



(10) 授权公告号 CN 113699151 B

(45) 授权公告日 2024. 01. 19

(21) 申请号 202111067660.8

(22) 申请日 2015.11.10

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113699151 A

(43) 申请公布日 2021.11.26

(30) 优先权数据
62/077,672 2014.11.10 US
62/077,799 2014.11.10 US
62/137,464 2015.03.24 US

(62) 分案原申请数据
201580072874.0 2015.11.10

(73) 专利权人 阿尔尼拉姆医药品有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 G·辛克尔 L·塞普-洛伦奇诺
V·贾达夫 M·迈尔
S·米尔斯泰恩 M·玛诺哈兰
K·G·拉杰夫

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

专利代理师 陈文平 徐志明

(51) Int.Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101426912 A, 2009.05.06
CN 101077883 A, 2007.11.28
US 2011257080 A1, 2011.10.20
CN 103635576 A, 2014.03.12
CN 101979553 A, 2011.02.23
Yong Chen等.RNAi for Treating
Hepatitis B Viral
Infection.PHARMACEUTICAL RESEARCH.第25卷
(第1期), 72-86.

审查员 王斯奇

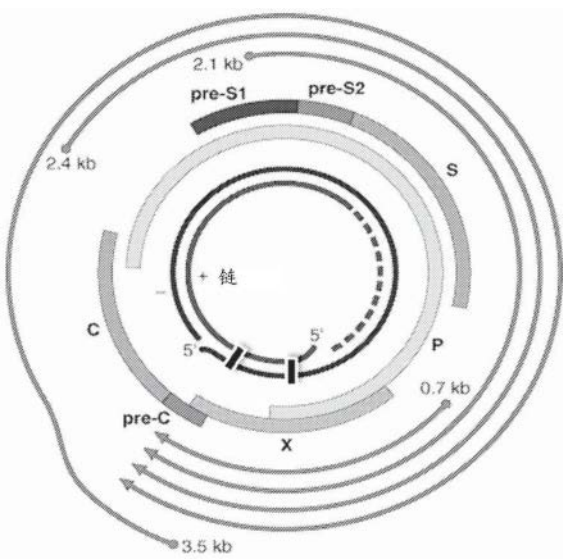
权利要求书8页 说明书201页
序列表388页 附图8页

(54) 发明名称

B型肝炎病毒 (HBV) iRNA组合物及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及靶向B型肝炎病毒 (HBV) 基因组的RNAi剂, 例如: 双链RNAi剂, 及使用这些RNAi剂抑制一种或多种HBV基因表达的方法及治疗患有HBV感染和/或HBV-相关病症 (例如: 慢性B型肝炎感染) 的受试者的方法。



1. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的双链RNAi剂, 该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11) 且该正义链的长度不超过21个核苷酸, 该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12) 且该反义链的长度不超过23个核苷酸,

其中该正义链所有核苷酸及该反义链所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

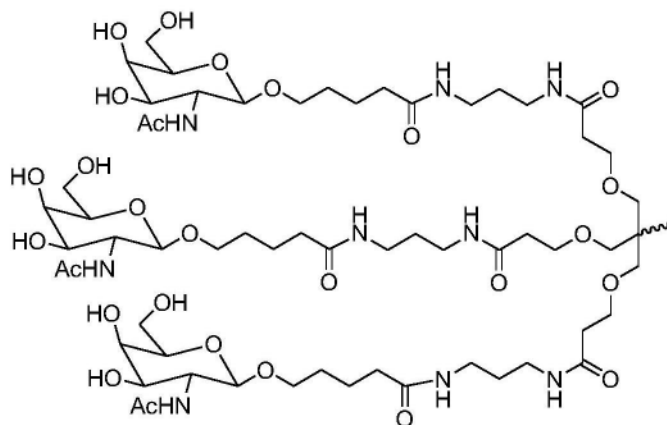
其中该正义链与配体缀合, 该配体通过二价或三价的分支键联体在3'-末端附接于所述正义链, 且

其中该配体为一种或多种GalNAc衍生物。

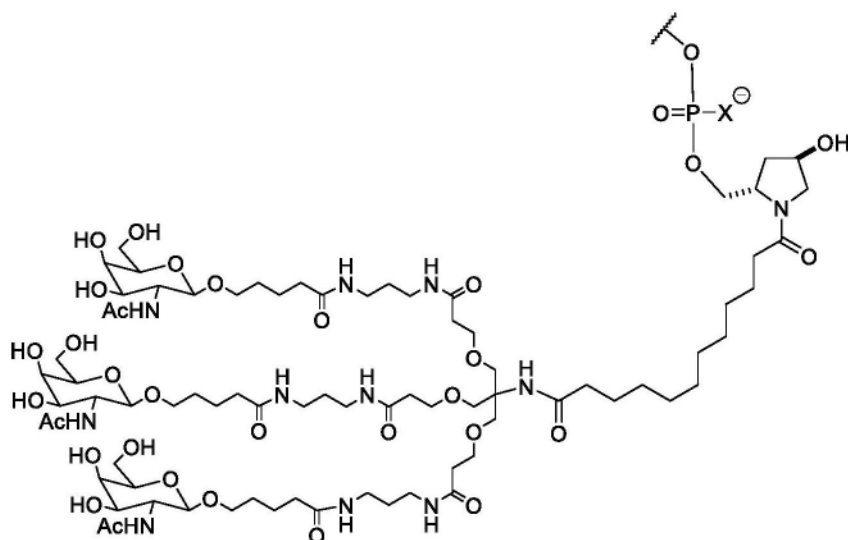
2. 如权利要求1所述的双链RNAi剂, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基膦酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

3. 如权利要求1所述的双链RNAi剂, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是2'-O-烷基-修饰的核苷酸。

4. 如权利要求1所述的双链RNAi剂, 其中该配体为



5. 如权利要求1所述的双链RNAi剂, 其中利用二价或三价的分支键联体附接的该配体为



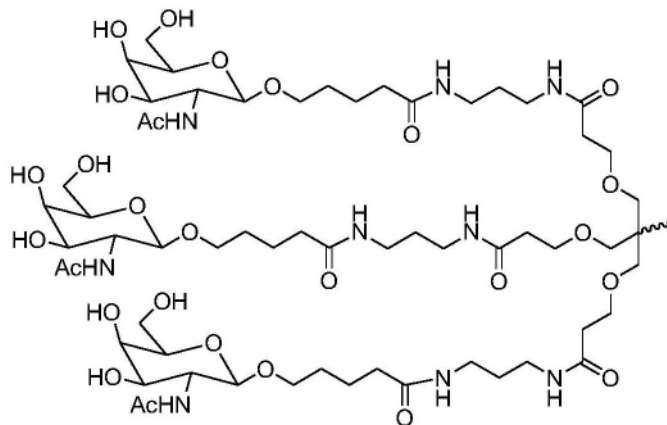
其中X为O或S。

6. 如权利要求1所述的双链RNAi剂,其中至少一个该经修饰的核苷酸是2'-O-甲基修饰的核苷酸。

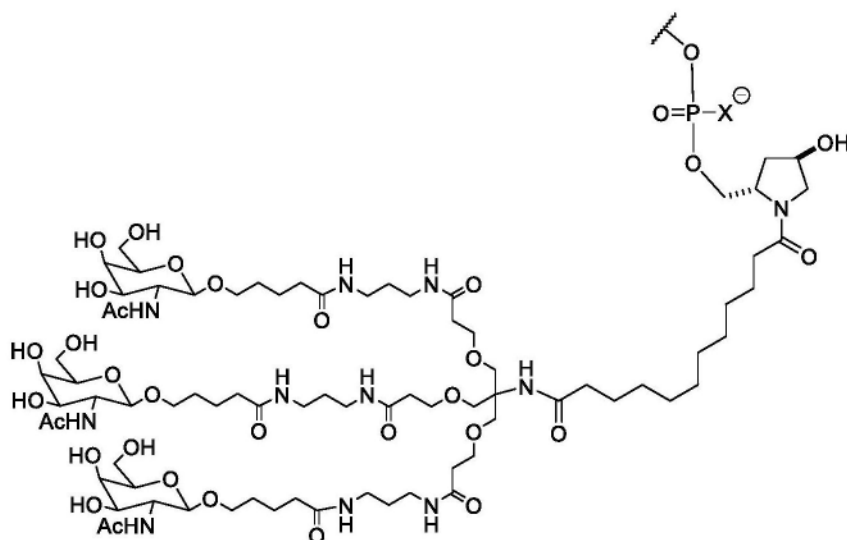
7. 如权利要求1所述的双链RNAi剂,其中该正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID NO:25)的核苷酸序列及该反义链包含5'-u sAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26)的核苷酸序列,

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U;且s为硫代磷酸酯键联基。

8. 如权利要求7所述的双链RNAi剂,其中该配体为



9. 如权利要求7所述的双链RNAi剂,其中利用二价或三价的分支键联体附接的该配体为



其中X为0或S。

10. 如权利要求1所述的双链RNAi剂,其中该正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaL96-3' (SEQ ID NO:994)的核苷酸序列及反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfGufccaccsasc-3' (SEQ ID NO:1023)的核苷酸序列,

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U; s为硫代磷酸酯键联基;且L96为N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基]-4-羟基脯氨酸。

11. 如权利要求1所述的双链RNAi剂,其中该正义链由5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaL96-3' (SEQ ID NO:994)组成及反义链由5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfGufccaccsasc-3' (SEQ ID NO:1023)组成,

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U; s为硫代磷酸酯键联基;且L96为N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基]-4-羟基脯氨酸。

12. 一种药物组合物,其包含权利要求1-11中任一项所述的双链RNAi剂和医药上可接受的载剂。

13. 一种药物组合物,其包含权利要求7所述的双链RNAi剂和医药上可接受的载剂。

14. 一种药物组合物,其包含权利要求9所述的双链RNAi剂和医药上可接受的载剂。

15. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的药物组合物,其包含:

(a) 权利要求1所述的双链RNAi剂;和

(b) 包含形成双链区的第二正义链与第二反义链的第二双链RNAi剂,

其中该第二正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39)且该第二正义链的长度不超过21个核苷酸,及该第二反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40)且该第二反义链的长度不超过23个核苷酸,

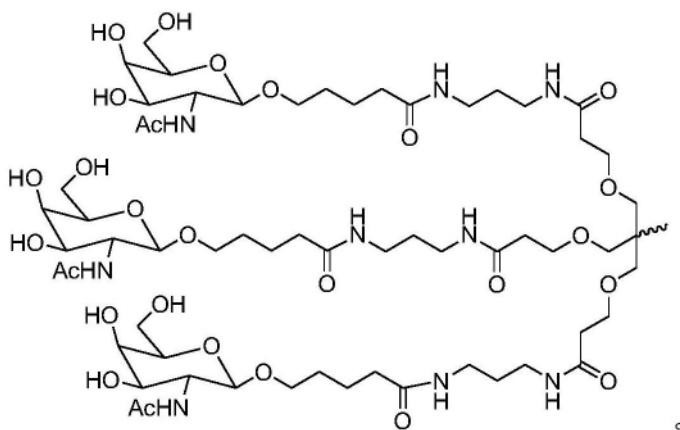
其中该第二正义链所有核苷酸及该第二反义链所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

其中该第二正义链与第二配体缀合,该第二配体通过二价或三价的分支键联体在3'-末端附接于所述第二正义链,且

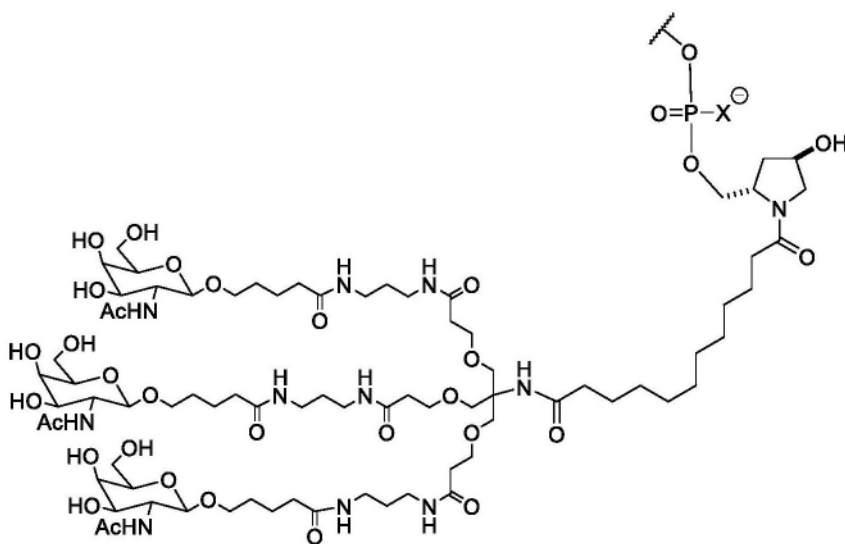
其中该第二配体为一种或多种GalNAc衍生物;和

(c) 医药上可接受的载剂。

16. 如权利要求15所述的药物组合物,其中与所述第二正义链缀合的该第二配体为



17. 如权利要求15所述的药物组合物,其中利用二价或三价的分支键联体附接的该第二配体为



其中X为O或S。

18. 如权利要求15所述的药物组合物,其中

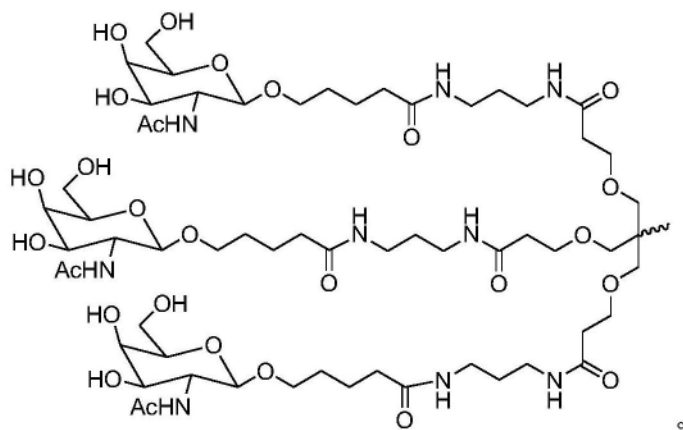
(a) 权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该正义链包含5'-

gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID NO:25) 及权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26); 且

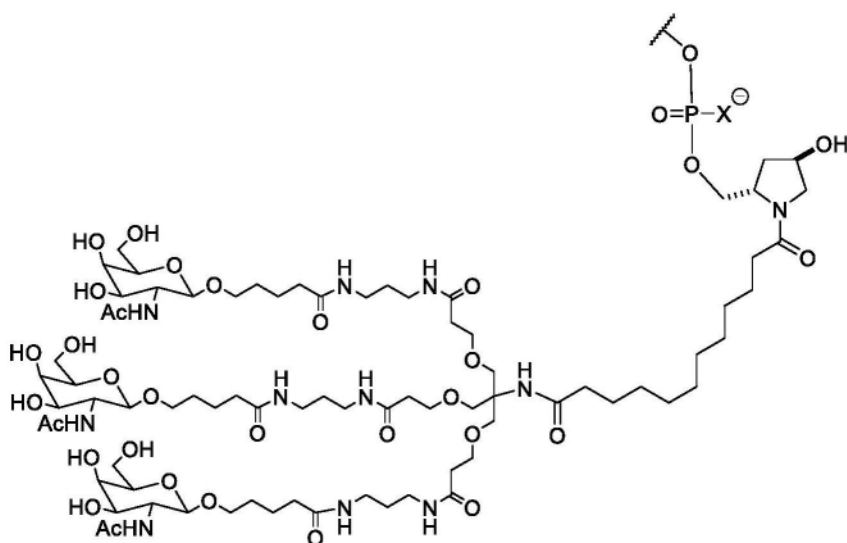
(b) 该第二正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41) 及该第二反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42);

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

19. 如权利要求18所述的药物组合物,其中权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该配体和所述第二配体各自为



20. 如权利要求18所述的药物组合物,其中权利要求1中的所述双链RNAi剂中利用二价或三价的分支键联体附接的该配体和利用二价或三价的分支键联体附接的所述第二配体各自为



其中X为O或S。

21. 如权利要求15所述的药物组合物,其中

(a) 权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuuL96-3' (SEQ ID NO:994) 及权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该反义链包含5'-u sAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:1023); 且

(b) 该第二正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcucacaL96-3' (SEQ ID NO:1275) 及该第二反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:1285);

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U; s为硫代磷酸酯键联基; 且L96为N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基]-4-羟基脯氨酸。

22. 如权利要求15所述的药物组合物,其中

(a) 权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该正义链由5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuL96-3' (SEQ ID NO:994) 组成及权利要求1中的所述双链RNAi剂中的该反义链由5'-u sAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:1023) 组成; 且

(b) 该第二正义链由5'-gsusguGfcAfCfUfucgcucacaL96-3' (SEQ ID NO:1275) 组成及

该第二反义链由5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:1285) 组成;

其中a、g、c与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U; Af、Cf、Gf和Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U; s为硫代磷酸酯键联基; 且L96为N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基]-4-羟基脯氨酸。

23. 一种在体外抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)基因表达和/或HBV复制的方法, 该方法包括:

(a) 使所述细胞与权利要求1-11中任一项所述的双链RNAi剂接触; 和

(b) 维持步骤(a)中所产生的细胞一段足以获得HBV基因的mRNA转录本降解的时间, 借以抑制所述细胞中该HBV基因的表达和/或HBV的复制。

24. 如权利要求23所述的方法, 其中所述HBV基因表达受到抑制至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%或100%。

25. 如权利要求1-11中任一项所述的双链RNAi剂在制备用于减少感染HBV的受试者的B型肝炎病毒(HBV)的病毒量的药物中的用途。

26. 如权利要求12所述的药物组合物在制备用于减少感染HBV的受试者的B型肝炎病毒(HBV)的病毒量的药物中的用途。

27. 如权利要求15-22中任一项所述的药物组合物在制备用于减少感染HBV的受试者的B型肝炎病毒(HBV)的病毒量的药物中的用途。

28. 如权利要求1-11中任一项所述的双链RNAi剂在制备用于治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染或B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的药物中的用途。

29. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以0.01mg/kg至10mg/kg给予所述受试者。

30. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以0.5mg/kg至50mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

31. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以10mg/kg至约30mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

32. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以3mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

33. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以10mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

34. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂以50mg至200mg的固定剂量给予所述受试者。

35. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂皮下或静脉内给予。

36. 如权利要求28所述的用途, 其中所述双链RNAi剂与另外的治疗剂一起给予所述受试者。

37. 如权利要求36所述的用途, 其中所述另外的治疗剂选自抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBV DNA抑制剂, 及上述任意的组合。

38. 如权利要求12所述的药物组合物在制备用于治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染或B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的药物中的用途。

39. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以0.01mg/kg至10mg/kg给予所述受试者。

40. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以0.5mg/kg至50mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

41. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以10mg/kg至30mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

42. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以3mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

43. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以10mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

44. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂以50mg至200mg的固定剂量给予所述受试者。

45. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂皮下或静脉内给予。

46. 如权利要求38所述的用途,其中所述双链RNAi剂与另外的治疗剂一起给予所述受试者。

47. 如权利要求46所述的用途,其中所述另外的治疗剂选自抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBV DNA抑制剂,及上述任意的组合。

48. 如权利要求15-22中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染或B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的药物中的用途。

49. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以0.01mg/kg至10mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

50. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以0.5mg/kg至50mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

51. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以10mg/kg至30mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

52. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以3mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

53. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以10mg/kg的依体重计算的剂量给予所述受试者。

54. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂以50mg至200mg的固定剂量给予所述受试者。

55. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂皮下或静脉内给予。

56. 如权利要求48所述的用途,其中所述双链RNAi剂与另外的治疗剂一起给予所述受试者。

57. 如权利要求56所述的用途,其中所述另外的治疗剂选自抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBV DNA抑制剂,及上述任意的组合。

58. 如权利要求1所述的双链RNAi剂在制备用于治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染或B型

肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

59. 如权利要求5所述的双链RNAi剂在制备用于治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染或B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

60. 如权利要求9所述的双链RNAi剂在制备用于治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染或B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

61. 如权利要求15所述的药物组合物在制备用于治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染或B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

62. 如权利要求17所述的药物组合物在制备用于治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染或B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

63. 如权利要求20所述的药物组合物在制备用于治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染或B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的药物中的用途。

64. 如权利要求28所述的用途, 其中所述HBV相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阳性。

65. 如权利要求48所述的用途, 其中所述HBV相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阳性。

66. 如权利要求28所述的用途, 其中所述HBV相关病症为D型肝炎病毒 (HDV) 感染。

67. 如权利要求28所述的用途, 其中所述受试者患有HDV感染。

68. 如权利要求38所述的用途, 其中所述HBV相关病症为D型肝炎病毒 (HDV) 感染。

69. 如权利要求38所述的用途, 其中所述受试者患有HDV感染。

70. 如权利要求48所述的用途, 其中所述HBV相关病症为D型肝炎病毒 (HDV) 感染。

71. 如权利要求48所述的用途, 其中所述受试者患有HDV感染。

B型肝炎病毒 (HBV) iRNA组合物及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2015年11月10日和发明名称为“B型肝炎病毒 (HBV) iRNA组合物及其使用方法”的201580072874.0号发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请案主张2014年11月10日申请的美国临时申请案62/077,799及2015年3月24日申请的美国临时专利申请案62/137,464的优先权。上述各专利申请案的完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[0004] 本申请案主张2014年11月10日申请的美国临时申请案62/077,672的优先权,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[0005] 本申请案是有关2015年11月10日申请的国际专利申请案PCT/US2015/XXXXX,名称为“D型肝炎病毒 (HDV) iRNA组合物及其使用方法”,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[0006] 序列表

[0007] 本申请案包含的序列表已呈ASCII格式电子文件交付,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。该于2015年11月5日制作的ASCII复本名称为121301-02320-_SL.txt,大小为385,791字节。

背景技术

[0008] 全世界已有超过4亿人口慢性感染HBV,因此提高发展出严重肝病风险,如:慢性肝炎、硬化、肝衰竭、及肝细胞癌 (HCC),估计每年造成600,000人死亡。

[0009] 慢性HBV感染的自然演化包括连续四期:(1)早期“免疫耐受”期,高度病毒复制及最低度肝炎;(2)免疫反应期,显著肝发炎及血清氨基转移酶升高;有些患者会进展到(3)“非复制”期,血清转化成抗-HBe;无法检测或低度病毒血症(以基于PCR的分析法测定低于2000IU/ml);肝发炎缓解;及(4)HBeAg-阴性慢性B型肝炎,因为已出现特异病毒突变,其防止HBeAg产生,但未阻挡病毒复制。此形式的慢性B型肝炎(CHB)的特征在于波动的血清HBV DNA及血清氨基转移酶(ALT及AST)含量,及渐进恶化的肝病。其重点在于应注意CHB可能呈HBeAg-阳性或HBeAg-阴性CHB。纵向研究CHB患者显示,5年累计发展出硬化的发生率为8%至20%的范围。5年累计肝代偿不全的发生率为约20%。全世界HCC发生率已升高且已成为第五大常见癌症。每年HBV-相关的HCC发生率高,当确诊硬化时,其发生率为2%-5%的范围。

[0010] 治疗HBV的主要目标为永久抑制HBV复制及改善肝疾病。临床上重要的短期目标为达到HBeAg-血清转化、恢复正常血清ALT与AST、缓解肝发炎及预防肝代偿不全。最终治疗目标为达到持久反应,防止发展出硬化、肝癌及延长存活。HBV感染无法完全根除,因为已感染的肝细胞的细胞核中持续存在特定形式的病毒共价闭合环状DNA(ccc HBV DNA)。然而,治疗诱发清除血清HBsAg即成为终止慢性HBV感染的标记,且已与最佳长期结果相关。

[0011] 目前治疗HBV的标准方法包括基于干扰素或胸腺素a1-的免疫疗法,并借由抑制HBV聚合酶来压制病毒产生。HBV聚合酶抑制剂可有效减少病毒复制,但几乎无法有效快速

减少HBsAg,或在有限数量患者中(如:采用泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate)的病例)可以在长期治疗下慢慢减少HBsAg。基于干扰素的免疫疗法可达到同时减少病毒产生及提早排除血中HBsAg,但接受治疗的患者仅有少数百分比能达成此结果。一般认为HBsAg在血中的角色为螯合抗-HBsAg抗体,并让有感染力的病毒粒子逃过免疫侦测,此点可能成为HBV感染成为慢性病症的原因之一。除了HBsAg外,HBeAg与HBcAg均具有免疫抑制性质,在接受目前任何可采用的HBV疗法给予后,这些持续存在患者血中的病毒蛋白质似乎已显著影响患者,阻碍其达成免疫控制其HBV感染。

