 GAA 前驅 mRNA 之內含子 1 中的序列具有足夠的長度及互補性。人類 *GAA* 基因之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)序列係顯示於下**表 2** 中（(靠近 SEQ ID NO: 1 之 3'端的加粗 T/G 係為上述的 IVS1-13T>G 突變；位於此位置的核苷酸為 T 或 G)。

表 2

用於靶向 GAA 之寡聚物的目標區域

名稱	序列(5'-3')	SEQ ID NO
GAA-IVS1	GTGAGACACCTGACGTCTGCCCCGCGCTGCCGGCGGTAACAT CCCAGAAGCGGGTTTGAACGTGCCTAGCCGTGCCCCCAGCCT CTTCCCCTGAGCGGAGCTTGAGCCCCAGACCTCTAGTCCTCCC GGTCTTTATCTGAGTTCAGCTTAGAGATGAACGGGGAGCCGC CCTCCTGTGCTGGGCTTGGGGCTGGAGGCTGCATCTTCCCGTT TCTAGGGTTTCCTTTCCCCTTTTGATCGACGCAGTGCTCAGTC CTGGCCGGGACCCGAGCCACCTCTCCTGCTCCTGCAGGACGC ACATGGCTGGGTCTGAATCCCTGGGGTGAGGAGCACCGTGGC CTGAGAGGGGGCCCCTGGGCCAGCTCTGAAATCTGAATGTCT CAATCACAAAGACCCCCTTAGGCCAGGCCAGGGGTGACTGTC TCTGGTCTTTGTCCCTGGTTGCTGGCACATAGCACCCGAAACC CTTGGAAACCGAGTGATGAGAGAGCCTTTTGCTCATGAGGTG ACTGATGACCGGGGACACCAGGTGGCTTCAGGATGGAAGCAG ATGGCCAGAAAGACCAAGGCCTGATGACGGGTTGGGATGGA AAAGGGGTGAGGGGCTGGAGATTGAGTGAATCACCAGTGGCT TAGTCAACCATGCCTGCACAATGGAACCCCGTAAGAAACCAC AGGGATCAGAGGGCTTCCCGCCGGGTTGTGGAACACACCAAG GCACTGGAGGGTGGTGCGAGCAGAGAGCACAGCATCACTGCC CCCACCTCACACCAGGCCCTACGCATCTCTTCCATACGGCTGT CTGAGTTTTATCCTTTGTAATAAACCAGCAACTGTAAGAAACG CACTTTCCTGAGTTCTGTGACCCTGAAGAGGGAGTCCTGGGA ACCTCTGAATTTATAACTAGTTGATCGAAAGTACAAGTGACA ACCTGGGATTTGCCATTGGCCTCTGAAGTGAAGGCAGTGTTGT GGGACTGAGCCCTTAACCTGTGGAGTCTGTGCTGACTCCAGG TAGTGTCAAGATTGAATTGAATTGTAGGACACCCAGCCGTGT CCAGAAAGTTGCAGAATTGATGGGTGTGAGAAAAACCCTACA CATTTAATGTCAGAAGTGTGGGTAAAATGTTTCACCCTCCAGC CCAGAGAGCCCTAATTTACCAGTGGCCCACGGTGGAACACCA CGTCCGGCCGGGGGCAGAGCGTTCCCAGCCAAGCCTTCTGTA	1

	ACATGACATGACAGGTCAGACTCCCTCGGGCCCTGAGTTCAC TTCTTCCTGGTATGTGACCAGCTCCCAGTACCAGAGAAGGTTG CACAGTCCTCTGCTCCAAGGAGCTTCACTGGCCAGGGGCTGC TTTCTGAAATCCTTGCCTGCCTCTGCTCCAAGGCCCGTTCCTC AGAGACGCAGACCCCTCTGATGGCTGACTTTGGTTTGAGGAC CTCTCTGCATCCCTCCCCCATGGCCTTGCTCCTAGGACACCTT CTTCCTCCTTTCCCTGGGGTCAGACTTGCCTAGGTGCGGTGGC TCTCCCAGCCTTCCCCACGCCCTCCCCATGGTGTATTACACAC ACCAAAGGGACTCCCCTATTGAAATCCATGCATATTGAATCG CATGTGGGTTCCGGCTGCTCCTGGGAGGAGCCAGGCTAATAG AATGTTTGCCATAAAATATTAATGTACAGAGAAGCGAAACAA AGGTCGTTGGTACTTGTTAACCTTACCAGCAGAATAATGAAA GCGAACCCCCATATCTCATCTGCACGCGACATCCTTGTTGTGT CTGTACCCGAGGCTCCAGGTGCAGCCACTGTTACAGAGACTG TGTTTCTTCCCCATGTACCTCGGGGGCCGGGAGGGGTTCTGAT CTGCAAAGTCGCCAGAGGTTAAGTCCTTTCTCTCTTGTGGCTT TGCCACCCCTGGAGTGTCACCCTCAGCTGCGGTGCCCAGGATT CCCCACTGTGGTATGTCCGTGCACCAGTCAATAGGAAAGGGA GCAAGGAAAGGTACTGGGTCCCCCTAAGGACATACGAGTTGC CAGAATCACTTCCGCTGACACCCAGTGGACCAAGCCGCACCT TTATGCAGAAGTGGGGCTCCCAGCCAGGCGTGGTCACTCCTG AAATCCCAGCACTTCGGAAGGCCAAGGGGGGTGGATCACTTG AGCTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGGTAACATGGCAAAATC CCGTCTCTACAAAAATACAGAAAATTAGCTGGGTGCGGTGGT GTGTGCCTACAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAAGTGGGAG GATTGCTTGAGTCTGGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCAGGA TCTCACCACAGCACTCTGGCCCAGGCGACAGCTGTTTGGCCTG TTTCAAGTGTCTACCTGCCTTGCTGGTCTTCCTGGGGACATTC TAAGCGTGTTTGATTTGTAACATTTTAGCAGACTGTGCAAGTG CTCTGCACTCCCCTGCTGGAGCTTTTCTCGCCCTTCCTTCTGGC CCTCTCCCCAGTCTAGACAGCAGGGCAACACCCACCCTGGCC ACCTTACCCCACCTGCCTGGGTGCTGCAGTGCCAGCCGCGGTT GATGTCTCAGAGCTGCTTTGAGAGCCCCGTGAGTGCCGCCCCT CCCGCCTCCCTGCTGAGCCCGCTT**T/G**CTTCTCCCGCAG	

GAA-IVS1 (-189-167)	GCTTTTCTCGCCCTTCCTTCTGG	2
GAA-IVS1 (-80-24)	GATGTCTCAGAGCTGCTTTGAGAGCCCCGTGAGTGCCGCCCCTCCCGCCTCCCTGC	3

【0254】　在某些實施例中，該目標序列與反義靶向序列間的互補之程度足以形成穩定的雙鏈。該反義寡聚物與該目標 RNA 序列互補之區域（不包括該等無鹼基單元）可短至 8-11 個鹼基，但可為 12-15 個鹼基或更長，例如 10-40 個鹼基、12-30 個鹼基、12-25 個鹼基、15-25 個鹼基、12-20 個鹼基、或 15-20 個鹼基，包括此等範圍間的所有整數。約 14-15 個鹼基之反義寡聚物一般係夠長以具有獨特的互補序列。在某些實施例中，可能需要最小長度的互補鹼基以達成必要的結合 Tm，如於本文中討論的。

【0255】　在某些實施例中，長至 40 個鹼基的寡聚物可以是適合的，其中至少最小數目的鹼基(例如 10-12 個鹼基)係與目標序列互補。於一些實施方式中，寡聚物長度少於約 30 個鹼基對於細胞中的促進性或活性攝取是最佳的。對於 PMO 寡聚物(其於本文中進一步描述)，結合穩定性與攝取之最佳平衡一般係於 18-25 個鹼基的長度發生。包括在本揭示中者為由約 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或 40 個鹼基組成的反義寡聚物(例如 PMO、PMO-X、PNA、LNA、2'-OMe)，其中至少約 6、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或 40 個相連或非相連的鹼基係與所期望的目標序列互補。

【0256】　在某些實施例中，反義寡聚物可與該目標序列 100%互補（不包括至少一無鹼基單元），或可包括錯配(例如)以容納變體，只要該寡聚物與目標序列間形成的異源雙螺旋足夠穩定以對抗細胞核酸酶之作用和其他可在活

體內發生的降解之形式。因此，某些寡聚物在該寡聚物（不包括至少一無鹼基核苷酸）與該目標序列間可具有實質上的互補性，意謂約或至少約 70%序列互補性，例如 70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列互補性。本文中討論較不易受透過核酸酶之剪接影響的寡聚物主鏈。若存在，錯配於雜合雙螺旋之末端區域相較於中央通常不那麼不穩定。根據充分瞭解之雙螺旋穩定性原理，所允許之錯配數目將取決於寡聚物之長度、雙螺旋中 G：C 鹼基對之百分比、和該(等)錯配在該雙螺旋中的位置。雖然如此反義寡聚物不必定與目標序列 100%互補，其有效於與該目標序列穩定且專一性地結合，使得該目標前驅 RNA 之剪接被調節。寡聚物和目標序列間形成的雙鏈之穩定性係為結合 Tm 和雙鏈對細胞酶剪接之易受影響性之函數。寡聚物相對於互補序列 RNA 的 Tm 可藉由習用方法測量，諸如由 Hames 等人，Nucleic Acid Hybridization, IRL Press, 1985, 第 107-108 頁所描述的方法或如 Miyada C. G.及 Wallace R. B., 1987, Oligomer Hybridization Techniques, Methods Enzymol. 第 154 卷第 94-107 頁中所描述的方法。在某些實施例中，反義寡聚物可具有大於體溫且較佳大於約 45℃或 50℃的結合 Tm (相對於互補序列 RNA)。亦包括了範圍在 60-80℃或更高的 Tm。根據眾所周知的原理，寡聚物之 Tm (相對於鹼基互補的 RNA 雜合體)係可藉由增加雙鏈中 C: G 配對鹼基之比率、及/或藉由增加異源雙螺旋之長度(在鹼基對中)來增加。同時，出於優化細胞攝取之目的，宜限制寡聚物之大小。為了此理由，於長度 25 個鹼基或更短且顯示出高 Tm (45-50℃或更高)的化合物相較於該等對於高 Tm 值需要超過 25 個鹼基者通常是較佳的。

【0257】　在某些實施例中，將反義靶向序列設計成雜合至表 2 中所列的目標序列之一或多者之區域。可使所選反義靶向序列較短(例如約 12 個鹼基)或較長(例如約 40 個鹼基)且包括少數的錯配，只要該序列在與該目標序列雜合

後互補性足以引起剪接調節，且視情況與該 RNA 形成具有 45℃或更高 Tm 的異源雙螺旋。

V. 細胞穿透肽(CPP)

【0258】　本文所討論之富含精胺酸的細胞穿透肽(CPP)（例如在取代基 J 之範圍內者）可有效增進反義寡聚物穿透入細胞內，且於動物模型中在不同肌肉群中導致了外顯子跳越(skipping)。

【0259】　例示性富含精胺酸的肽係提供於下**表 3** 中。

表 3：富含精胺酸的肽輸送體(J)

名稱（代號）	序列
rTAT	RRRQRRKKR-L
Tat	RKKRRQRRR-L
R_9F_2	RRRRRRRRRFF-L
$R_5F_2R_4$	RRRRRFFRRRR-L
R_4	RRRR-L
R_5	RRRRR-L
R_6	RRRRRR-L
R_7	RRRRRRR-L
R_8	RRRRRRRR-L
R_9	RRRRRRRRR-L
$(RXR)_4$	RXRRXRRXRRXR-L
$(RXR)_5$	RXRRXRRXRRXRRXR-L
(RXRRβR)2	RXRRβRRXRRβR-L
$(RAR)_4F_2$	RARRARRARRARFFC-L
$(RGR)_4F_2$	RGRRGRRGRRGRFFC-L

[a]指定為 SEQ ID NO 之序列不包括鍵聯部分 L。α 及 β 分別係指 6-胺基己酸及 β-丙胺酸。

【0260】　在另一態樣中，在取代基 J 之範圍內的例示性細胞穿透肽係提供於表 4 中。連接至取代基 L 的位點係顯示於下表中。

表 4

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
$(RFF)_3$; CP0407	RFFRFFRFF-L
RTR	RTRTRFLRRT-L
RFFR	RFFRFFRFFR-L
KTR	KTRTKFLKKT-L
KFF	KFFKFFKFF-L
KFFK	KFFKFFKFFK-L
$(RFF)_2$	RFFRFF-L
$(RFF)_2R$	RFFRFFR-L
Rα	RααRααR-L
(RαR)4; P007	RαRRαRRαRRαR-L
Tat_{47_58}	YGRKKRRQRRR-L
Tat_{48_58}	GRKKRRQRRR-L
Tat_{49_58}	RKKRRQRRR-L
Penetratin	RQIKIWFQNRRMKWKKGG-L
Transportan	GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL-L
2αHph-1	YARVRRRGPRGYARVRRRGPRR-L
Hph-1	YARVRRRGPRR-L
Sim-2	AK AARQAAR-L
HSV1 VP22	DAATATRGRSAASRPTERPRAPARSASRPRRPVE-L
Pep-1	KETWWETWWTEWSQPKKKRKV-L
Pep-2	KETWFETWFTEWSQPKKKRKV-L
ANTP	RQIKIWFQNRRMKWKK-L
R_6Pen	RRRRRR-RQIKIWFQNRRMKWKKGG-L

例示性載體肽序列

名稱	序列(胺基至羧基端)
rTat	RRRQRRKKRC-L
pTat	CYGRKKRRQRRR-L
R_9F_2	RRRRRRRRRFFC-L
R_9CF_2	RRRRRRRRRCFF-L
R_8CF_2R	RRRRRRRRCFFR-L
$R_6CF_2R_3$	RRRRRRCFFRRR-L
R_5FCFR_4	RRRRRFCFRRRR-L
$R_5F_2R_4$	RRRRRFFRRRR-L
$R_4CF_2R_5$	RRRRCFFRRRRR-L
$R_2CF_2R_7$	RRCFFRRRRRRR-L
CF_2R_9	CFFRRRRRRRRR-L
CR_9F_2	CRRRRRRRRRFF-L
F_2R_9	FFRRRRRRRRR-L
$R_5F_2CF_2R_4$	RRRRRFFCFFRRRR-L
R_9I_2	RRRRRRRRRII-L
R_8F_3	RRRRRRRRFFF-L
R_9F_4	RRRRRRRRRFFFF-L
R_8F_2	RRRRRRRRFF-L
R_6F_2	RRRRRRFF-L
R_5F_2	RRRRRFF-L
$(RR\alpha)_3RR$	RRαRRαRRαRR-L
$(R\alpha R)_4$	RαRRαRRαRRαR-L
$(\alpha RR)_4$	αRRαRRαRRαRR-L
$(R\alpha)_5RR$	RαRαRαRαRαR-L
$(R\alpha R)_3$	RαRRαRRαR-L
$(R\alpha R)_2R$	RαRRαRR-L
$(R\alpha R)_2$	RαRRαR-L