[0012] 虽然三种主要HBV蛋白质(HBsAg、HBeAg与HBcAg)均具有免疫抑制性质,但感染HBV的受试者的循环中,HBsAg成为主要优势的HBV蛋白质。此外,虽然排除(经由血清转化)HBeAg或减少血清病毒血症与发展出治疗后持续控制HBV感染没有相关性,但在HBV感染中排除血中血清HBsAg(及血清转化)已成为公认对治疗的抗病毒反应的预后指标,可用于控制治疗后的HBV感染(尽管此点仅会发生在接受免疫疗法的少数患者中)。因此,虽然减少所有三种主要HBV蛋白质(HBsAg、HBeAg与HBcAg)可能造成最佳的排除抑制效果,但单独排除HBsAg时,其本身可能即足以使罹患HBV感染的受试者排除大量病毒对免疫功能的抑制。

[0013] 因此,在目前仍然没有任何疗法可以为大部分患者恢复免疫控制HBV下,需要一种对抗HBV感染的有效治疗法,其应可为大多数患者抑制病毒复制并恢复免疫控制。因此,本领域中需要一种针对感染HBV和/或患有HBV相关疾病的受试者的替代疗法与组合疗法。

发明内容

[0014] 本发明提供一种iRNA组合物,其引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解B型肝炎病毒(HBV)基因的RNA转录本。HBV基因可在细胞内,例如:在如:人类受试者的细胞内。

[0015] 本发明还提供一种治疗罹患可能因抑制或降低HBV基因表达而受益的病症(例如:HBV感染和/或HBV相关疾病,如:慢性B型肝炎感染(CHB)、硬化、肝衰竭、及肝细胞癌(HCC))的受试者的方法与疗法,其是使用可引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解HBV基因的RNA转录本的iRNA组合物,来抑制HBV基因表达。

[0016] 本发明还提供一种治疗罹患可能因抑制或降低HBV基因表达而受益的病症(例如:HBV感染和/或HBV相关疾病,如:慢性B型肝炎感染(CHB)、硬化、肝衰竭、及肝细胞癌(HCC))的受试者的方法与疗法,其是使用可引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解HBV基因的RNA转录本的iRNA组合物,来抑制HBV基因表达。本发明的RNAi剂已设计为靶向保留在所有8种HBV血清型中的HBV基因组的区域。此外,本发明的RNAi剂已设计为借由抑制超过一种HBV基因的表达来抑制HBV生命周期的所有步骤,例如:病毒的复制、组装、与分泌,及次病毒抗原的分泌。具体地,由于HBV基因组的转录产生多顺反子的重叠RNA,因此靶向单一HBV基因的本发明RNAi剂可以显著抑制大多数或所有HBV转录本的表达。例如:由于HBV基因组转录至单一mRNA中,因此靶向S基因的本发明RNAi剂将会不仅抑制S基因表达,而且亦抑制“下游”逆转录酶基因的表达。此外,本发明的RNAi剂已设计在于借由靶向HBV结构基因而抑制HBV病毒复制,HBV X基因即可让受试者的免疫系统侦测到HBsAg的存在,并响应以产生抗-HBV抗体来清除HBV感染,在不希望受到理论限制下,据信上述性质与这些RNAi剂中特定靶位置和/或特定修饰的组合或次组合均赋予改良的效力、稳定性、安全性、药效及持久性。

[0017] 因此,本发明一方面中提供一种双链RNAi剂,用于抑制B型肝炎病毒(HBV)于细胞

中的表达。双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,且该反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0018] 在一个实施例中,反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中的一个或多个为在反义链中错配的核苷酸。

[0019] 另在一个实施例中,反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中的一个或多个为在正义链中错配的核苷酸。

[0020] 在一个实施例中,正义链的所有核苷酸及反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0021] 在一个实施例中,正义链及反义链包含互补区,其包含至少15个连续核苷酸,其与表3、4、6、7、12、13、22、23、25、及26中任一表所列的任一序列的差异不超过3个核苷酸。

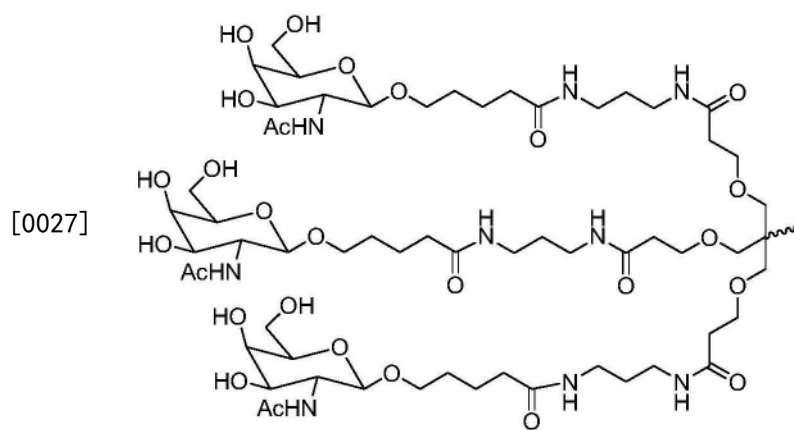
[0022] 在一个实施例中,该至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0023] 在一个实施例中,该至少一个链包含至少1个核苷酸的3'突出端。另在一个实施例中,该至少一个链包含至少2个核苷酸的3'突出端。

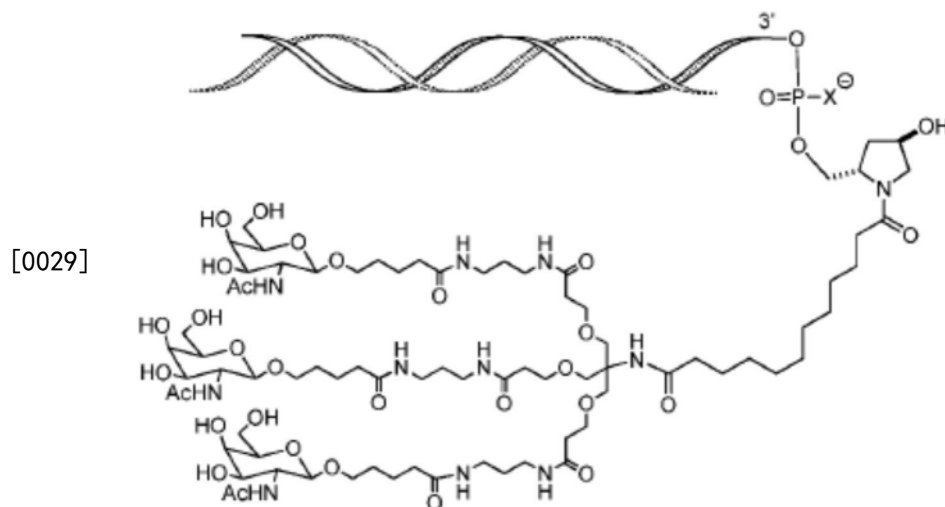
[0024] 在一个实施例中,双链区为15-30对核苷酸的长度。另在一个实施例中,双链区为17-23对核苷酸的长度。再另在一个实施例中,双链区为17-25对核苷酸的长度。在一个实施例中,双链区为23-27对核苷酸的长度。另在一个实施例中,双链区为19-21对核苷酸的长度。再另在一个实施例中,双链区为21-23对核苷酸的长度。

[0025] 在一个实施例中,各链具有15-30个核苷酸。另在一个实施例中,各链具有19-30个核苷酸。

[0026] 在一个实施例中,该配体为



[0028] 在一个实施例中,该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0030] 其中X为O或S。

[0031] 在一个实施例中,该RNAi剂是选自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、及26中任一表所列RNAi剂组中。

[0032] 一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),且该反义链包含5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0033] 本发明还提供一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0034] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),且该反义链包含5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。本发明还提供

一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0035] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3'(SEQ ID NO:9),且该反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3'(SEQ ID NO:10),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。本发明还提供一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0036] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3'(SEQ ID NO:37),及反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3'(SEQ ID NO:38),其中正义链实质上所有核苷酸及反义链实质上所有核苷酸均为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。本发明还提供一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0037] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3'(SEQ ID NO:11),且该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3'(SEQ ID NO:12),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。本发明还提供一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0038] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。该双链RNAi剂包括形成双链区的正义链及反义链,其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3'(SEQ ID NO:39),且该反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3'(SEQ ID NO:40),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。本发明还提供一种包含正义与反义核苷酸序列的RNAi剂,其与上述正义与反义核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。

[0039] 在一个实施例中,该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0040] 在一个实施例中,至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基

核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-0-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-0-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0041] 在一个实施例中,该5'-磷酸酯模拟物为5'-乙烯基磷酸酯(5'-VP)。

[0042] 在一个实施例中,正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO: 13) 及反义链包含5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO: 14),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0043] 另在一个实施例中,正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO: 15) 及反义链包含5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO: 16),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0044] 在一个实施例中,正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO: 17) 及反义链包含5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO: 18),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0045] 另在一个实施例中,正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO: 19) 及反义链包含5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO: 20),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0046] 在一个实施例中,正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO: 21) 及反义链包含5'-asAf suugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO: 22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0047] 另在一个实施例中,正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO: 23) 及反义链包含5'-PasAf suugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO: 24),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0048] 另在一个实施例中,正义链包含5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO: 35) 及反义链包含5'-asdAsuugagadAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO: 36),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;dA、dC、dG、dT为脱氧核糖A、C、G、及T;且s为硫代磷酸酯键联基。

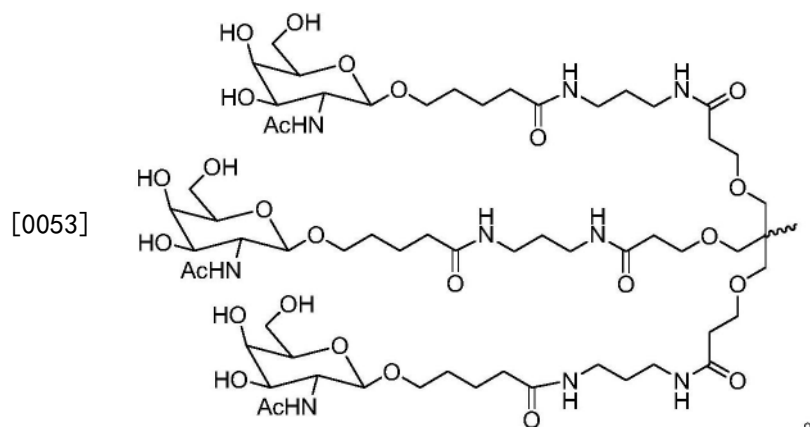
[0049] 在一个实施例中,正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID NO: 25) 及反义链包含5'-usAf saaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO: 26),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0050] 另在一个实施例中,正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID

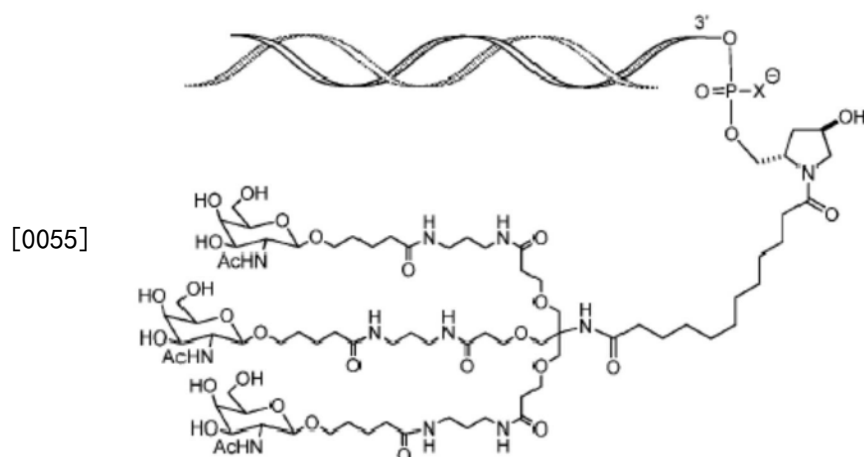
N0:27) 及反义链包含5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID N0:28), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; 且s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0051] 另在一个实施例中, 正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID N0:41) 及反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID N0:42), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C、或U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0052] 在一个实施例中, 该配体为



[0054] 在一个实施例中, 该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0056] 其中X为O或S。

[0057] 在一个实施例中, P为5'-磷酸酯模拟物。在一个实施例中, 5'-磷酸酯模拟物为5'-乙烯基磷酸酯(5'-VP)。

[0058] 另一方面中, 本发明提供一种组合物, 其包含两种或更多种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂, 其中各双链RNAi剂分别独立包含形成双链区的正义链与反义链, 其中各该正义链分别独立包含至少15个连续核苷酸, 其与SEQ ID N0:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 及各该反义链分别独立包含至少15个连续核苷酸, 其与SEQ ID N0:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 其中各该正义链实质上所有核苷酸及各该反义链实质上所有核苷酸分别独立为经修饰的核苷酸, 其中各该正义链分别独立接合附接在3'-末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0059] 在一个实施例中,反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中的一个或多个为在反义链中错配的核苷酸。另在一个实施例中,反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中的一个或多个为在正义链中错配的核苷酸。

[0060] 在一个实施例中,该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0061] 在一个实施例中,正义链及该反义链包含互补区,其包含至少15个连续核苷酸,其与表3、4、6、7、12、13、22、23、25、及26中任一表所列的任一序列的差异不超过3个核苷酸。

[0062] 在一个实施例中,至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0063] 另一方面中,本发明提供一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的组合物,该组合物包含(a)第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;及(b)第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0064] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0065] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0066] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0067] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0068] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11),及

[0069] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0070] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6),

[0071] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8),

[0072] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10),

[0073] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0074] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),及

[0075] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列)。

[0076] 在一个实施例中,该第一与第二正义链和/或该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0077] 在一个实施例中,至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、N-吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0078] 在一个实施例中,该第一与第二RNAi剂是选自下组,该组由以下各项组成:

[0079] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)

[0080] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);

[0081] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0082] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0083] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:17)

[0084] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);

[0085] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:19)

[0086] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);

[0087] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0088] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);

[0089] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)

[0090] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);

[0091] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)

[0092] 5'-asdAsuugagagdaagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36);

[0093] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3' (SEQ ID NO:25)

[0094] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);

[0095] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3' (SEQ ID NO:27)

[0096] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28);及

[0097] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0098] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、及u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;dA、dC、dG、与dT是脱氧核糖A、C、G、与T;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0099] 另在一个实施例中,该第一与第二RNAi剂为

[0100] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0101] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0102] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0103] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为

核糖A、C、G、或U；a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G；Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U；s为硫代磷酸酯键联基；且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0104] 另在一个实施例中，该第一与第二RNAi剂为

[0105] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3' (SEQ ID NO:25)

[0106] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26)；及

[0107] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0108] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42)，其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U；a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G；Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U；s为硫代磷酸酯键联基；且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0109] 一方面中，本发明提供一种双链RNAi剂，其包含表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一个表所列的RNAi剂。

[0110] 本发明还提供一种载体及包含本发明双链RNAi剂的细胞。

[0111] 另一方面中，本发明提供一种药物组合物，其包含本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体。

[0112] 在一个实施例中，该双链RNAi剂是呈未缓冲的溶液给予。在一个实施例中，该未缓冲的溶液为生理食盐水或水。

[0113] 另在一个实施例中，该双链RNAi剂是使用缓冲溶液给予。在一个实施例中，该缓冲溶液包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐、或磷酸盐或其任意组合。另在一个实施例中，该缓冲溶液为磷酸盐缓冲的生理食盐水(PBS)。

[0114] 一方面中，本发明提供一种抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)基因表达的方法。该方法包括使细胞与本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物接触；并维持所产生的细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间，借以抑制细胞中HBV基因的表达。

[0115] 在一个实施例中，HBV基因是选自由C、X、P、S、与其组合所组成的组中。

[0116] 一方面中，本发明提供一种抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)复制的方法。该方法包括使细胞与本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物接触；并维持所产生的细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间，借以抑制细胞中HBV基因复制。

[0117] 在一个实施例中，该细胞是在受试者内。在一个实施例中，该受试者为人类。

[0118] 在一个实施例中，该受试者罹患HBV相关疾病。

[0119] 在一个实施例中，HBV基因表达受到抑制至少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%或约100%。

[0120] 在一个实施例中，细胞中HBV的复制受到抑制至少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%或约100%。

[0121] 一方面中，本发明提供一种使感染HBV的受试者减少B型肝炎病毒(HBV)DNA含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物，借以减少受试者中HBV ccc DNA含量。

[0122] 另一方面中，本发明提供一种使感染HBV的受试者减少B型肝炎病毒(HBV)抗原含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、

或本发明载体、或本发明药物组合物,借以减少受试者中HBV抗原含量。

[0123] 在一个实施例中,HBV抗原为HBsAg。另在一个实施例中,HBV抗原为HBeAg。

[0124] 另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者减少B型肝炎病毒(HBV)的病毒量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以减少该受试者的HBV的病毒量。

[0125] 再另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者减少丙氨酸氨基转移酶(ALT)含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以减少受试者的ALT含量。

[0126] 另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者减少天冬氨酸氨基转移酶(AST)含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以减少受试者的AST含量。

[0127] 另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者提高抗-B型肝炎病毒(HBV)抗体含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以提高受试者的抗-HBV抗体含量。

[0128] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以治疗该受试者。

[0129] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)-相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明双链RNAi剂、或本发明组合物、或本发明载体、或本发明药物组合物,借以治疗该受试者。

[0130] 在一个实施例中,该HBV-相关病症选自下组,该组由以下各项组成:D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌。

[0131] 在一个实施例中,该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阳性。另在一个实施例中,该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阴性。

[0132] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUU CUCUCA-3' (SEQ ID NO:5) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0133] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)-相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ

ID NO:6) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0134] 一方面中, 本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链, 其中该正义链包含5' -GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且该反义链包含5' -UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0135] 另一方面中, 本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) -相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链, 其中该正义链包含5' -GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且该反义链包含5' -UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0136] 一方面中, 本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链, 其中该正义链包含5' -CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且该反义链包含5' -AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0137] 另一方面中, 本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) -相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链, 其中该正义链包含5' -CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0138] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37), (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),及反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0139] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)-相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),及反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中正义链实质上所有核苷酸及反义链实质上所有核苷酸均为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0140] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUUA-3' (SEQ ID NO:11) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0141] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)-相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUUA-3' (SEQ ID NO:11) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3'

(SEQ ID NO:12) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0142] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3'(SEQ ID NO:39)(或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3'(SEQ ID NO:40)(或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0143] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)-相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3'(SEQ ID NO: 39)(或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),且该反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3'(SEQ ID NO: 40)(或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列),其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0144] 在一个实施例中,该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0145] 在一个实施例中,至少一个该经修饰的核苷酸选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-0-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-0-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-0-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0146] 在一个实施例中, 5'-磷酸酯模拟物为5'-乙烯基磷酸酯(5'-VP)。

[0147] 在一个实施例中,正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO: 13) 及反义链包含5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfccgasusu-3' (SEQ ID NO: 14),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0148] 另在一个实施例中,正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15) 及反义链包含5'-PusGfsagaGfaAfGfucaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0149] 在一个实施例中,正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:17) 及反义链包含5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0150] 另在一个实施例中,正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:19) 及反义链包含5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0151] 在一个实施例中,正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21) 及反义链包含5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0152] 另在一个实施例中,正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23) 及反义链包含5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

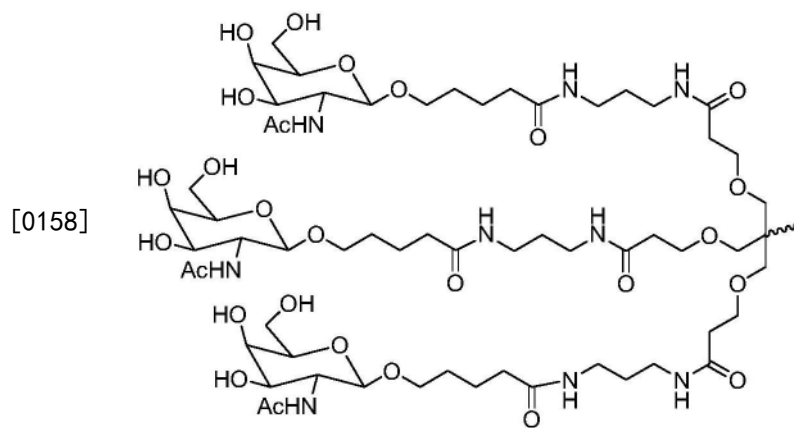
[0153] 另在一个实施例中,正义链包含5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35) 及反义链包含5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;dA、dC、dG、与dT为脱氧核糖A、C、G、与T;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0154] 在一个实施例中,正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID NO:25) 及反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

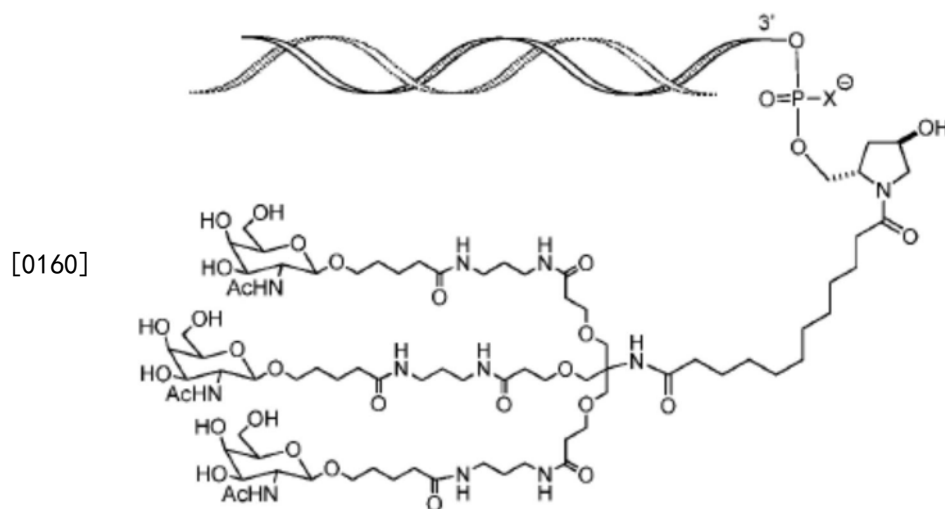
[0155] 另在一个实施例中,正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID NO:27) 及反义链包含5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0156] 另在一个实施例中,正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41) 及反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0157] 在一个实施例中,该配体为



[0159] 在一个实施例中,该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0161] 其中X为O或S。

[0162] 在一个实施例中,该HBV-相关病症是选自下组,该组由以下各项组成:D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌。

[0163] 在一个实施例中,该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阳性。另在一个实施例中,该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阴性。

[0164] 一方面中,本发明提供一种治疗罹患B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的组合物。该组合物包括:(a)第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;及(b)第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0165] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0166] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0167] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),
[0168] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),
[0169] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及
[0170] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39) (或与任何上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0171] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);
[0172] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);
[0173] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);
[0174] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),
[0175] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及
[0176] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40) (或与任何上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 借以治疗该受试者。

[0177] 另一方面中, 本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) - 相关病症的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物。该组合物包括: (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链, 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸均为经修饰的核苷酸, 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物; 及 (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链, 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物; 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0178] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),
[0179] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),
[0180] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),
[0181] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),
[0182] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及
[0183] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39) (或与任何上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成
[0184] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);
[0185] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);
[0186] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);
[0187] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38);
[0188] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12); 及
[0189] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40) (或与任何上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序

列),借以治疗该受试者。

[0190] 在一个实施例中,该第一与第二正义链的所有核苷酸及该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0191] 在一个实施例中,至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-0-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-0-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-0-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0192] 在一个实施例中,该第一与第二RNAi剂选自下组,该组由以下各项组成:

[0193] 5'-uscsuguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)

[0194] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);

[0195] 5'-uscsuguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0196] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0197] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:17)

[0198] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);

[0199] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:19)

[0200] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);

[0201] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0202] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);

[0203] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)

[0204] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);

[0205] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)

[0206] 5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36);

[0207] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

[0208] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);

[0209] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:27)

[0210] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28);及

[0211] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcucacac-3' (SEQ ID NO:41)

[0212] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-0-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;dA、dC、dG、及dT为脱氧核糖A、C、G、与T;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0213] 在一个实施例中,该第一与第二RNAi剂为

[0214] 5'-uscsuguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0215] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);及

[0216] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0217] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0218] 另在一个实施例中, 该第一与第二RNAi剂为