例示性載體肽序列

名稱	序列(胺基至羧基端)
$(RK\alpha)_3RK$	RKαRKαRKαRK-L
$(RH\alpha)_3RH$	RHαRHαRHαRH-L
R_8CF_2R	RRRRRRRRCFFR-L
$(RR\alpha)_3RR$	RRαRRαRRαRR-L
$(R\alpha R)_4$; P007	RαRRαRRαRRαR-L
$(\alpha RR)_4$	αRRαRRαRRαRR-L
$(R\alpha)_5R$	RαRαRαRαRαR-L
$(R\alpha)_7R$	RαRαRαRαRαRαR-L
$(R\alpha R)_5$	RαRRαRRαRRαRRαR-L
$(R\alpha RR\beta R)_2$; B	RαRRβRRαRRβR-L
$(R\alpha R)_3R\beta R$	RαRRαRRαRRβR-L
$(R\beta)_5R\alpha R\beta R$	RβRβRβRβRβRαRβR-L
RβRβRβRαRβRβRβR	RβRβRβRαRβRβRβR-L
$\alpha(R\beta)_3R\alpha(R\beta)_3R$-α	αRβRβRβRαRβRβRβR-L
$(R\beta R\alpha)_4$	RβRαRβRαRβRαRβR-L
$(R\beta)_4(R\alpha)_3R$	RβRβRβRβRαRαRαR-L
$R\alpha(R\beta)_2R\alpha(R\beta)_3R$	RαRβRβRαRβRβRβR-L
$(R\beta)_7R$	RβRβRβRβRβRβRβR-L
R_4	tg-RRRR-L
R_5	tg-RRRRR-L
R_6	tg-RRRRRR-L
R_7	tg-RRRRRRR-L
R_8	tg-RRRRRRRR-L
R_5GR_4	tg-RRRRRGRRRR-L
$R_5F_2R_4$	tg-RRRRRFFRRRR-L
Tat	tg-RKKRRQRRR-L
rTat	tg-RRRQRRKKR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRRαR-L
	RβRRβR-L
	RαRRβR-L
	RβRRαR-L
	RαRY^bRαR-L
	RβRY^bRβR-L
	RαRY^bRβR-L
	RβRY^bRαR-L
	RαRILFQYRαR-L
	RβRILFQYRβR-L
	RαRILFQYRβR-L
	RβRILFQYRαR-L
	RαRRαRRαR-L
	RβRRβRRβR-L
	RαRRβRRαR-L
	RαRRβRRβR-L
	RαRRαRRβR-L
	RβRRαRRβR-L
	RβRRαRRαR-L
	RβRRβRRαR-L
	RαRY^bRαRRαR-L
	RαRRαRY^bRαR-L
	RαRILFQYRαRRαR-L
	RαRRαRILFQYRαR-L
	RαRY^bRαRY^bRαR-L
	RαRILFQYRαRILFQYRαR-L
	RαRILFQYRαRY^bRαR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRY^{b}RαRILFQYRαR-L
	RβRY^{b}RβRRβR-L
	RβRRβRY^{b}RβR-L
	RβRILFQYRβRRβR-L
	RβRRβRILFQYRβR-L
	RβRYRβRY^{b}RβR-L
	RβRILFQYRβRILFQYRβR-L
	RβRY^{b}RβRILFQYRβR-L
	RβRILFQYRβRY^{b}RβR-L
	RαRY^{b}RβRRαR-L
	RαRRβRY^{b}RαR-L
	RαRILFQYRβRRαR-L
	RαRRβRILFQYRαR-L
	RαRY^{b}RβRY^{b}RαR-L
	RαRILFQYRβRILFQYRαR-L
	RαRY^{b}RβRILFQYRαR-L
	RαRILFQYRβRY^{b}RαR-L
	RαRY^{b}RβRRβR-L
	RαRRβRY^{b}RβR-L
	RαRILFQYRβRRβR-L
	RαRRβRILFQYRβR-L
	RαRY^{b}RβRY^{b}RβR-L
	RαRILFQYRβRILFQYRβR-L
	RαRY^{b}RβRILFQYRβR-L
	RαRILFQYRβRY^{b}RβR-L
	RαRY^{b}RαRRβR-L
	RαRRαRY^{b}RβR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRILFQYRαRRβR-L
	RαRRαRILFQYRβR-L
	RαRY^{b}RαRY^{b}RβR-L
	RαRILFQYRαRILFQYRβR-L
	RαRY^{b}RαRILFQYRβR-L
	RαRILFQYRαRY^{b}RβR-L
	RβRY^{b}RαRRβR-L
	RβRRαRY^{b}RβR-L
	RβRILFQYRαRRβR-L
	RβRRαRILFQYRβR-L
	RβRY^{b}RαRY^{b}RβR-L
	RβRILFQYRαRILFQYRβR-L
	RβRY^{b}RαRILFQYRβR-L
	RβRILFQYRαRY^{b}RβR-L
	RβRY^{b}RαRRαR-L
	RβRRαRY^{b}RαR-L
	RβRILFQYRαRRαR-L
	RβRRαRILFQYRαR-L
	RβRY^{b}RαRY^{b}RαR-L
	RβRILFQYRαRILFQYRαR-L
	RβRY^{b}RαRILFQYRαR-L
	RβRILFQYRαRY^{b}RαR-L
	RβRY^{b}RβRRαR-L
	RβRRβRY^{b}RαR-L
	RβRILFQYRβRRαR-L
	RβRRβRILFQYRαR-L
	RβRY^{b}RβRY^{b}RαR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RβRILFQYRβRILFQYRαR-L
	RβRY^{b}RβRILFQYRαR-L
	RβRILFQYRβRY^{b}RαR-L
	RαRRαRRαRRαR-L
	RαRRβRRαRILFQYRαRβRαR-L
	RαRRβRRαRRβR-L
	YGRKKRRQRRRP-L
	RαRRαRRαRRαRαβASSLNIAαC-L
	RαRRβRRαRILFQYRαRβRαRβASSLNIAαC-L
	RαRRβRRαRASSLNIARαRβRαRβC-L
	RαRRβRRαRRβRαβASSLNIA-L
	THRPPMWSPVWP-L
	HRPPMWSPVWP-L
	THRPPMWSPV-L
	THRPPMWSP-L
	THRPPMWSPVFP-L
	THRPPMWSPVYP-L
	THRPPMWSPAWP-L
	THRPPMWSPLWP-L
	THRPPMWSPIWP-L
	THRPPMWTPVVWP-L
	THRPPMFSPVWP-L
	THRPPMWS-L
	HRPPMWSPVW-L
	THRPPMYSPVWP-L
	THRPPnleWSPVWP-L (nle = 正白胺酸)
	THKPPMWSPVWP-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	SHRPPMWSPVWP-L
	STFTHPR-L
	YDIDNRR-L
	AYKPVGR-L
	HAIYPRH-L
	HTPNSTH-L
	ASSPVHR-L
	SSLPLRK-L
	KKRS-L
	KRSK-L
	KKRSK-L
	KSRK-L
	SRKR-L
	RKRK-L
	KSRKR-L
	QHPPWRV-L
	THPPTTH-L
	YKHTPTT-L
	QGMHRGT-L
	SRKRK-L
	KSRKRK-L
	PKKKRKV-L
	GKKRSKV-L
	KSRKRKL-L
	HSPSKIP-L
	HMATFHY-L
	AQPNKFK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	NLTRLHT-L
	KKKR-L
	KKRK-L
	KKKRK-L
	RRRRRRQIKIWFQNRRMKWKKGGC-L
	RRRRRRRQIKIWFQNRRMKWKKGGC-L
	RQIKIWFQNRRMKWKKGGC-L
	RRRRRRRQIKIWFQNRRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRRQIKIWFQNRRMKWKKGGC-L
	RRRRRRRQIKILFQNRαRαRαRαC-L
	RαRRαRRαRRαRC-L
	RαRRαRRαRRαRαC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWKKGGC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNHRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKAC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHRC-L
	RαRαRαRαRIKILFQNRRMKWKKC-L
	RARARARARIKILFQNRRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIRILFQNαRMKWHKAC-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRLYSPLSFQαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRISILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRIHILFQYαRMKWHKAC-L
	RARRαRRARIHILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIHILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIαILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIHILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIRILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIRILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRKILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRKILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRαILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRαILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRHILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRHILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRRILFQNRRMKWHK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRRαRRαRRILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRILFQNRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRILFQNαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIKILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIKILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIαILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIHILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIHILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIRILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRIILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRKILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRKILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRαILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRαILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRHILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRHILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRRILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαRILFQYRRMKWHK-L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRRαR-L
	RαRRαRRαRRαR-L
	RARRAR-L
	RARRARRAR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RARRARRARRAR-L
	RαRRαRI-L
	RαRRARRαR-L
	RARRαRRAR-L
	RRRRR-L
	RRRRRR-L
	RRRRRRR-L
	RαRRαRRαRRαRC-L
	RαRRαRRαRRαRαC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWKKGGC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNHRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWKAC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHRC-L
	RαRαRαRαRIKILFQNRRMKWKKC-L
	RARARARARIKILFQNRRMKWKKC-L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIRILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRLYSPLSFQαRMKWHKAC-L
	RRMKWHK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	αRMKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααRMKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααRMKWHK-L
	RRRRRRRQIKILFQNPKKKRKVGGC-L
	HHFFRRRRRRRRRFFC-L
	HHHHHHRRRRRRRRRFFC-L
	HHHHHHFFRRRRRRRRRFFC-L
	HHHHHααRRRRRRRRRFFC-L
	HHHHHHααFFRRRRRRRRRFFC-L
	HHHαRRRRRRRRRFFαHHHC-L
	αRMKWHK-L
	αRWKWHK-L
	RαRARαR-L
	RαRαRαR-L
	RARαRAR-L
	RαRAR-L
	αααααααααααααααILFQααHMKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααRWKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααHWKWHK-L
	αααααααααααααααILFQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRαRαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRRαR-L
	αααααααααααααααILFQαRARαRAR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRAR-L
	αααααααααααααααILIQααRMKWHK-L
	αααααααααααααααILIQααHMKWHK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	αααααααααααααααILIQααRWKWHK-L
	αααααααααααααααILIQααHWKWHK-L
	αααααααααααααααILIQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRαRαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRRαR-L
	αααααααααααααααILIQαRARαRAR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRAR-L
	αααααααααααααααILFQααHMKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααRWKWHK-L
	αααααααααααααααILFQααHWKWHK-L
	αααααααααααααααILFQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRαRαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRRαR-L
	αααααααααααααααILFQαRARαRAR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILFQαRαRAR-L
	αααααααααααααααILIQααRMKWHK-L
	αααααααααααααααILIQααHMKWHK-L
	αααααααααααααααILIQααRWKWHK-L
	αααααααααααααααILIQααHWKWHK-L
	αααααααααααααααILIQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRαRαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRRαR-L
	αααααααααααααααILIQαRARαRAR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRARαR-L
	αααααααααααααααILIQαRαRAR-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRRARRαRRARαA-L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHKAC-L
	RαRRαRRαRRαRC-L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRLYSPLSFQαRMKWHKAC-L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC-L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYαHWKWHKAC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαRAC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαRAC-L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRILFQYRαRRαRC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαRAC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαRAC-L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHKAC-L
	RαRRαRILFQYRαRRαRCYS-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RARRαRRARILFQYRARαRARAC-L
	RARRαRRARILFQYRαRARαRAC-L
	RARRαRRARILFQYRαRRαRAC-L
	RARRαRRARILFQYRαRARαAC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRRαRAC-L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαAC-L
	RαRRARRαRIHILFQNαRMKWHKAC-L
	RαRRARRαRRARαAC-L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHK-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHK-L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαR-L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαR-L
	RαRRARRαRILFQYRαRRαR-L
	RαRRARRαRILFQYRARαRAR-L
	RαRRARRαRILFQYRαRAR-L
	RαRRARRαRILIQYαHMKWHK-L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHK-L
	RαRRARRαRILIQYαRWKWHK-L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHK-L
	RαRRARRαRILIQYRαRARαR-L
	RαRRARRαRILIQYRαRαRαR-L
	RαRRARRαRILIQYRαRRαR-L
	RαRRARRαRILIQYRARαRAR-L
	RαRRARRαRILIQYRαRAR-L
	RARRαRRARILFQYαHMKWHK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RARRαRRARILFQYαRMKWHK-L
	RARRαRRARILFQYαRWKWHK-L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHK-L
	RARRαRRARILFQYRαRARαR-L
	RARRαRRARILFQYRαRαRαR-L
	RARRαRRARILFQYRαRRαR-L
	RARRαRRARILFQYRARαRAR-L
	RARRαRRARILFQYRαRAR-L
	RARRαRRARILIQYαHMKWHK-L
	RARRαRRARILIQYαRMKWHK-L
	RARRαRRARILIQYαRWKWHK-L
	RARRαRRARILIQYαRMKWHK-L
	RARRαRRARILIQYRαRARαR-L
	RARRαRRARILIQYRαRαRαR-L
	RARRαRRARILIQYRαRRαR-L
	RARRαRRARILIQYRARαRAR-L
	RARRαRRARILIQYRαRAR-L
	RαRRαRILFQYαHMKWHK-L
	RαRRαRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRILFQYαRWKWHK-L
	RαRRαRILFQYαRMKWHK-L
	RαRRαRILFQYRαRARαR-L
	RαRRαRILFQYRαRαRαR-L
	RαRRαRILFQYRαRRαR-L
	RαRRαRILFQYRARαRAR-L
	RαRRαRILFQYRαRAR-L
	RαRRαRILIQYαHMKWHK-L

例示性載體肽序列	
名稱	序列(胺基至羧基端)
	RαRRαRILIQYαRMKWHK-L
	RαRRαRILIQYαRWKWHK-L
	RαRRαRILIQYαRMKWHK-L
	RαRRαRILIQYRαRARαR-L
	RαRRαRILIQYRαRαRαR-L
	RαRRαRILIQYRαRRαR-L
	RαRRαRILIQYRARαRAR-L
	RαRRαRILIQYRαRAR-L
	PRPαααααααααααPRG-L
	RRRRRRRR-L
	RRMKWKK-L
	PKKKRKV-L
	CKDEPQRRSARLSAKPAPPKPEPKPKKAPAKK-L
	RKKRRQRRR-L
	RKKRRQRR-L
	RKKRRQR-L
	KKRRQRRR-L
	KKRRQRRR-L
	AKKRRQRRR-L
	RAKRRQRRR-L
	RKARRQRRR-L
	RKKARQRRR-L

L = 如式(I)中所記載且如整個說明書中所述；β = 3-丙胺酸；α = 6-胺基己酸；tg = 未修飾的胺基末端，或是經乙醯基、苯甲醯基或硬脂醯基基團（即乙醯胺、苯甲醯胺或硬脂醯胺）封端的胺基末端，而 Y 為 NH-(CHR)-C(O)-，其中 n 為 2 至 7 且各個 R 在每次出現時係獨立地為氫或甲基。為簡單起見，並非所有序列

皆用末端 td 群結尾；然而，上述序列中之每一者可包含未經修飾的胺基末端或經乙醯基、苯甲醯基或硬脂醯基基團封端的胺基末端。

VI. 醫藥組成物

【0261】　本發明亦提供所揭示寡聚物之調配與遞送。因此，本文揭示內容的一態樣為一種包含有如本文所揭示之反義寡聚物及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組成物。

【0262】　反義寡聚物有效傳遞至目標核酸為治療的一個重要態樣。反義寡聚物之遞送途徑包括但不限於各種全身性途徑，包括經口及非經腸途徑，例如靜脈內、皮下、腹膜腔內及肌內以及吸入、經皮及外用遞送。熟習此項技術者可根據所治療個體之情況來確定適宜途徑。例如，在治療皮膚病毒感染中反義寡聚物之適當傳遞途徑為外用遞送，而用於治療病毒呼吸道感染之反義寡聚物係可為靜脈內或藉由吸入遞送。反義寡聚物亦可直接遞送至病毒感染的任何特定位置。

【0263】　反義寡聚物可於生理學上及/或醫藥學上可接受之任何適宜媒劑中投與。此種組成物可包括熟習此項技術者所採用之多種醫藥學上可接受之標準載劑中之任一者。實例包括(但不限於)鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、水（例如無菌注射用水）、乙醇水溶液、乳液(諸如油/水乳液或三酸甘油酯乳液)、錠劑及膠囊。生理學上可接受之適合載劑的選擇將視所選投藥模式而變。

【0264】　本發明之化合物(例如反義寡聚物)通常可以游離酸或游離鹼之形式利用。或者，本發明之化合物可以酸加成鹽或鹼加成鹽之形式使用。本發明之游離胺基化合物之酸加成鹽可藉由本領域中熟知之方法製備，且可由有機酸及無機酸形成。適宜有機酸包括馬來酸、富馬酸、苯甲酸、抗壞血酸、琥珀酸、甲磺酸、乙酸、三氟乙酸、草酸、丙酸、酒石酸、水楊酸、檸檬酸、葡糖酸、乳酸、苦杏仁酸、肉桂酸、天門冬胺酸、硬脂酸、棕櫚酸、乙醇酸、麩胺酸及苯磺酸。適宜無機酸包括鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸及硝酸。鹼加成鹽包

括與羧酸根陰離子形成之鹽且包括與有機及無機陽離子形成之鹽，該等陽離子為諸如選自鹼金屬及鹼土金屬(例如鋰、鈉、鉀、鎂、鋇及鈣)以及銨離子及其經取代之衍生物(例如二苄基銨、苄基銨、2-羥基乙基銨及其類似物)之陽離子。因此，結構(I)之術語「醫藥學上可接受的鹽」係意欲涵蓋任何及所有可接受之鹽形式。

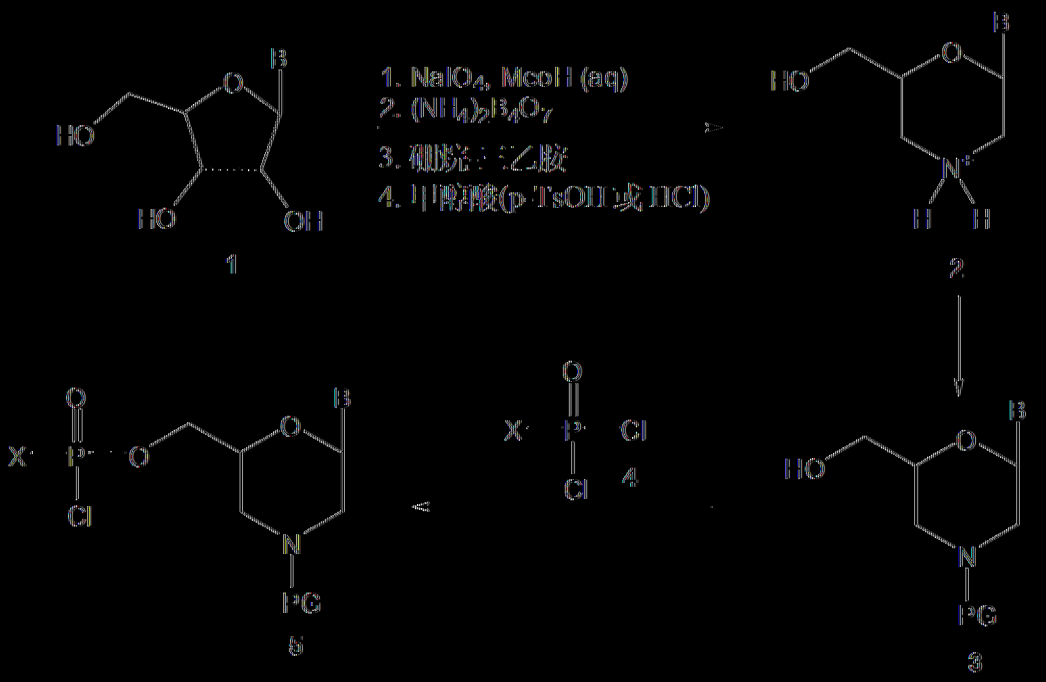
【0265】　另外，前藥亦包括於本發明之內容中。前藥為當將該前藥投與患者時在活體內釋放結構(I)之化合物的任何共價鍵結之載劑。通常藉由修飾官能基來製備前藥，其中藉由常規操作或在活體內裂解修飾基團以得到母體化合物。前藥包括例如其中的羥基、胺基或氫硫基與在投與患者時裂解形成羥基、胺基或氫硫基之任何基團鍵結的本發明化合物。因此，前藥之代表性實例包括(但不限於)結構(I)之化合物之醇及胺官能基的乙酸鹽、甲酸鹽及苯甲酸鹽衍生物。再者，在羧酸(-COOH)之情況下，可採用酯類，諸如甲酯、乙酯及其類似物。

VII. 製造方法

帶有鹼性氮核苷間連接子之寡聚物的製備

【0266】　嗎啉基亞單元、經修飾的亞單元間鍵聯、及包含其之寡聚物係可如(例如)美國專利第 5,185,444 號及第 7,943,762 號中所述來製備，其係以全文引用的方式併入。嗎啉基單元可根據以下通用反應流程 1 來製備。

反應流程 1. 嗎啉基胜肽單元之製備



[0267] 參照反應流程 1，其中 B 係表示鹼基部對部分而 PG 係表示保護基，可如所示從對應的核苷(1)製備嗎啉基胜肽單元。嗎啉基胜肽單元(2)可視情況藉由與適合之保護基前驅物(例如三苯氯甲烷)反應而受保護。一般在固態寡聚物合成期間移除 3'保護基，如下文所更詳細描述。鹼基部對部分可經適當保護以供固相寡聚物合成。適合之保護基包括苯甲醯基(對於腺嘌呤及胞嘧啶)、苯基乙醯基(對於鳥嘌呤)、及特戊醯氧基甲基(對於次黃嘌呤(I))。可將特戊醯氧基甲基引入次黃嘌呤雜環鹼基之 N1 位置上。儘管可採用未經保護之次黃嘌呤胜肽單元，但當鹼基經保護時，活化反應之產率高得多。其他適宜保護基包括美國專利第 8,076,476 號中所揭露者，其係以全文引用的方式併入。

[0268] 3 與經活化磷化合物 4 反應產生具有所要鍵聯部分 5 之嗎啉基胜肽單元。結構 4 之化合物可使用熟習此項技術者已知之許多方法來製備。例如，這類化合物可藉由使對應的胺與氧氯化磷反應來製備。就此而言，胺起始物質可使用本領域中已知之任何方法來製備，例如該等實例中及美國專利第 7,943,762 號中所述之方法。

[0269] 結構 5 之化合物可使用於固相自動化寡聚物合成之中以製備包含有該胜肽單元間鍵聯之寡聚物。這類方法在本領域中為熟知的。簡言之，結

構 **5** 之化合物可在 5'端經修飾以含有與固體撐體之連結子。例如，化合物 **5** 可由一連結子與固體撐體來連接。一旦得到支撐，即移除保護基(例如三苯甲基)且使游離胺與結構 **5** 之第二化合物之活化磷部分反應。重複此順序直至獲得所要長度之寡聚物為止。可移除末端 5'端之保護基，或若需要 5'-修飾則可保留。

【0270】　經修飾的嗎啉基亞單元及嗎啉基寡聚物的製備係更詳細地描述於實例中。含有任何數目之經修飾鍵聯的嗎啉基寡聚物係可使用本文所述之方法、本領域中已知及/或本文中之參考文獻所述之方法來製備。實例中亦描述如先前所述(見(例如) PCT 公開案 WO 2008/036127)而製備之嗎啉基寡聚物的整體修飾。

【0271】　含有如本文所述進一步鍵聯修飾之 PMO、PMO+、PPMO 及 PMO-X 的合成係使用本領域中已知的方法來完成，且描述於未決的美國專利第 8,299,206 及 8,076,476 號中以及 PCT 公開號 WO 2009/064471、WO 2011/150408 及 WO 2012/150960 中，其係以全文引用的方式併入本文中。

【0272】　帶有 3'三苯甲基的 PMO 基本上係如 PCT 公開號 WO 2009/064471 中所述來合成，除了省略掉去三苯甲基的步驟之外。

VIII. 治療方法

【0273】　本文提供一種使用本揭示內容之反義寡聚物增加含有外顯子 2 之 GAA mRNA 及/或蛋白質之表現以用於治療性目的(例如治療患有 GSD-II 之個體)的方法。該方法包括向有需要之個體投與治療有效量之本文所揭露反義寡聚物或其醫藥組成物。在一實施例中，該疾病為龐貝症。在一些實施例中，該反義寡聚物包含一具有足夠長度及互補性的核苷酸序列以與酸性 α-葡萄糖苷酶(*GAA*)基因之前驅 mRNA 內的一個區域特異性地雜交，其中該反義寡聚物與該區域之結合增加了該個體之細胞及/或組織中含有外顯子 2 之 GAA mRNA 的含量。例示性反義靶向序列係顯示於本文表 6A-6C 中。

【0274】　亦包括了用以製備用於治療第 II 型肝醣蓄積病(GSD-II；龐貝症)之藥劑之反義寡聚物，其包含一具有足夠長度及互補性的核苷酸序列以與酸性 α-葡萄糖苷酶(*GAA*)基因之前驅 mRNA 內的一個區域特異性地雜交，其中該反義寡聚物與該區域之結合增加了含有外顯子 2 之 GAA mRNA 的含量。

【0275】　在治療 GSD-II 之方法或用於治療 GSD-II 之藥劑的一些實施例中，該反義寡聚物化合物包含：

長度為 18 至 40 個亞單元之反義寡聚物，其包含一與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

在治療 GSD-II 之方法或用於治療 GSD-II 之藥劑的一些實施例中，該反義寡聚物化合物包含：

長度為 18 至 40 個亞單元之反義寡聚物，其包含一與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5’端至該反義寡核苷酸的 3’端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0276】　在治療 GSD-II 之方法或用於治療 GSD-II 之藥劑的一些實施例中，該反義寡聚物化合物包含：

長度為 18 至 40 個亞單元之經修飾反義寡聚物，其包含一與人類酸性 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中：

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸係共價連接至該細胞穿透肽；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5'端至該反義寡核苷酸的 3'端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80%互補。

【0277】 如上所述，「GSD-II」係指第 II 型肝醣蓄積病(GSD-II 或龐貝症)，其係特徵通常在於 GAA 蛋白在受影響個體中表現不足之人類體染色體隱性疾病。包括患有嬰兒 GSD-II 之個體及彼等患有晚發形式之疾病者。

【0278】 在某些實施例中，個體之一或多個組織(包括心臟、骨骼肌、肝及神經系統組織)中 GAA 蛋白之表現及/或活性有所降低(例如相對於健康個體或較早時間點)。在一些實施例中，個體之一或多個組織(包括心臟、骨骼肌、肝及神經系統組織)中之肝醣累積有所增加(例如相對於健康個體或較早時間點)。在特定的實施例中，個體具有至少一種 IVS1-13T>G 突變(亦稱為 c.336-13T>G)可能與降低功能性 GAA 蛋白之表現的其他突變組合。用於 GSD-II 之分子基因測試之匯總係顯示於下表 5 中。

表5

基因符號	測試方法	所檢測的突變	測試方法之突變檢測頻率	測試可用性
GAA	序列分析	p.Arg854*	~50%-60%	臨床
		p.Asp645Glu	~40%-80%	

		IVS1-13T>G	~50%-85%	
		基因中之其他序列變體	83%-93%	
	所選外顯子之序列分析	所選外顯子中之序列變體	83%-93%	
	靶向突變分析	靶向位點中之序列變體	100%，對於靶向突變之變體	
	缺失/複製分析	外顯子及整體基因缺失/複製	5%-13%	

【0279】 某些實施例係關於增加如本文所述之細胞、組織及/或個體中含有外顯子 2 之 GAA mRNA 或蛋白質之表現的方法。在一些情況下，相對於對照組(例如對照細胞/個體、不含反義寡聚物之對照組成物、沒有治療、及/或較早時間點)，含有外顯子-2 之 GAA mRNA 或蛋白質係增加約或至少約 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或 100%。亦包括了相對於健康對照組之表現程度維持含有外顯子 2 之 GAA mRNA 或蛋白質之表現的方法。

【0280】 一些實施例係關於增加如本文所述之細胞、組織及/或個體之功能/活性 GAA 蛋白之表現的方法。在某些情況下，相對於對照組(例如對照細胞/個體、不含反義寡聚物之對照組成物、沒有治療及/或較早時間點)，功能/活性 GAA 蛋白之含量增加約或至少約 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或

100%。亦包括了相對於健康對照組之表現程度維持功能/活性 GAA 蛋白之表現的方法。

【0281】　特定實施例係關於降低如本文所述之一或多種細胞、組織及/或個體中之肝醣累積的方法。在某些情況下，相對於對照組(例如對照細胞/個體、不含反義寡聚物之對照組成物、沒有治療及/或較早時間點)，肝醣累積降低約或至少約 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%o、85%、90%、95%或 100%。亦包括了維持細胞、組織及/或個體中之正常或其他健康肝醣含量(例如無症狀含量或與 GSD-II 症狀減少有關之含量)之方法。

【0282】　亦包括了減少有需要之個體中一或多種 GSD-II 症狀之方法。特定實例包括嬰兒 GSD-II 之症狀，諸如心臟擴大、張力過低、心肌病、左心室流出道阻塞、呼吸窘迫、運動延遲/肌無力及進食困難/長勢不能。其他實例包括晚期發作 GSD-II 之症狀，諸如肌無力(例如骨骼肌無力，包括進展性肌無力)、咳嗽受損、復發性胸腔感染、張力過低、運動指標延遲、難以吞嚥或咀嚼及肺活量減小或呼吸功能不全。

【0283】　可向個體投與本揭示之反義寡聚物以治療(預防性或治療性) GSD-II。結合這類治療，可考慮藥物基因組學(亦即研究個體基因型與該個體對外來化合物或藥物之反應之間的關係)。治療劑代謝之差異可藉由改變藥理學活性藥物之劑量與血液濃度之間的關係來引起嚴重毒性或治療失敗。

【0284】　因此，醫師或臨床醫師可考慮應用在相關藥物基因組學研究中所獲得之知識以確定是否投與治療劑以及調節治療劑治療之劑量及/或治療方案。

【0285】　反義寡聚物至目標核酸之有效遞送係為一種治療態樣。反義寡聚物之遞送途徑包括但不限於各種全身性途徑，包括經口及非經腸途徑，例如靜脈內、皮下、腹膜腔內及肌內以及吸入、經皮及外用遞送。熟習此項技術

者可根據所治療個體之情況來確定適宜途徑。血管或血管外循環、血液或淋巴系統及腦脊髓液係可引入 RNA 之一些非限制性位點。可採用直接 CNS 遞送，例如，可使用腦室內或鞘內投與作為投與途徑。

【0286】　在特定實施例中，藉由肌內注射(IM)將反義寡聚物投與個體，亦即將其肌內投與或遞送。肌內注射位點之非限制性實例包括手臂三角肌、腿部股外側肌、及臀部腹腔間區肌肉及背臀區肌肉。在特定的實施例中，藉由 IM 投與 PMO、PMO-X 或 PPMO。

【0287】　在某些實施例中，有需要之個體在中樞神經系統組織中具有肝醣累積。實例包括中樞神經系統病況有助於 GSD-II 中之呼吸缺陷之情況(見(例如) DeRuisseau 等人，PNAS USA. 106:9419-24, 2009)。因此，可藉由任一業內認可方法將本文所述之反義寡聚物遞送至個體的神經系統中，例如，其中個體患有涉及 CNS 之 GSD-II。例如，可使用本揭示之反義寡聚物之周邊血注射經由擴散及/或主動方式來將該等試劑遞送至周邊神經元中。或者，可修飾該反義寡聚物以促進穿過血腦障壁(BBB)，從而達成將所述試劑遞送至中樞神經系統(CNS)之神經元細胞中。反義寡聚物技術及遞送策略之最近具體進展已開拓了用於神經元病症之反義寡聚物的範圍(見(例如) Forte, A.等人, 2005. Curr. Drug Targets 6:21-29；Jaeger, L. B.及 W. A. Banks. 2005. Methods Mol. Med. 106:237-251；Vinogradov, S. V.等人, 2004. Bioconjug. Chem. 5:50-60；前述文獻係以全文引用方式併入本文中)。例如，可以肽核酸(PNA)化合物形式生成本揭示之反義寡聚物。PNA 試劑已各自在識別後穿過 BBB (Jaeger, L. B.及 W. A. Banks. 2005. Methods Mol. Med. 106:237-251)。亦已描述了使用(例如)血管活性試劑治療個體以促進轉運穿過 BBB (*Id*)。亦可使用將本揭示之反義寡聚物連接至主動轉運穿過 BBB 之試劑來作為遞送機制。一起與造影劑(諸如碘海醇)一起投與反義試劑(例如單獨、同時、以同一調配物)亦可促進遞送穿過 BBB，如 PCT 公開案第 WO/2013/086207 號中所述，其係以全文引用方式併入本文中。

【0288】　在某些實施例中，可藉由經皮方法遞送本揭示之反義寡聚物（例如，經由將反義寡聚物併入(例如)乳液中，這類反義寡聚物視情況被包裝入脂質體中）。本領域中已針對反義寡聚物之遞送描述這類經皮及乳液/脂質體介導的遞送方法，例如描述於美國專利第 6,965,025 號中，其內容係以全文引用方式併入本文中。

【0289】　本文所述之反義寡聚物亦可經由可植入裝置遞送。這類裝置之設計係為業內認可製程，例如於(例如)美國專利 第 6,969,400 號中所描述之合成植入體設計，其內容係以全文引用方式併入本文中。

【0290】　可使用業內認可技術（例如轉染、電穿孔、融合、脂質體、膠質聚合顆粒、及病毒與非病毒載體以及本領域中已知之其他方式）將反義寡聚物引入細胞中。所選遞送方法將至少取決於寡聚物化學性質、待處理細胞、及細胞位置且為熟習此項技術者所明瞭。例如，可藉由在表面上帶有針對脂質體之特定標記物之脂質體、直接注射至含有目標細胞之組織中、特定受體介導之攝取或諸如此類來達成局部化。

【0291】　如本領域中已知，可使用(例如)涉及脂質體介導之攝取、外泌體介導之攝取、脂質共軛物、多離胺酸介導之攝取、奈米粒子介導之攝取、及受體介導之胞吞作用、以及其他非胞吞遞送模式（諸如顯微注射、滲透化(例如鏈球菌溶血素-O 滲透化、非離子型肽滲透化)、電穿孔、及本領域中已知之各種非侵襲性非胞吞遞送方法(參照 Dokka 及 Rojanasakul, Advanced Drug Delivery Reviews 44, 35-49，其係以全文引用方式併入)）之方法遞送反義寡聚物。

【0292】　反義寡聚物可以存於生理上及/或醫藥上可接受之任一便利媒劑或載劑中之形式來投與。這類組成物可包括彼等熟習此項技術者所採用各種醫藥上可接受之標準載劑中之任一者。實例包括(但不限於)鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、水、乙醇水溶液、乳液(諸如油/水乳液或甘油三酯乳液)、錠劑及膠囊。生理學上可接受之適合載劑的選擇將視所選投藥模式而變。「醫藥上可接受之載劑」意欲包括任何及所有與醫藥投與相容之溶劑、分散介質、塗覆劑、

抗細菌劑及抗真菌劑、等滲劑及吸收延遲劑等等。用於醫藥活性物質之這類介質及試劑之用塗係為本領域中所熟知。除任何與活性化合物不相容之習用介質或試劑外，本發明涵蓋其於組成物中之用途。組成物中亦可併入補充性活性化合物。

【0293】　本揭示內容之化合物(例如反義寡聚物)通常可以游離酸或游離鹼形式利用。或者，本揭示內容之化合物可以酸加成鹽或鹼加成鹽之形式使用。本揭示內容之游離胺基化合物之酸加成鹽可藉由本領域中所熟知之方法製得，且可自有機酸及無機酸形成。適宜有機酸包括馬來酸、富馬酸、苯甲酸、抗壞血酸、琥珀酸、甲磺酸、乙酸、三氟乙酸、草酸、丙酸、酒石酸、水楊酸、檸檬酸、葡糖酸、乳酸、苦杏仁酸、肉桂酸、天門冬胺酸、硬脂酸、棕櫚酸、乙醇酸、麩胺酸及苯磺酸。

【0294】　適宜無機酸包括鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸及硝酸。鹼加成鹽包括與羧酸根陰離子形成之鹽且包括與有機及無機陽離子形成之鹽，該等陽離子為諸如選自鹼金屬及鹼土金屬(例如鋰、鈉、鉀、鎂、鋇及鈣)以及銨離子及其經取代之衍生物(例如二苄基銨、苄基銨、2-羥基乙基銨及其類似物)之陽離子。因此，術語「醫藥上可接受之鹽」意欲涵蓋任一及所有可接受鹽形式。

【0295】　此外，前藥係亦包括於本揭示內容之上下文內。前藥為任一共價鍵結之載劑，在將該前藥投與患者時其在活體內釋放化合物。通常藉由修飾官能基來製備前藥，其中藉由常規操作或在活體內裂解修飾基團以得到母體化合物。前藥包括(例如)羥基、胺或硫氫基鍵結至任一在投與患者時裂解以形成羥基、胺或硫氫基之基團之本揭示內容之化合物。因此，前藥之代表性實例包括(但不限於)本揭示之反義寡聚物之醇及胺官能基的乙酸酯、甲酸酯及苯甲酸酯衍生物。再者，在羧酸(-COOH)之情況下，可採用酯類，諸如甲酯、乙酯及其類似物。

【0296】　在一些情況下，可採用脂質體來促進細胞攝取反義寡聚物（見(例如) Williams, S.A., Leukemia 10(12):1980-1989, 1996；Lappalainen 等人,

Antiviral Res. 23:119, 1994；Uhlmann 等人, antisense oligomers: a new therapeutic principle, Chemical Reviews, 第 90 卷, 第 4 期, 25 第 544-584 頁, 1990；Gregoriadis, G., 第 14 章, Liposomes, Drug Carriers in Biology and Medicine, 第 287-341 頁, Academic Press, 1979）。亦可使用水凝膠作為投與反義寡聚物之媒劑，例如如 WO 93/01286 中所述。或者，寡聚物可以存於微球體或微粒中之形式來投與。（見(例如) Wu, G.Y.及 Wu, C.H., J. Biol. Chem. 262:4429-4432, 30 1987）。或者，使用與反義寡聚物複合之充氣式微氣泡可增進向目標組織之遞送，如美國專利第 6,245,747 號中所述。亦可使用持續釋放之組成物。此等組成物可包括呈諸如薄膜或微膠囊等成型物件形式之半滲透性聚合基質。

【0297】　在一實施例中，該反義寡聚物係以適宜醫藥載劑向展現出溶酶體蓄積病症狀之哺乳動物個體(例如人類或家畜)投與。在該方法之一態樣中，該個體為人類個體，例如診斷患有 GSD-II (龐貝病)之患者。在一較佳實施例中，反義寡聚物係包含在醫藥上可接受之載劑中且經口遞送。在另一較佳實施例中，寡聚物係包含在醫藥上可接受之載劑中且經靜脈內(i.v.)遞送。

【0298】　在一實施例中，以有效產生至少 200-400 nM 反義寡聚物之峰值血液濃度的數量及方式來投與反義化合物。一般而言，通常以定期間隔投與一或多個劑量的反義寡聚物，為期約 1 至 2 週。經口投與的較佳劑量為每 70 公斤約 1-1000 mg 反義寡聚物。在一些情形下，可能需要每位患者大於 1000 mg 寡聚物的劑量。對於 i.v.給藥，較佳的劑量為每 70 公斤約 0.5 mg 至 1000 mg 反義寡聚物。該反義寡聚物可以定期間隔投與一段短時間，例如在兩週內或更短時間內每天投與。然而，在一些情形下，該寡聚物係間歇地投與一段較長的時間。投與之後可接著或同時以抗生素或其他治療性治療之投與。可基於受治療的個體之免疫分析、其他生物化學測試及生理檢查結果，按指示調整治療方案(劑量、頻率、途徑等等)。

【0299】　在某些實施例中，該方法為活體外方法。在某些其他實施例中，該方法為活體內方法。

【0300】　在某些實施例中，該宿主細胞為哺乳動物細胞。在某些實施例中，該宿主細胞為非人類靈長類動物細胞。在某些實施例中，該宿主細胞為人類細胞。

【0301】　在某些實施例中，該宿主細胞為天然細胞。在某些其他實施例中，該宿主細胞為基因工程細胞。

【0302】　在某些實施例中，係將該反義寡聚物在一適宜醫藥上可接受之載劑中向哺乳動物個體（例如人類或實驗動物或家畜）投與。

【0303】　在某些實施例中，係將該反義寡聚物與一額外試劑一起向哺乳動物個體（例如人類或實驗動物或家畜）投與。該反義寡聚物與該額外試劑可經由相同或不同路徑及/或投與位置同時或依序投與。在某些實施例中，該反義寡聚物與該額外試劑可共同調配而一起投與。在某些實施例中，該反義寡聚物與該額外試劑可於一套組中一起提供。

【0304】　在一實施例中，該包含在醫藥上可接受的載劑中之反義寡聚物係經口遞送。

【0305】　在一實施例中，該包含在醫藥上可接受的載劑中之反義寡聚物係經靜脈內(i.v.)遞送。

【0306】　本揭示還考慮到了其他投與途徑，例如皮下、腹膜內及肺部。

【0307】　在該方法的另一應用中，該個體為家畜（例如豬、牛或山羊等），且治療是預防性的或治療性的。在用食物物質餵養家畜的方法中，還考慮到了一種將食物物質補充有效量之上述反義寡聚體組成物之改善方法。

【0308】　在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血液峰值濃度為200 nM反義寡聚物之數量及方法投與。在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血漿峰值濃度為200 nM反義寡聚物之數量及方法投與。在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血清峰值濃度為200 nM反義寡聚物之數量及方法投與。

【0309】　在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血液峰值濃度為400 nM反義寡聚物之數量及方法投與。在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血漿峰值濃度為400 nM反義寡聚物之數量及方法投與。在一實施例中，該反義寡聚物係以有效導致血清峰值濃度為400 nM反義寡聚物之數量及方法投與。

【0310】　一般而言，通常以定期間隔投與一或多個劑量的反義寡聚物，為期約1至2週。經口投與的較佳劑量為每公斤體重約0.01-15 mg反義寡聚物。在一些情形下，可能需要每公斤大於 15 mg 反義寡聚物的劑量。對於 i.v.給藥，較佳的劑量為每公斤體重約0.005 mg至15 mg反義寡聚物。該反義寡聚物可以定期間隔投與一段短時間，例如在兩週內或更短時間內每天投與。然而，在一些情形下，該反義寡聚物係間歇地投與一段較長的時間。投與之後可接著或伴隨著抗生素或其他治療性治療之投與。可基於受治療的個體之免疫分析、其他生物化學測試及生理檢查結果，按指示調整治療方案(劑量、頻率、途徑等等)。

【0311】　使用反義寡聚物之有效活體內治療方案係可根據投與之持續時間、劑量、頻率及途徑以及所治療個體之狀況來改變（亦即預防性投與對因應局部或全身性感染來投與）。因此，這類活體內療法經常需要通過治療中的測試進行監測，並對劑量或治療方案作出相應調節，以獲得最佳治療結果。

【0312】　在一些實施例中，反義寡聚物係由哺乳動物細胞主動吸收。在進一步的實施例中，反義寡聚物係可共軛至如本文所述之輸送部分(例如輸送肽或CPP)以促進該攝取。

通過引用併入

【0313】　本說明書中提及之所有出版物、專利及專利申請案係均通過引用方式併入本文中，併入程度等同於就像明確且個別地指出每個個別出版物、專利或專利申請案均通過引用方式併入本文中。

實例

【0314】 出於說明並描述本揭示之某些特定實施例之目的，已於下文中提出實例。然而，申請專利範圍之範疇決不以任何方式受本文所述實例之限制。熟習此項技術者將明瞭所揭示實施例之各種改變及修改，且可在不背離本揭示之精神及隨附申請專利範圍之範圍的情況下作出此等改變及修改，其包括(但不限於)與本揭示之化學結構、取代基、衍生物、調配物或方法相關之彼等。本文方案中結構變量之定義與本文所呈現各式中之相應位置之彼等變量相稱。

實例 1 – 反義靶向序列之設計

【0315】 反義寡聚物靶向序列係經設計用於與人類 *GAA* 基因中之 IVS1-13T>G 突變相關之治療性剪接切換應用。於此處係期望剪接切換寡聚物將阻抑內含子及外顯子剪接沉默子元件(分別為 ISS 及 ESS 元件)且藉以促進成熟 GAA mRNA 中之外顯子 2 滯留。恢復正常或幾乎正常 GAA 表現會接得使功能性酶被合成，藉以向 GSD-II 患者提供臨床益處。