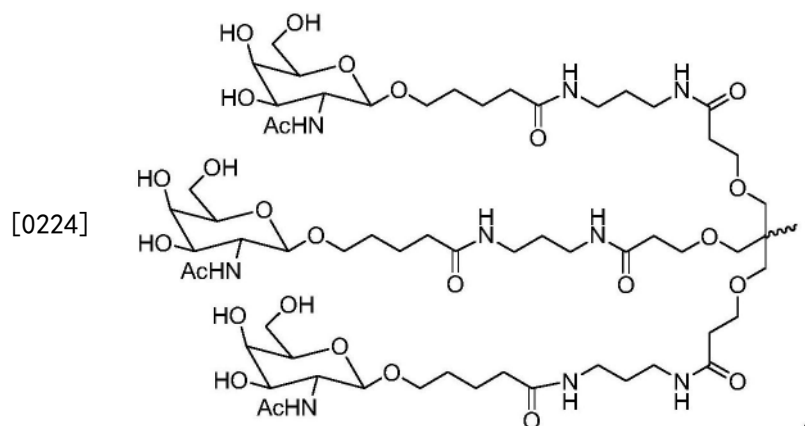
[0219] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

[0220] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26); 及

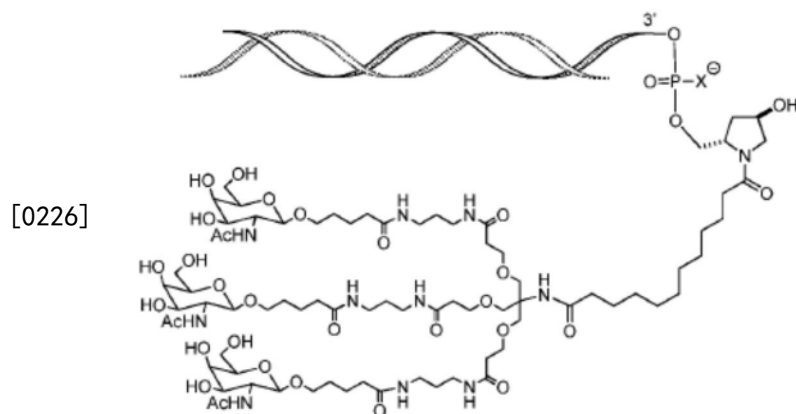
[0221] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0222] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0223] 在一个实施例中, 该配体为



[0225] 在一个实施例中, 该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0227] 其中X为O或S。

[0228] 在一个实施例中, 该受试者为人类

[0229] 在一个实施例中, 该HBV-相关病症选自下组, 该组由以下各项组成: D型肝炎病毒感染、 δ 型 (delta) 肝炎、急性B型肝炎; 急性暴发性B型肝炎; 慢性B型肝炎; 肝硬化; 末期肝病; 肝细胞癌。

[0230] 在一个实施例中, 该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阳性。另在一个实施例中, 该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阴性。

[0231] 在一个实施例中, 该双链RNAi剂的给予剂量为约0.01mg/kg至约10mg/kg或约0.5mg/kg至约50mg/kg。

[0232] 在一个实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg至约30mg/kg。另在一个实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约3mg/kg。在一个实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg。

[0233] 在一个实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约0.5mg/kg,每周2次。

[0234] 在一个实施例中,该双链RNAi剂是给予固定剂量约50mg至200mg。

[0235] 在一个实施例中,该双链RNAi剂是经皮下给予。另在一个实施例中,该双链RNAi剂是经静脉内给予。

[0236] 在一个实施例中,该RNAi剂是给予2个或更多个剂量。

[0237] 在一个实施例中,该RNAi剂是以选自下组的给予间隔给予,该组由以下各项组成:约每12小时一次、约每24小时一次、约每48小时一次、约每72小时一次、及约每96小时一次。

[0238] 在一个实施例中,该RNAi剂是每周给予2次。另在一个实施例中,该RNAi剂是每隔一周给予一次。

[0239] 在一个实施例中,本发明方法进一步包括对受试者给予另一种治疗剂。

[0240] 在一个实施例中,该另一种治疗剂选自下组,该组由以下各项组成:抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、cccDNA抑制剂,及上述任一者的组合。

[0241] 另在一个实施例中,本发明方法进一步包括对受试者给予反转录酶抑制剂。再另在一个实施例中,本发明方法进一步包括对受试者给予反转录酶抑制剂及免疫刺激剂。

[0242] 在一个实施例中,反转录酶抑制剂选自下组,该组由以下各项组成:泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate) (TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir) (ETV)、喜必福(Telbivudine)、及AGX-1009。

[0243] 在一些实施例中,本发明方法进一步包括治疗受试者的D型肝炎病毒(HDV)。该治疗方法可包括本领域中已知的任何治疗方法。在某些实施例中,使用本文说明的一种或多种靶向HBV的iRNA剂治疗受试者的HDV。

[0244] 在一些实施例中,本发明方法进一步包括调控,例如:降低PD-L1表达的方法。例如:PCT公告案案号WO 2011/127180中提供降低PD-L1表达的组合物及方法,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[0245] 在一个实施例中,免疫刺激剂选自下组,该组由以下各项组成:聚乙二醇基化干扰素 α 2a(PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、与Toll-样受体7(TLR7)促效剂。

[0246] 另一方面中,本发明提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0247] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0248] 其中正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,且该反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0249] 其中正义链实质上所有核苷酸及反义链实质上所有核苷酸均为经修饰的核苷酸,

[0250] 其中正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0251] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物,借

以治疗该受试者。

[0252] 另一方面中,本发明还提供一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的组合物,该组合物包含:

[0253] (a) 第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链与第一反义链,

[0254] 其中第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0255] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0256] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;及

[0257] (b) 第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0258] 其中第二正义链实质上所有核苷酸及第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0259] 其中第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0260] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;

[0261] 其中第一正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及该第一反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0262] 其中该第二正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及第二反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,借以治疗该受试者。

[0263] 在一些实施例中,第一正义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0264] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0265] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0266] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0267] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0268] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11),与

[0269] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且第二反义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0270] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[0271] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[0272] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[0273] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38);

[0274] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12); 及

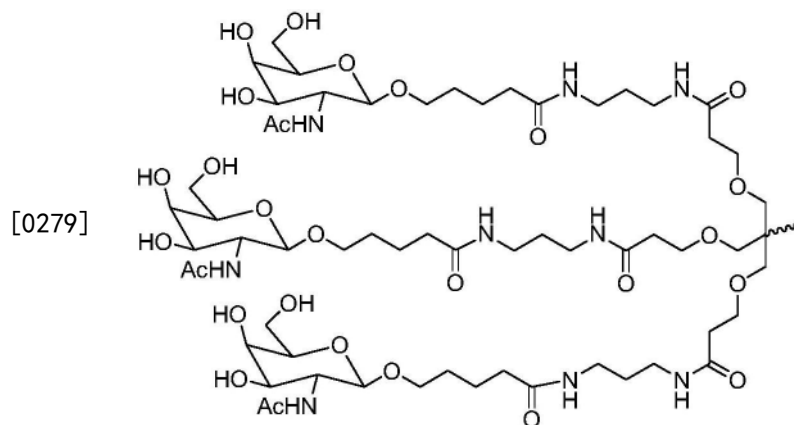
[0275] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40) (或与上述核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列)。

[0276] 有些方面中,正义链的所有核苷酸及反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

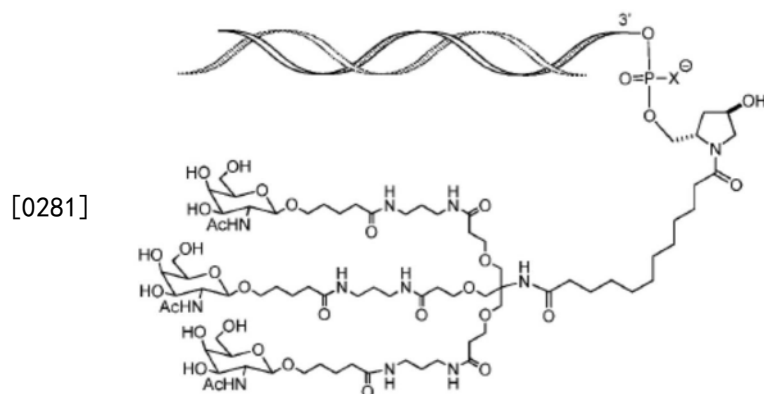
[0277] 在某些实施例中,至少一个经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核

苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0278] 在一些实施例中,该配体为



[0280] 一项明确的实施例中,该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0282] 其中X为O或S。

[0283] 在某些实施例中,本文提供的双链RNAi剂与组合物是用于治疗HDV感染和/或HDV-相关病症。

[0284] 因此本发明提供一种抑制细胞中D型肝炎病毒(HDV)复制的方法。该方法包括(a)使细胞与本文所提供的双链RNAi剂、组合物、载体、或药物组合物接触;及(b)维持于步骤(a)所产生的细胞一段足以达成HBV基因的mRNA转录本降解的时间,借以抑制细胞中HDV的复制。在某些实施例中,细胞位于受试者内。在某些实施例中,该受试者为人类。

[0285] 本发明进一步提供一种使感染HDV的受试者减少D型肝炎病毒(HDV)抗原含量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本文所提供的双链RNAi剂、组合物、载体、或药物组合物,借以减少中HDV抗原(例如,例如:S-HDAg或L-HDAg)含量。

[0286] 本发明还提供一种使感染HDV的受试者减少D型肝炎病毒(HDV)病毒量的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本文所提供的双链RNAi剂、组合物、载体、或药物组合物,借以减少受试者中HDV的病毒量。

N0:19) 及反义链包含5'-PusAfsagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID N0:20), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0294] 在某些实施例中, 正义链包含5'-csgsuggu GfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID N0:21) 及反义链包含5'-AfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID N0:22), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0295] 在某些实施例中, 正义链包含5'-csgsuggu GfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID N0:23) 及反义链包含5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID N0:24), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

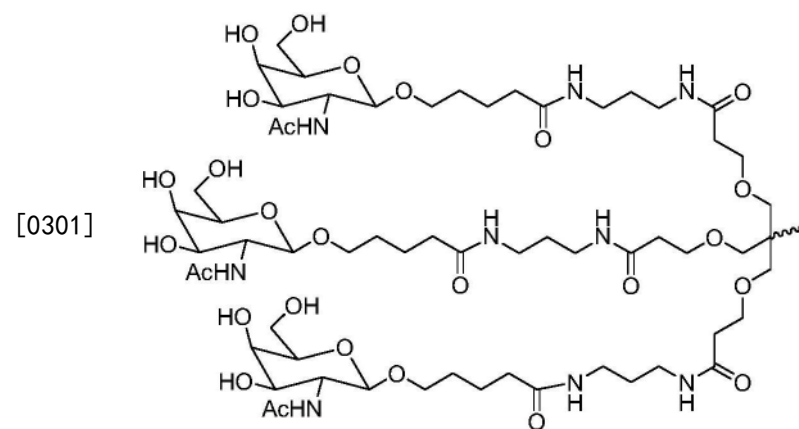
[0296] 在某些实施例中, 正义链包含5'-csgsuggudGgucdTucucuauuu-3' (SEQ ID N0:35) 及反义链包含5'-asdAsuugagadAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID N0:36), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; dA、dC、dG、与dT为脱氧核糖A、C、G、与T; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0297] 在某些实施例中, 正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID N0:25) 及反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID N0:26), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0298] 在某些实施例中, 正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuuu-3' (SEQ ID N0:27) 及反义链包含5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID N0:28), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

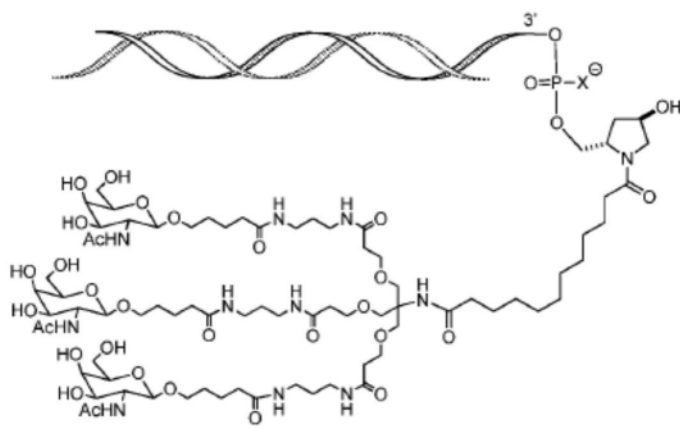
[0299] 在某些实施例中, 正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID N0:41) 及反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID N0:42), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf或Uf为2'-氟A、G、C或U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0300] 在某些实施例中, 该配体为



[0302] 在某些实施例中, 该RNAi剂是接合如下所示的配体

[0303]



其中X为O或S。

[0304] 本发明提供一种治疗罹患D型肝炎病毒 (HDV) 感染的受试者的方法。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物, 该组合物包含 (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链, 其中第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物; 及 (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链, 其中第二正义链实质上所有核苷酸及第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸, 其中第二正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物; 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0305] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0306] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0307] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0308] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0309] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及

[0310] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), 且其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0311] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[0312] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[0313] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[0314] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0315] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及

[0316] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40), 借以治疗该受试者。

[0317] 在某些实施例中, 该第一与第二正义链的所有核苷酸及该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。在某些实施例中, 至少一个经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的

核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0318] 在某些实施例中,该第一与第二RNAi剂选自下组,该组由以下各项组成:

[0319] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)

[0320] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);

[0321] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0322] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0323] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:17)

[0324] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);

[0325] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:19)

[0326] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);

[0327] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0328] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);

[0329] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)

[0330] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);

[0331] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)

[0332] 5'-asdAsuugagagDAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36);

[0333] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

[0334] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);

[0335] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:27)

[0336] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28);及

[0337] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0338] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C或U;dA、dC、dG、与dT是脱氧核糖A、C、G、与T;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0339] 在某些实施例中,该第一与第二RNAi剂为

[0340] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0341] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);及

[0342] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0343] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0344] 在某些实施例中,该第一与第二RNAi剂为

[0345] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

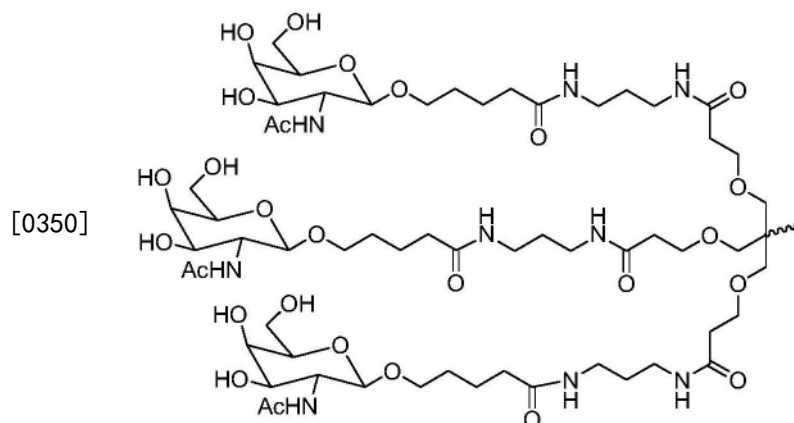
[0346] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);及

[0347] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

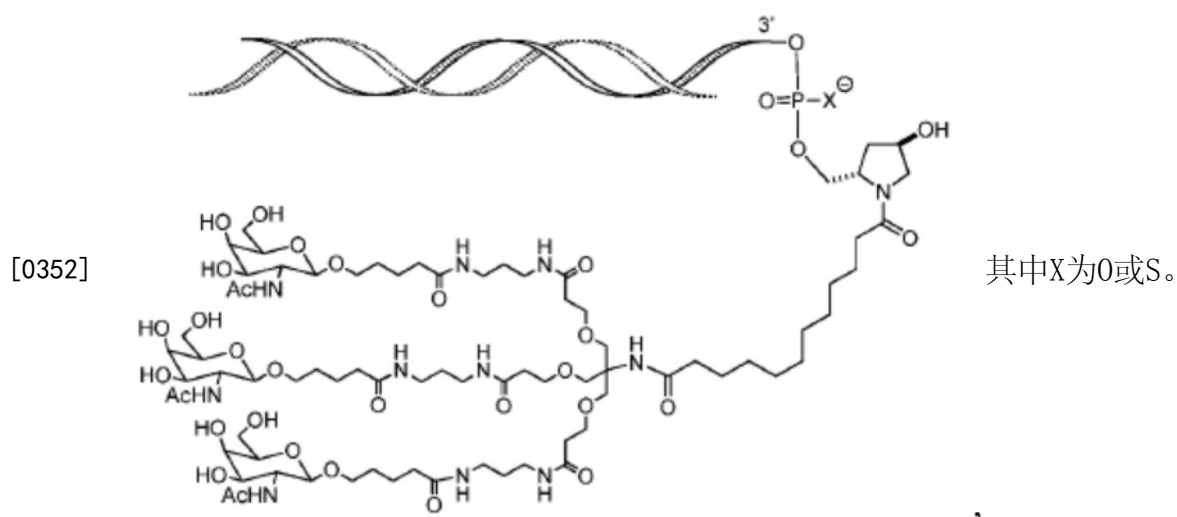
[0348] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核

糖A、C、G、或U；a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G；Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U；s为硫代磷酸酯键联基；且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0349] 在某些实施例中,该配体为



[0351] 在某些实施例中,该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0353] 在某些实施例中,该受试者为人类。

[0354] 在某些实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约0.01mg/kg至约10mg/kg或约0.5mg/kg至约50mg/kg。在某些实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg至约30mg/kg。在某些实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约3mg/kg。在某些实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg。在某些实施例中,该双链RNAi剂的给予剂量为约0.5mg/kg,每周2次。在某些实施例中,该双链RNAi剂是给予固定剂量约50mg至200mg。

[0355] 在某些实施例中,该双链RNAi剂是经皮下给予。在某些实施例中,该双链RNAi剂是经静脉内给予。

[0356] 在某些实施例中,该RNAi剂是给予2个或更多个剂量。在某些实施例中,该RNAi剂的给予间隔选自下组,该组由以下各项组成:约每12小时一次、约每24小时一次、约每48小时一次、约每72小时一次、及约每96小时一次。在某些实施例中,该RNAi剂是每周给予2次。在某些实施例中,该RNAi剂是每隔一周给予一次。在某些实施例中,该RNAi剂是一个月给予一次。在某些实施例中,该RNAi剂是每隔一个月给予一次。在某些实施例中,该RNAi剂是每隔3个月给予一次。

[0357] 在某些实施例中,该RNAi剂是与另一种治疗剂共同给予至受试者。该另外的治疗剂包括例如:抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBVDNA抑制剂,及上述任一者的组合。在某些实施例中,该另外制剂为反转录酶抑制剂。在某些实施例中,该另外制剂为反转录酶抑制剂及免疫刺激剂。反转录酶抑制剂实例包括泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate) (TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir) (ETV)、喜必福(Telbivudine)、与AGX-1009。免疫刺激剂实例包括聚乙二醇基化干扰素 α 2a (PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、与Toll-样受体7(TLR7) 促效剂。

[0358] 本发明进一步提供一种治疗罹患D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的组合物,该组合物包含(a)第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链与第一反义链,其中第一正义链实质上所有核苷酸及第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;及(b)第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,其中第二正义链实质上所有核苷酸及第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价分支的键联体附接的GalNAc衍生物;其中第一正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及第一反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,其中第二正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及第二反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,借以治疗该受试者。

[0359] 在某些实施例中,第一正义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0360] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0361] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0362] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0363] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0364] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11),及

[0365] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39),及

[0366] 第二反义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0367] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[0368] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[0369] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[0370] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

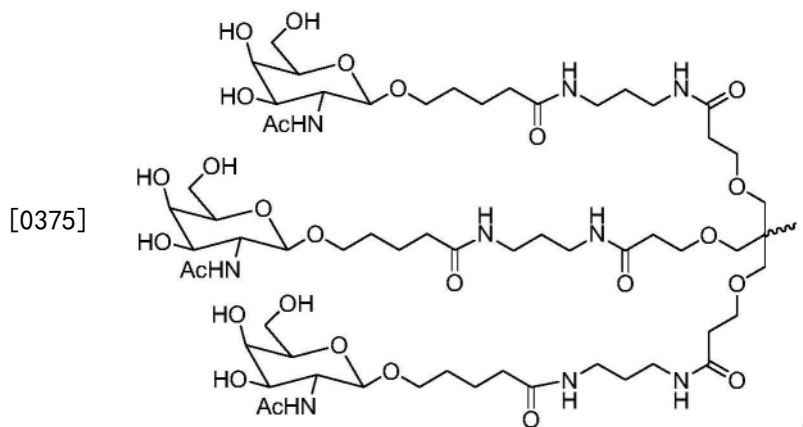
[0371] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),及

[0372] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40)。

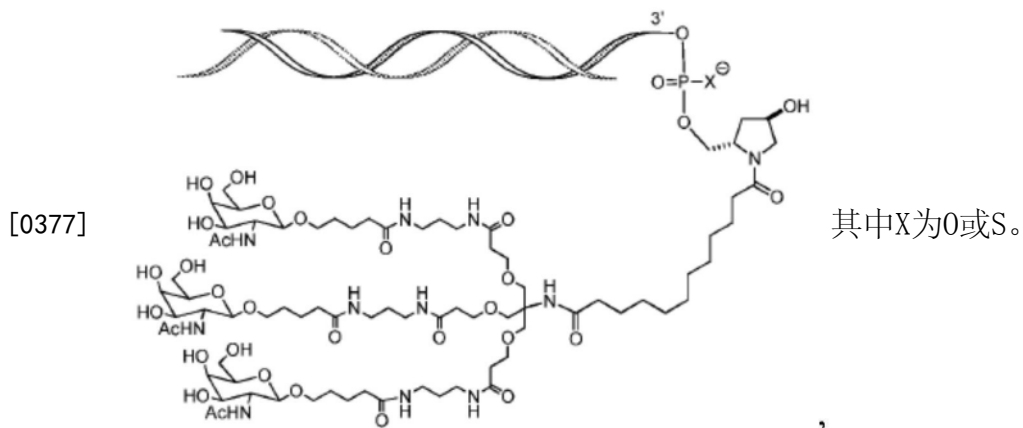
[0373] 在某些实施例中,正义链的所有核苷酸及反义链的所有核苷酸包含一种修饰。在某些实施例中,该另外制剂为至少一种选自下组的经修饰的核苷酸,该组由以下各项组成:

脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0374] 在某些实施例中,该配体为



[0376] 在某些实施例中,该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0378] 特别地,本发明涉及以下各项:

[0379] 1. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的双链RNAi剂,该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,该正义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,且该反义链包含至少15个连续核苷酸,其与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0380] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0381] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0382] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0383] 2. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中一个或多个为在反义链中错配的核苷酸。

[0384] 3. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中一个或多个为在正义链中错配的核苷酸。

[0385] 4. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0386] 5. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中该正义链及该反义链包含互补区,该互补区包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与表3、4、6、7、12、13、22、23、25、及26中任一一个表所列的任一序列的差异不超过3个核苷酸。

[0387] 6. 如第1至5项中任一项所述的双链RNAi剂,其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0388] 7. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中至少一个链包含至少1个核苷酸的3'突出端。

[0389] 8. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中至少一个链包含至少2个核苷酸的3'突出端。

[0390] 9. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为15-30对核苷酸的长度。

[0391] 10. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为17-23对核苷酸的长度。

[0392] 11. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为17-25对核苷酸的长度。

[0393] 12. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为23-27对核苷酸的长度。

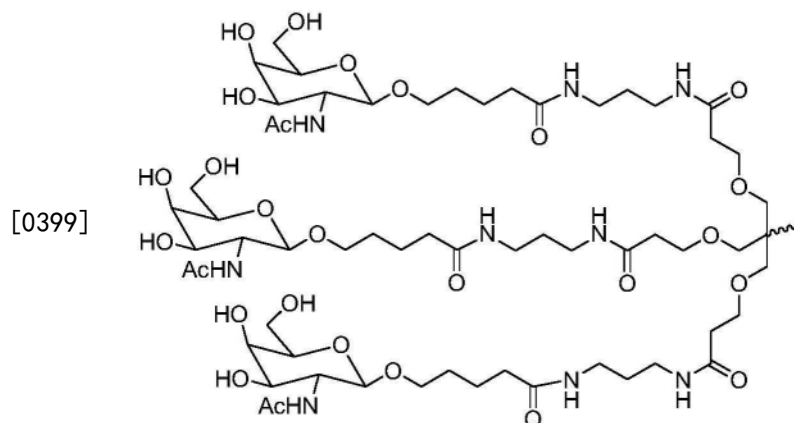
[0394] 13. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为19-21对核苷酸的长度。

[0395] 14. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中双链区为21-23对核苷酸的长度。