【0316】 包含了如表 6A-6C 中所提出之靶向序列的例示性寡聚物係以 PPMO（與 CPP 共軛的寡聚物，諸如富含精胺酸的 CPP）之形式製備。如下所述，亦可使用下面實例 2 中所述的剝裸攝取方案將此等反義寡聚物導入得自 GSD-II 患者的纖維母細胞及得自患者 iPSC 的肌小管中。

實例 2 – 材料與方法

【0317】 **GSD-II 細胞.** 根據標準方案在含有 10%-15%之伊格爾 DMEM (Eagle's DMEM)中培養得自患有 GSD-II 之個體之患者的纖維母細胞(卡瑞爾細胞株(Coriell cell line) GM00443 及 GM11661)。在實驗開始之前將細胞繼代至少 2 次且在轉染時大約有 80%覆蓋率。得自患者的纖維母細胞 GM00443 及 GM11661 係經再編程為 iPSC 株且隨後分化成肌母細胞並擴增與儲存。將得自患者 iPSC 的肌母細胞培養在肌母細胞擴增培養基中並在使用前繼代兩次。在處理前將肌母細胞係分化成肌小管兩天。

【0318】 GM00443 纖維母細胞係來自 30 歲男性。成人形式；在 30 歲時發作；正常大小及量之 GAA mRNA，以抗體檢測 GAA 蛋白，但僅 9%至 26%之正常酸-α-1,4 葡萄糖苷酶活性；第 3 代 CCR；供體個體為具有一個在 *GAA* 基因之內含子 1 中受體位點之位置-13 處攜載 T>G 顛換之等位基因的異型合子，從而得到缺失第一編碼外顯子[外顯子 2 (IVS1-13T>G)]之替代剪接轉錄物。

【0319】 GM11661 纖維母細胞係來自 38 歲男性。異常肝功能測試；在身體活動期間腿部具有不時性抽筋；早晨頭痛；對油膩性食物耐受不良；腹部囊腫；缺失纖維母細胞及 WBC 酸-α-1,4 葡萄糖苷酶活性；供體個體為化合物異型合子：等位基因 1 在 *GAA* 基因之內含子 1 中受體位點之位置-13 處攜載 T>G 顛換(IVS1-13T>G)；所得替代剪接轉錄物具有含有起始密碼子之外顯子 2 之框架缺失；等位基因 2 攜載外顯子 18 之框內缺失。

【0320】 **處理實驗方案.** 在使用前將得自患者的纖維母細胞繼代兩次。在大約 80%覆蓋率時藉由改變成含有各種 PPMO 濃度之培養基來處理細胞。在使用前將得自患者 iPSC 的肌母細胞繼代/擴增至少兩次。在處理前將肌母細胞用含有各種 PPMO 濃度之分化培養基培養一天並分化成肌小管兩天。

【0321】 **GAA qPCR.** 在定量 PCR 實驗中，除了參考基因外，使用多工 TaqMan qPCR 測定法同時擴增 *GAA* mRNA 之外顯子 1-2 及外顯子 3-4 連接點。將來自經處理之得自患者 iPSC 的肌小管之 100-500ng 總 RNA 使用 SuperScript VILO cDNA 合成套組(Thermo Fisher)進行反轉錄。將 cDNA 稀釋 3 至 10 倍，之後使用 TaqMan Multiplex Master Mix (Thermo Fisher)以 Quantstuio 7 Pro 熱循環儀(Thermo Fisher)進行擴增。每個 qPCR 反應係含有用以偵測 *GAA* 外顯子 1-2 連接點的 FAM 探針、用以偵測 *GAA* 外顯子 3-4 連接點的 VIC 探針、及用以偵測參考基因的 JUN 探針。產生每個測定與多工探針組的相對標準曲線並用來計算經處理樣本中各物在以參考基因均一化後的初始量。

【0322】 **GAA 酶分析&蛋白質樣本 Wes.** 將得自患者的纖維母細胞培養到約 80%覆蓋率且接著通過剝裸攝取方式以 PPMO 化合物處理。處理持續進行了 6 天且在這個時候使用 Abcam GAA 活性測定套組(ab252887)測量 GAA 活性。

【0323】 使用 ProteinSimple® Jes™系統對 GAA 蛋白進行西方墨漬法。使用重組抗 GAA 抗體(EPR4716(2))(Abcam ab137068)及 ProteinSimple®抗兔子偵測模組(DM-001)與 12-230 kDa 分離模組(SM-W004)來偵測 GAA。使用 ProteinSimple®蛋白均一化套組(AM-PN01)將 GAA 蛋白濃度與總蛋白進行均一化。

實例 3 – 反義 PPMO 之製備(R^1 為-$N(CH_3)_2$)

【0324】 經設計成靶向人類 GAA 前驅 mRNA（例如，人類 GAA 前驅 mRNA 之內含子 1）之反義 PPMO 係如本文所描述地合成，且用以處理得自 GSD-II 患者的纖維母細胞及得自 GSD-II 患者 iPSC 的肌小管。

表 6A
經核轉染的 PPMO 化合物(無鹼基亞單位)

名稱	靶向序列(TS)* (5'-3')	TS SEQ ID NO	5'端 3'端
GAA-IVS1(-189, 167)	CCA GAA GGA AGG GCG AGA AAA GC	33	5' TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167)-G	CCA GAA GGA AGG CGA GAA AAG C	34	5' TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167)-2G	CCA GAA GGA AGC GAG AAA AGC	35	5' TEG 3' GR6
H53A(-100-76) 陰性對照(NTC)	CGT TAT CTC ACA TTT ATG TTG CTT A	NTC	5' TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167) (-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC	5	5' TEG 3' GR6

GAA-IVS1(-189, 167) (-178 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC	6	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC	7	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167) (-178,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC	8	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-178 無鹼基)	CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC	9	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189, 167) (-177,-179 無鹼基)	CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC	10	5’ TEG 3' GR6

GR6: $Gly(Arg)_6$ B：無嘌呤及無嘧啶之無鹼基亞單位。本文中所併入的無鹼基亞單位保留了該寡聚物的二胺基磷酸酯骨架但不含有嘌呤或嘧啶鹼基。

表 6B
微步移資料

名稱	靶向序列(TS)* (5’-3’)	TS SEQ ID NO	5’端 3’端
GAA-IVS1(-80,-56)	GCT CTC AAA GCA GCT CTG AGA CAT C	37	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-76,-52)	CGG GGC TCT CAA AGC AGC TCT GAG A	38	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-74,-55)	GGC TCT CAA AGC AGC TCT GA	39	5’ TEG 3' R6
GAA-IVS1(-72,-48)	CTC ACG GGG CTC TCA AAG CAG CTC T	40	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-71,-47)	ACT CAC GGG GCT CTC AAA GCA GCT C	41	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-70,-46)	CAC TCA CGG GGC TCT CAA AGC AGC T	42	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69,-45)	GCA CTC ACG GGG CTC TCA AAG CAG C	43	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-66,-42)	GGC GGC ACT CAC GGG GCT CTC AAA G	44	5’ TEG 3' GR6

GAA-IVS1(-65,-41) -2G	GGC GGC ACT CAC GGC TCT CAA AG	45	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-49,-24)	GCA GGG AGG CGG GAG GGG CGG CAC T	46	5’ TEG 3' GR6

GR6: $Gly(Arg)_6$

表 6C 經核轉染的 PPMO 化合物(無鹼基亞單位)			
名稱	**靶向序列(TS)* (5’-3’)**	**TS SEQ ID NO**	**5’接附 3’接附**
GAA h5'Ex1 (173 190)	TCC TAC CTG CTG CCT CAT	47	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G53B)	GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C	17	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G54B)	GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C	18	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G55B)	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	19	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G56B)	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G53B G54B)	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G54B G55B)	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-69-45) (G55B G56B)	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-65-41) (G54B G55B)	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24	5’ TEG 3' GR6

GR6: $Gly(Arg)_6$ B：無嘌呤及無嘧啶之無鹼基亞單位。本文中所併入的無鹼基亞單位保留了該寡聚物的二胺基磷酸酯骨架但不含有嘌呤或嘧啶鹼基。

表 6D 微步移資料			
名稱	**靶向序列(TS)* (5’-3’)**	**TS SEQ ID NO**	**5’端 3’端**

GAA-IVS1(-186-166)	GCC AGA AGG AAG GGC GAG AAA	48	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-188-168)	CAG AAG GAA GGG CGA GAA AAG	49	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-189-169)	AGA AGG AAG GGC GAG AAA AGC	50	5’ TEG 3' R6
GAA-IVS1(-190-170)	GAA GGA AGG GCG AGA AAA GCT	51	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-191-171)	AAG GAA GGG CGA GAA AAG CTC	52	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-192-172)	AGG AAG GGC GAG AAA AGC TCC	53	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-196-176)	AGG GCG AGA AAA GCT CCA GCA	54	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-194-174)	GAA GGG CGA GAA AAG CTC CAG	55	5’ TEG 3' GR6
GAA-IVS1(-198-178)	GGC GAG AAA AGC TCC AGC AGG	56	5’ TEG 3' GR6

GR6: $Gly(Arg)_6$

實例 4 – 在得自 GSD-II 患者的纖維母細胞中之 GAA 活性及蛋白

【0325】 將上述反義 PPMO 藉由剝裸攝取遞送至 GM00443 或 GM11661 纖維母細胞及得自患者 iPSC 的肌小管。在於 37°C 以 5% CO_2 培養 4 至 6 天後，如上述將細胞溶胞並藉由免疫測定法測量溶胞產物中的 GAA 蛋白表現。一般而言，在以本揭示之反義寡核苷酸處理的細胞中的 GAA 酶的蛋白表現係高於未經處理的細胞中的 GAA 表現水平。此等結果指出本揭示之寡核苷酸在來自晚期發作龐貝症患者之細胞中 GAA 酶的表現及/或活性增加。該等變異寡核苷酸中之靶向序列係與人類 α-葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補，其中該目標區域包含了無嘌呤及無嘧啶之無鹼基亞單位。出乎意料的是，使用彼等無鹼基亞單位可促進低產量的寡核苷酸的合成，同時保留親本序列的效力。

實例 5 - 活化嗎啉基無鹼基亞單元的小規模合成

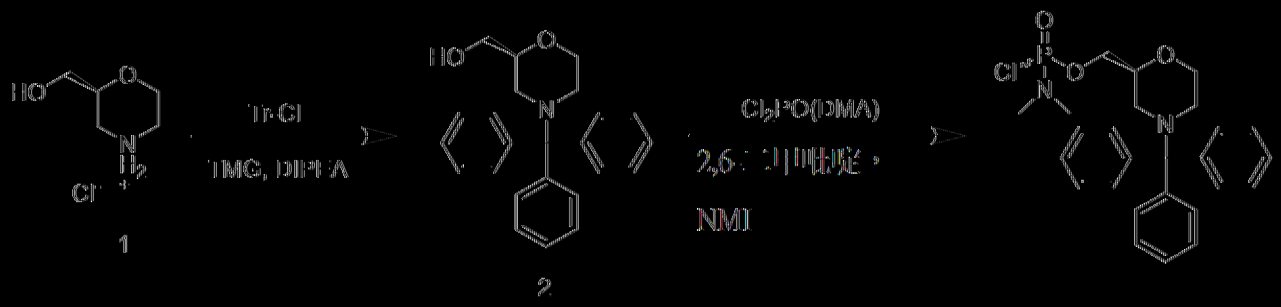
【0326】 一般性製備：將化合物 1 (1.10 當量)懸浮於二氯甲烷 (7.00 mL/g)中。向此懸浮液添加四甲基胍(0.50 當量)及二異丙基乙胺(1.80 當量)，且將該混合物加溫至 30 °C 並保持 60 分鐘以溶解材料，之後冷卻至室溫。另外，

將二苯氯甲烷(1.00 當量)溶解於二氯甲烷(2.42 mL/g)中，且將此溶液慢慢加入第一個溶液中，保持溫度在 30 °C 下。在反應完成時(1-2 小時)，將該反應混合物用檸檬酸緩衝液(pH 4)及水洗滌。分離出有機相且測定化合物 2 含量(產率：93%)。

[0327] 向化合物 2 溶液(1.00 當量)添加 2,6-二甲吡啶(1.15 當量)及 *N*-甲咪唑(0.38 當量)，且藉由大氣蒸餾將該溶液濃縮至體積 6.00 mL/g。將二氯甲烷 (5.00 mL/g)添加至該溶液，且將其藉由大氣蒸餾將該溶液濃縮至相同體積。重複此過程直到無法由 Karl-Fischer 滴定法偵測到水份，且將該溶液冷卻至 0-5 °C。以細流狀加入二甲基胺基二氯化磷醯(1.05 當量)，且使該反應混合物加溫至室溫過夜。

[0328] 在確認反應完成後，使該混合物通過分子篩管柱，所得溶液藉矽膠層析法使用不連續梯度之乙酸乙酯/庚烷溶液來純化。將含產物之溶離份匯集，將匯集物蒸發至乾燥以產生最終固態產物(最後步驟的產率：73%，兩步驟過程的產率為 68%)。

反應流程 2. 活化鳥嘌呤無鹼基亞磷酸酯的製備

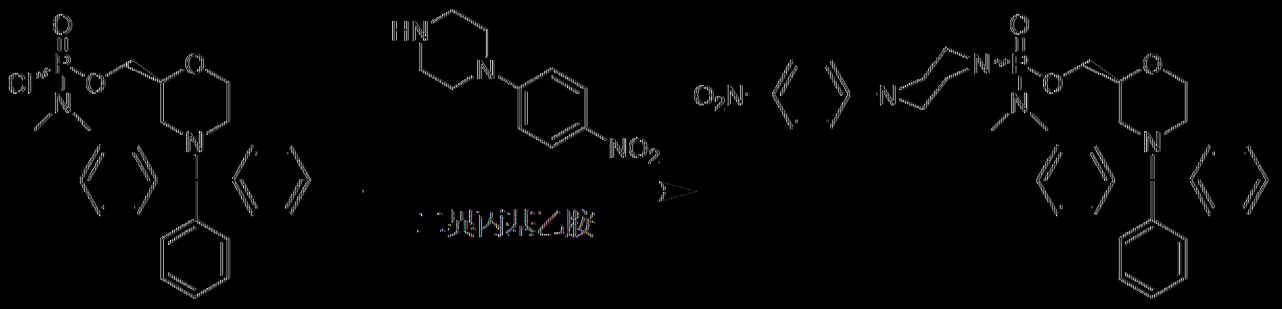


[0329] 由於活化鳥嘌呤無鹼基亞磷酸酯在液態 HPLC 移動相中是不穩定的，利用 1-(4-硝基苯基)哌嗪(NPP)進行淬滅衍生化以將亞磷酸酯轉換成穩定的二酯胺醇衍生物供 HPLC 分析。NPP 在 391 nm 會強力吸光，因此，除了提供穩定性，可在 391 nm 分析以檢視此合成雜質可能與增長的寡聚物發生反應。

[0330] 由於分析的產物為 NPP 衍生的活化鳥嘌呤無鹼基亞磷酸酯，合成了此物質的標準物。利用 HPLC、質譜儀及 NMR 進行定性。因該標準物具有

質譜儀及 NMP 確認的結構，並可藉由與所合成標準物之 HPLC 分析圖進行比較而辨識出活性單元。HPLC 分析中的產物波峰因兩種非對映異構物的部分分離度而稍微分裂。

反應流程 3. 嗎啉基無鹼基單元的二醯胺酯衍生物的製備



確切質量：655.29

實例 6：得自 GSD-II 患者之纖維母細胞的 GAA 活性

[0331] 纖維母細胞的培養。在 5% CO_2 的 37°C 培養箱中將人類纖維母細胞株養在含有 15%胎牛血清(FBS)及 2 mM L-穀胺醯胺之修飾伊格爾培養基(modified eagle medium (MEM), Thermo Fisher)中。目前所使用的纖維母細胞株係獲自卡瑞爾研究院(Coriell Institute)且包括以下細胞株：GM08402 (健康對照組)、GM08400 (健康對照組)、GM00443 (晚發型龐貝病)、GM11661 (晚發型龐貝病)、GM20089 (嬰兒型龐貝病)及 GM20123 (健康龐貝病帶因者)。在處理的前一天，將細胞以每孔 30,000 個細胞種在 24 孔細胞培養盤中於培養過夜。接著將細胞在 PBS 中洗滌且向各孔添加補充有培養基之 PPMO 進行處理。處理細胞時不更換培養基且培養 6 天。對於 GAA 活性測定溶胞，將細胞用 PBS 洗滌一次且接著在冰冷的 GAA 活性測定緩衝液(Abcam)中進行溶胞。圖 6 顯示用經以所選 PPMO 化合物進行剝除處理後之患者纖維母細胞中的 GAA 表現以劑量依存性增加。

實例 7：得自 GSD-II 患者之肌小管的 GAA 活性及蛋白質

[0332] 得自患者 iPSC 的肌小管。使用無飼養及無足跡方法將患者纖維母細胞經再編程為 iPSC。藉由用標誌物 Oct3/4、NANOG、TRA-1-60 進行免

疫染色來確認分化多能性。iPSC 保有正常的染色體核型及鹼性磷酸酶活性。將 iPSC 細胞株分化成肌母細胞、冷凍、及復活。藉由肌母細胞標誌物 Desmin 及 MyoD 進行免疫螢光染色且藉由 qPCR 測量關鍵標誌物的表現來確認肌原性連結。培養 3-6 天進行肌母細胞終末分化，並藉由免疫螢光染色測量肌原性標誌物 MHC 及 MyoG 的表現來進行確認。

【0333】 **纖維母細胞非整合再編程為 iPSC.** 將纖維母細胞養在 DMEM 10 % FCS 中。隔夜培養之後，換新的培養基，使用 FuGENE6 轉染試劑 (Promega)以 Epi5™ iPSC 再編程套組(Themofisher)中 2 μg 的附加質體對細胞進行轉染。隔天，用 mTeSR-plus 培養基(StemCell Technologies)換掉培養基。於再編程過程期間，將經轉染細胞培養在 mTeSR plus 中，且每隔一天更換一次培養基，直到轉染後 2 週。使用移液吸管將細胞群轉移到具有 Geltrex 基質的新培養盤。在程序前一小時，向培養基添加 10 μM Y-27632。將 iPSC 進一步在 mTeSR plus 培養基中增殖培養，如 Alonso-Barroso 等人, Stem Cell Res. 23, 173-177; 2017 中所述。

【0334】 **SKM 分化.** 根據先前所述之實驗方案[Chal, J 等人, Nat. Biotech. 2015, 33, 962–969]從 hiPSC 分化出肌原祖細胞。簡言之，肌原祖細胞係通過多步驟小分子分化實驗方案來生成。將肌原祖細胞擴增、繼代、並冷凍保存於 60 μg/mL 第 I 型膠原蛋白(Collagen I)塗覆的 6 孔孔盤中。在肌母細胞分化方面，將冷凍的肌原祖細胞解凍在肌母細胞擴增培養基(iXCells, 目錄編號 MD-0102A)中。每 2 天換一次生長培養基且持續 8 天，接著冷凍保存。在肌小管分化方面，使肌母細胞回復且以 32,000/cm2 的密度播種，並使用肌母細胞擴增培養基培養以達到百分之百覆蓋率。在骨骼肌細胞分化方面，全滿的肌母細胞培養物換成肌母細胞分化培養基(iXCells，目錄編號 MD-0102B)且每 2 天換一次培養基。在肌母細胞分化培養基中 72 小時之後會明顯看到細長的肌小管。

【0335】 **PPMO 在得自 LOPD 患者 iPSC 的肌小管中增進了 *GAA* 的表現.** 將得自患者 iPSC 的肌母細胞種在 96 孔或 24 孔塗有膠原蛋白的培養盤