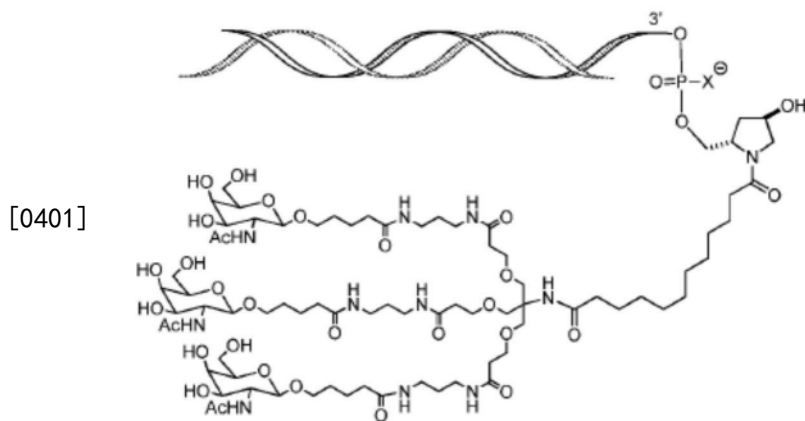
[0396] 15. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中各链具有15-30个核苷酸。

[0397] 16. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中各链具有19-30个核苷酸。

[0398] 17. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中该配体为



[0400] 18. 如第1项所述的双链RNAi剂,其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0402] 其中X为O或S。

[0403] 19. 如第1项所述的双链RNAi剂, 其中该RNAi剂选自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一个表所列的RNAi剂所组成的组。

[0404] 20. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0405] 其中该正义链包含5' -GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), 且该反义链包含5' -UGUGAAG CGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),

[0406] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0407] 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且

[0408] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0409] 21. 一种双链RNAi剂, 用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0410] 其中该正义链包含5' -GGUGGACUUCUCUCAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 且该反义链包含5' -UAAAA UUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),

[0411] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0412] 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且

[0413] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0414] 22. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0415] 其中该正义链包含5' -UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5), 且该反义链包含5' -UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6),

[0416] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0417] 其中该正义链是接合附接在3' -末端的配体, 且

[0418] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0419] 23. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的双链RNAi剂, 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0420] 其中该正义链包含5' -GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7), 且该反义链包

[0438] 30. 如第22项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfGfacuucucuca-3'(SEQ ID NO:15)及反义链包含5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfc Afcgasusu-3'(SEQ ID NO:16),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0439] 31. 如第23项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3'(SEQ ID NO:17)及反义链包含5'-usAfsgagGfugaagcgAfa Gfugcacsusu-3'(SEQ ID NO:18),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0440] 32. 如第23项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3'(SEQ ID NO:19)及反义链包含5'-PusAfsgagGfugaagcgAfa Gfugcacsusu-3'(SEQ ID NO:20),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0441] 33. 如第24项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3'(SEQ ID NO:21)及反义链包含5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfc Afccagcsasg-3'(SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0442] 34. 如第24项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3'(SEQ ID NO:23)及反义链包含5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfc Afccagcsasg-3'(SEQ ID NO:24),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

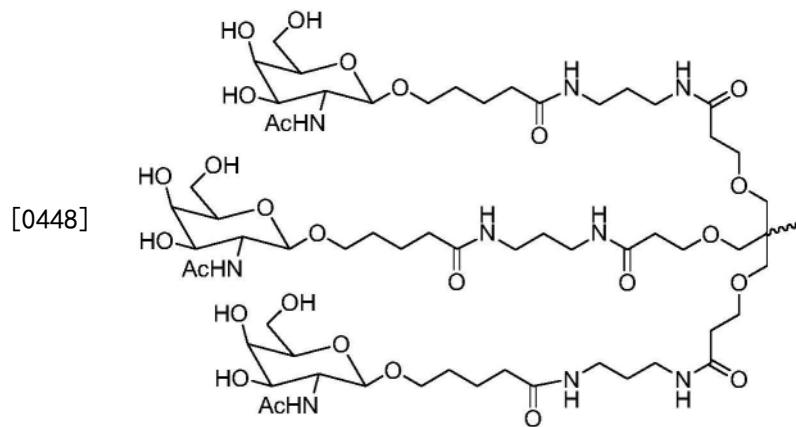
[0443] 35. 如第25项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3'(SEQ ID NO:35)及反义链包含5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu-3'(SEQ ID NO:36),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;dA、dC、dG、与dT为脱氧核糖A、C、G、与T;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0444] 36. 如第21项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3'(SEQ ID NO:25)及反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfg Ufccaccsasc-3'(SEQ ID NO:26),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

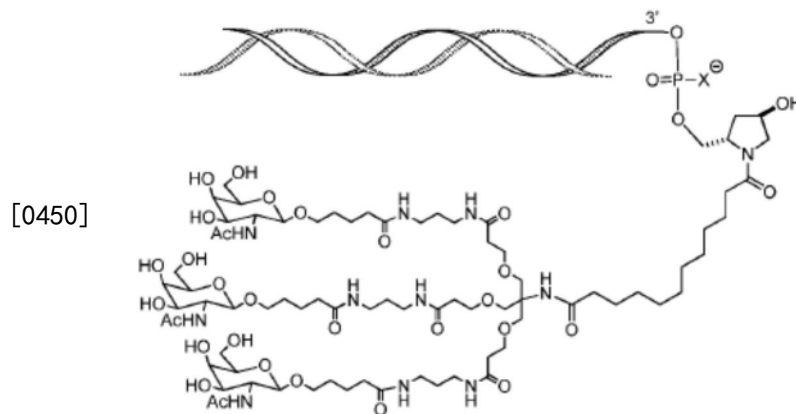
[0445] 37. 如第21项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3'(SEQ ID NO:27)及反义链包含5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfg Ufccaccsasc-3'(SEQ ID NO:28),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0446] 38. 如第20项所述的双链RNAi剂,其中正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3'(SEQ ID NO:41)及反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3'(SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0447] 39. 如第20至38项中任一项所述的双链RNAi剂,其中该配体为



[0449] 40. 如第39项所述的双链RNAi剂,其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0451] 其中X为O或S。

[0452] 41. 如第30、32、34与37项中任一项所述的双链RNAi剂,其中P为5'-磷酸酯模拟物。

[0453] 42. 如第30、32、34与37项中任一项所述的双链RNAi剂,其中5'-磷酸酯模拟物为5'-乙烯基磷酸酯(5'-VP)。

[0454] 43. 一种包含两种或更多种双链RNAi剂的组合物,用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达,其中各双链RNAi剂分别独立包含形成双链区的正义链与反义链,其中各该正义链分别独立包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及各该反义链分别独立包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0455] 其中各该正义链实质上所有核苷酸及各该反义链实质上所有核苷酸分别独立为经修饰的核苷酸,

[0456] 其中各该正义链分别独立接合附接在3'-末端的配体,且

[0457] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

[0458] 44. 如第43项所述的组合物,其中反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中一个或多

个为在反义链中错配的核苷酸。

[0459] 45. 如第43项所述的组合物, 其中反义链核苷酸序列中3个核苷酸差异中一个或多个为在正义链中错配的核苷酸。

[0460] 46. 如第43项所述的组合物, 其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0461] 47. 如第43项所述的组合物, 其中该正义链及该反义链包含互补区, 该互补区包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与表3、4、6、7、12、13、22、23、25、及26中任一表所列的任一序列的差异不超过3个核苷酸。

[0462] 48. 如第43至47项中任一项所述的组合物, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0463] 49. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物, 该组合物包含:

[0464] (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,

[0465] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0466] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0467] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物; 及

[0468] (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0469] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0470] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0471] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;

[0472] 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0473] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0474] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0475] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0476] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0477] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及

[0478] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39),

[0479] 及

[0480] 其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

[0481] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:6),

[0482] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8),

[0483] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10),

[0484] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0485] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及

[0486] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40)。

[0487] 50. 如第49项所述的组合物, 其中该第一与第二正义链的所有核苷酸和/或该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0488] 51. 如第49项所述的组合物, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0489] 52. 如第49项所述的组合物, 其中该第一与第二RNAi剂选自下组, 该组由以下各项组成:

[0490] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)

[0491] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);

[0492] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0493] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0494] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:17)

[0495] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);

[0496] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3' (SEQ ID NO:19)

[0497] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);

[0498] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0499] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);

[0500] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)

[0501] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);

[0502] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)

[0503] 5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36);

[0504] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

[0505] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);

[0506] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:27)

[0507] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28); 及

[0508] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0509] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),

[0510] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; dA、dC、dG、与dT是脱氧核糖A、C、G、与T; s为硫代磷酸酯

键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0511] 53.如第49项所述的组合物,其中该第一与第二RNAi剂为

[0512] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3'(SEQ ID NO:15)

[0513] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3'(SEQ ID NO:16);及

[0514] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3'(SEQ ID NO:21)

[0515] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3'(SEQ ID NO:22),

[0516] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0517] 54.如第49项所述的组合物,其中该第一与第二RNAi剂为

[0518] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3'(SEQ ID NO:25)

[0519] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3'(SEQ ID NO:26);及

[0520] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3'(SEQ ID NO:41)

[0521] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3'(SEQ ID NO:42),

[0522] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0523] 55.一种双链RNAi剂,其包含表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一个表所列的RNAi剂。

[0524] 56.一种载体,其包含如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂。

[0525] 57.一种细胞,其包含如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂。

[0526] 58.一种药物组合物,其包含如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体。

[0527] 59.如第58项所述的药物组合物,其中该双链RNAi剂是呈未缓冲的溶液给予。

[0528] 60.如第59项所述的药物组合物,其中该未缓冲的溶液为生理食盐水或水。

[0529] 61.如第58项所述的药物组合物,其中该双链RNAi剂是使用缓冲液溶液给予。

[0530] 62.如第61项所述的药物组合物,其中该缓冲溶液包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐、或磷酸盐或其任何组合。

[0531] 63.如第62项所述的药物组合物,其中该缓冲溶液为磷酸盐缓冲的生理食盐水(PBS)。

[0532] 64.一种抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)基因表达的方法,该方法包括:

[0533] (a)使细胞与如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物接触;及

[0534] (b)维持步骤(a)所产生的细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间,借以抑制细胞中HBV基因的表达。

[0535] 65.如第64项所述的方法,其中HBV基因选自下组,该组由以下各项组成:C、X、P、S、及其组合。

[0536] 66.一种抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)复制的方法,该方法包括:

[0537] (a) 使细胞与如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物接触;及

[0538] (b) 维持步骤(a)所产生的细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间, 借以抑制细胞中HBV复制。

[0539] 67. 如第64或66项所述的方法, 其中该细胞位于受试者内。

[0540] 68. 如第67项所述的方法, 其中该受试者为人类。

[0541] 69. 如第68项所述的方法, 其中该受试者罹患HBV相关疾病。

[0542] 70. 如第64项所述的方法, 其中该HBV基因表达是受到抑制至少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%或约100%。

[0543] 71. 如第66项所述的方法, 其中细胞中的HBV复制是受到抑制至少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%或约100%。

[0544] 72. 一种使感染HBV的受试者降低B型肝炎病毒(HBV)共价闭合环状HBV(ccc)DNA含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者中共价闭合环状HBV DNA含量。

[0545] 73. 一种使感染HBV的受试者降低B型肝炎病毒(HBV)抗原含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以减少该受试者中HBV抗原含量。

[0546] 74. 如第73项所述的方法, 其中该HBV抗原为HBsAg。

[0547] 75. 如第73项所述的方法, 其中该HBV抗原为HBeAg。

[0548] 76. 一种使感染HBV的受试者降低B型肝炎病毒(HBV)病毒量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者中HBV病毒量。

[0549] 77. 一种使感染HBV的受试者降低丙氨酸氨基转移酶(ALT)含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者中ALT含量。

[0550] 78. 一种使感染HBV的受试者降低天冬氨酸氨基转移酶(AST)含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者的AST含量。

[0551] 79. 一种使感染HBV的受试者提高抗-B型肝炎病毒(HBV)抗体含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以提高该受试者中抗-HBV抗体含量。

[0552] 80. 一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给

予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物,借以治疗该受试者。

[0553] 81.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物,借以治疗该受试者。

[0554] 82.如第71项所述的方法,其中该HBV-相关病症是选自下组,该组由以下各项组成:D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝纤维化;末期肝病;肝细胞癌。

[0555] 83.如第71项所述的方法,其中该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阳性。

[0556] 84.如第71项所述的方法,其中该HBV-相关病症为慢性肝炎,且该受试者为HBeAg阴性。

[0557] 85.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0558] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0559] 其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3'(SEQ ID NO:5),且该反义链包含5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3'(SEQ ID NO:6),

[0560] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0561] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0562] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0563] 86.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0564] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0565] 其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3'(SEQ ID NO:5),且该反义链包含5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3'(SEQ ID NO:6),

[0566] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0567] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0568] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0569] 87.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0570] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0571] 其中该正义链包含5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3'(SEQ ID NO:7),且该反义链包含5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3'(SEQ ID NO:8),

[0572] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0573] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0574] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0575] 88.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0576] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0577] 其中该正义链包含5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3'(SEQ ID NO:7),且该反义链包含5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3'(SEQ ID NO:8),

[0578] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0579] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0580] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0581] 89.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0582] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0583] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3'(SEQ ID NO:9),且该反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3'(SEQ ID NO:10),

[0584] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0585] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0586] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0587] 90.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0588] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0589] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3'(SEQ ID NO:9),且该反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3'(SEQ ID NO:10),

[0590] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0591] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0592] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0593] 91.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0594] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0595] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3'(SEQ ID NO:37),且该反义链

包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0596] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0597] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0598] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0599] 92.一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0600] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0601] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),且该反义链包含5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0602] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0603] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0604] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0605] 93.一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0606] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0607] 其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11),且该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),

[0608] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0609] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0610] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0611] 94.一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0612] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0613] 其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11),且该反义链包含5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),

[0614] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0615] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0616] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0617] 95.一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0618] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0619] 其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), 且该反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),

[0620] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0621] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0622] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0623] 96. 一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0624] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0625] 其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), 且该反义链包含5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),

[0626] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0627] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0628] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0629] 97. 如第85至96项中任一项所述的方法, 其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0630] 98. 如第85至96项中任一项所述的方法, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0631] 99. 如第98项所述的方法, 其中5'-磷酸酯模拟物为5'-乙烯基磷酸酯 (5'-VP)。

[0632] 100. 如第85或86项所述的方法, 其中正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13) 及反义链包含5'-usGfsagaGfaAfGfucaCfc Afcgasusu-3' (SEQ ID NO:14), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; 且s为硫代磷酸酯键联基。

[0633] 101. 如第85或86项所述的方法, 其中正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15) 及反义链包含5'-PusGfsagaGfaAfGfucaCfc Afcgasusu-3' (SEQ ID NO:16), 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; 且s为硫代磷酸酯键联基; 且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0634] 102. 如第87或88项所述的方法,其中正义链包含5'-g s u s g c a c U f u C f G f C f u u c a c c u c u a - 3' (SEQ ID NO:17)及反义链包含5'-u s A f s g a g G f u g a a g c g A f a G f u g c a c s u s u - 3' (SEQ ID NO:18),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0635] 103. 如第87或88项所述的方法,其中正义链包含5'-g s u s g c a c U f u C f G f C f u u c a c c u c u a - 3' (SEQ ID NO:19)及反义链包含5'-P u s A f s g a g G f u g a a g c g A f a G f u g c a c s u s u - 3' (SEQ ID NO:20),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0636] 104. 如第89或90项所述的方法,其中正义链包含5'-c s g s u g g u G f g A f C f U f u c u c U f C f a a u u - 3' (SEQ ID NO:21)及反义链包含5'-a s A f s u u g A f g A f g A f a g u C f c A f c c a g c s a s g - 3' (SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0637] 105. 如第89或90项所述的方法,其中正义链包含5'-c s g s u g g u G f g A f C f U f u c u c U f C f a a u u - 3' (SEQ ID NO:23)及反义链包含5'-P a s A f s u u g A f g A f g A f a g u C f c A f c c a g c s a s g - 3' (SEQ ID NO:24),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

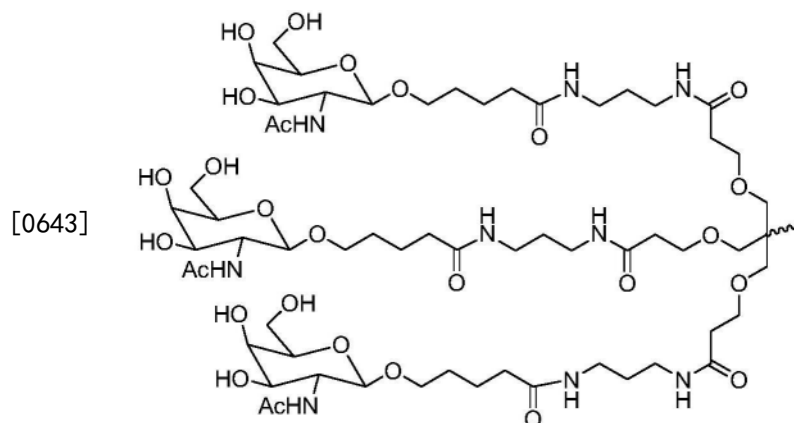
[0638] 106. 如第91或92项所述的方法,其中正义链包含5'-c s g s u g g u d G g u c d T u c u c u a a a u u - 3' (SEQ ID NO:35)及反义链包含5'-a s d A s u u g a g a g d A a g u d C c a c c a g c s u s u - 3' (SEQ ID NO:36),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;dA、dC、dG、与dT为脱氧核糖A、C、G、与T;及s为硫代磷酸酯键联基。

[0639] 107. 如第93或94项的方法,其中正义链包含5'-g s g s u g g a C f u U f C f U f c u c a A f U f u u u a - 3' (SEQ ID NO:25)及反义链包含5'-u s A f s a a a U f u G f A f g a g a A f g U f c c a c c s a s c - 3' (SEQ ID NO:26),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

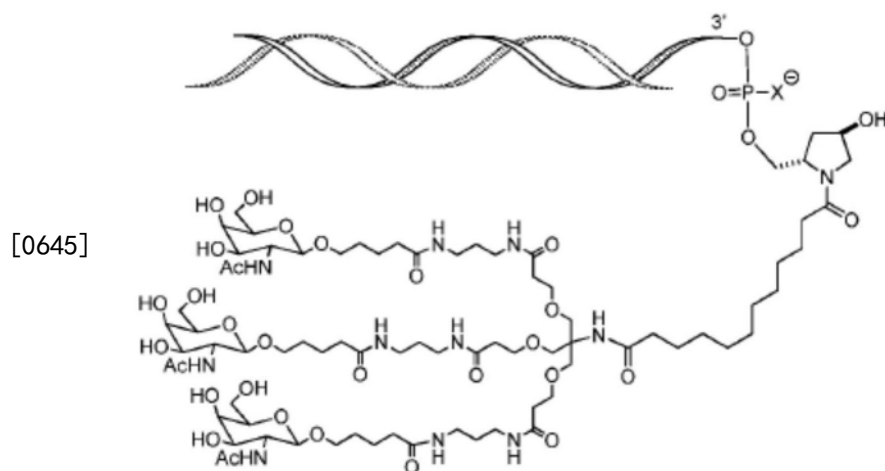
[0640] 108. 如第93或94项所述的方法,其中正义链包含5'-g s g s u g g a C f u U f C f U f c u c a A f U f u u u a - 3' (SEQ ID NO:27)及反义链包含5'-P u s A f s a a a U f u G f A f g a g a A f g U f c c a c c s a s c - 3' (SEQ ID NO:28),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0641] 109. 如第95或96项所述的方法,其中正义链包含5'-g s u s g u G f c A f C f U f u c g c u u c a c a - 3' (SEQ ID NO:41)及反义链包含5'-u s G f s u g a A f g C f G f a a g u G f c A f c a c s u s u - 3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0642] 110. 如第85至96项中任一项所述的方法, 其中该配体为



[0644] 111. 如第110项所述的方法, 其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0646] 其中X为O或S。

[0647] 112. 如第86、88、90、92、94及96项中任一项所述的方法, 其中该HBV-相关病症是选自下组, 该组由以下各项组成: D型肝炎病毒感染; δ 型(delta)肝炎; 急性B型肝炎; 急性暴发性B型肝炎; 慢性B型肝炎; 肝纤维化; 末期肝病; 肝细胞癌。

[0648] 113. 如第86、88、90、92、94及96项中任一项所述的方法, 其中该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阳性。

[0649] 114. 如第86、88、90、92、94及96项中任一项所述的方法, 其中该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阴性。

[0650] 115. 一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物, 该组合物包含

[0651] (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,

[0652] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0653] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0654] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物; 及

[0655] (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0656] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修

饰的核苷酸,

[0657] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0658] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;

[0659] 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0660] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0661] 5'-GUGCACUUCGCUUACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0662] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0663] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0664] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11),及

[0665] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39),

[0666] 及其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0667] 5'-ugagagaaguccaccacgauu-3' (SEQ ID NO:6);

[0668] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[0669] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[0670] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0671] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),及

[0672] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),借以治疗该受试者。

[0673] 116.一种治疗患有B型肝炎病毒(HBV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的组合物,该组合物包含

[0674] (a)第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,

[0675] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0676] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0677] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;及

[0678] (b)第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0679] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0680] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0681] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;

[0682] 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0683] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0684] 5'-GUGCACUUCGCUUACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0685] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0686] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0687] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11),及

[0688] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39),及

[0689] 其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0690] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[0691] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

- [0692] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);
- [0693] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38);
- [0694] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC'-3' (SEQ ID NO:12), 及
- [0695] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40), 借以治疗该受试者。
- [0696] 117. 如第115及116项中任一项所述的方法, 其中该第一与第二正义链的所有核苷酸及该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。
- [0697] 118. 如第115及116项中任一项所述的方法, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。
- [0698] 119. 如第115或116项所述的方法, 其中该第一与第二RNAi剂选自下组, 该组由以下各项组成:
- [0699] 5'-uscsuguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)
- [0700] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);
- [0701] 5'-uscsuguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)
- [0702] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);
- [0703] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:17)
- [0704] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);
- [0705] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:19)
- [0706] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);
- [0707] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)
- [0708] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);
- [0709] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)
- [0710] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);
- [0711] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)
- [0712] 5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagesusu-3' (SEQ ID NO:36);
- [0713] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)
- [0714] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);
- [0715] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:27)
- [0716] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28); 及
- [0717] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)
- [0718] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42);
- [0719] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U; a、g、c、与u为2'-O-甲基 (2'-OMe) A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U; dA、dC、dG、与dT是脱氧核糖A、C、G、与T; s为硫代磷酸酯

键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0720] 120.如第115或116项所述的方法,其中该第一与第二RNAi剂为

[0721] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0722] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgassu-3' (SEQ ID NO:16);及

[0723] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0724] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22),

[0725] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0726] 121.如第115或116项所述的方法,其中该第一与第二RNAi剂为

[0727] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

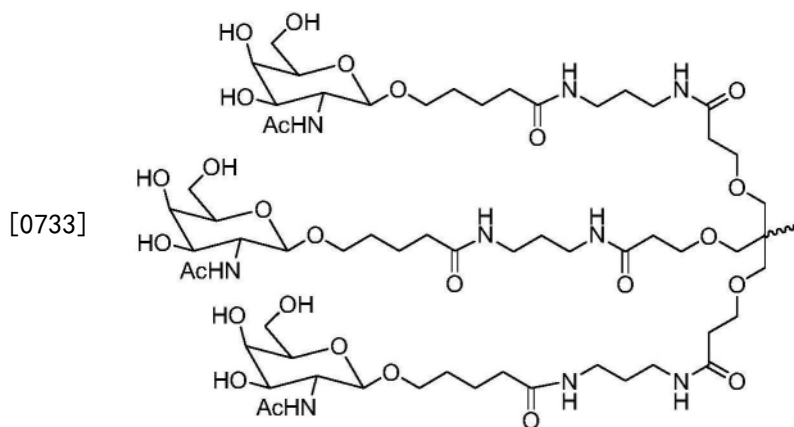
[0728] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);及

[0729] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

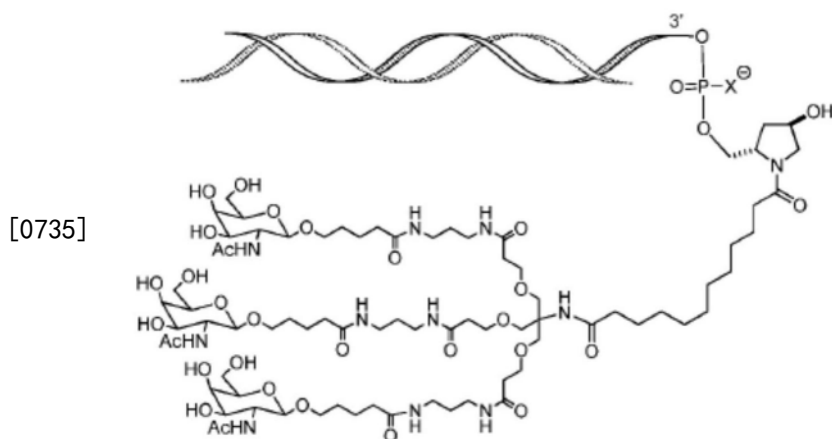
[0730] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),

[0731] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0732] 122.如第115及116项中任一项所述的方法,其中该配体为



[0734] 123.如第122项所述的方法,其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0736] 其中X为O或S。

- [0737] 124. 如第115及116项中任一项所述的方法, 其中该受试者为人类。
- [0738] 125. 如第116项所述的方法, 其中该HBV-相关病症是选自下组, 该组由以下各项组成: D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎; 急性暴发性B型肝炎; 慢性B型肝炎; 肝纤维化; 末期肝病; 及肝细胞癌。
- [0739] 126. 如第116项所述的方法, 其中该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阳性。
- [0740] 127. 如第116项所述的方法, 其中该HBV-相关病症为慢性肝炎, 且该受试者为HBeAg阴性。
- [0741] 128. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约0.01mg/kg至约10mg/kg或约0.5mg/kg至约50mg/kg。
- [0742] 129. 如第128项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg至约30mg/kg。
- [0743] 130. 如第128项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约3mg/kg。
- [0744] 131. 如第128项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg。
- [0745] 132. 如第128项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约0.5mg/kg, 每周2次。
- [0746] 133. 如第82至120项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是给予固定剂量约50mg至200mg。
- [0747] 134. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是经皮下给予。
- [0748] 135. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是经静脉内给予。
- [0749] 136. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂是给予2个或更多个剂量。
- [0750] 137. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂的给予间隔选自下组, 该组由以下各项组成: 约每12小时一次、约每24小时一次、约每48小时一次、约每72小时一次、及约每96小时一次。
- [0751] 138. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂是每周给予2次。
- [0752] 139. 如第85至127项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂是每隔一周给予。
- [0753] 140. 如第85至127项中任一项所述的方法, 进一步包括对受试者给予另一种治疗剂。
- [0754] 141. 如第140项所述的方法, 其中该另一种治疗剂选自下组, 该组由以下各项组成: 抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBV DNA抑制剂, 及上述任一者的组合。
- [0755] 142. 如第85至127项中任一项所述的方法, 进一步包括对受试者给予反转录酶抑制剂。
- [0756] 143. 如第85至127项中任一项所述的方法, 进一步包括对受试者给予反转录酶抑制剂及免疫刺激剂。
- [0757] 144. 如第142或143项所述的方法, 其中该反转录酶抑制剂选自下组, 该组由以下各项组成: 泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate) (TDF)、替诺福韦埃拉酚

(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定 (Lamivudine)、阿德福韦酯 (Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦 (Entecavir) (ETV)、喜必福 (Telbivudine)、及 AGX-1009。

[0758] 145. 如第143项所述的方法, 其中该免疫刺激剂选自下组, 该组由以下各项组成: 聚乙二醇基化干扰素 α 2a (PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、及Toll-样受体7 (TLR7) 促效剂。

[0759] 146. 一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 相关病症的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0760] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0761] 其中该正义链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 且该反义链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0762] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0763] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0764] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物, 借以治疗该受试者。

[0765] 147. 一种治疗患有B型肝炎病毒 (HBV) 感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物, 该组合物包含

[0766] (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链与第一反义链,

[0767] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0768] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0769] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物; 及

[0770] (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0771] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0772] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且

[0773] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;

[0774] 其中该第一正义链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 及该第一反义链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0775] 其中该正义第二链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 及该第二反义链包含至少15个连续核苷酸, 该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸, 借以治疗该受试者。

[0776] 148. 如第146项所述的方法, 其中第一正义链包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成

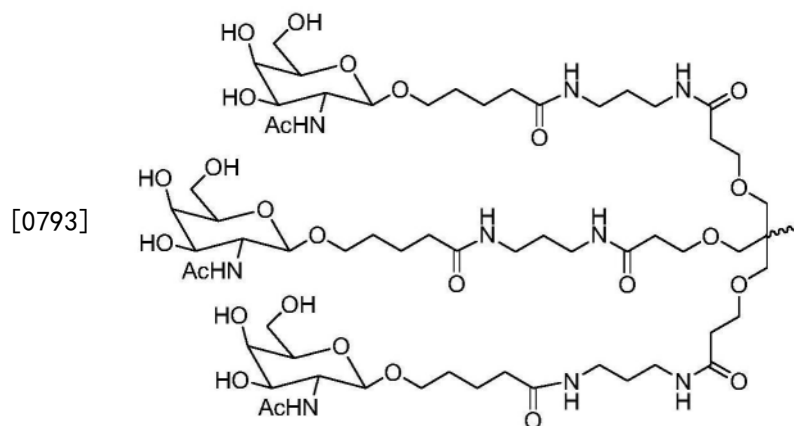
[0777] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0778] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

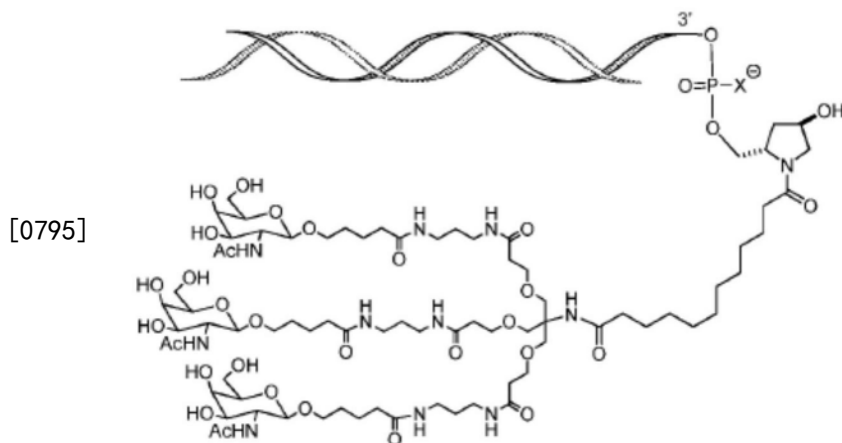
- [0779] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),
[0780] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAU-3' (SEQ ID NO:37),
[0781] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及
[0782] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39), 及
[0783] 其中第二反义链包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成
[0784] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);
[0785] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);
[0786] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);
[0787] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),
[0788] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及
[0789] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40)。
[0790] 149. 如第146至148项中任一项所述的方法, 其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0791] 150. 如第146至149项中任一项所述的方法, 其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组, 该组由以下各项组成: 脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶 (dT) 核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

- [0792] 151. 如第146至149项中任一项所述的方法, 其中该配体为



- [0794] 152. 如第151项所述的方法, 其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0796] 其中X为O或S。

[0797] 153. 一种抑制细胞中D型肝炎病毒 (HDV) 复制的方法, 该方法包括:

[0798] (a) 使细胞与如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物接触; 及

[0799] (b) 维持步骤 (a) 所产生的细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间, 借以抑制细胞中HDV复制。

[0800] 154. 如第153项所述的方法, 其中该细胞是在受试者内。

[0801] 155. 如第154项所述的方法, 其中该受试者为人类。

[0802] 156. 一种使感染HDV的受试者降低D型肝炎病毒 (HDV) 抗原含量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者中HDV抗原量。

[0803] 157. 如第156项所述的方法, 其中该HDV抗原为S-HDAg。

[0804] 158. 如第156项所述的方法, 其中该HDV抗原为L-HDAg。

[0805] 159. 一种使感染HDV的受试者降低D型肝炎病毒 (HDV) 病毒量的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以降低该受试者中HDV病毒量。

[0806] 160. 一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的如第1及20至25项中任一项所述的双链RNAi剂、或如第43与49项中任一项所述的组合物、或如第56项所述的载体、或如第58至63项中任一项所述的药物组合物, 借以治疗该受试者。

[0807] 161. 一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0808] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0809] 其中该正义链包含5' -UCGUGGUGGACUUCUCU CA-3' (SEQ ID NO:5), 且该反义链包含5' -UGAGAGAA GUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6),

[0810] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷

酸,

[0811] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0812] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0813] 162.一种治疗患有D型肝炎病毒-(HDV-)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0814] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0815] 其中该正义链包含5'-UCGUGGUGGACUUCUCU CA-3' (SEQ ID NO:5),且该反义链包含5'-UGAGAGAA GUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6),

[0816] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0817] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0818] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0819] 163.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0820] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0821] 其中该正义链包含5'-GUGCACUUCGCUUCACC UCUA-3' (SEQ ID NO:7),且该反义链包含5'-UAGAGG UGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8),

[0822] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0823] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0824] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0825] 164.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0826] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0827] 其中该正义链包含5'-GUGCACUUCGCUUCACC UCUA-3' (SEQ ID NO:7),且该反义链包含5'-UAGAGG UGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8),

[0828] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0829] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0830] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0831] 165.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0832] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0833] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGACUUCUCUC AAUU-3' (SEQ ID NO:9),且该反义链包含5'-AAUUGA GAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10),

[0834] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0835] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0836] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0837] 166.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0838] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0839] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGACUUCUCUC AAUU-3' (SEQ ID NO:9),且该反义链包含5'-AAUUGA GAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10),

[0840] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0841] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0842] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0843] 167.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0844] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0845] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCU AAAUU-3' (SEQ ID NO:37),且该反义链包含5'-AAUU GAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0846] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0847] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0848] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0849] 168.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0850] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0851] 其中该正义链包含5'-CGUGGUGGUCUUCUCU AAAUU-3' (SEQ ID NO:37),且该反义链包含5'-AAUU GAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[0852] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0853] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0854] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0855] 169.一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0856] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0857] 其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAAUU UUA-3' (SEQ ID NO:11),且该反义链

包含5'-UAAAAUU GAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),

[0858] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0859] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0860] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0861] 170.一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0862] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0863] 其中该正义链包含5'-GGUGGACUUCUCUCAAUU UUA-3' (SEQ ID NO:11),且该反义链包含5'-UAAAAUU GAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),

[0864] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0865] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0866] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0867] 171.一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0868] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0869] 其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCA CA-3' (SEQ ID NO:39),且该反义链包含5'-UGUGAA GCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),

[0870] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0871] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0872] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0873] 172.一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 相关病症的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的双链RNAi剂,

[0874] 其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链,

[0875] 其中该正义链包含5'-GUGUGCACUUCGCUUCA CA-3' (SEQ ID NO:39),且该反义链包含5'-UGUGAA GCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40),

[0876] 其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0877] 其中该正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0878] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物,借以治疗该受试者。

[0879] 173.如第161至172项中任一项所述的方法,其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0880] 174.如第161至172项中任一项所述的方法,其中至少一个该经修饰的核苷酸是选

自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0881] 175.如第174项所述的方法,其中该5'-磷酸酯模拟物为5'-乙基磷酸酯(5'-VP)。

[0882] 176.如第161或162项所述的方法,其中正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3'(SEQ ID NO:13)及反义链包含5'-usGfsagaGfaAfGfucaCfc Afcgasusu-3'(SEQ ID NO:14),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0883] 177.如第161或162项所述的方法,其中正义链包含5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3'(SEQ ID NO:15)及反义链包含5'-PusGfsagaGfaAfGfucaCfc Afcgasusu-3'(SEQ ID NO:16),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0884] 178.如第163或164项所述的方法,其中正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3'(SEQ ID NO:17)及反义链包含5'-usAfsgagGfugaagcgAfa Gfugcacsusu-3'(SEQ ID NO:18),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0885] 179.如第163或164项所述的方法,其中正义链包含5'-gsusgcacUfuCfGfCfuucaccucua-3'(SEQ ID NO:19)及反义链包含5'-PusAfsgagGfugaagcgAfa Gfugcacsusu-3'(SEQ ID NO:20),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0886] 180.如第165或166项所述的方法,其中正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3'(SEQ ID NO:21)及反义链包含5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfc Afccagcsasg-3'(SEQ ID NO:22),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0887] 181.如第165或166项所述的方法,其中正义链包含5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3'(SEQ ID NO:23)及反义链包含5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfc Afccagcsasg-3'(SEQ ID NO:24),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s

为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

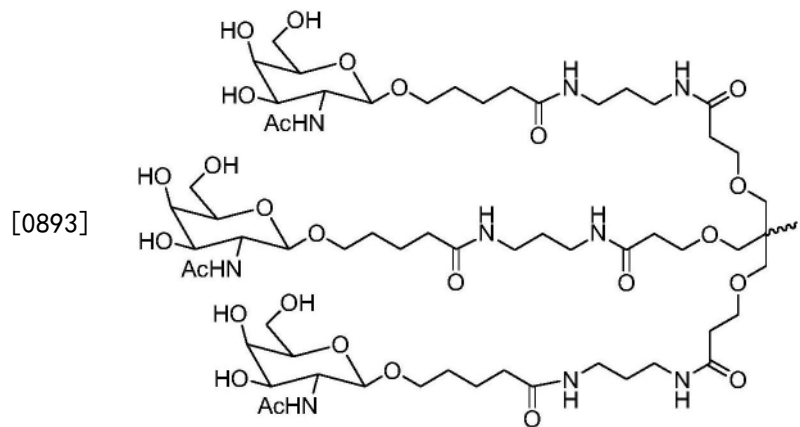
[0888] 182. 如第167或168项所述的方法,其中正义链包含5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaau-3' (SEQ ID NO:35)及反义链包含5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagsusu-3' (SEQ ID NO:36),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;dA、dC、dG、与dT为脱氧核糖A、C、G、与T;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0889] 183. 如第169或170项所述的方法,其中正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3' (SEQ ID NO:25)及反义链包含5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfg Ufccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

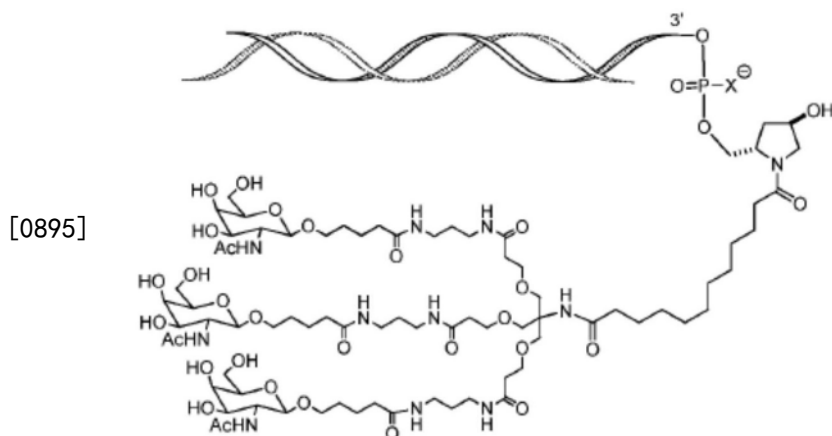
[0890] 184. 如第169或170项所述的方法,其中正义链包含5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuua-3' (SEQ ID NO:27)及反义链包含5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfg Ufccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0891] 185. 如第171或172项所述的方法,其中正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)及反义链包含5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfc Afcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G;Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;且s为硫代磷酸酯键联基。

[0892] 186. 如第161至172项中任一项所述的方法,其中该配体为



[0894] 187. 如第186项所述的方法,其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0896] 其中X为0或S。

[0897] 188.一种治疗患有D型肝炎病毒 (HDV) 感染的受试者的方法,其包括对该受试者给予治疗有效量的用于抑制细胞中B型肝炎病毒 (HBV) 表达的组合物,该组合物包含

[0898] (a) 第一双链RNAi剂,其包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,

[0899] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸，

[0900] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0901] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;及

[0902] (b) 第二双链RNAi剂,其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0903] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸，

[0904] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0905] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物；

[0906] 其中该第一与第二正义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0907] 5' -UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5).

[0908] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7).

[0909] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAU-3' (SEQ ID NO:9).

[0910] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37).

[0911] 5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及

[0912] 5' -GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39).

[0913] 及其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0914] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[0915] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[0916] 5' -AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[0917] 5' -AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38).

[0918] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及

[0919] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40), 借以治疗该受试者。

[0920] 189. 如第188项所述的方法, 其中该第一及第二正义链的所有核苷酸及该第一及第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[0921] 190.如第188项所述的方法,其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[0922] 191.如第188项所述的方法,其中该第一与第二RNAi剂选自下组,该组由以下各项组成:

[0923] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:13)

[0924] 5'-usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:14);

[0925] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0926] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);

[0927] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:17)

[0928] 5'-usAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:18);

[0929] 5'-gsusgcacUfuCfGfCfuuccaccucua-3' (SEQ ID NO:19)

[0930] 5'-PusAfsgagGfugaagcgAfaGfugcacsusu-3' (SEQ ID NO:20);

[0931] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0932] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22);

[0933] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:23)

[0934] 5'-PasAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:24);

[0935] 5'-csgsuggudGgucdTucucuaaaauu-3' (SEQ ID NO:35)

[0936] 5'-asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu-3' (SEQ ID NO:36);

[0937] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

[0938] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26);

[0939] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:27)

[0940] 5'-PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:28);及

[0941] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

[0942] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42),

[0943] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U;a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe)A、U、C、或G; Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U;dA、dC、dG、与dT是脱氧核糖A、C、G、与T;s为硫代磷酸酯键联基;且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0944] 192.如第188项所述的方法,其中该第一与第二RNAi剂为

[0945] 5'-uscsguGfgUfGfGfacuucucuca-3' (SEQ ID NO:15)

[0946] 5'-PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu-3' (SEQ ID NO:16);及

[0947] 5'-csgsugguGfgAfCfUfucucUfCfaauu-3' (SEQ ID NO:21)

[0948] 5'-asAfsuugAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg-3' (SEQ ID NO:22),

[0949] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U；a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G；Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U；s为硫代磷酸酯键联基；且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0950] 193. 如第188项所述的方法，其中该第一与第二RNAi剂为

[0951] 5'-gsgsuggaCfuUfCfUfcucaAfUfuuaa-3' (SEQ ID NO:25)

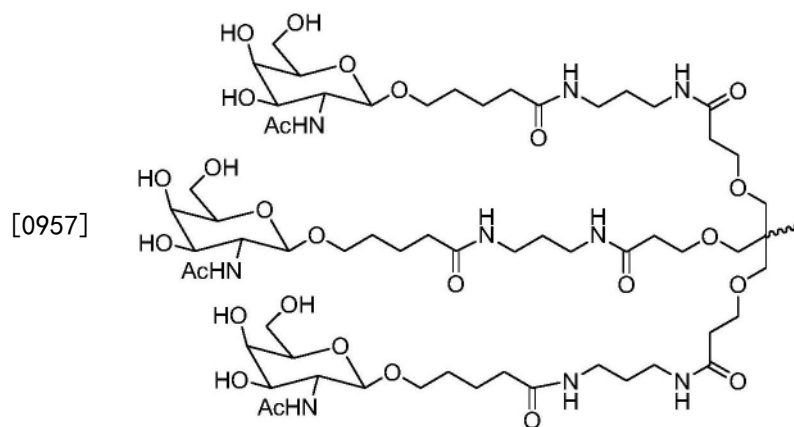
[0952] 5'-usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc-3' (SEQ ID NO:26)；及

[0953] 5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3' (SEQ ID NO:41)

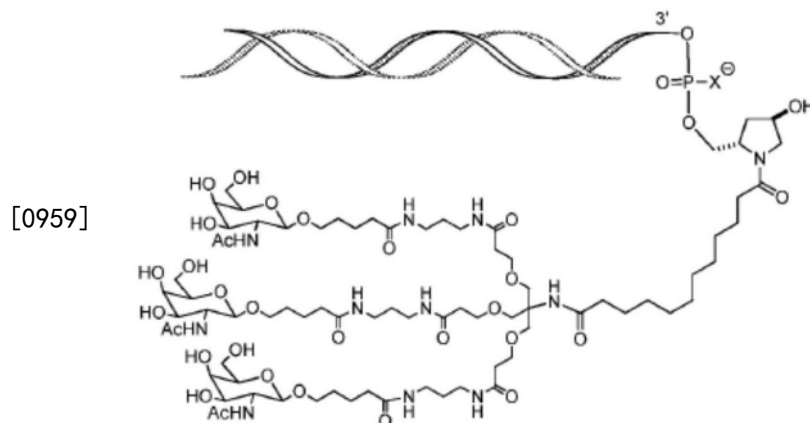
[0954] 5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3' (SEQ ID NO:42)，

[0955] 其中A、C、G、及U为核糖A、C、G、或U；a、g、c、与u为2'-O-甲基(2'-OMe) A、U、C、或G；Af、Cf、Gf、或Uf为2'-氟A、G、C、或U；s为硫代磷酸酯键联基；且P为5'-磷酸酯或5'磷酸酯模拟物。

[0956] 194. 如第188项所述的方法，其中该配体为



[0958] 195. 如第194项所述的方法，其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[0960] 其中X为O或S。

[0961] 196. 如第188项所述的方法，其中该受试者为人类。

[0962] 197. 如第161至196项中任一项所述的方法，其中该双链RNAi剂的给予剂量为约0.01mg/kg至约10mg/kg或约0.5mg/kg至约50mg/kg。

[0963] 198. 如第197项所述的方法，其中该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg至约30mg/kg。

[0964] 199. 如第197项所述的方法，其中该双链RNAi剂的给予剂量为约3mg/kg。

- [0965] 200. 如第197项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约10mg/kg。
- [0966] 201. 如第199项所述的方法, 其中该双链RNAi剂的给予剂量为约0.5mg/kg, 每周2次。
- [0967] 202. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是给予固定剂量约50mg至200mg。
- [0968] 203. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是经皮下给予。
- [0969] 204. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该双链RNAi剂是经静脉内给予。
- [0970] 205. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂为给予2个或更多个剂量。
- [0971] 206. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂的给予间隔选自下组, 该组由以下各项组成: 约每12小时一次、约每24小时一次、约每48小时一次、约每72小时一次、及约每96小时一次。
- [0972] 207. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂是每周给予2次。
- [0973] 208. 如第161至196项中任一项所述的方法, 其中该RNAi剂是每隔一周给予一次。
- [0974] 209. 如第161至196项中任一项所述的方法, 进一步包含对受试者给予另一种治疗剂。
- [0975] 210. 如第209项所述的方法, 其中该另一种治疗剂选自下组, 该组由以下各项组成: 抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBVDNA抑制剂, 及上述任一者的组合。
- [0976] 211. 如第161至196项中任一项所述的方法, 进一步包含对受试者给予反转录酶抑制剂。
- [0977] 212. 如第161至196项中任一项所述的方法, 进一步包含对受试者给予反转录酶抑制剂及免疫刺激剂。
- [0978] 213. 如第211或212项所述的方法, 其中该反转录酶抑制剂选自下组, 该组由以下各项组成: 泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate) (TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir) (ETV)、喜必福(Telbivudine)、及AGX-1009。
- [0979] 214. 如第213项所述的方法, 其中该免疫刺激剂选自下组, 该组由以下各项组成: 聚乙二醇基化干扰素 α 2a (PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、及Toll-样受体7 (TLR7) 促效剂。
- [0980] 215. 一种治疗患有D型肝炎病毒(HDV)感染的受试者的方法, 其包括对该受试者给予治疗有效量的抑制细胞中D型肝炎病毒(HDV)表达的组合物, 该组合物包含
- [0981] (a) 第一双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第一正义链与第一反义链,
- [0982] 其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,
- [0983] 其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体, 且
- [0984] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物; 及
- [0985] (b) 第二双链RNAi剂, 其包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,

[0986] 其中该第二正义链实质上所有核苷酸及该第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,

[0987] 其中该第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且

[0988] 其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;

[0989] 其中该第一正义链包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:1核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及该第一反义链包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:2核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,

[0990] 其中该正义第二链包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:29核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,及该第二反义链包含至少15个连续核苷酸,该至少15个连续核苷酸与SEQ ID NO:30核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸,借以治疗该受试者。

[0991] 216.如第215项所述的方法,其中第一正义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0992] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[0993] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[0994] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[0995] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[0996] 5'-GGUGGACUUCUCUCAAUUUA-3' (SEQ ID NO:11),及

[0997] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39),及

[0998] 其中第二反义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成

[0999] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[1000] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[1001] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[1002] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

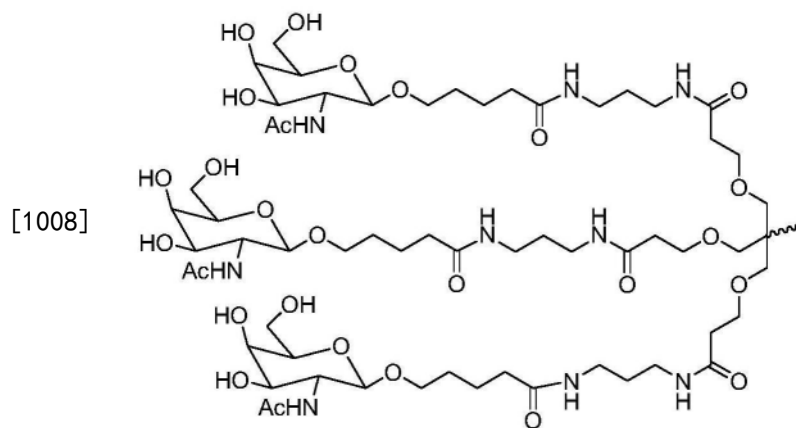
[1003] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12),及