(Corning)中且在 iPSC 衍生型肌母細胞擴增培養基(iXCells Biotechnologies)中擴增 48 小時。將培養基換成肌小管分化培養基(iXCells Biotechnologies)且持續分化 48 小時。接著將培養基換成含有指定 PPMO 濃度的新鮮分化培養基。使用 *Quick*-RNA 96 套組(Zymo)依照製造商實驗方案從剝裸處理 72 小時後之細胞培養物萃取出 RNA。使用 SuperScript VILO 套組(Thermo Fisher)依照製造商實驗方案將 100-300 ng 的 RNA 反轉譯。在 Quantstudio 7 Pro PCR 熱循環儀(Thermo Fisher)上以 Multiplex Master Mix (Thermo Fisher)進行多工 qPCR 測定，在 FAM 通道測量外顯子 1-2 基因座處的 *GAA* 表現(Hs.PT.58.24962380, Integrated DNA Technologies, 900 nM 引子，250 nM 探針)，在 VIC 通道測量外顯子 3-4 基因座處的 *GAA* (Hs01089834_m1, Thermo Fisher, 1.8 μM 引子，500 nM 探針)，且在 JUN 通道測量 HPRT (Hs99999909_m1_qsy, Thermo Fisher, 900 nM 引子，250 nM 探針)。qPCR 循環條件的組成為初始變性步驟 95°C 持續 20 秒，接著以每秒升降溫速率 1.92°C 用 95°C 持續 3 秒、58°C 持續 20 秒進行 40 次循環。圖 7 及圖 8 顯示在用所選 PPMO 進行剝裸處理後之得自患者 iPSC 的肌小管中之 GAA 表現為劑量依存性增加。

【0336】 **PPMO 在得自 LOPD 患者 iPSC 的肌小管中增加了 GAA 蛋白.** 將得自患者 iPSC 的肌母細胞種在 24 孔塗有膠原蛋白的培養盤(Corning)中且在 iPSC 衍生型肌母細胞擴增培養基(iXCells Biotechnologies)中擴增 24 小時。將培養基換成肌小管分化培養基(iXCells Biotechnologies)且持續分化 24 小時。接著將培養基換成含有指定 PPMO 濃度的新鮮分化培養基。在剝裸處理 96 小時後使用 RIPA 溶胞緩衝液(Thermo Fisher)來製備細胞溶胞產物。使用 Pierce BCA 測定套組(Thermo Fisher)來測量蛋白濃度。使用樣本製備套組(Proteinsimple)來製備細胞溶胞產物以使用於自動毛細管西方墨漬法系統，JESS 系統(Proteinsimple)。根據實驗方案說明，使用 0.1X 樣本緩衝液(Proteinsimple)將細胞溶胞產物稀釋至相同蛋白濃度並與 5X 螢光主混液(Proteinsimple)混合。根據實驗方案說明，使樣本 95°C 變性。使用以下各物分配到檢測盤指定的孔

中來運行 JESS：與無奶抗體稀釋劑以 1:400 稀釋的稀釋抗 GAA 一級抗體(Abcam ab137068)；蛋白歸一化基質；辣根過氧化酶(HRP)共軛型二級抗體；化學螢光基質；及洗滌緩衝液。以三重複方式將樣本與生物素化梯度標記物裝填在 JESS 盤中指定的位置並將檢測盤放入 JESS 設備中。使用蛋白歸一化套組及 Compass 軟體(Proteinsimple)的分析，以毛細孔中所含總蛋白之波峰區域將蛋白質的訊號強度(波峰區域)歸一化。使用 Compass 軟體(ProteinSimple)對 GAA 蛋白條帶進行定量分析。圖 9 及圖 10 顯示在用所選 PPMO 化合物處理後之得自患者 iPSC 的肌小管中之 GAA 蛋白增加。

【0337】 **PPMO 在得自 LOPD 患者 iPSC 的肌小管中增加了 GAA 蛋白.** 將得自患者 iPSC 的肌母細胞以每孔 80,000 個細胞種在 24 孔塗有膠原蛋白的培養盤(Thermo Fisher)中之擴增培養基(EM, iXCells Biotechnologies)內。於 EM 內生長 48 小時之後，將細胞在 PBS 中洗滌且將培養基換成分化培養基(DM, iXCells Biotechnologies)。將細胞於 DM 中培養 48 小時，接著用補充有 PPMO 的 DM 處理且在不換培養基的情況下培養 4 天。對於 GAA 活性測定溶胞，將細胞用 PBS 洗滌一次且接著在冰冷的 GAA 活性測定緩衝液(Abcam)中進行溶胞。圖 11 顯示出經以所選 PPMO 化合物處理後之得自患者 iPSC 的肌小管中之 GAA 酶活性為劑量依存性增加。

實例 8 – 無鹼基取代降低了 PPMO 聚集性

【0338】 使用 Zetasizer Nano (Malvern)以製造商的標準實驗方案藉由動態光散射來測量於 PBS (Gibco)中之 PPMO 樣本恆定濃度溶液的聚集性。圖 12 顯示無鹼基取代降低了 PPMO 聚集性。以動態光散射(DLS)測量時，游離 PPMO 的比率隨著無鹼基取代而增加。

【0339】 總而言之，本文所提供之 PPMO 化合物在得自 LOPD 患者的肌小管中持續地校正 GAA 剪接並增加了 GAA 蛋白及酶活性水平。在 LOPD 小鼠模型中確認了人類 IVS1-GAA 的標靶結合。出乎意料的是，取代掉無鹼基亞

單元在恢復 GAA 酶活性方面幾乎與親本序列(例如 PPMO 7 與 PPMO 33 相比)一樣有效。有趣的是，DLS 數據表明通過納入無鹼基亞單元，這些序列中的聚集性或二級結構形成發生了一些變化。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="C250891SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-01-
19">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-09-29</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>SPT-8193PC</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/261,860</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-09-30</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商薩羅塔治療公司(SAREPTA THERAPEUTICS,
INC.)</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>SAREPTA THERAPEUTICS, INC. </ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">具有一或多個無鹼基單元之反義寡核苷酸
</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>63</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>2664</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..2664</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q1">
```

<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtgagacacctgacgtctgccccgcgctgccggcggtaacatcccagaagcgggtttgaacg
tgcctagccgtgccccccagcctcttcccctgagcggagcttgagccccagacctctagtcctcccggtctttatctgagt
tcagcttagagatgaacggggagccgccctcctgtgctgggcttggggctggaggctgcatcttcccgtttctagggttt
cctttcccctttgatcgacgcagtgctcagtcctggccgggacccgagccacctctcctgctcctgcaggacgcacatg
gctgggtctgaatccctggggtgaggagcaccgtggcctgagaggggcccctgggccagctctgaaatctgaatgtctc
aatcacaaagacccccttaggccaggccaggggtgactgtctctggtctttgtccctggttgctggcacatagcacccga
aacccttggaaaccgagtgatgagagagccttttgctcatgaggtgactgatgaccggggacaccaggtggcttcaggat
ggaagcagatggccagaaagaccaaggcctgatgacgggttgggatggaaaaggggtgaggggctggagattgagtgaat
caccagtggcttagtcaaccatgcctgcacaatggaaccccgtaagaaaccacagggatcagagggcttcccgccgggtt
gtggaacacaccaaggcactggagggtggtgcgagcagagagcacagcatcactgcccccacctcacaccaggccctacg
catctcttccatacggctgtctgagttttatcctttgtaataaaccagcaactgtaagaaacgcactttcctgagttctg
tgaccctgaagagggagtcctgggaacctctgaatttataactagttgatcgaaagtacaagtgacaacctgggatttgc
cattggcctctgaagtgaaggcagtgttgtgggactgagcccttaacctgtggagtctgtgctgactccaggtagtgtca
agattgaattgaattgtaggacacccagccgtgtccagaaagttgcagaattgatgggtgtgagaaaaaccctacacatt
taatgtcagaagtgtgggtaaaatgtttcaccctccagcccagagagccctaatttaccagtggcccacggtggaacacc
acgtccggccgggggcagagcgttcccagccaagccttctgtaacatgacatgacaggtcagactccctcgggccctgag
ttcacttcttcctggtatgtgaccagctcccagtaccagagaaggttgcacagtcctctgctccaaggagcttcactggc
caggggctgctttctgaaatccttgcctgcctctgctccaaggcccgttcctcagagacgcagacccctctgatggctga
ctttggtttgaggacctctctgcatccctccccccatggccttgctcctaggacaccttcttcctcctttccctggggtca
gacttgcctaggtgcggtggctctcccagccttccccacgccctccccatggtgtattacacacaccaaagggactcccc
tattgaaatccatgcatattgaatcgcatgtgggttccggctgctcctgggaggagccaggctaatagaatgtttgccat
aaaatattaatgtacagagaagcgaaacaaaggtcgttggtacttgttaaccttaccagcagaataatgaaagcgaaccc
ccatatctcatctgcacgcgacatccttgttgtgtctgtacccgaggctccaggtgcagccactgttacagagactgtgt
ttcttccccatgtacctcgggggccgggaggggttctgatctgcaaagtcgccagaggttaagtcctttctctcttgtgg
ctttgccacccctggagtgtcaccctcagctgcggtgcccaggattccccactgtggtatgtccgtgcaccagtcaatag
gaaagggagcaaggaaaggtactgggtccccctaaggacatacgagttgccagaatcacttccgctgacacccagtggac
caagccgcacctttatgcagaagtggggctcccagccaggcgtggtcactcctgaaatcccagcacttcggaaggccaag
gggggtggatcacttgagctcaggagttcgagaccagcctgggtaacatggcaaaatcccgtctctacaaaaatacagaa
aattagctgggtgcggtggtgtgtgcctacagtcccagctactcaggaggctgaagtgggaggattgcttgagtctggga
ggtggaggttgcagtgagccaggatctcaccacagcactctggcccaggcgacagctgtttggcctgtttcaagtgtcta
cctgccttgctggtcttcctggggacattctaagcgtgtttgatttgtaacattttagcagactgtgcaagtgctctgca
ctcccctgctggagcttttctcgcccttccttctggccctctccccagtctagacagcagggcaacacccaccctggcca
ccttaccccacctgcctgggtgctgcagtgccagccgcggttgatgtctcagagctgctttgagagccccgtgagtgccg

```
ccctcccgcctccctgctgagcccgcttkcttctcccgcag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcttttctcgcccttccttctgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>56</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..56</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q3">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatgtctcagagctgctttgagagccccgtgagtgccgcccctcccgcctccctgc</INSD
Seq_sequence>
   </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q4">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
```

```
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q29">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q30">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q31">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ccagaaggaannncgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q32">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q33">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaaggncgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q34">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaagngcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q37">
```

```
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaanggcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q39">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q40">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ccagaaggaagnncgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q41">
     <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier>
     <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q42">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier>
     <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q43">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
 </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaanngcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q46">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ccagaaggaangncgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q60">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q61">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q62">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q63">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ctcacnnnnctctcaaagcagctct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q64">
   <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q65">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q66">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q67">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>g or an absic site</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q68">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>actcacnnnnctctcaaagcagctc</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="13">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q69">
   <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q70">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q71">
```

```
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q72">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q73">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cactcacnnnnctctcaaagcagct</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q74">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q75">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
```

```
 <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q76">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q77">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q78">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gcactcacnnnnctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q79">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q80">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
    <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q81">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q82">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>15</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q83">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcggcactcacnnnnctctcaaagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q84">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
```

```
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q85">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q86">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>15</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier>
   <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q87">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q88">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>g or an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>g或無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ggcggcactcacnnnnctctcaaag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q89">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q90">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gcactcacngggctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q91">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q92">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gcactcacgnggctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q93">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q94">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gcactcacggngctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q95">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q96">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcactcacgggnctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q97">
     <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier>
     <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q98">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier>
     <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q99">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
     <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
 </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>gcactcacnnggctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q100">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q101">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q102">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcactcacgnngctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q103">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q104">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q105">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcactcacggnnctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q106">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q107">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>modified_base</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>15</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mod_base</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>OTHER</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q108">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>an abasic site</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>無鹼基位點</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ggcggcactcacgnngctctcaaag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q109">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRQRRKKR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q110">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RKKRRQRRR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q111">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRRRRRRRFF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q112">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRRRFFRRRR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q113">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q114">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RRRRR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="31">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q115">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RRRRRR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="32">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q116">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RRRRRRR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="33">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q117">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaagggcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q118">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaaggcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q119">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccagaaggaagcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q120">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgttatctcacatttatgttgctta</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="37">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q121">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gctctcaaagcagctctgagacatc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q122">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>cggggctctcaaagcagctctgaga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q123">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ggctctcaaagcagctctga</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q124">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ctcacggggctctcaaagcagctct</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q125">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>actcacggggctctcaaagcagctc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q126">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cactcacggggctctcaaagcagct</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q127">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gcactcacggggctctcaaagcagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q128">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ggcggcactcacggggctctcaaag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="45">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q129">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ggcggcactcacggctctcaaag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q130">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gcagggaggcgggaggggcggcact</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="47">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q131">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tcctacctgctgcctcat</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q132">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gccagaaggaagggcgagaaa</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q133">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cagaaggaagggcgagaaaag</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q134">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agaaggaagggcgagaaaagc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q135">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gaaggaagggcgagaaaagct</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q136">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaggaagggcgagaaaagctc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q137">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aggaagggcgagaaaagctcc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q138">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agggcgagaaaagctccagca</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q139">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>gaagggcgagaaaagctccag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q140">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ggcgagaaaagctccagcagg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q141">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRRRRRR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q142">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RRRRRRRRR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q143">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q144">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q145">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q146">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q147">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RXRRXRRXRRXR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="60">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q148">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q149">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q150">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q151">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q152">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q153">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RXRRXRRXRRXRRXR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q154">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q155">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q156">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>beta-alanine</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>β-丙胺酸</NonEnglishQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q157">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>6-aminohexanoic acid</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>6-胺基己酸</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q158">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>beta-alanine</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>β-丙胺酸</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RXRRXRRXRRXR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q159">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RARRARRARRARFFC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q160">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RGRRGRRGRRGRFFC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種共軛物，其包含一經修飾的反義寡核苷酸以及一細胞穿透肽，其中：

該經修飾的反義寡核苷酸之長度為 18 至 40 個亞單元，其包含一與人類酸性 α 葡萄糖苷酶(GAA)基因之前驅 mRNA 之內含子 1 (SEQ ID NO: 1)內之目標區域互補的靶向序列，其中

該反義寡核苷酸包含一嗎啉基寡聚物；

該反義寡核苷酸係共價連接至該細胞穿透肽；

該反義寡核苷酸之各個亞單元包含一核鹼基或為一無鹼基亞單元，其中各個亞單元從該反義寡核苷酸的 5’端至該反義寡核苷酸的 3’端依序一起形成該靶向序列；

至少一個亞單元為無鹼基亞單元；且

其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少 80% 互補。

【請求項2】 如請求項1之共軛物，其中該目標區域包含一選自於由SEQ ID NO: 2 (GAA-IVS1(-189-167))及SEQ ID NO: 3 (GAA-IVS1(-80-24))組成之群的序列。

【請求項3】 如請求項2之共軛物，其中該目標區域包含如SEQ ID NO: 2所述之序列。

【請求項4】 如請求項2之共軛物，其中該目標區域包含如SEQ ID NO: 3所述之序列。

【請求項5】 如請求項1或2之共軛物，其中該目標區域係選自GAA-IVS1(-189-167)、GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)及GAA-IVS1(-49-24)。

【請求項6】 如請求項1或5之共軛物，其中該目標區域為GAA-IVS1(-189-167)。

【請求項7】 如請求項1或6之共軛物，其中該靶向序列包含序列CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC (SEQ ID NO: 4)，其中各個X係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個X為B。

【請求項8】 如請求項1或7之共軛物，其中該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)；

iii) SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)；

iv) SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)；

v) SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)；及

vi) SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)。

【請求項9】

【請求項10】 如請求項1或5之共軛物，其中該目標區域係選自於由GAA-IVS1(-80-56)、GAA-IVS1(-76-52)、GAA-IVS1(-74-55)、GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)、GAA-IVS1(-65-41)及GAA-IVS1(-49-24)組成之群。

【請求項11】 如請求項1或10之共軛物，其中該目標區域係選自於由GAA-IVS1(-72-48)、GAA-IVS1(-71-47)、GAA-IVS1(-70-46)、GAA-IVS1(-69-45)、GAA-IVS1(-66-42)及GAA-IVS1(-65-41)組成之群。

【請求項12】 如請求項1或11之共軛物，其中該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)；

ii) SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)；

iii) SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)；

iv) SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)；

vi) SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)；

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

【請求項13】 如請求項1或12之共軛物，其中該靶向序列係選自於由以下組成之群：

i) SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)；

ii) SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)；

iii) SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)；

iv) SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)；

v) SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)；

vi) SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)；

vii) SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)；及

viii) SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【請求項14】 如請求項1至13中任一項之共軛物，其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少84%、至少88%或至少92%互補。

【請求項15】 如請求項1至13中任一項之共軛物，其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少90%互補。

【請求項16】 如請求項1至5中任一項之共軛物，其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域至少95%互補。

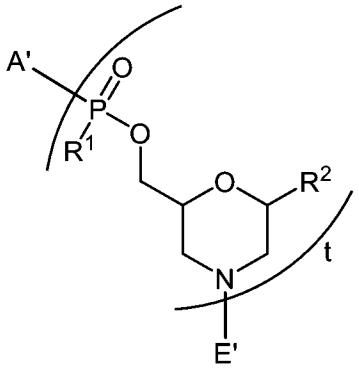
【請求項17】 如請求項1至5中任一項之共軛物，其中除了無鹼基亞單元之外，該靶向序列係與該目標區域100%互補。

【請求項18】 如請求項1至4中任一項之共軛物，其中各個無鹼基亞單元為來自該靶向序列之5’或3’端的至少8個亞單元。

【請求項19】 如請求項1至4中任一項之共軛物，其中該反義寡核苷酸包含1至5個無鹼基亞單元。

【請求項20】 如請求項1至4中任一項或請求項19之共軛物，其中該反義寡核苷酸包含1、2、3或4個無鹼基亞單元。

【請求項21】 如請求項1至20中任一項之共軛物，其中該共軛物為式IV化合物：

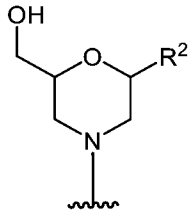


(IV)

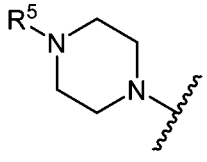
或其醫藥上可接受的鹽，

其中：

A′係選自–N(H)$CH_2C(O)NH_2$、-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



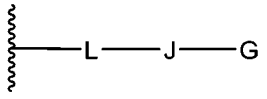
、及



，其中

R^5為-C(O)(O-烷基)$_x$-OH，其中 x 為 3 至 10，且各個烷基基團在每次出現時係獨立地為 C_{2-6}-烷基，

或 R^5係選自 H、-C(O)C_{1-6}-烷基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-(C_{1-6}-雜烷基)-R^6、芳基-R^6、雜芳基-R^6、-C(O)O-(C_{1-6}-烷基)-R^6、-C(O)O-芳基-R^6、-C(O)O-雜芳基-R^6、及



;

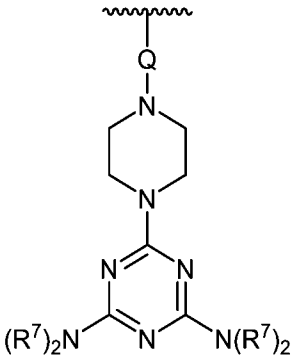
R^6係選自 OH、SH 及 NH_2，或者 R^6為 O、S 或 NH，其各者係共價連接至一固態撐體；

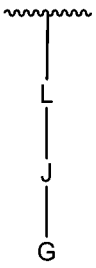
各個 R^1係獨立地選自 OH 及–$N(R^3)(R^4)$，其中各 R^3及 R^4在每次出現時係獨立地為 H 或-C_{1-6}-烷基；