[1004] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40)。

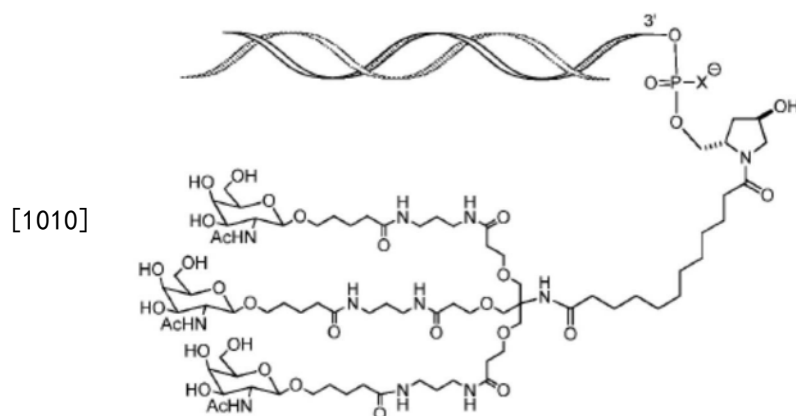
[1005] 217.如第215或216项中任一项所述的方法,其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[1006] 218.如第215或216项中任一项所述的方法,其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组,该组由以下各项组成:脱氧-核苷酸、3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[1007] 219.如第215或216项中任一项所述的方法,其中该配体为



[1009] 220. 如第219项所述的方法, 其中该RNAi剂是接合如下所示的配体



[1011] 其中X为O或S。

[1012] 本发明进一步利用下文与图式详细加以说明。

附图说明

[1013] 图1图解说说明约3.2kb双链HBV基因组的结构。HBV基因组的复制是通过RNA中间物进行, 并产生4种重叠病毒转录本(约3.5kb转录本、约2.4kb转录本、约2.1kb转录本、与约0.7kb转录本), 其通过三种读码框的翻译来编码七种病毒蛋白质(pre-S1、pre-S2、S、P、X、pre-C与C)。

[1014] 图2是说明在给予单剂3mg/kg所指定的iRNA剂后, HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量的下降对数值的图示。

[1015] 图3是说明在给予单剂3mg/kg所指定的iRNA剂后, HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量的下降对数值的图示。

[1016] 图4是说明在给予单剂3mg/kg所指定的iRNA剂后, 第5天及第10天时相对于给予前HBsAG的残留百分比的图示。图4还说明给予后第10天的HBsAG相对于接受3mg/kg靶向小鼠/大鼠转甲状腺素(transferrin) (mrTTR) 的对照dsRNA给予后第10天的HBsAG残留百分比。

[1017] 图5是说明在给予单剂3mg/kg所指定的AD-65403后, HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量的下降对数值的图示。

[1018] 图6A是说明在经皮下给予单剂0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、或9mg/kg的AD-66810后, HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量依标准线性标度下降的图示。

[1019] 图6B是说明在经皮下给予单剂0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、或9mg/kg的AD-66810

后,HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量依 \log_{10} 标度下降的图示。

[1020] 图7是说明每周3次经皮下给予3mg/kg剂量的AD-66810后,HBsAg血清含量相对于给予前HBsAg血清含量依 \log_{10} 标度下降的图示。

[1021] 发明详细说明

[1022] 本发明提供一种可引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解B型肝炎病毒(HBV)基因的RNA转录本的iRNA组合物。该基因可在细胞内,例如:受试者(如:人类)的细胞内。使用这些iRNA可以靶向降解哺乳动物中相应基因(HBV基因)的mRNA。

[1023] 本发明的RNAi剂已设计用于靶向保留在所有8种HBV血清型中的HBV基因组的区域。此外,本发明RNAi剂已设计用于借由抑制一种以上HBV基因的表达来抑制HBV生命周期的所有步骤,例如:病毒的复制、组装、分泌,及次病毒抗原的分泌。具体地,由于HBV基因组的转录造成多顺反子的重叠RNA,靶向单一HBV基因的本发明RNAi剂造成显著抑制大多数或所有HBV转录本的表达。例如:由于HBV基因组转录进入单一mRNA中,因此靶向S基因的本发明RNAi剂不仅抑制S基因表达,而且亦抑制“下游(downstream)”聚合酶基因的表达。此外,本发明的RNAi剂已设计用于借由靶向HBV结构基因而抑制HBV病毒复制,使HBV X基因得以让受试者的免疫系统检测HbsAg的存在并因此反应产生抗-HBV抗体来清除HBV感染。在不希望受到理论限制下,据信上述性质与特定靶位点和/或特定修饰在这些RNAi剂中的组合或次组合赋与本发明RNAi剂改良的效力、稳定稳定性、安全性、药效与耐久性。

[1024] 本发明者已使用活体外与活体内试验法证实该靶向HBV基因的iRNA可强力介导RNAi,而显著抑制一种以上HBV基因的表达。本发明者亦已证实本发明RNAi剂在细胞质与及溶体中特别稳定稳定。因此,包括这些iRNA的方法与组合物适用于治疗罹患HBV感染和/或HBV相关疾病(如:慢性B型肝炎(CHB))的受试者。

[1025] 因此,本发明还提供一种使用可引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解HBV基因的RNA转录本的iRNA组合物来治疗罹患可能因抑制或降低HBV基因表达而受益的病症(例如:HBV相关疾病,如:慢性B型肝炎感染(CHB))的受试者的方法。

[1026] 具体地,极低剂量的本发明iRNA可明确且有效地介导RNA干扰(RNAi),而显著抑制相应基因(HBV基因)的表达。

[1027] 本发明iRNA包括具有一区约30个或更少核苷酸长度的RNA链(反义链),例如:15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个核苷酸的长度,该区域与HBV基因的mRNA转录本中至少一部分实质上互补。

[1028] 下列说明揭示如何制造及使用包含iRNA的组合物来抑制HBV基因的表达,并揭示治疗罹患可能因抑制和/或降低HBV基因表达而受益的疾病与病症的受试者的组合物、用途、与方法。

[1029] I. 定义

[1030] 为了更容易了解本发明,首先定义某些术语。此外应注意,不论何时出示的参数数值或数值范围,其均指示该出示数值及该范围之间的数值与范围亦为本发明一部分。

[1031] 本文所采用冠词“一个/种”是指该语法上主语为一个/种或超过一个/种(亦即至少一个/种)。例如:“一个/种元素”是指一个/种元素或超过一个/种元素,例如:复数个/种元素。

[1032] 本文所采用术语“包括”意指词组“包括(但不限于)”,并可与其交换使用。

[1033] 本文所采用术语“或”意指“和/或”,并可与其交换使用,除非另有说明。

[1034] 本文所采用术语“B型肝炎病毒”可与术语“HBV”交换使用,是指本领域中公知的非细胞病变性的属于肝病毒科(Hepadnaviridae)的嗜肝性DNA病毒。HBV基因组是部分双键的环状DNA,具有重叠读码框(参见例如:图1)。

[1035] 已知有四种由HBC基因组编码的基因,称为C、X、P、与S。该核心蛋白质是由基因C编码(HBcAg)。B型肝炎抗原(HBeAg)则由前核心(pre-C)蛋白质经过蛋白质水解处理而产生。DNA聚合酶是由基因P编码。基因S为编码表面抗原(HBsAg)的基因。HBsAg基因为一种长的开放读码框,但框中包含3个“起始”(ATG)密码子,将该基因分成3段:pre-S1、pre-S2、与S。由于这些多重起始密码子,而产生三种不同大小的多肽,称为大、中与小(pre-S1+pre-S2+S、pre-S2+S、或S)。由基因X编码的非结构性蛋白质的功能并未完全了解,但其是与肝癌的发展有关,且是编码一种诱饵蛋白质,让血中HbsAg螯合抗-HBsAg抗体,并让感染性病毒粒子逃避免疫侦测。

[1036] 由HBV基因组编码的蛋白质包括:套膜蛋白质-i) 小型B型肝炎表面抗原(HBsAg); ii) 中型-preS2加HBsAg; iii) 大型-preS1加preS2加HBsAg;核壳体蛋白质、B型肝炎核心抗原(HBcAg)。B型肝炎e抗原(HBeAg)为一种在HBV复制期间产生的非结构性蛋白质,与核壳体HBcAg有90%的共享氨基酸;及X蛋白质是一种非结构性蛋白质(HBx),其在细胞质中的功能为活化各种不同信号途径,其中许多途径受到胞质液钙的调控作用所控制,且在细胞核中的功能是通过与不同转录因子直接交互作用来调节转录,有些例子中,会加强其与专一性转录元素结合。

[1037] HBV为一种在包括病毒基因组的侵入、脱壳及运送至核中等涉及多重步骤的复制过程中利用逆转录酶的少数DNA病毒。起初,HBV基因组的复制涉及产生RNA中间物,其再逆转录产生DNA病毒基因组。

[1038] 当细胞感染HBV时,病毒基因组解开的环状DNA(rcDNA)是运送至细胞核中,并转化成游离型共价闭合环状DNA(cccDNA),其作为病毒mRNA的转录模板。经过转录及核运送后,细胞质病毒前基因体RNA(pgRNA)与HBV聚合酶及壳体蛋白质组装形成核壳体,在其中经过聚合酶催化的逆转录,产生负链DNA,其随后拷贝成正链DNA,形成子代rcDNA基因组。成熟的核壳体再经过病毒套膜蛋白质包装,呈病毒体粒子送出或运至核中,通过细胞内cccDNA扩增途径扩增。cccDNA为HBV复制周期的必要组分,负责建立感染及病毒永续性。

[1039] HBV感染结果会产生两种不同粒子:1) HBV病毒本身(或Dane粒子),其包括从HBcAg组装的病毒壳体,并经过HBsAg转化,可以再度感染细胞,及2) 次病毒粒子(或SVP),其是高密度的似脂蛋白粒子,由脂质、胆固醇、胆固醇酯类与非感染性的小型及中型B型肝炎表面抗原HBsAg组成。所产生的各病毒粒子释放1,000-10,000个SVP至血液中。因此SVP(与其所携带的HBsAg蛋白质)代表血液中充斥着大量病毒蛋白质。感染HBV的细胞亦分泌前核蛋白质的可溶性蛋白质水解产物,称为HBV e-抗原(HBeAg)。

[1040] 已测定8种基因型HBV,称为A至H,其分别具有不同地理分布。该病毒是非细胞病变

性,具有病毒专一性的细胞免疫性,是暴露到HBV的后果(在肝病缓解6个月后急性感染;或经常与渐进性肝损伤有关的慢性HBV感染)的主要决定子。

[1041] 本文所采用术语“HBV”包括8种基因型HBV(A至H)中任一种。HBV基因组的参考序列的氨基酸与完整编码序列可参见例如:GenBank登录号GI:21326584(SEQ ID NO:1)及GI:3582357(SEQ ID NO:3)。

[1042] HBV mRNA序列的其他实例很容易使用已公开的数据库取得,例如:GenBank、UniProt、与OMIM。

[1043] 本文所采用术语“HBV”也指HBV基因组的任何天然产生的DNA序列变异。

[1044] 本文所采用“D型肝炎病毒”可与术语“HDV”交换使用,是指公知的非细胞病变性的属于肝病毒科(Hepadnaviridae)的嗜肝性DNA病毒。参见例如:Ciancio与Rizzetto的Nat.Rev.11:68-71,2014;Le Gal等人Emerg.Infect.Dis.12:1447-1450,2006;及Abbas与afzal,World J.Hep.,5:666-675,2013,其等均以引用的方式并入本文。除非另有指示,否则HDV是指HDV的所有支系与变异株。

[1045] HDV产生一种蛋白质,即HDAg。其出现两种形式;27kDa大型-HDAg(本文也称为1HD及大型HDV抗原)与24kDa小型-HDAg(本文也称为sHD及小型HDV抗原)。这两种形式的N-末端相同,其差异在于大型HDAg的C-末端的19个氨基酸。这两种同型均由在密码子196含有UAG终止密码子的相同读码框产生,其通常仅产生小型-HDAg。然而,借由细胞酶腺苷脱氨酶-1改变终止密码子成为UCG,而得以产生大型-HDAg。尽管这两种蛋白质具有90%相同序列,但其等在感染过程中扮演不同角色。HDAg-S是在感染早期产生,并进入核中,支持病毒复制。反之,HDAg-L是在感染后期产生,作为病毒复制的抑制剂,是病毒粒子进行组装时所必需。

[1046] HDV mRNA序列的其他实例很容易采用可公开取得的数据库得到,例如:GenBank、UniProt、与OMIM。

[1047] 本文所采用术语“HDV”也指HDV基因组的天然产生的DNA序列变异。

[1048] 本文所采用“标靶序列”是指在HBV基因转录期间所形成的mRNA分子的核苷酸序列中的连续部分,包括作为主要转录产物的RNA制程产物的mRNA。在一个实施例中,标靶的部分序列的长度应为至少足以作为底物的长度,让iRNA所指导的裂解位置可在或接近HBV基因转录期间所形成mRNA分子的核苷酸序列部分。

[1049] 该标靶序列可为约9-36个核苷酸的长度,例如:约15-30个核苷酸的长度。例如:该标靶序列可为约15-30个核苷酸、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个核苷酸的长度。上述范围与长度之间的范围与长度还包括为本发明的一部分。

[1050] 本文所采用术语“包含序列的链”是指包含核苷酸链的寡核苷酸,其是采用标准核苷酸命名法的序列说明。

[1051] “G”、“C”、“A”、“T”与“U”分别一般代表核苷酸,其分别包含鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷与尿嘧啶的碱基。然而,应了解,术语“核糖核苷酸”或“核苷酸”也指经修饰的核苷酸,如下文中进一步说明,或改用置换部分体(参见例如:表2)。本领域普通技术人员应了

解,鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤与尿嘧啶可在不会实质上改变该包含带有这些置换部分体的核苷酸的寡核苷酸碱基配对性质下改用其他部分体置换。例如(但不限于):包含肌苷作为其碱基的核苷酸可与包含腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶的核苷酸形成碱基对。因此,如本发明所说明特征的dsRNA的核苷酸序列中包含尿嘧啶、鸟嘌呤或腺嘌呤的核苷酸可被包含例如:肌苷的核苷酸置换。另一项实例中,寡核苷酸中的任何腺嘌呤与胞嘧啶均可分别被鸟嘌呤与尿嘧啶置换,分别与标靶mRNA形成G-U摇摆碱基对。包含这些置换部分体的序列适合如本发明所说明特征的组合物与方法。

[1052] 本文所采用术语“iRNA”、“RNAi剂”、“iRNA剂”、“RNA干扰剂”可在本文中交换使用,是指包含如本文术语定义的RNA的制剂,其可经由RNA-诱导沉默复合体(RISC)途径来介导靶向裂解RNA转录本。iRNA通过已知为RNA干扰(RNAi)的过程来指导mRNA的序列专一性降解。该iRNA调控(例如:抑制)细胞(例如:受试者,如:哺乳动物受试者内的细胞)中的HBV基因(例如:一种或多种HBV基因)表达。

[1053] 在一个实施例中,本发明RNAi剂包括会与标靶RNA序列(例如:HBV标靶mRNA序列)交互作用的单链RNA,以指导裂解标靶RNA。在不希望受到理论的限制下,据信进入细胞中的长双链RNA会被称为Dicer的第III型内切核酸酶分解成siRNA(Sharp等人(2001) *Genes Dev.* 15:485)。Dicer是一种类似核糖核酸酶-III的酶,其会处理dsRNA成为19至23对碱基的短型干扰RNA,其特征是两个碱基的3'突出端(Bernstein等人(2001) *Nature* 409:363)。这些siRNA随后纳入RNA-诱导沉默复合体(RISC)中,其中一种或多种解螺旋酶解开siRNA双螺旋,让互补反义链指挥辨识标靶(Nykanen等人(2001) *Cell* 107:309)。当与适当标靶mRNA结合时,RISC内的一种或多种内切核酸酶会裂解标靶,诱发沉默(Elbashir等人(2001) *Genes Dev.* 15:188)。因此本发明一方面是有关一种在细胞内产生的单链RNA(siRNA),其会促进形成RISC复合物,引起标靶基因(亦即HBV基因)沉默。因此,本文中亦采用术语“siRNA”意指如上述的RNAi。

[1054] 另在一个实施例中,RNAi剂可为进入细胞或生物体中抑制标靶mRNA的单链siRNA。单链RNAi剂会与RISC内切核酸酶(Argonaute 2)结合,然后裂解标靶mRNA。该单链siRNA通常为15至30个核苷酸,且经过化学修饰。单链siRNA的设计与试验说明于第8,101,348号美国专利案与Lima等人(2012) *Cell* 150:883-894,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。本文说明的任何反义核苷酸序列均可作为本文说明的单链siRNA使用或可采用Lima等人(2012) *Cell* 150:883-894说明的方法进行化学修饰。

[1055] 另在一个实施例中,本发明组合物、用途与方法所使用的“iRNA”是双链RNA,本文中称为“双链RNAi剂”、“双链RNA(dsRNA)分子”、“dsRNA剂”或“dsRNA”。术语“dsRNA”是指核糖核酸分子的复合物,其具有双螺旋结构,包含两个反向平行且实质上互补的核酸链,相对于标靶RNA(亦即HBV基因)具有“正义”与“反义”取向。有些本发明实施例中,双链RNA(dsRNA)通过转录后基因-沉默机制(本文称为RNA干扰或RNAi)启动标靶RNA(例如:mRNA)的降解。

[1056] 通常,dsRNA分子各链的大多数核苷酸为核糖核苷酸,但如同本文的详细说明,各链或两链还可包括一个或多个非核糖核苷酸,例如:脱氧核糖核苷酸和/或经修饰的核苷酸。此外,本说明书所采用“RNAi剂”可能包括经化学修饰的核糖核苷酸;RNAi剂可能在多重核苷酸上包括实质修饰。本文所采用术语“经修饰核苷酸”是指分别独立具有糖部分基团、

经修饰的核苷酸间键联、和/或经修饰的核碱基的核苷酸。因此,术语“经修饰核苷酸”包括在核苷酸间键联、糖部分基团、或核碱基上的取代、加成、或排除例如:官能基或原子。适用于本发明制剂的修饰法包括本文所揭示或本领域中已知的所有修饰形式。针对本说明书与权利要求目的,“RNAi剂”包括用于siRNA型分子的任何这些修饰。

[1057] 双螺旋区的长度可为容许所需的标靶RNA通过RISC途径进行专一性降解的任何长度,且可能长度在约9至36对碱基的范围内,例如:约15至30对碱基的长度,例如:约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、或36对碱基的长度,如:约15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22对碱基的长度。上示范围与长度之间的范围与长度还包括为本发明的一部分。

[1058] 形成双螺旋结构的两链可能为一个较大RNA分子的不同部分,或其可能为分开的RNA分子。若这两链为一个较大RNA分子的一部分,且因此利用形成该双螺旋结构的其中一链的3'-端与另一链的5'-端之间未中断的核苷酸链连接时,该连接的RNA链称为“发夹环”。发夹环可包含至少一个未配对的核苷酸。在一些实施例中,发夹环可包含至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少20个、至少23个、或更多个未配对的核苷酸。

[1059] 若dsRNA的两个实质上互补链包含在分开的RNA分子上时,那些分子不一定需要,但可以共价键联。若这两链利用其他除了形成该双螺旋结构的其中一链的3'-端与另一链的5'-端之间未中断的核苷酸链以外的连接方式连接时,该连接结构称为“键联体”。RNA链可能具有相同或不同数量的核苷酸。碱基对的最高数量即为dsRNA中最短链的核苷酸数量减去双螺旋中任何突出端后的数量。除了双螺旋结构外,RNAi还可包含一个或多个核苷酸突出端。

[1060] 在一个实施例中,本发明RNAi剂为各链包含24-30个核苷酸的dsRNA,其会与标靶RNA序列(例如:HBV标靶mRNA序列)交互作用,指导裂解标靶RNA。在不希望受到理论的限制下,进入细胞中的长的双链RNA会被称为Dicer的第III型内切核酸酶分解成siRNA(Sharp等人(2001)Genes Dev.15:485)。Dicer是类似核糖核酸酶-III的酶,其处理dsRNA形成19至23对碱基的短干扰型RNA,其特征在于两个碱基的3'突出端(Bernstein等人(2001)Nature 409:363)。这些siRNA随后再引进RNA-诱导沉默复合体(RISC)中,其中一种或多种解螺旋酶解开siRNA双螺旋,让该互补反义链可以指挥辨识标靶(Nykanen等人(2001)Cell 107:309)。当与适当标靶mRNA结合时,RISC内的一种或多种内切核酸酶即裂解标靶而诱发沉默(Elbashir等人(2001)Genes Dev.15:188)。

[1061] 本文所采用术语“核苷酸突出端”是指至少一个未配对的核苷酸从iRNA双螺旋结构(例如:dsRNA)中突出。例如:当dsRNA中一链的3'-端超出另一链5'-端,或反之反之亦然时,即有一个核苷酸突出端。dsRNA可包含含有至少一个核苷酸的突出端;可替代地,该突出端可包含至少两个核苷酸、至少三个核苷酸、至少四个核苷酸、至少五个核苷酸或更多个。核苷酸突出端可包含或其组成可为核苷酸/核苷类似物,包括脱氧核苷酸/核苷。该(等)突

出端可位于正义链、反义链或其任何组合。此外,突出端的核苷酸(群)可出现在dsRNA的反义或正义链的5'-端、3'-端或两个末端。

[1062] 在一个实施例中,dsRNA的反义链可在3'-端和/或5'-端的突出端具有1至10个核苷酸,例如:1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个核苷酸。在一个实施例中,dsRNA的正义链可在3'-端和/或5'-端的突出端具有1至10个核苷酸,例如:1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个核苷酸。另在一个实施例中,突出端中一个或多个核苷酸被核苷硫代磷酸酯置换。

[1063] “钝”或“钝端”意指双链RNAi剂的末端没有未配对的核苷酸,亦即没有核苷酸突出端。“钝端”的RNAi剂为该dsRNA的整个长度均为双链,亦即该分子的任一端均没有核苷酸突出端。本发明RNAi剂包括在一端具有核苷酸突出端的RNAi剂(亦即具有一个突出端与一个钝端的制剂)的RNAi剂或两端均具有核苷酸突出端的RNAi剂。

[1064] 术语“反义链”或“引导链”是指iRNA(例如:dsRNA)的该链包括一个与标靶序列(例如:HBV mRNA)实质上互补的区。本文所采用术语“互补区”是指反义链上与序列(例如:标靶序列,例如:如本文定义的HBV核苷酸序列)实质上互补的区。若当互补区未与标靶序列完全互补时,可能在分子内部或末端区发生错配。通常,最能忍受的错配是在末端区内,例如:iRNA的5'-和/或3'-末端的5、4、3、2、或1个核苷酸内。在一个实施例中,本发明双链RNAi剂在反义链中包括核苷酸错配。另在一个实施例中,本发明双链RNAi剂在正义链中包括核苷酸错配。在一个实施例中,核苷酸错配是在iRNA的3'-末端的例如:5、4、3、2、或1个核苷酸内。另在一个实施例中,核苷酸错配是在例如:iRNA的3'-末端核苷酸内。

[1065] 本文所采用术语“正义链”或“随从链”是指该iRNA的链包括一个与如本文所定义反义链区实质上互补的区。

[1066] 本文所采用术语“裂解区”是指位在紧邻裂解位点的区。裂解位点是在标靶上发生裂解的位点。在一些实施例中,裂解区在任一端上且在紧邻裂解位点包含三个碱基。在一些实施例中,裂解区在任一端上且在紧邻裂解位点包含两个碱基。在一些实施例中,裂解位点明确位于与反义链的核苷酸10与11结合的位点,且裂解区包含核苷酸11、12与13。

[1067] 除非另有说明,否则当本文采用术语“互补”说明第一核苷酸序列与第二核苷酸序列的关系时,是指包含该第一核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸在本领域普通技术人员应了解的某些条件下与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸杂交并形成双螺旋结构的能力。这些条件可为例如:严苛条件,其中严苛条件包括:400mM NaCl、40mM PIPES pH 6.4、1mM EDTA,50℃或70℃下12-16小时,然后洗涤(参见例如:“Molecular Cloning:A Laboratory manual,Sambrook等人(1989)Cold Spring Harbor Laboratory Press”)。可采用其他条件,如:生物体内部可能承受的生理上可耐受的条件。本领域普通技术人员均可依据最终杂交核苷酸的用途,决定最适合测试两个序列的互补性的条件。