各個 R^2在每次出現時係獨立地選自 H (無鹼基)、核鹼基、及經化學保護基團官能化之核鹼基，其中該核鹼基在每次出現時係獨立地包含選自吡啶、嘧啶、嘌呤及去氮-嘌呤之 C_{3-6}-雜環；

t 為 8 至 40；

E′係選自 H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、



及


；

其中

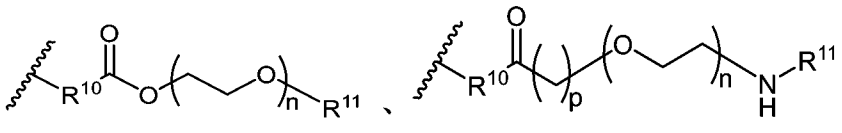
Q 為-C(O)$(CH_2)_6$C(O)-或-C(O)$(CH_2)_2S_2(CH_2)_2$C(O)-；

R^7為-$(CH_2)_2$OC(O)N$(R^8)_2$，其中 R^8為-$(CH_2)_6$NHC(=NH)NH_2；

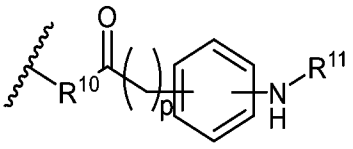
L 係選自甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 或 R^9，其中 L 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；

W 為-C(O)-$(CH_2)_m$-NH-，其中 m 為 2 至 12；

R^9係選自於由以下組成之群：


、

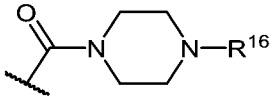
及


；

n 為 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

p 為 2、3、4 或 5；

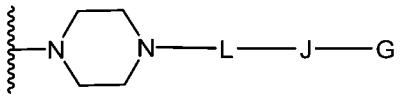
R^{10} 係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W 或 W-W；

R^{11} 係選自於由甘胺酸、脯胺酸、W、W-W 及  組成之群；

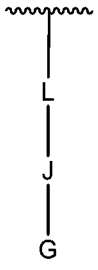
R^{16} 係選自一鍵、甘胺酸、脯胺酸、W 或 W-W；其中 R^{16} 係藉由醯胺鍵共價連接至 J 的 N 端或 C 端；J 為細胞穿透肽；且

G 係選自 H、C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基及硬脂醯基，其中 G 係共價連接至 J；

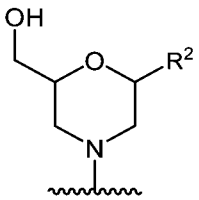
其條件為

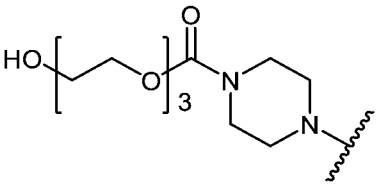
A′為  或 E′為 。

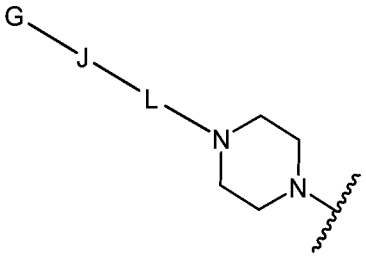
【請求項22】 如請求項21之共軛物，其中E′係選自H、-C_{1-6}-烷基、-C(O)C_{1-6}-烷基、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、三甲氧基三苯甲基、及


。

【請求項23】 如請求項21或22之共軛物，其中A′係選自-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、

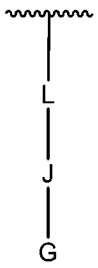


、


、


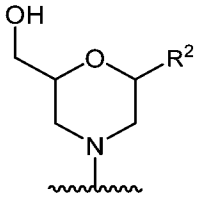
、及。

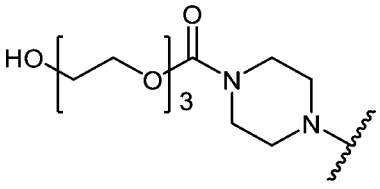
【請求項24】 如請求項21至23中任一項之共軛物，其中E′係選自H、-$C(O)CH_3$、苯甲醯基、硬脂醯基、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、及



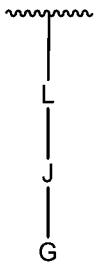
。

【請求項25】 如請求項21至24中任一項之共軛物，其中A′係選自-N(C_{1-6}-烷基)$CH_2C(O)NH_2$、



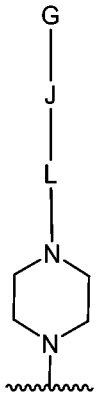
、及


；且

E′為


。

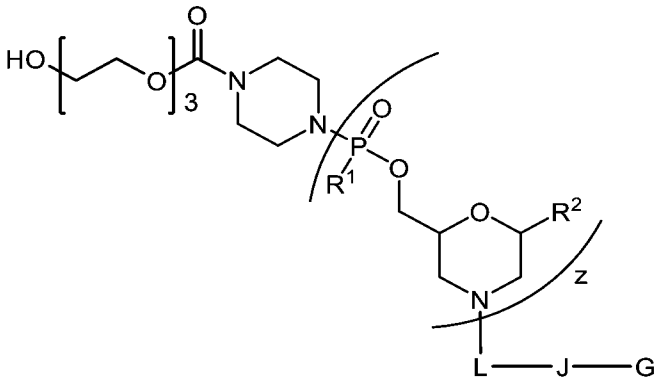
【請求項26】 如請求項21至24中任一項之共軛物，其中A′為



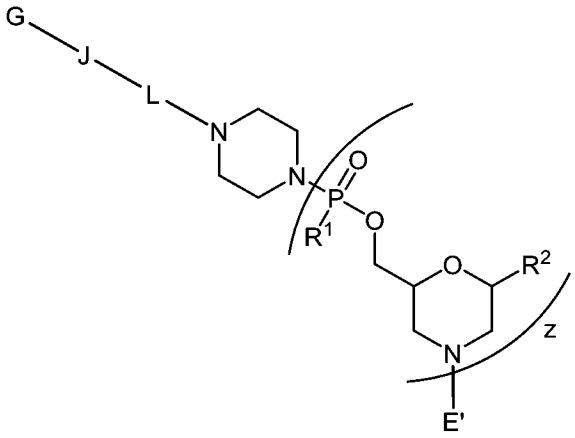
，且

E′係選自 H、-C(O)CH_3、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、苯甲醯基及硬脂醯基。

【請求項27】 如請求項21之共軛物，其中式IV之肽-寡核苷酸共軛物係為選自以下之肽-寡核苷酸共軛物：



(IVa)；及



(IVb)

其中 E′係選自 H、C_{1-6}-烷基、-C(O)CH_3、苯甲醯基及硬脂醯基。

【請求項28】 如請求項21至27中任一項之共軛物，其中該共軛物為式(IVa)。

【請求項29】 如請求項21至27中任一項之共軛物，其中該共軛物為式(IVb)。

【請求項30】 如請求項21至27中任一項之共軛物，其中各個R^1為-$N(CH_3)_2$。

【請求項31】 如請求項21至30中任一項之共軛物，其中各個核鹼基在每次出現時係獨立地選自腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶、5-甲基-胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶及次黃嘌呤。

【請求項32】 如請求項21至31中任一項之共軛物，其中該靶向序列包含以下序列：

i) SEQ ID NO: 4 (CCA GAA GGA AXX XCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 11 (CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG CTC T)；

iii) SEQ ID NO: 12 (ACT CAC XXX XCT CTC AAA GCA GCT C)；

iv) SEQ ID NO: 13 (CAC TCA CXX XXC TCT CAA AGC AGC T)；

v) SEQ ID NO: 14 (GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG CAG C)；

vi) SEQ ID NO: 15 (GCG GCA CTC ACX XXX CTC TCA AAG C)；

vii) SEQ ID NO: 16 (GGC GGC ACT CAC XXX XCT CTC AAA G)；

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

【請求項33】 如請求項21至33中任一項之共軛物，其中該靶向序列包含一選自於由以下組成之群的序列：

i) SEQ ID NO: 5 (CCA GAA GGA AGG BCG AGA AAA GC)；

ii) SEQ ID NO: 6 (CCA GAA GGA AGB GCG AGA AAA GC)；

iii) SEQ ID NO: 7 (CCA GAA GGA ABG GCG AGA AAA GC)；

iv) SEQ ID NO: 8 (CCA GAA GGA AGB BCG AGA AAA GC)；

v) SEQ ID NO: 9 (CCA GAA GGA ABB GCG AGA AAA GC)；

vi) SEQ ID NO: 10 (CCA GAA GGA ABG BCG AGA AAA GC)；

vii) SEQ ID NO: 17 (GCA CTC ACB GGG CTC TCA AAG CAG C)；

viii) SEQ ID NO: 18 (GCA CTC ACG BGG CTC TCA AAG CAG C)；

ix) SEQ ID NO: 19 (GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C)；

x) SEQ ID NO: 20 (GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C)；

xi) SEQ ID NO: 21 (GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C)；

xii) SEQ ID NO: 22 (GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C)；

xiii) SEQ ID NO: 23 (GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C)；及

xiv) SEQ ID NO: 24 (GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G)。

【請求項34】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為甘胺酸。

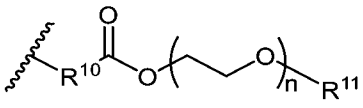
【請求項35】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為脯胺酸。

【請求項36】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為-C(O)-$(CH_2)_5$-NH-。

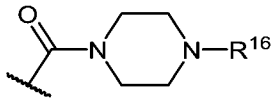
【請求項37】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為-C(O)-$(CH_2)_2$-NH-。

【請求項38】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為-C(O)-$(CH_2)_2$-NH-C(O)-$(CH_2)_5$-NH-。

【請求項39】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為

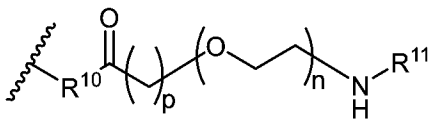


；R^{10}為一鍵；且R^{11}係選自：甘胺酸及

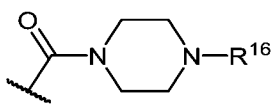


。

【請求項40】如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為

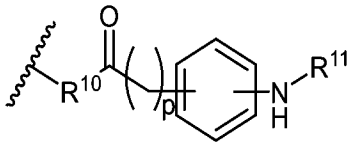


；R^{10}為一鍵；且R^{11}係選自：甘胺酸及

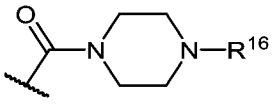


。

【請求項41】 如請求項21至33中任一項之共軛物，其中L為



；

R^{10}為一鍵；且R^{11}係選自：甘胺酸及  。

【請求項42】 如請求項21至39中任一項之共軛物，其中J係選自rTAT、TAT、R_9F_2、$R_5F_2R_4$、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8、R_9、$(RXR)_4$、$(RXR)_5$、$(RXRRBR)_2$、$(RAR)_4F_2$、$(RGR)_4F_2$。

【請求項43】 如請求項21至42中任一項之共軛物，其中G係選自H、$C(O)CH_3$、苯甲醯基及硬脂醯基。

【請求項44】 如請求項21至43中任一項之共軛物，其中G為H或-$C(O)CH_3$。

【請求項45】 如請求項21至44中任一項之共軛物，其中G為H。

【請求項46】 如請求項21至44中任一項之共軛物，其中G為-$C(O)CH_3$。

【請求項47】 一種醫藥組成物，其包含如請求項1至46中任一項之共軛物或其醫藥上可接受的鹽，以及至少一醫藥上可接受的載劑。

【請求項48】 一種治療有需要之個體之疾病的方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之如請求項1至46中任一項之共軛物或如請求項47之醫藥組成物。

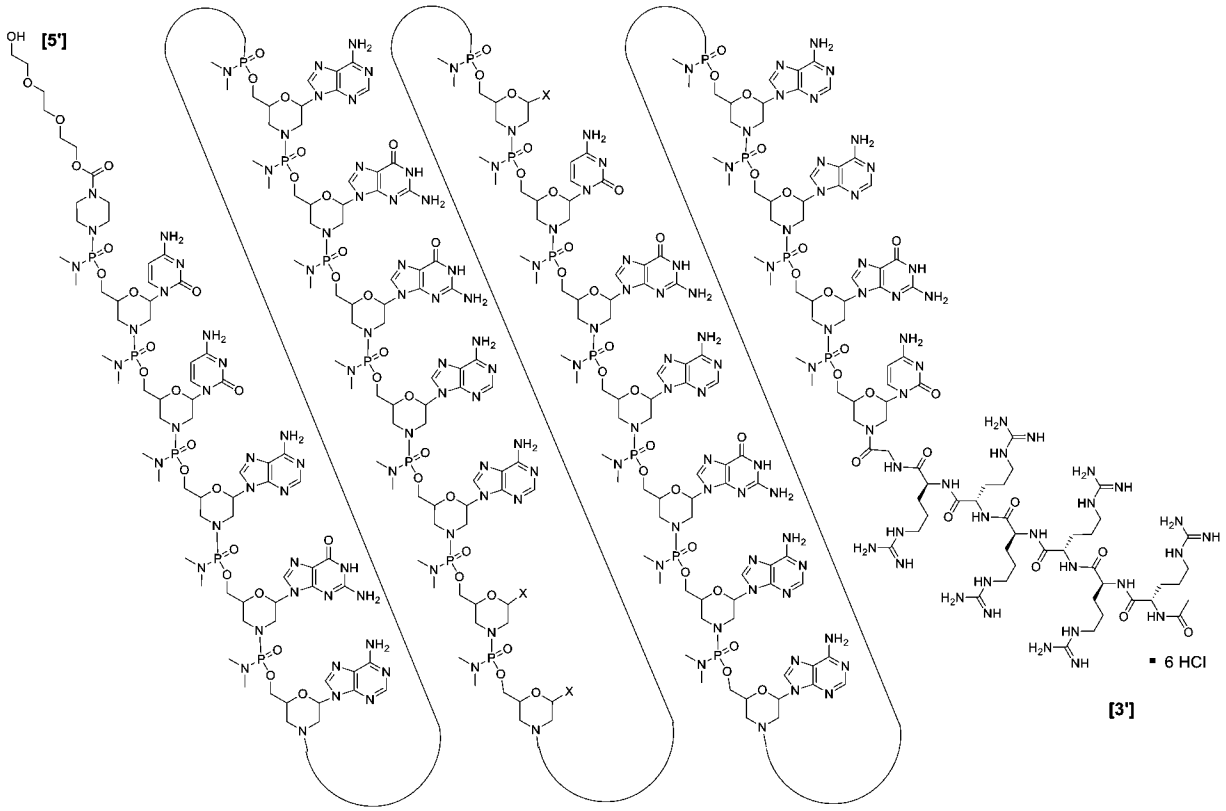
【請求項49】 如請求項48之方法，其中該疾病為龐貝症。

【請求項50】 如請求項48之方法，其中該個體為人類。

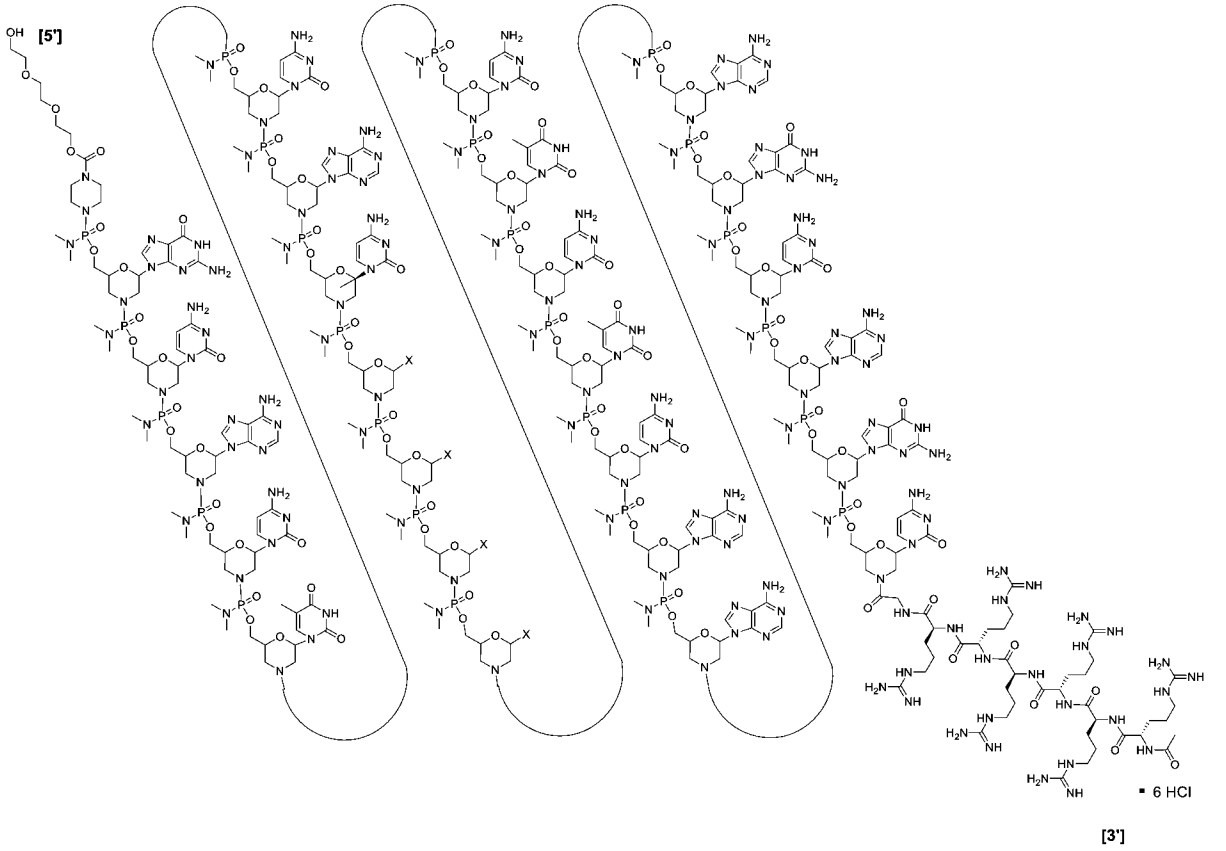
【請求項51】 如請求項50之方法，其中該個體為兒童。

【請求項52】 如請求項50之方法，其中該個體為成人。

【請求項53】 一種反義寡聚物化合物，其係選自：



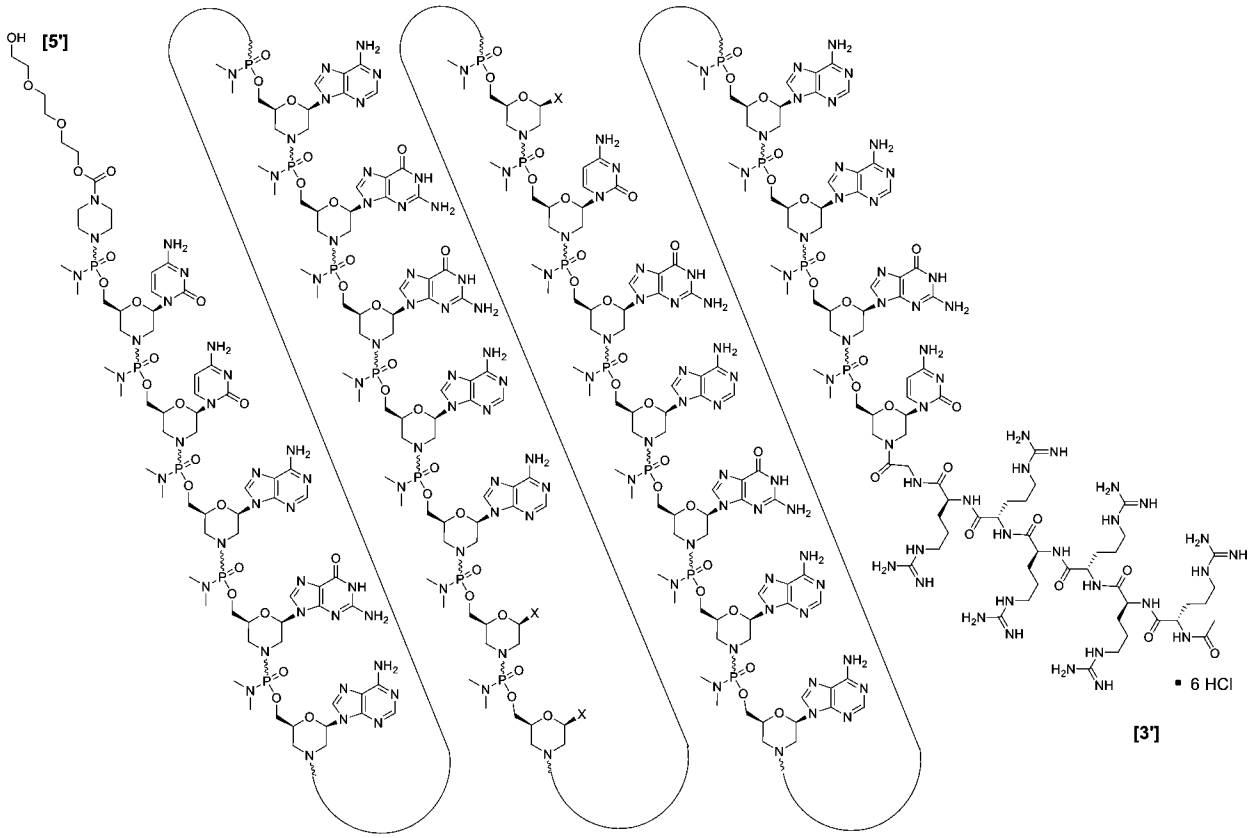
(Va)　　；及



(Vc)