[1068] iRNA(例如:本文说明的dsRNA)内的互补序列包括包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸沿着其中一或两个核苷酸序列的整个长度的碱基配对。这些序列可称为其彼此“完全互补”。然而,若第一序列相对于本文第二序列称为“实质上互补”时,则这两个序列可能完全互补,或当具有至多30对碱基的双螺旋在杂交时,其可能形成一对或多对,但通常不会有超过5、4、3或2对错配碱基,同时仍保留其在与最终用途最相关的条件下(例如:经由RISC途径抑制基因表达)杂交的能力。然而,若两个寡核苷酸的设计在于杂交时形成一个或多个单链突出端时,则这些突出端不

应在决定互补性时视为错配。例如：包含一个长度为21个核苷酸的寡核苷酸与另一个长度为23个核苷酸的寡核苷酸的dsRNA中，包含一个与该较短寡核苷酸完全互补的21个核苷酸序列的较长寡核苷酸在本发明所说明目的下，仍可称为“完全互补”。

[1069] 本文所采用“互补”序列还可包括非华生-克里克(Watson-Crick)碱基对和/或由非天然与经修饰的核苷酸形成的碱基对，或完全由其组成，只要符合上述杂交能力的要求即可。这些非华生-克里克碱基对包括(但不限于)：G:U摇摆(Wobble)或胡斯坦(Hoogsteen)碱基配对。

[1070] 本文中有关dsRNA正义链与反义链之间或iRNA剂的反义链与标靶序列之间碱基配对的内容所采用的术语“互补”、“完全互补”与“实质上互补”可由其用法的内容中了解。

[1071] 本文所采用与信使RNA(mRNA)“的至少一部分实质上互补”的聚核苷酸是指该聚核苷酸与所需mRNA(例如：编码HBV基因的mRNA)的连续部分实质上互补。例如：若该序列是与编码HBV基因的mRNA的非中断部分实质上互补时，则该聚核苷酸是与至少一部分HBV mRNA互补。

[1072] 因此在一些实施例中，本文所揭示反义链聚核苷酸是与标靶HBV序列完全互补。其他实施例中，本文所揭示的反义链聚核苷酸是与标靶HBV序列实质上互补，且包含一段连续核苷酸序列，其整个长度与SEQ ID NO:1的核苷酸序列的同等区域至少约80%互补或SEQ ID NO:1的片段，如：约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%互补。

[1073] 在一个实施例中，本发明RNAi剂包括与反义聚核苷酸实质上互补且进而与标靶HBV序列互补的正义链，且其中正义链聚核苷酸包含一段连续核苷酸序列，其整个长度与SEQ ID NO:6、8、10、12、38、与40中任一核苷酸序列的同等区域至少约80%互补或SEQ ID NO:6、8、10、12、38、与40中任一片段，如：约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%互补。另在一个实施例中，本发明RNAi剂包括标靶HBV序列实质上互补的反义链，且包含一段连续核苷酸序列，其整个长度与SEQ ID NO:5、7、9、11、37、与39中任一核苷酸序列的同等区域至少约80%互补或SEQ ID NO:5、7、9、11、37、与39中任一片段，如：约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%互补。

[1074] 在一些实施例中，各链的大多数核苷酸为核糖核苷酸，但如同本文的详细说明，各链或两链还可包括一个或多个非核糖核苷酸，例如：脱氧核糖核苷酸和/或经修饰的核苷酸。此外，“iRNA”可能包括经化学修饰的核糖核苷酸。这些修饰法可能包括本文所揭示或本领域中已知的所有修饰形式。针对本说明书与权利要求目的，“iRNA”包括用于iRNA分子的任何这些修饰。

[1075] 本发明一方面中，本发明方法与组合物所采用的制剂为经由反义抑制机制来抑制标靶mRNA的单链反义核酸分子。单链反义RNA分子是与标靶mRNA内的序列互补。单链反义寡核苷酸可依化学计量方式与mRNA进行碱基配对并以物理方式封阻翻译机制来抑制翻译，参见Dias,N.等人(2002)Mol Cancer Ther 1:347-355。单链反义RNA分子的长度可为约15至约30个核苷酸且具有与标靶序列互补的序列。例如：单链反义RNA分子可能包含选自本文所说明任一种反义序列中至少约15、16、17、18、19、20、或更多个连续核苷酸的序列。

[1076] 本文所采用“受试者”为动物,如:哺乳动物,包括灵长类(如:人类、非人类灵长类,例如:猴子与黑猩猩)、非灵长类(如:牛、猪、骆驼、大羊驼、马、山羊、兔子、绵羊、仓鼠、天竺鼠、猫、狗、大鼠、小鼠、马与鲸鱼),或鸟类(例如:鸭或鹅)。在一个实施例中,该受试者为人类,如:正接受治疗或评估如本文所说明可能因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或病症的人类;处于罹患可能因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或病症的风险的人类;罹患可能因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或病症的人类;和/或正接受治疗可能因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或病症的人类。另在一个实施例中,受试者患有B型肝炎病毒(HBV)感染。另在一个实施例中,受试者同时患有B型肝炎病毒(HBV)感染与D型肝炎病毒(HDV)感染。

[1077] 本文所采用术语“治疗”或“处理”是指下列有利或所需结果,包括(但不限于):减轻或缓和与不期望的HBV基因表达和/或HBV复制相关的一种或多种症状,例如:出现血清和/或肝HBV ccc DNA、出现血清和/或肝HBV抗原,例如:HBsAg和/或HBeAg、提高的ALT、提高的AST、没有或低量的抗-HBV抗体、肝损伤;硬化; δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌;类似血清病症候群;厌食;恶心;呕吐、低度发烧;肌痛;易疲劳性;味觉敏锐度与嗅觉感受度异常(厌恶食物与香烟);和/或左上四分之一腹痛与心窝部痛(间歇性、轻度至中度);肝性脑病症;嗜睡;睡眠形式紊乱;精神错乱;昏迷;腹水;胃肠出血;凝血病症;黄疸;肝肿大(轻度肿大,肝柔软);脾肿大;手掌红斑;蜘蛛痣;肌肉消瘦;蜘蛛形血管瘤;血管炎;静脉曲张出血;四肢水肿;男性乳房发育症;睪丸萎缩;腹部连结静脉(静脉扩张);高含量丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天冬氨酸氨基转移酶(AST),在1000-2000IU/mL范围内,但还可判别到高于正常值上限(ULN)100倍;ALT含量高于AST含量;提高的 γ -谷酰胺转肽酶(GGT)及碱性磷酸酶(ALP)含量(例如:不超过3倍ULN);稍低的白蛋白含量;提高的血清铁含量;白血球减少症(亦即粒细胞减少症);血液淋巴细胞增多;红血球沉降速率(ESR)升高;红血球存活期缩短;溶血症;血小板减少症;国际标准凝血时间比(INR)延长;出现血清和/或肝HBsAg、HBeAg、B型肝炎核心抗体(抗-HBc)免疫球蛋白M(IgM);B型肝炎表面抗体(抗-HBs)、B型肝炎e抗体(抗-HBe)、和/或HBV DNA;氨基转移酶提高(≤ 5 倍ULN);ALT含量高于AST含量;胆红素含量升高、凝血酶原时间(PT)延长;高球蛋白血症;出现非组织专一性抗体,如:抗平滑肌抗体(ASMA)或抗核抗体(ANA)(10%-20%);出现组织专一性抗体,如:对抗甲状腺的抗体(10%-20%);类风湿因子(RF)含量提高;高胆红素血症、延长的PT、低量血小板及白血球细胞数、AST含量高于ALT含量;提高的碱性磷酸酶(ALP)及GGT含量;小叶具有退化与再生肝细胞变化,及并发发炎;主要为小叶中心坏死,不论可检测或不可检测。“治疗”还可意指比没有接受治疗时的预期存活性延长其存活性。

[1078] 在受试者或疾病标记物或症状中的HBV基因表达和/或HBV复制程度的相关内容中使用的术语“降低”是指在统计上为显著降低的程度。其可降低例如:至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或更多,且优选是降至未罹患这些病症的受试者的正常范围内的可接受程度。在某些实施例中,恢复正常的目标表达,亦即降至未罹患这些病症的受试者的正常范围内的可接受程度,例如:让疾病标记物(如:ALT或AST)含量降至未罹患这些病症的受试者的正常范围内的可接受程

度。

[1079] 本文用在可因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或病症上所提及的“预防”或“防止”是指降低该受试者发展出与这些疾病、病症、或病症有关的症状的可能性,例如:不希望出现的HBV感染症状,如:出现血清和/或肝HBV ccc DNA、出现血清HBV DNA、出现血清和/或肝HBV抗原,例如:HBsAg和/或HBeAg、提高的ALT、提高的AST、没有或低量的抗-HBV抗体、肝损伤;硬化;δ型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌;类似血清病症候群;厌食;恶心;呕吐、低度发烧;肌痛;易疲劳性;味觉敏锐度与嗅觉感受度异常(厌恶食物与香烟);和/或左上四分之一之一腹痛与心窝部痛(间歇性、轻度至中度);肝性脑病变;嗜睡;睡眠形式紊乱;精神错乱;昏迷;腹水;胃肠出血;凝血病症;黄疸;肝肿大(轻度肿大、肝柔软);脾肿大;手掌红斑;蜘蛛痣;肌肉消瘦;蜘蛛形血管瘤;血管炎;静脉曲张出血;四肢水肿;男性乳房发育症;睪丸萎缩;腹部连结静脉(静脉扩张);高含量丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天冬氨酸氨基转移酶(AST),在1000-2000IU/mL范围内,但还可判别到高于正常值上限(ULN)100倍;ALT含量高于AST含量;提高的γ-谷酰胺转肽酶(GGT)及碱性磷酸酶(ALP)含量(例如:不超过3倍ULN);稍低的白蛋白含量;提高的血清铁含量;白血球减少症(亦即粒细胞减少症);血液淋巴细胞增多;红血球沉降速率(ESR)升高;红血球存活期缩短;溶血症;血小板减少症;国际标准凝血时间比(INR)延长;出现血清和/或肝HBsAg、HBeAg、B型肝炎核心抗体(抗-HBc)免疫球蛋白M(IgM);B型肝炎表面抗体(抗-HBs),B型肝炎e抗体(抗-HBe),和/或HBV DNA;氨基转移酶提高(≤5倍ULN);ALT含量高于AST含量;胆红素含量升高、凝血酶原时间(PT)延长;高球蛋白血症;出现非组织专一性抗体,如:抗平滑肌抗体(ASMA)或抗核抗体(ANAs)(10%-20%);出现组织专一性抗体,如:对抗甲状腺的抗体(10%-20%);类风湿因子(RF)含量提高;高胆红素血症、延长的PT、低量血小板及白血球细胞数、AST含量高于ALT含量;提高的碱性磷酸酶(ALP)及GGT含量;小叶具有退化与再生肝细胞变化,及并发发炎;主要为小叶中心坏死,不论可检测或不可检测。降低发展出例如:肝硬化的可能性,例如:当受试者具有一种或多种肝硬化的危险因子(例如:慢性B型肝炎感染)时,将不会发展成肝硬化或所发展的肝硬化的严重程度将低于具有相同危险因子但未接受本文所说明的治疗的族群。不会发展出疾病、病症或症状,或减轻与这些疾病、病症或病状有关的症状发展(例如:依据该疾病或病症的临床床上可接受的规度减轻至少约10%)或推迟该需要推迟的症状出现(例如:数天、数周、数月或数年)则视为有效的预防。

[1080] 本文所采用术语“B型肝炎病毒相关疾病”或“HBV相关疾病”是指由HBV感染和/或复制引起或与其相关的疾病或病症。本文所采用术语“HBV相关疾病”包括可因降低HBV基因表达和/或复制而受益的疾病、病症或症状。HBV相关疾病的非限制性实例包括例如:D型肝炎病毒感染、δ型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌。

[1081] 在一个实施例中,HBV相关疾病为D型肝炎病毒感染。D型肝炎病毒或δ型肝炎病毒(HDV)为人类病原菌。然而,该病毒有缺陷,且依赖B型肝炎病毒(HBV)所提供的义务助手机能进行传播;事实上,HDV需要已联合或预先存在的HBV感染而变成有传染性并茁壮成长,具体地成为含有B型肝炎表面抗原的病毒套膜。HDV会造成严重急性与慢性形式的HBV相关肝疾病。D型肝炎感染和/或δ型肝炎具高度地方性局限于几个非洲国家、亚马孙河流域、及中

亚地区,但在除了地中海地区以外的工业化国家的流行率低。

[1082] HDV可能借由同时感染HBV来传播(共感染)或在慢性B型肝炎或B型肝炎带原态时并发传播(重复感染)。HDV的重复感染与共感染二者均造成比单纯感染HBV时更严重的并发症。这些并发症包括在急性感染时发生肝衰竭的可能性较高,并快速恶化成肝硬化,在慢性感染时发展成肝癌的机会提高。与B型肝炎病毒合并的D型肝炎在所有肝炎感染中的死亡率最高,占20%。

[1083] 在一个实施例中,HBV相关疾病为急性B型肝炎。急性B型肝炎包括肝脏发炎持续6个月以下。急性B型肝炎的典型症状为疲劳、厌食、恶心、与呕吐。经常观察到极高的氨基转移酶值(>1000U/L)及高胆红素血症。严重急性B型肝炎病例可能快速恶化成急性肝衰竭,其病症为肝脏合成功能不良。此点经常由过去没有肝疾病时的凝血酶原时间(PT)为16秒或国际标准化凝血时间比(INR)为1.5来界定。急性B型肝炎可能慢慢演变成慢性B型肝炎。

[1084] 在一个实施例中,HBV相关疾病为慢性肝炎。慢性B型肝炎(CHB)包括肝脏发炎持续6个月以上。患有慢性B型肝炎疾病的受试者可具免疫耐受性或具有无活性慢性感染,没有活性疾病证据,而且亦无症状。罹患慢性活性肝炎的患者尤其在复制状态期间,可能具有类似急性肝炎的那些症状。CHB受试者中HBV感染的永续性是ccc HBV DNA所致。在一个实施例中,患有CHB的受试者为HBeAg阳性。另在一个实施例中,患有CHB的受试者为HBeAg阴性。患有CHB的受试者的血清HBV DNA含量低于约 10^5 ,且转氨酶(例如:ALT、AST与 γ -谷酰胺转氨酶)持续升高。患有CHB的受试者的肝活组织样品指数(例如:坏死性炎症指数)小于约4。

[1085] 在一个实施例中,HBV相关疾病为急性暴发性B型肝炎。患有急性暴发性B型肝炎的受试者具有急性肝炎的症状及其他意识混乱或昏迷的症状(因为肝脏无法排除化学毒物)及瘀伤或出血(因为缺少凝血因子)。

[1086] 患有HBV感染(例如:CHB)的受试者可能发展出肝纤维化。因此在一个实施例中,HBV相关疾病为肝脏纤维化。肝纤维化(或肝硬化)的组织学定义为特征在于纤维化(过量纤维结缔组织)及正常肝构造转化成结构异常结节的扩散肝脏的过程。

[1087] 患有HBV感染(例如:CHB)的受试者可能发展成末期肝病。因此在一个实施例中,HBV相关疾病为末期肝病。例如:肝硬化可能发展至身体无法再代偿例如:肝硬化所造成下降的肝功能的阶段,且造成例如:心智与神经症状与肝衰竭。

[1088] 患有HBV感染(例如:CHB)的受试者可能发展出肝细胞癌(HCC),也称为恶性肿瘤。因此在一个实施例中,HBV相关疾病为HCC。HCC通常出现在患有CHB的受试者,而且可能为纤维板层样、伪腺体(腺样体)、多形(巨细胞)或亮细胞。

[1089] “HDV-相关病症”或肝炎D-病毒相关病症”是一种与HDV表达有关的疾病或病症。HDV-相关病症实例包括:B型肝炎病毒感染、急性B型肝炎、急性D型肝炎;急性暴发性D型肝炎;慢性D型肝炎;肝硬化;末期肝病;及肝细胞癌。

[1090] 本文所采用“治疗有效量”意指包括RNAi剂的用量,当给予患者供治疗罹患HBV感染和/或HBV相关疾病的受试者时,其用量足以治疗疾病(例如:减轻、缓解或维持现有疾病或疾病的一种或多种症状)。“治疗有效量”可能随RNAi剂、该制剂的给予法、该疾病与其严重性、及病史、年龄、体重、家庭病史、基因构型、HBV基因所介导病理过程的阶段、可能进行的过去或并行的任何治疗、及接受治疗的患者的其他个别特征而异。

[1091] 本文所采用“预防有效量”意指包括RNAi剂的量,当给予尚未经历或出现HBV感染

和/或HBV相关疾病症状,但有罹病倾向的受试者时,足以预防或缓解疾病或疾病的一种或多种症状。疾病的缓解包括减慢疾病过程或降低后来发展的疾病的严重性。“预防有效量”可能随RNAi剂、或该制剂的给予法、该疾病的风险程度、及病史、年龄、体重、家庭病史、基因构型、可能进行的过去或并行的任何治疗、及接受治疗的患者的其他个别特征而异。

[1092] “治疗有效量”或“预防有效量”还包括RNAi剂可以在适用于任何治疗的合理效益/危险比值下产生某些所需局部或全身性效应时的量。本发明方法所采用RNAi剂可能给予足以产生适用于这些治疗的合理效益/危险比值的量。

[1093] 本文所采用术语“样品”是指从受试者采集的类似流体、细胞或单离组织,及受试者内的流体、细胞或组织。生物流体实例包括血液、血清与浆液、血浆、脑脊髓液、眼内液、淋巴液、尿液、唾液,等等。组织样品可包括来自组织、器官或局部区域的样品。例如:样品可能衍生自特定器官、器官的一部分、或那些器官内的流体或细胞。在某些实施例中,样品可能衍生自肝脏(例如:全肝脏或肝脏的某些节段或肝脏中某些细胞形式,如,例如:肝细胞)、视网膜或视网膜的一部分(例如:视网膜色素上皮)、中枢神经系统或中枢神经系统的一部分(例如:脑室或脉络丛)、或胰脏或某些胰脏细胞或其一部分。在一些实施例中,“衍生自受试者的样品”是指从该受试者抽出的脑脊髓液(cerebrospinal fluid)。优选实施例中,“衍生自受试者的样品”是指从该受试者抽出的血液或血浆。另在一个实施例中,“衍生自受试者的样品”是指衍生自该受试者的肝脏组织(或其次组分)或视网膜组织(或其次组分)。

[1094] II. 本发明的iRNA

[1095] 本发明提供一种抑制一种或多种HBV基因表达的iRNA。在一个实施例中,iRNA剂包括抑制细胞(如:罹患HBV相关疾病,例如:慢性B型肝炎的受试者,例如:哺乳动物,如:人类的细胞)中HBV基因表达的双链核糖核酸(dsRNA)分子。该dsRNA包括具有可与在HBV基因表达形成的mRNA的至少一部分互补的互补区的反义链。该互补区的长度为约30个或更少个核苷酸(例如:约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19或18个或更少个核苷酸的长度)。当接触到表达HBV基因的细胞时,由例如:PCR或基于分支DNA(bDNA)的方法、或基于蛋白质的方法,如:免疫荧光分析法,使用例如:西方墨点或流式细胞计技术分析,该iRNA会抑制HBV基因表达至少约10%。

[1096] dsRNA包括两个RNA链,其可在dsRNA所采用的条件下互补并杂交形成双螺旋结构。dsRNA的其中一链(反义链)包括与标靶序列实质上互补,而通常完全互补的互补区。该标靶序列可衍生自HBV基因表达期间所形成的mRNA序列。另一链(正义链)包括与反义链互补的区,因此当在合适条件下组合时,这两链可杂交并形成双螺旋结构。如本文所说明且本领域中已知,还可包括dsRNA的互补序列作为单一核酸分子自我互补区,此点与出现在分开的寡核苷酸的方式相反。

[1097] 通常,双螺旋结构的长度为15至30对碱基,例如:15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22对碱基的长度。上示范围与长度之间的范围与长度还包括为本发明的一部分。

[1098] 同样地,与标靶序列互补的区的长度为15至30个核苷酸,例如:15-29、15-28、15-

27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个核苷酸的长度。上示范围与长度之间的范围与长度还包括为本发明的一部分。

[1099] 在一些实施例中,dsRNA的长度为约15至约20个核苷酸,或约25至约30个核苷酸。通常,dsRNA的长度足以作为切丁酶(Dicer)酶的底物。例如:本领域中已知长度超过约21至23个核苷酸的dsRNA可以作为切丁酶的底物。本领域普通技术人员应了解,作为裂解标靶的这一区RNA最常为较大RNA分子(经常为mRNA分子)的一部分。若相关时,mRNA标靶的“一部分”为mRNA标靶的连续序列,其长度应足以作为RNAi所指导裂解作用(亦即通过RISC途径裂解)的底物。本领域普通技术人员亦应了解,双螺旋区为dsRNA的主要功能部分,例如:约9至36对碱基的双螺旋区,例如:约10-36、11-36、12-36、13-36、14-36、15-36、9-35、10-35、11-35、12-35、13-35、14-35、15-35、9-34、10-34、11-34、12-34、13-34、14-34、15-34、9-33、10-33、11-33、12-33、13-33、14-33、15-33、9-32、10-32、11-32、12-32、13-32、14-32、15-32、9-31、10-31、11-31、12-31、13-32、14-31、15-31、15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22对碱基。因此在一个实施例中,为了可供处理成为功能性双螺旋(例如:15-30对碱基)以靶向所需裂解的RNA,以具有超过30对碱基的双螺旋区的RNA分子或RNA分子的复合物作为dsRNA。因此本领域普通技术人员应了解,在在一个实施例中,miRNA为dsRNA。另在一个实施例中,dsRNA不为天然miRNA。另在一个实施例中,适用于靶向HBV基因表达的iRNA剂不会在标靶细胞中由较大dsRNA裂解产生。

[1100] 本文所说明dsRNA可进一步包括一个或多个单链核苷酸突出端,例如:1、2、3、或4个核苷酸。具有至少一个核苷酸突出端的dsRNA令人意外地具有比其钝端的对应物更优异的抑制性质。核苷酸突出端可包含或由核苷酸/核苷类似物,包括脱氧核苷酸/核苷。该(等)突出端可位于正义链、反义链或其任何组合所组成。此外,突出端的核苷酸(群)可出现在dsRNA的反义或正义链的5'-端、3'-端或两端。

[1101] dsRNA可采用本领域中已知标准方法合成,进一步说明如下,例如:使用自动化DNA合成仪,如:商购取得自,例如:Biosearch、Applied Biosystems公司。

[1102] 本发明iRNA化合物可采用两个步骤制程制备。首先,分开制备双链RNA分子的个别链。然后黏合这些分链。siRNA化合物的个别链可采用溶液相或固体相有机合成法或二者制备。有机合成法的优点在于容易制备包含非天然或经修饰的核苷酸的寡核苷酸链。本发明单链寡核苷酸可采用溶液相或固体相有机合成法或二者制备。

[1103] 一方面中,本发明的dsRNA包括至少两个核苷酸序列:正义序列与反义序列。正义链是选自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所提供序列的组中,且该正义链的相应反义链是选自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所提供序列的组中。此方

面中,两个序列中的一个序列是与该两个序列中另一个序列互补,其中一个序列实质上与在HBV基因表达时所产生的mRNA序列互补。因此,此方面中,dsRNA将包括两个寡核苷酸,其中一个寡核苷酸为说明于表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表的正义链,第二个寡核苷酸为说明于表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表中该正义链的对应反义链。在一个实施例中,dsRNA实质上互补序列是包含分开寡核苷酸。另在一个实施例中,dsRNA实质上互补序列是包含于单一寡核苷酸。

[1104] 应了解,虽然表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26所说明的有些序列为经修饰和/或接合序列,但本发明iRNA(例如:本发明的dsRNA)的RNA可能包含表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中所示的任一序列,其是未经修饰、未接合、和/或不同于本文所说明的修饰和/或接合。

[1105] 本领域普通技术人员应了解,具有约20至23对碱基(例如:21对碱基)的双螺旋结构的dsRNA已声称可特别有效诱发RNA干扰(Elbashir等人,EMBO 2001,20:6877-6888)。然而,其他人已发现较短或较长RNA双螺旋结构亦有效(Chu与Rana(2007)RNA 14:1714-1719; Kim等人(2005)Nat Biotech 23:222-226)。上述实施例中,基于表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所提供寡核苷酸序列的性质,本文说明的dsRNA包括至少一个长度为至少21个核苷酸的链。合理认为,具有表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表中一个序列的较短双螺旋仅在其中一端或两端减去几个核苷酸时,仍与上述dsRNA具有类似有效性。因此,本发明范围还包括具有衍生自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表中一个序列的至少15、16、17、18、19、20、或更多个连续核苷酸的序列,且其抑制HBV基因表达的能力与包含完整序列的dsRNA的抑制性的差异不超过约5%、10%、15%、20%、25%、或30%的dsRNA。