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

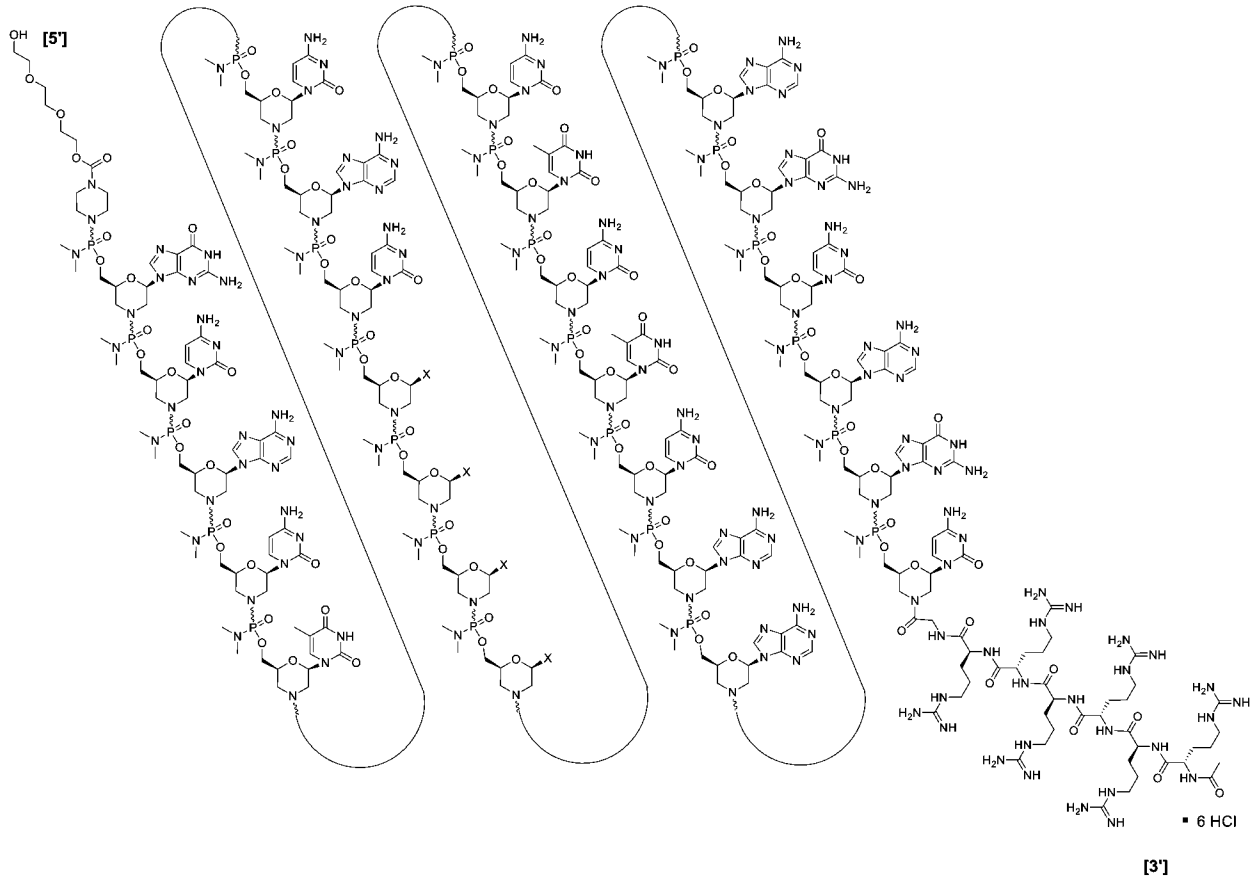
【請求項54】如請求項53之反義寡聚物化合物，其中該反應寡聚物化合物為：



(Vb)

其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

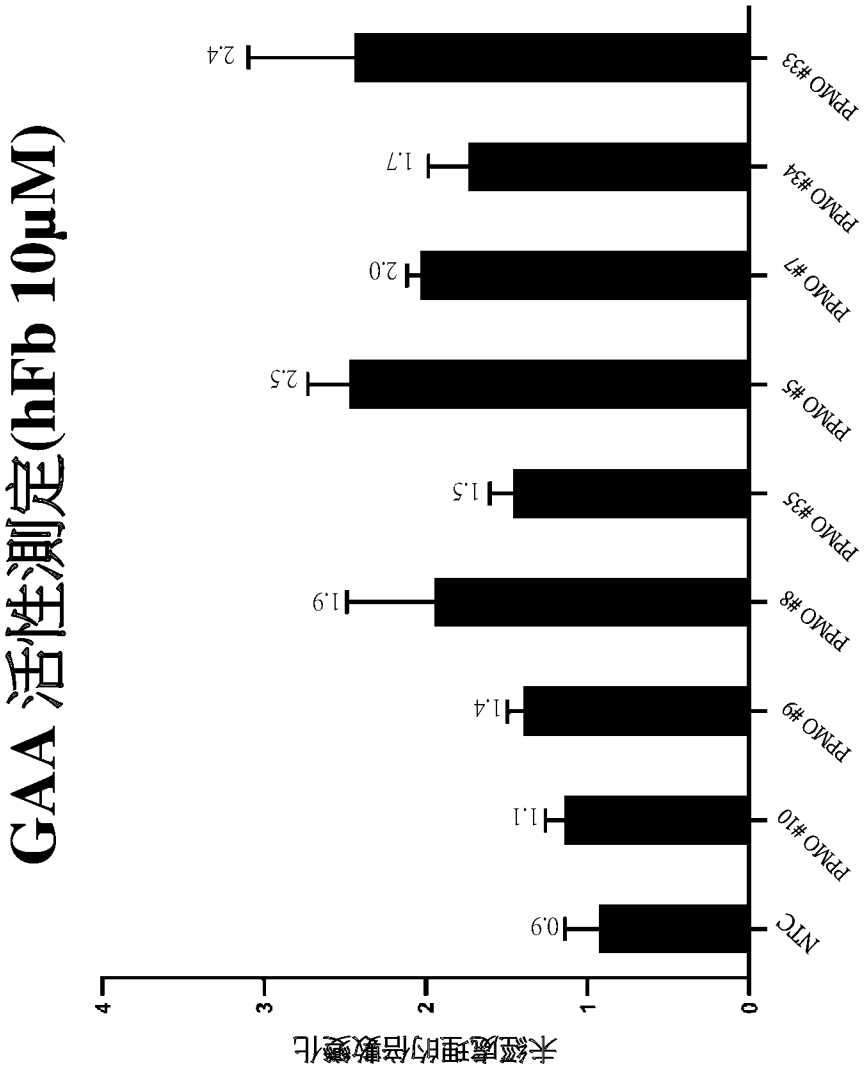
【請求項55】如請求項53之反義寡聚物化合物，其中該反應寡聚物化合物為：



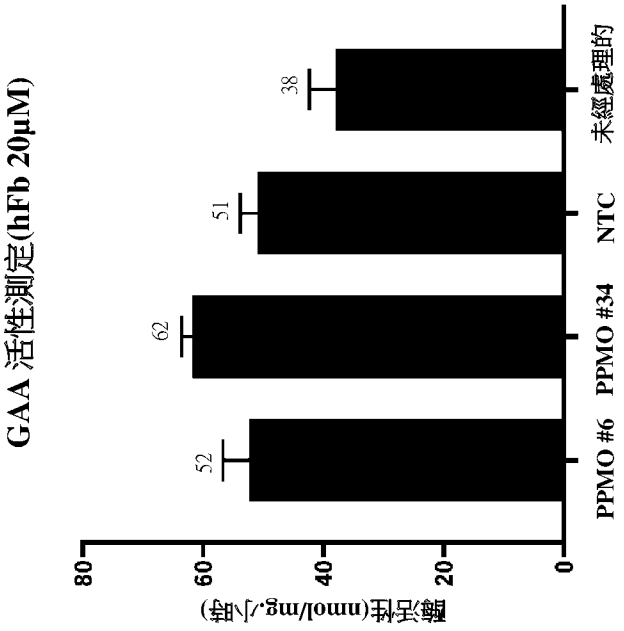
其中各個 X 係獨立地選自鳥糞嘌呤(G)或是無鹼基(B)，其中至少一個 X 為 B。

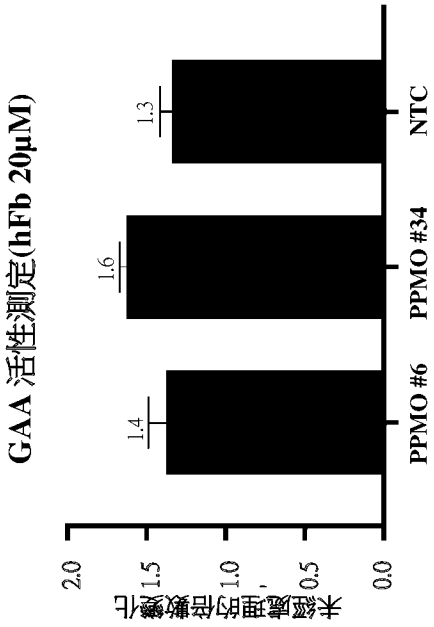
在一實施例中，B 為 H。

【發明圖式】

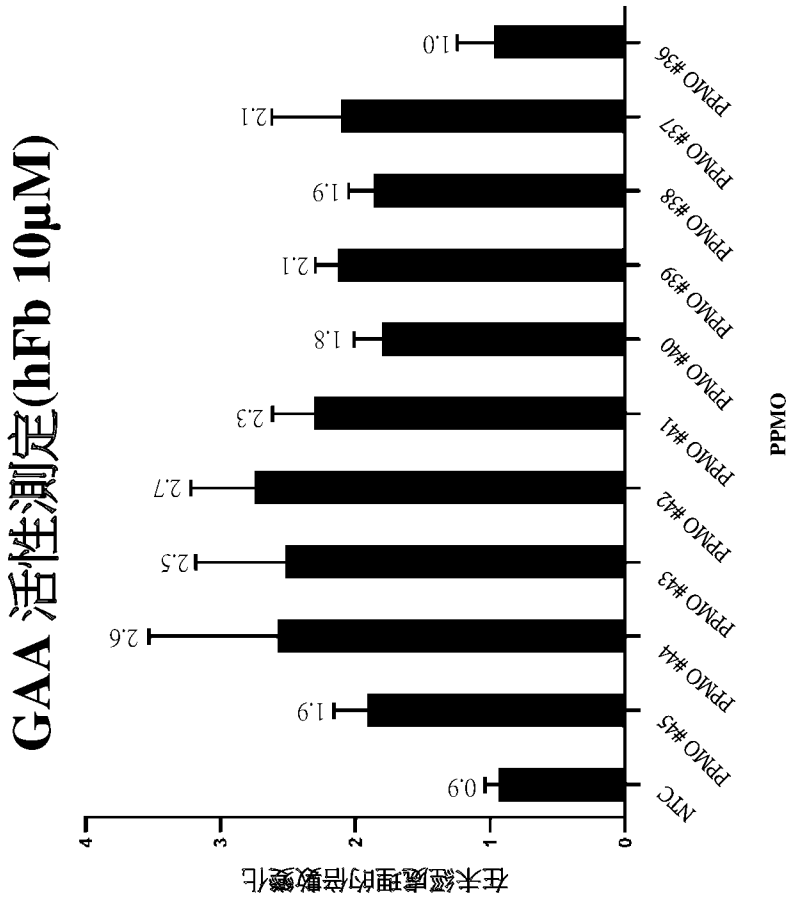

GAA 活性測定(hFb 10μM)
未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
NTC
PPMO #10
PPMO #9
PPMO #8
PPMO #35
PPMO #5
PPMO #7
PPMO #34
PPMO #33
0.9
1.1
1.4
1.9
1.5
2.5
2.0
1.7
2.4

【圖 1】


GAA 活性測定(hFb 20μM)
酶活性(nmol/mg./小時)
0
20
40
60
80
52
62
51
38
PPMO #6
PPMO #34
NTC
未經處理的


GAA 活性測定(hFb 20μM)
未經處理的倍數變化
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
1.4
1.6
1.3
PPMO #6
PPMO #34
NTC

【圖 2】


GAA 活性測定(hFb 10μM)
在未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
0.9
1.9
2.6
2.5
2.7
2.3
1.8
2.1
1.9
2.1
1.0
NTC
PPMO #45
PPMO #44
PPMO #43
PPMO #42
PPMO #41
PPMO #40
PPMO #39
PPMO #38
PPMO #37
PPMO #36
PPMO

【圖 3】

【圖4】

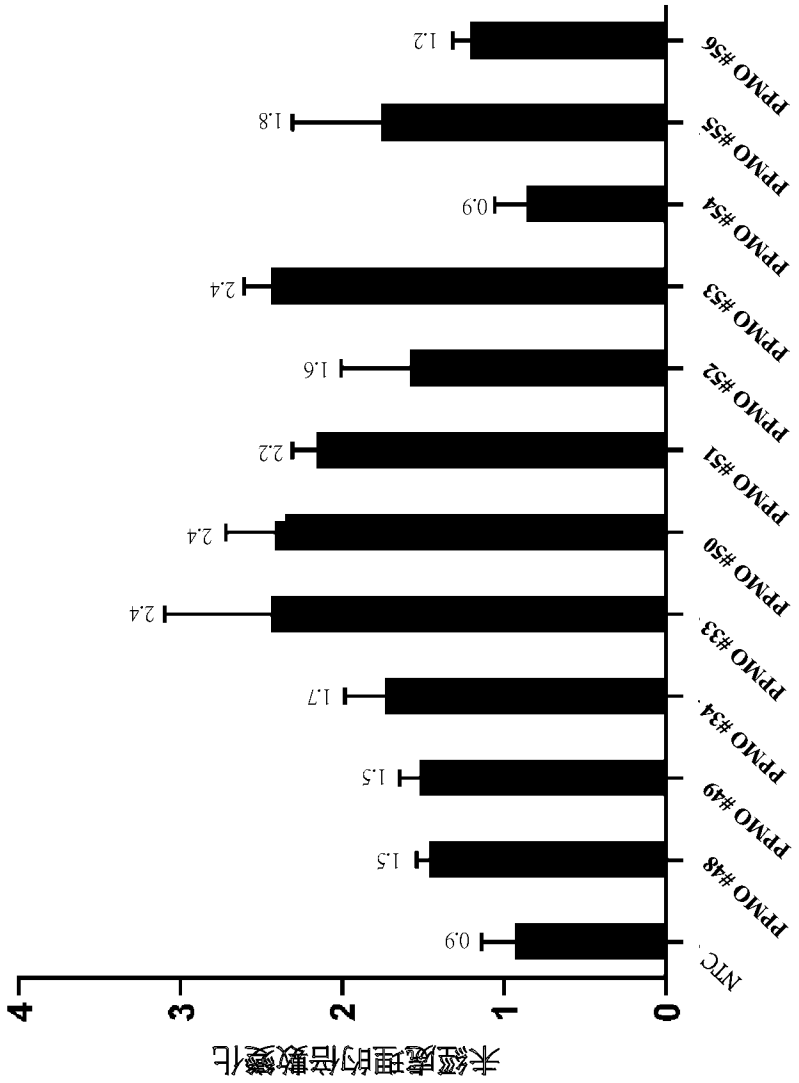
GAA 空洞蝕刻(aT₂ 20 nm)

【圖4A】

【圖3】

GAA PCR 蝕刻
後，自 EPSC 移入 30 nm

【圖3A】


未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
NTC
PPMO #48
PPMO #49
PPMO #34
PPMO #33
PPMO #50
PPMO #51
PPMO #52
PPMO #53
PPMO #54
PPMO #55
PPMO #56
0.9
1.5
1.5
1.7
2.4
2.4
2.2
1.6
2.4
0.9
1.8
1.2

【圖5】

PPO #33
PPO #8
PPO #5
PPO #7
GAA 定位算法
(LOPC 3D)
CVC 模型 OVEP
CVC 模型 OVEP
CVC 模型 OVEP
CVC 模型 OVEP

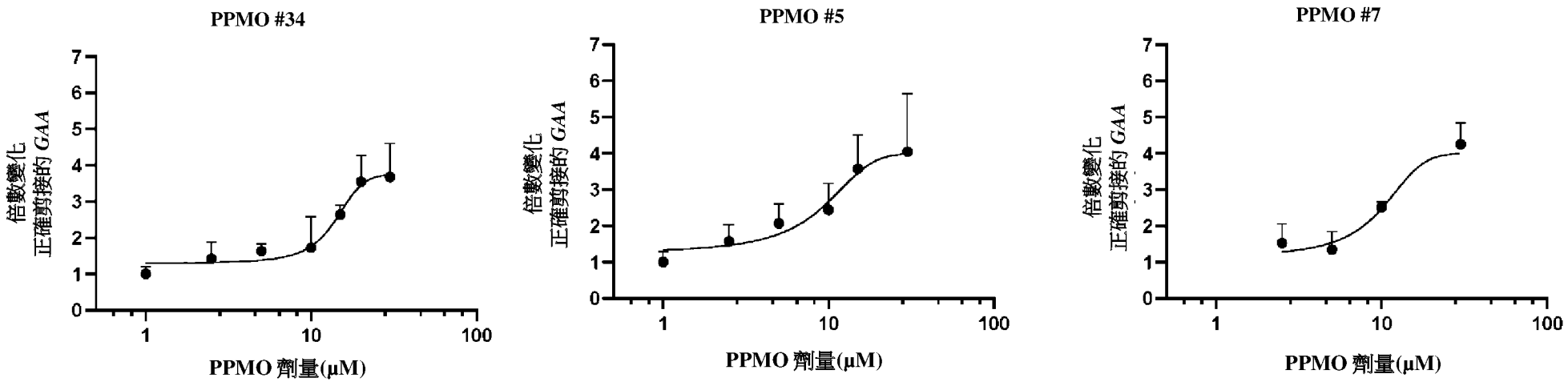
圖 6

GAA qPCR
LOD: 2.5 cells/mL
Level #7
GAA 拷貝數/mL
Cells/mL (Log)
2.5
GAA qPCR
LOD: 2.5 cells/mL
Level #5
GAA 拷貝數/mL
Cells/mL (Log)
2.5
GAA qPCR
LOD: 2.5 cells/mL
Level #7
GAA 拷貝數/mL
Cells/mL (Log)
2.5

圖 17

111137310
C250891DA.pdf
表單編號 A0202
第8頁，共12頁（發明專利）
112302060 4-0

正確剪接的 *GAA* qPCR (LOPD iPSC 肌小管)



【圖 8】

GAA 基主
(OFF-PSC 加入量，30 mV)
關閉 GAA 組門
開啟 GAA 組門
關閉率 (%)
200%
100%
0%
PPMO #2
半導體區的
絕緣物

GAA 基主 (PSC 加入量，20 mV)
關閉 GAA 組門
開啟 GAA 組門
關閉率 (%)
200%
100%
0%
PPMO #1
PPMO #3
NTC
半導體區的
絕緣物

圖 6

PPMO 12
PPMO 13
NTC
未經修飾的
3.8
2.5
3.7
3.9
熱量 (cal/g)

圖 6

PPMO #15
PPMO #12
未經修飾的
NTC
裸肽物
80%
70%
20%
80%
80%
80%
70%
80%
80%
0%
20%
40%
60%
80%
100%
細胞存活率 (%)

GAA 觸媒性能
（比較例1）
7nm GAA
GAA 觸媒 GAA

GAA 觸媒性能
（本發明的觸媒實施例）
5nm GAA
GAA 觸媒 GAA

GAA 觸媒性能
（本發明的觸媒實施例）
3nm GAA
GAA 觸媒 GAA

圖 7

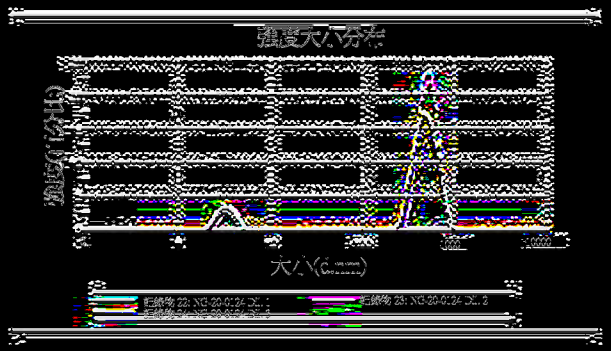
C9869UVA.pdf
111/310
修訂稿 A0202
第 121 頁，共 121 頁 QP-MKT-Q
112020804-0
2023/3/95

PPMO #33

結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	559.2	波峰 1:	514.2	91.1	103.7
PdI:	0.391	波峰 2:	3.214	8.9	0.5291
截距：	0.783	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

結果品質：參考品質報告

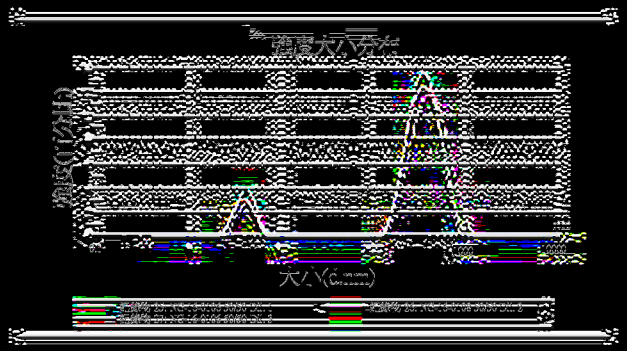


PPMO #34

結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	159.1	波峰 1:	369.9	86.9	128.5
PdI:	0.862	波峰 2:	4.253	13.1	0.7256
截距：	0.742	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

結果品質：參考品質報告

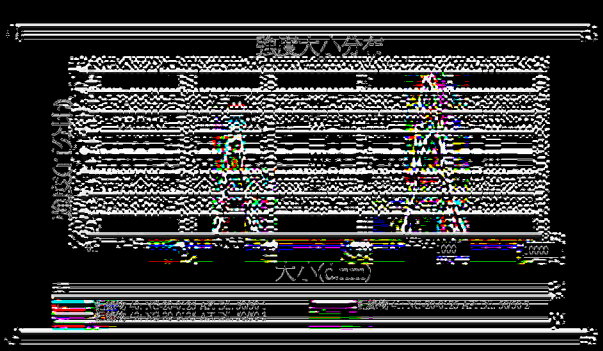


PPMO #7

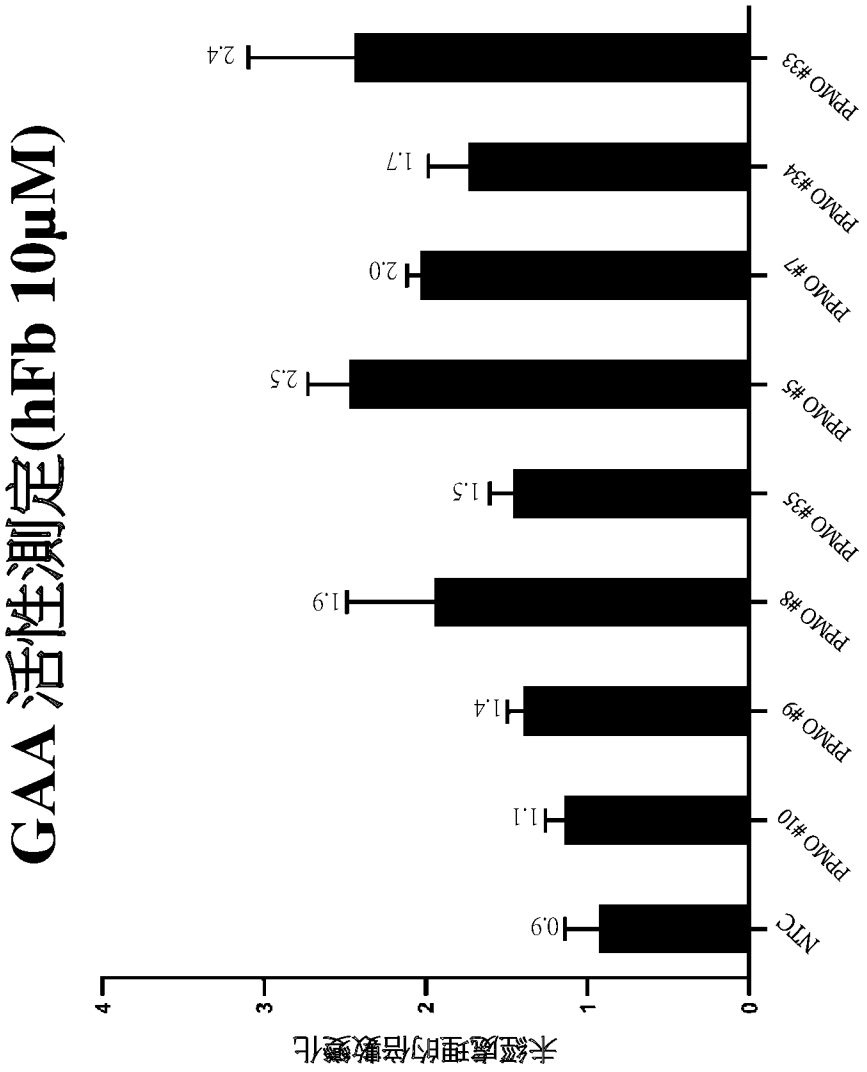
結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	97.72	波峰 1:	668.1	57.7	208.9
PdI:	0.564	波峰 2:	4.062	42.3	0.8453
截距：	0.581	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

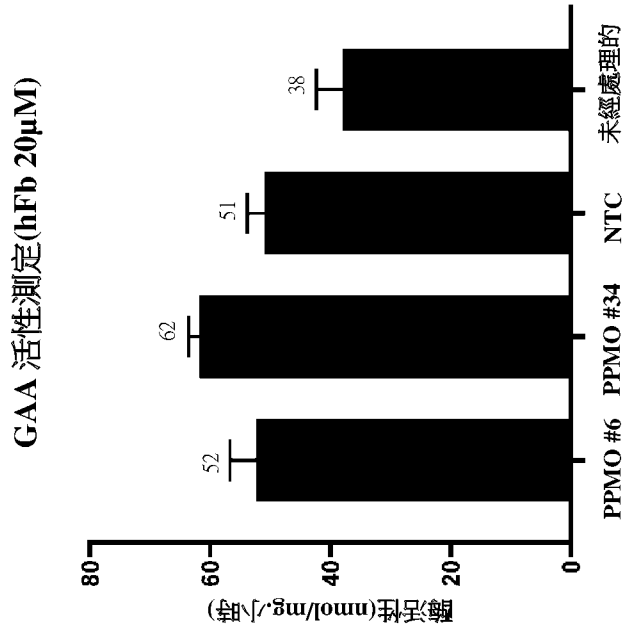
結果品質：參考品質報告



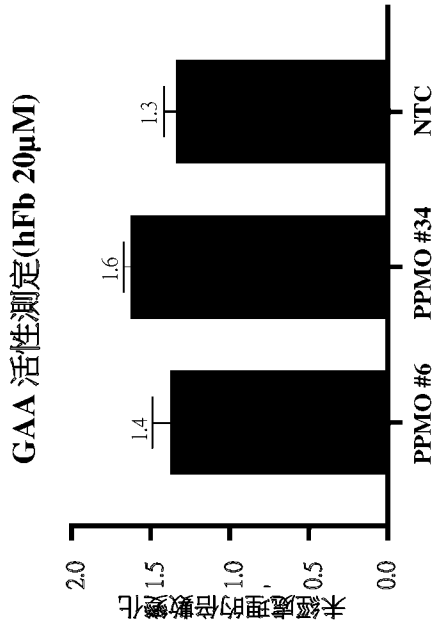
【發明圖式】


GAA 活性測定(hFb 10μM)
未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
NTC
PPMO #10
PPMO #9
PPMO #8
PPMO #35
PPMO #5
PPMO #7
PPMO #34
PPMO #33
0.9
1.1
1.4
1.9
1.5
2.5
2.0
1.7
2.4

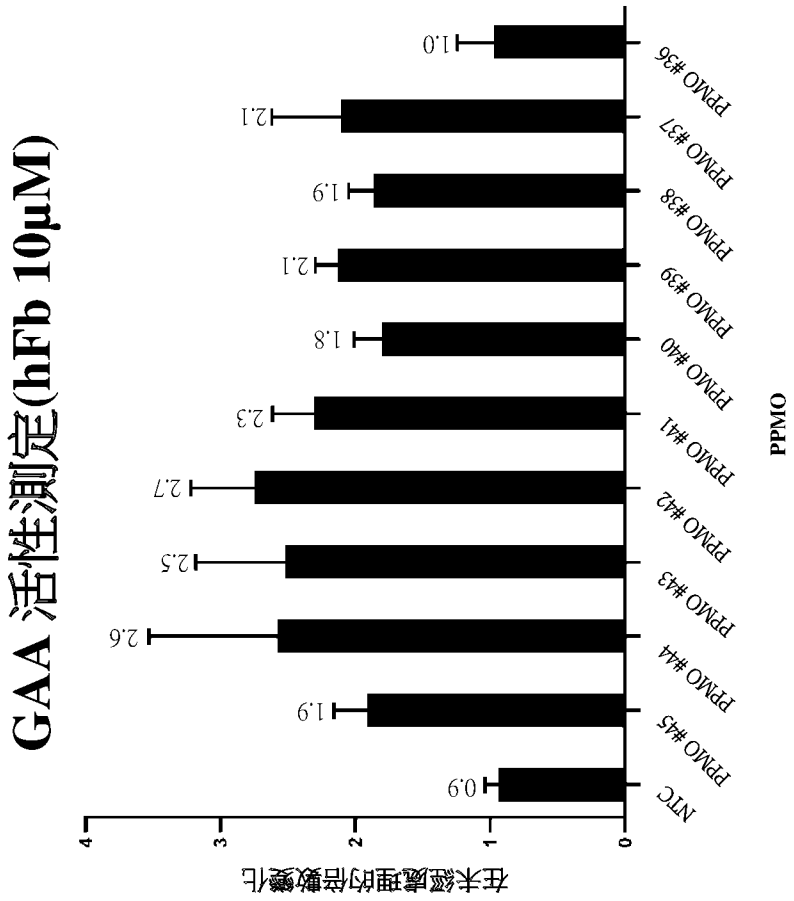
【圖 1】


GAA 活性測定(hFb 20μM)
酶活性(nmol/mg./小時)
0
20
40
60
80
52
62
51
38
PPMO #6
PPMO #34
NTC
未經處理的

【圖 2A】


GAA 活性測定(hFb 20μM)
未經處理的倍數變化
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
1.4
1.6
1.3
PPMO #6
PPMO #34
NTC

【圖 2B】


GAA 活性測定(hFb 10μM)
在未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
0.9
1.9
2.6
2.5
2.7
2.3
1.8
2.1
1.9
2.1
1.0
NTC
PPMO #45
PPMO #44
PPMO #43
PPMO #42
PPMO #41
PPMO #40
PPMO #39
PPMO #38
PPMO #37
PPMO #36
PPMO

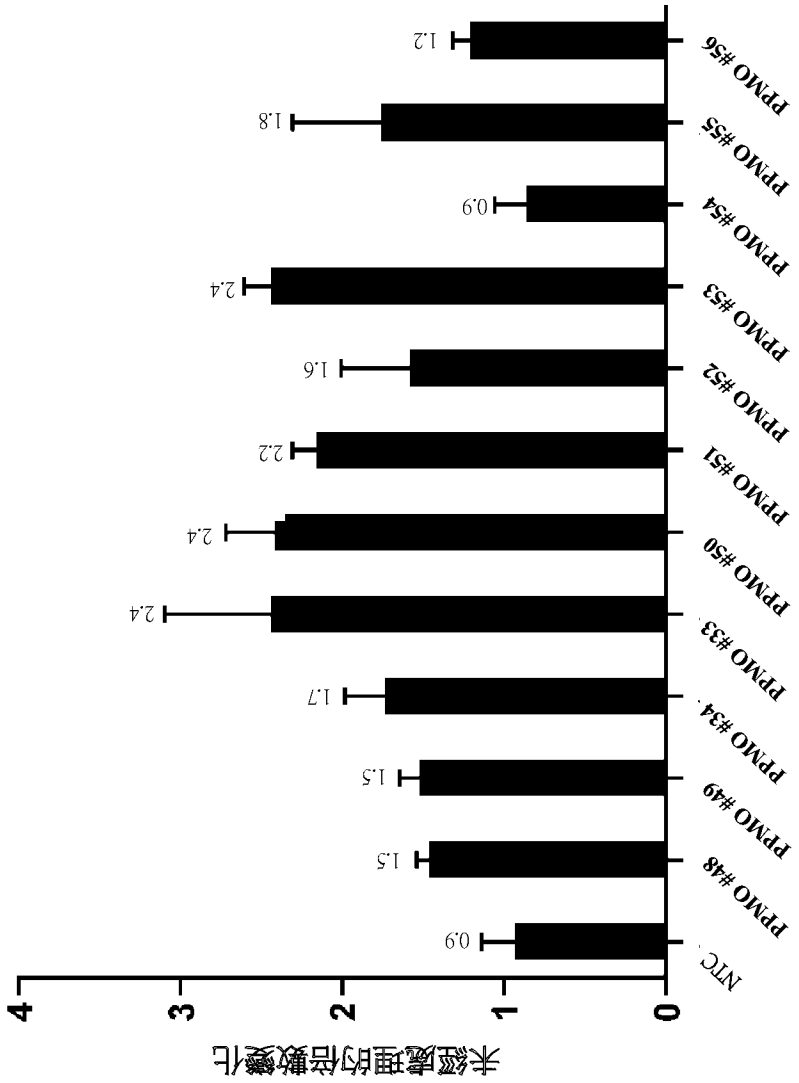
【圖3】

【圖4B】

GAA PCR測定
第三態 EPSC 訪入 30 mV

【圖4A】

GAA 定量測定(at 20 mV)


未經處理的倍數變化
0
1
2
3
4
NTC
0.9
PPMO #48
1.5
PPMO #49
1.5
PPMO #34
1.7
PPMO #33
2.4
PPMO #50
2.4
PPMO #51
2.2
PPMO #52
1.6
PPMO #53
2.4
PPMO #54
0.9
PPMO #55
1.8
PPMO #56
1.2

【圖5】

GAA 定位模式
(LOCATE)
PEVO # 7
CVC 模式 OVER
GAA 定位模式
(LOCATE)
PEVO # 5
CVC 模式 OVER
GAA 定位模式
(LOCATE)
PEVO # 3
CVC 模式 OVER
GAA 定位模式
(LOCATE)
PEVO # 1
CVC 模式 OVER

圖 6

GAA qPCR
LOD: 2.5 copies/mL
Exo #7
GAA 拷貝數/mL
Exo 濃度 (μg/mL)
0
2.5
5
10
20
40
80

GAA qPCR
LOD: 2.5 copies/mL
Exo #5
GAA 拷貝數/mL
Exo 濃度 (μg/mL)
0
2.5
5
10
20
40
80

GAA qPCR
LOD: 2.5 copies/mL
Exo #7
GAA 拷貝數/mL
Exo 濃度 (μg/mL)
0
2.5
5
10
20
40
80

圖 17

正確剪接的 GAA qPCR (LOPD iPSC 肌小管)
PPMO #34
PPMO #5
PPMO #7
倍數變化
正確剪接的 GAA
PPMO 劑量(μM)
0
1
2
3
4
5
6
7
1
10
100

【圖 8】

GAA 基主
(OCD:PSC 為1/1倍，30nm)
閘極 GAA 結構
PMOS 4%
半導體區的
NTC
PPMO #3
PPMO #4
閘極 GAA 結構
半導體區的
NTC
PPMO #3
PPMO #4
PPMO #5
半導體區的
NTC
PPMO #1
PPMO #2
閘極 GAA 結構
GAA 基主 (PSC 為1/1倍，20nm)

第 6 圖

圖 6A

PPMO #15
PPMO #12
未經處理的
NTC
神經節
100%
40%
20%
100%
100%
100

（圖7）

CAA 驗證件
（上緣次線附著物檢驗位）
S# CAA1
CAA1 感測器
CAA1 感測器
CAA 驗證件
（下緣附著物檢驗位）
7# CAA1
CAA1 感測器
CAA 驗證件
（上緣與側附著物檢驗位）
1# CAA1
CAA1 感測器

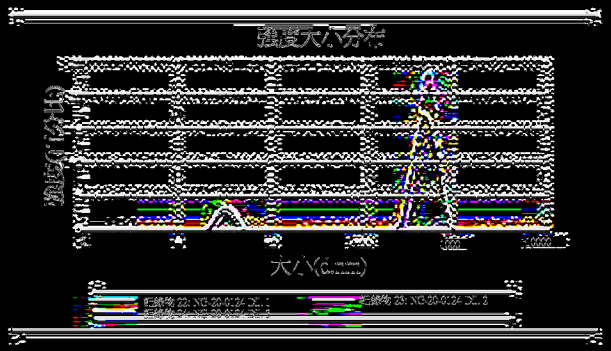
C25869DB3E2B3631C.pdf
111/310
修正後 AO202
第 121 頁，共 121 頁 DMQ
1121838045-0
2023/3/05 11:21:38 版權所有

PPMO #33

結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	559.2	波峰 1:	514.2	91.1	103.7
PdI:	0.391	波峰 2:	3.214	8.9	0.5291
截距：	0.783	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

結果主質: 參考主質報告

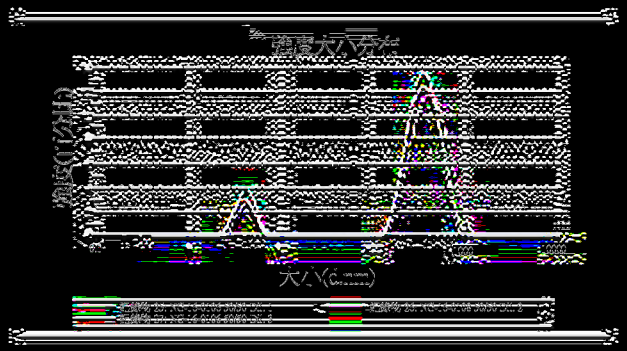


PPMO #34

結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	159.1	波峰 1:	369.9	86.9	128.5
PdI:	0.862	波峰 2:	4.253	13.1	0.7256
截距：	0.742	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

結果主質: 參考主質報告



PPMO #7

結果

		大小 (c...):	%強度:	標準差 (c...:
Z 平均值 (c...):	97.72	波峰 1:	668.1	57.7	208.9
PdI:	0.564	波峰 2:	4.062	42.3	0.8453
截距：	0.581	波峰 3:	0.000	0.0	0.000

結果主質: 參考主質報告