[1106] 此外,表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所提供的RNA可判别HBV转录本中可以感受RISC所介导的裂解的位点(群)。因此,本发明的进一步特征在于靶向其中一个位点的iRNA。若iRNA促进转录本内任何特定位置裂解时,则称本文所采用iRNA是靶向RNA转录本中该特定位点。这些iRNA通常包括来自表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所提供的一个序列的至少约15个连续核苷酸与来自HBV基因中所选定序列的邻接区的其他核苷酸序列偶合。

[1107] 虽然标靶序列的长度通常为约15至30个核苷酸,但为了指导裂解任何指定标靶RNA,特定序列仍会随其适宜性在此范围内有很大变化。已有各种不同软件包与本文所出示的指引可指导针对任何特定标靶判别最佳标靶序列,但还可采取实验方法,其中将指定大小的“窗口”或“屏蔽”(其非限制性实例为21个核苷酸)是事实上或表象上(包括例如:经由计算机仿真)置于标靶RNA序列上,以在该大小范围内判别可作为标靶序列的序列。借由从初始标靶序列位置向上或向下逐一移动一个核苷酸而移动该序列“窗口”,即可判别下一个可能的标靶序列,直到整个可能序列均针对任何所选定的标靶大小判别为止。此过程再偶联系统性合成法,并测试已判别的序列(采用本文说明或本领域中已知的分析法),来判别那些最适合用于判别那些可作为iRNA剂标靶来介导最佳抑制标靶基因表达的RNA序列的序列。因此,虽然在例如:表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表所判别的序列代表有效的标靶序列,但仍希望可借由指定序列向上或向下逐一移动一个核苷酸来“移行窗口”,以判别具有同等或更佳抑制特性的序列,以便进一步最优化该抑制效力。

[1108] 此外,希望使在例如:表3、4、6、7、12、13、22、23、25、与26中任一表中判别的任何序列借由系统性添加或移除核苷酸,来产生较长或较短序列,并由那些所产生的序列从标靶RNA这一点开始,向上或向下移行该较长或较短序列窗口来进行测试,以便进一步最优化。此外,由这种产生新的候选标靶的方法并用根据本领域中已知和/或本文所说明的抑制性分析法测试基于那些标靶序列的iRNA的有效性,可以进一步改善其抑制效力。再者,可调整这些最优化序列,例如:引进本文所说明或本领域中已知的经修饰核苷酸、添加或改变突出端、或本领域中已知和/或本文所讨论的其他修饰法,可进一步最优化分子(例如:提高血清稳定稳定性或循环半衰期、提高热稳定稳定性、加强穿膜传递性、靶向特定位置或细胞形式、提高与沉默途径酶的交互作用、促进从核内体释出),作为表达抑制剂。

[1109] 本文说明的iRNA可包含与标靶序列的一个或多个错配。在一个实施例中,本文说明的iRNA包含不超过3个错配。若iRNA的反义链包含与标靶序列的错配时,该错配的区域最好不位在互补区的中心。若iRNA的反义链包含与标靶序列的错配时,该错配最好局限在互补区的5' -或3' -端起最后5个核苷酸内。例如:对23个核苷酸的iRNA剂而言,作为HBV基因的互补区的该链通常不会在中心13个核苷酸内包含任何错配。可采用本文说明的方法或本领域中已知方法决定包含与标靶序列错配的iRNA是否可以有效抑制HBV基因表达。具有错配的iRNA于抑制HBV基因表达上的效力考虑很重要,尤其若在族群中已知HBV基因中的特定互补区具有多形性序列变异时。

[1110] III. 本发明的经修饰iRNA

[1111] 在一个实施例中,本发明iRNA(例如:dsRNA)的RNA未经过修饰,且不包含例如:本领域中已知及本文说明的化学修饰和/或接合。另在一个实施例中,本发明iRNA(例如:dsRNA)的RNA是经过化学修饰,以加强稳定稳定性或其他有利特性。本发明在某些实施例中,本发明iRNA实质上所有核苷酸均经修饰。本发明其他实施例中,本发明iRNA的所有核苷酸均经修饰。本发明iRNA中“实质上所有核苷酸经修饰”是指大部分,但非全部经修饰,且可包括不超过5、4、3、2或1个未修饰的核苷酸。

[1112] 如本发明所说明特征的核酸可采用本领域中公知的方法合成和/或修饰,如:那些说明于“Current protocols in nucleic acid chemistry,”Beaucage,S.L.等人(编辑),John Wiley&Sons,Inc.,New York,NY,USA,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。修饰法包括例如:末端修饰,例如:5' -端修饰(磷酸化、接合、反向键联)或3' -端修饰(接合、DNA核苷酸、反向键联,等等);碱基修饰,例如使用稳定稳定的碱基、去稳定稳定的碱基或会与对象的扩张区的碱基配对的碱基置换、排除碱基(去碱基核苷酸)、或接合碱基;糖修饰(例如:位于2' -位置或4' -位置上)或置换糖;和/或主链修饰,包括修饰或置换磷酸二酯键联体。适用于本文所说明实施例的iRNA化合物的明确实例包括(但不限于):包含经修饰主链或没有天然核苷间键联体的RNA。具有经修饰主链的RNA特别包括那些主链中没有磷原子者。针对本说明书的目的及本领域中有时候提及者,其核苷间主链中没有磷原子的经修饰RNA也可视为寡核苷。在一些实施例中,经修饰的iRNA将在核苷间主链中具有一个磷原子。

[1113] 经修饰的RNA主链包括例如:硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基与其他烷基的磷酸酯(包括磷酸3' -亚烷基酯与手性磷酸酯)、次磷酸酯、氨基磷酸酯(包括3' -氨基氨基磷酸酯与氨基烷基氨基磷酸酯)、硫羰基氨基磷酸酯、硫羰基烷基磷酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯、与具有正常3' -5'键联体的硼代磷酸酯、其

2'-5'-键联类似物、及那些具有反向极性者,其中核苷单位的相邻成对碱基是依3'-5'键联5'-3'或2'-5'键联5'-2'。还包括各种不同盐类、混合盐类与游离酸型。

[1114] 教示上述含磷键联体制备的代表性美国专利案包括(但不限于):美国专利案案号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,195;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,316;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,625,050;6,028,188;6,124,445;6,160,109;6,169,170;6,172,209;6,239,265;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;及US Pat RE39464,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1115] 其中不包括磷原子的经修饰RNA主链所具有的主链是由短链烷基或环烷基核苷间键联体、混合杂原子、及烷基或环烷基的核苷间键联体、或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间键联体形成。这些包括那些具有N-吗啉基键联体(一部分从核苷的糖部分体形成);硅氧烷主链;硫醚、亚砷与砷主链;甲酰乙酰基(formacetyl)与硫甲酰乙酰基主链;亚甲基甲酰乙酰基与硫甲酰乙酰基主链;含烯烃主链;胺磺酸根主链;亚甲基亚氨基及亚甲基胍基主链;磺酸根与磺酰胺主链;酰胺主链;与其他具有混合N、O、S与CH₂组分者。

[1116] 教示上述寡核苷制备的代表性美国专利案包括(但不限于):美国专利案案号5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,64,562;5,264,564;5,405,938;5,434,257;5,466,677;5,470,967;5,489,677;5,541,307;5,561,225;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,663,312;5,633,360;5,677,437;及,5,677,439,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1117] 其他实施例中,希望包括合适RNA模拟物用于iRNA,其中核苷酸单位的糖与核苷间键联体(亦即主链)二者均被新颖基团置换。这些碱基单位维持与适当核酸标靶化合物杂交。其中一种寡聚化合物为已显示具有优异的杂交性质的RNA模拟物,称为肽核酸(PNA)。PNA化合物中,RNA的糖主链被包含酰胺的主链(具体地氨基乙基甘氨酸主链)置换。核碱基则保留并直接或间接结合主链的酰胺部分的杂(aza)氮原子。教示PNA化合物制备的代表性美国专利案包括(但不限于):美国专利案案号5,539,082;5,714,331;与5,719,262,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。适用于本发明iRNA的其他PNA化合物说明于例如:Nielsen等人Science,1991,254,1497-1500。

[1118] 如本发明所说明特征的某些实施例包括具有硫代磷酸根主链的RNA与具有杂原子主链的寡核苷,具体地上述美国专利案案号5,489,677的--CH₂--NH--CH₂--、--CH₂--N(CH₃)--O--CH₂--[称为亚甲基(甲基亚氨基)或MMI主链]、--CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--、--CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂--与--N(CH₃)--CH₂--CH₂--[其中天然磷酸二酯主链是由--O--P--O--CH₂--代表],与上述美国专利案案号5,602,240的酰胺主链。在一些实施例中,如本文所说明特征的RNA具有上述美国专利案案号5,034,506的N-吗啉基主链结构。

[1119] 经修饰的RNA还可包含一个或多个经取代的糖部分基团。如本文所说明特征的这些iRNA(例如:dsRNA)包括在2'-位置具有下列其中一项:OH;F;O-、S-、或N-烷基;O-、S-、或N-烯基;O-、S-、或N-炔基;或O-烷基-O-烷基,其中该烷基、烯基与炔基可为经取代或未经取代的C₁至C₁₀烷基或C₂至C₁₀烯基与炔基。合适修饰实例包括O[(CH₂)_nO]_mCH₃、O(CH₂)_nOCH₃、O

$(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 、与 $0(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$,其中n与m为1至约10。其他实施例中,dsRNA在2'-位置具有下列其中一项: C_1 至 C_{10} 低碳数烷基、经取代的低碳数烷基、烷芳基、芳烷基、0-烷芳基或0-芳烷基、SH、 SCH_3 、OCN、Cl、Br、CN、 CF_3 、 0CF_3 、 SOCH_3 、 SO_2CH_3 、 0NO_2 、 NO_2 、 N_3 、 NH_2 、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基、经取代的硅烷基、RNA裂解基团、报导子基团、嵌入剂、改善iRNA的药物动力学的基团、或改善iRNA的药效学性质的基团、及具有类似性质的取代基。在一些实施例中,该修饰包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$,也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin等人,Helv.Chim.Acta,1995,78:486-504),亦即烷氧-烷氧基。另一种修饰实例为2'-二甲基氨基氧乙氧基,亦即 $0(\text{CH}_2)_2\text{ON}(\text{CH}_3)_2$ 基团(也称为2'-DMAOE,其说明于下文实例中)与2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基(本领域中也称为2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE),亦即2'-O- CH_2 -O- CH_2 -N $(\text{CH}_3)_2$ 。

[1120] 其他修饰包括2'-甲氧基(2'-OCH₃)、2'-氨基丙氧基(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂)与2'-氟(2'-F)。还可在iRNA的RNA上其他位置进行类似修饰,具体地在3'末端核苷酸上糖的3'位置或在2'-5'键联dsRNA与5'末端核苷酸的5'位置。iRNA还还可具有糖模拟物(如环丁基部分基团)替代呋喃戊糖基糖。教导这些经修饰糖结构制备的代表性美国专利案包括(但不限于):美国专利案案号4,981,957;5,118,800;5,319,080;5,359,044;5,393,878;5,446,137;5,466,786;5,514,785;5,519,134;5,567,811;5,576,427;5,591,722;5,597,909;5,610,300;5,627,053;5,639,873;5,646,265;5,658,873;5,670,633;及5,700,920,其中某些专利案已成为本申请案共同拥有。上述完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1121] iRNA还包括核碱基(本领域中通常简称“碱基”)修饰或取代。本文所采用“未经修饰”或“天然”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)与鸟嘌呤(G),与嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)与尿嘧啶(U)。经修饰的核碱基包括其他合成性与天然核碱基,如:脱氧-胸腺嘧啶(dT)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟基甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤与鸟嘌呤的6-甲基与其他烷基衍生物、腺嘌呤与鸟嘌呤的2-丙基与其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶与2-硫胞嘧啶、5-卤尿嘧啶与胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶与胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶与胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤基、8-氨基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羟基与其他8-经取代的腺嘌呤与鸟嘌呤、5-卤基(具体地5-溴、5-三氟甲基)与其他5-经取代的尿嘧啶与胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤与7-甲基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤与8-氮杂腺嘌呤、7-去氮杂鸟嘌呤与7-去氮杂腺嘌呤与3-去氮杂鸟嘌呤与3-去氮杂腺嘌呤。其他核碱基包括那些揭示于美国专利案案号3,687,808;那些揭示于Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. 编辑Wiley-VCH, 2008;那些揭示于The Concise Encyclopedia Of Polymer Science and Engineering, p.858-859, Kroschwitz, J.L., ed. John Wiley & Sons, 1990;那些揭示于Englisch等人Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613, 及那些揭示于Sanghvi, Y.S., 第15章, dsRNA Research and Applications, p.289-302, Crooke, S.T. 及 Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993。其中某些核碱基特别适用于提高如本发明所说明特征的寡聚化合物的结合亲和性。这些包括5-经取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶与N-2、N-6与O-6经取代的嘌呤, 包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶与5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代已显示可使核酸双螺旋稳定稳定性提高0.6°C-1.2°C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. 及 Lebleu, B. 编辑的dsRNA

Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278) 且成为碱基取代实例, 甚至更特别当与2'-O-甲氧基乙基糖修饰组合时。

[1122] 教示上述某些经修饰的核碱基及其他经修饰的核碱基制备的代表性美国专利案包括(但不限于): 美国专利案案号3,687,808; 4,845,205; 5,130,30; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121; 5,596,091; 5,614,617; 5,681,941; 5,750,692; 6,015,886; 6,147,200; 6,166,197; 6,222,025; 6,235,887; 6,380,368; 6,528,640; 6,639,062; 6,617,438; 7,045,610; 7,427,672; 及7,495,088, 其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1123] iRNA的RNA还可经修饰而包括一个或多个双环糖部分基团。“双环糖”是经过两个原子的桥连基修饰的呋喃糖基环。“双环核苷”(“BNA”)为具有糖部分基团的核苷, 其包含一个连接糖环的两个碳原子的桥连基, 借以形成双环系。在某些实施例中, 该桥连基连接糖环的4'-碳与2'-碳。因此, 在一些实施例中, 本发明制剂可包括一个或多个锁核酸(LNA)。锁核酸为具有经修饰的核糖部分基团的核苷酸, 其中该核糖部分基团额外包含连接2'与4'碳的桥连基。换言之, LNA为包含双环糖部分基团(其包含4'-CH₂-O-2'桥连基)的核苷酸。此结构有效地“封锁”3'-内部结构构形内的核糖。添加锁核酸至siRNA中时, 已显示可以提高血清中siRNA稳定稳定性, 并降低偏离标靶的效应(Elmen, J. 等人(2005) *Nucleic Acids Research* 33(1): 439-447; Mook, OR. 等人(2007) *Mol Canc Ther* 6(3): 833-843; Grunweller, A. 等人(2003) *Nucleic Acids Research* 31(12): 3185-3193)。用于本发明聚核苷酸的双环核苷实例包括(但不限于)在4'与2'核糖基环原子之间包含桥连基的核苷。在某些实施例中, 本发明反义聚核苷酸剂包括一个或多个包含4'至2'桥连基的双环核苷。这些4'至2'桥连双环核苷实例包括(但不限于): 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (也称为“限制性乙基”或“cEt”)及4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (与其类似物; 参见例如: 美国专利案案号7,399,845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (与其类似物; 参见例如: 美国专利案案号8,278,283); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (与其类似物; 参见例如: 美国专利案案号8,278,425); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (参见例如: 美国专利公告案案号2004/0171570); 4'-CH₂-N(R)-O-2', 其中R为H、C1-C12烷基、或保护基(参见例如: 美国专利案案号7,427,672); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (参见例如: Chattopadhyaya等人 *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); 及4'-CH₂-C(-CH₂)-2' (与其类似物; 参见例如: 美国专利案案号8,278,426)。上述完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1124] 教示锁核酸核苷酸制备的其他代表性美国专利案与美国专利公告案包括(但不限于)下列: 美国专利案案号6,268,490; 6,525,191; 6,670,461; 6,770,748; 6,794,499; 6,998,484; 7,053,207; 7,034,133; 7,084,125; 7,399,845; 7,427,672; 7,569,686; 7,741,457; 8,022,193; 8,030,467; 8,278,425; 8,278,426; 8,278,283; US 2008/0039618; 及US 2009/0012281, 其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1125] 上述任何双环核苷可以制成具有一个或多个立体化学糖构型, 包括例如: α -L-呋喃核糖及 β -D-呋喃核糖(参见WO 99/14226)。

[1126] iRNA的RNA还可经修饰而包括一个或多个限制性乙基核苷酸。本文所采用“限制性乙基核苷酸”或“cEt”为包含双环糖部分基团(其包含4'-CH(CH₃)-O-2'桥连基)的锁核酸。

在一个实施例中,限制性乙基核苷酸是S构形,本文中称为“S-cEt”。

[1127] 本发明iRNA还包括一个或多个“构形限制性核苷酸”(“CRN”)。CRN为具有连接核糖的C2'与C4'碳或核糖的C3与-C5'碳的键联基的核苷酸类似物。CRN封锁核糖环成为稳定稳定构形,并提高对mRNA的杂交亲和性。该键联基的长度足以将氧安置在具有最佳稳定稳定性与亲和性的位置,产生较少核糖皱折。

[1128] 教示上述某些CRN的制备的代表性公开文献包括(但不限于):美国专利公告案案号2013/0190383;及PCT公告案W0 2013/036868,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1129] 本发明iRNA的一个或多个核苷酸还可包括经羟基甲基取代的核苷酸。“经羟基甲基取代的核苷酸”为无环2'-3'-裂环(seco)-核苷酸,也称为“非锁核酸”(“UNA”)修饰。

[1130] 教示UNA制备的代表性美国公告案包括(但不限于)美国专利案案号8,314,227;及美国专利公告案案号2013/0096289;2013/0011922;及2011/0313020,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1131] RNA分子末端的可能稳定稳定化修饰包括N-(乙酰基氨基己酰基)-4-羟基脯氨酸(Hyp-C6-NHAc)、N-(己酰基)-4-羟基脯氨酸(Hyp-C6)、N-(乙酰基)本发明iRNA的核苷酸的其他修饰包括5'磷酸酯或5'磷酸酯模拟物,例如:RNAi剂的反义链上的5'-末端磷酸酯或磷酸酯模拟物。合适的磷酸酯模拟物揭示于例如:美国专利公告案案号2012/0157511,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1132] A. 包含本发明基序的经修饰iRNA

[1133] 本发明某些方面中,本发明双链RNAi剂包括经过如例如:W0 2013/075035(申请日:2012年11月16日)的揭示内容进行化学修饰的制剂,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。如本文与PCT公告案案号W0 2013/075035所示,借由在RNAi剂的正义链和/或反义链(具体地在裂解位点或接近裂解位点处)引进一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序,可得到优异结果。在一些实施例中,RNAi剂的正义链与反义链可能完全经修饰。引进这些基序会中断正义和/或反义链上可能存在的修饰形式。RNAi剂可视需要例如:在正义链上接合GalNAc衍生物配体。所得RNAi剂即具有优异基因沉默活性。

[1134] 更明确言的,已惊人地发现,当双链RNAi剂的正义链与反义链为经完全修饰而在RNAi剂的至少一个链的裂解位点或接近裂解位点处具有一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序时,可优异地提高RNAi剂的基因沉默活性。

[1135] 因此本发明提供一种可于活体内抑制标靶基因(亦即HBV基因)表达的双链RNAi剂。该RNAi剂包含正义链与反义链。该RNAi剂的各链的长度可能为12-30个核苷酸的范围。例如:各链可能为14-30个核苷酸的长度、17-30个核苷酸的长度、25-30个核苷酸的长度、27-30个核苷酸的长度、17-23个核苷酸的长度、17-21个核苷酸的长度、17-19个核苷酸的长度、19-25个核苷酸的长度、19-23个核苷酸的长度、19-21个核苷酸的长度、21-25核苷酸的长度、或21-23个核苷酸的长度。

[1136] 正义链与反义链通常形成双螺旋双链RNA(“dsRNA”),本文也称为“RNAi剂”。RNAi剂的双螺旋区的长度可能为12-30对核苷酸。例如:双螺旋区可能为14-30对核苷酸的长度、17-30对核苷酸的长度、27-30对核苷酸的长度、17-23对核苷酸的长度、17-21对核苷酸的长度、17-19对核苷酸的长度、19-25对核苷酸的长度、19-23对核苷酸的长度、19-21对核苷酸

的长度、21-25对核苷酸的长度、或21-23对核苷酸的长度。另一项实例中,双螺旋区的长度是选自:15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、与27对核苷酸。

[1137] 在一个实施例中, RNAi剂可能在其中一链或两链的3'-端、5'-端或两端包含一个或多个突出端区和/或封端基团。该突出端的长度可为1-6个核苷酸,例如:2-6个核苷酸的长度、1-5个核苷酸的长度、2-5个核苷酸的长度、1-4个核苷酸的长度、2-4个核苷酸的长度、1-3个核苷酸的长度、2-3个核苷酸的长度、或1-2个核苷酸的长度。该突出端可为其中一链长度超过另一链所造成,或为相同长度的两链交错所造成。突出端可与靶mRNA形成错配或其可与基因序列靶互补或可为另一个序列。第一与第二链还可例如:利用另一个碱基联结形成发夹型,或利用其他非碱基键联体联结。

[1138] 在一个实施例中, RNAi剂的突出端区的核苷酸可彼此分别独立为经修饰或未经修饰的核苷酸,包括(但不限于):2'-糖修饰,如:2'-F、2'-O甲基、胸苷(T)、2'-O-甲氧基乙基-5-甲基尿苷(Teo)、2'-O-甲氧基乙基腺苷(Aeo)、2'-O-甲氧基乙基-5-甲基胞苷(m5Ceo)与其任何组合。例如:TT可为任一链上任一端的突出端序列。突出端可与靶mRNA形成错配,或其可与基因序列靶互补或可为另一个序列。

[1139] RNAi剂的正义链、反义链或两链的5'-或3'-突出端可经过磷酸化。在一些实施例中,突出端区(群)包含两个核苷酸,其在这两个核苷酸之间具有硫代磷酸根,其中这两个核苷酸可相同或不同。在一个实施例中,突出端存在于正义链、反义链或两链的3'-端。在一个实施例中,此3'-突出端存在于反义链。在一个实施例中,此3'-突出端存在于正义链上。

[1140] RNAi剂可能仅包含单一突出端,其可强化RNAi的干扰活性,不会影响整体稳定性。例如:单链突出端可能位于正义链的3'末端,或者在反义链的3'末端。RNAi还可能在反义链的5'-端(或正义链的3'-端)具有钝端,或反之亦然。通常RNAi的反义链在3'-端具有核苷酸突出端,且5'-端为钝端。在不希望受到限制下,反义链5'-端的不对称钝端与反义链3'-端的突出端有利于引导该链进入RISC过程。

[1141] 在一个实施例中, RNAi剂为两端均为钝端的19个核苷酸的长度,其中该正义链包含至少一个在5'端起的位置7、8、9三个连续核苷酸具有三个2'-F修饰的基序。反义链包含至少一个在5'端起的位置11、12、13三个连续核苷酸具有三个2'-O-甲基修饰的基序。

[1142] 另在一个实施例中, RNAi剂为两端均为钝端的20个核苷酸的长度,其中该正义链包含至少一个在5'端起的位置8、9、10三个连续核苷酸具有三个2'-F修饰的基序。反义链包含至少一个在5'端起的位置11、12、13三个连续核苷酸具有三个2'-O-甲基修饰的基序。

[1143] 再另在一个实施例中, RNAi剂为两端均为钝端的21个核苷酸的长度,其中该正义链包含至少一个在5'端起的位置9、10、11三个连续核苷酸具有三个2'-F修饰的基序。反义链包含至少一个在5'端起的位置11、12、13三个连续核苷酸具有三个2'-O-甲基修饰的基序。

[1144] 在一个实施例中, RNAi剂包含21个核苷酸的正义链与23个核苷酸的反义链,其中该正义链包含至少一个在5'端起的位置9、10、11三个连续核苷酸具有三个2'-F修饰的基序;反义链包含至少一个在5'端起的位置11、12、13三个连续核苷酸具有三个2'-O-甲基修饰的基序,其中RNAi剂的一端为钝端,而另一端包含具有2个核苷酸的突出端。优选是该具有2个核苷酸的突出端位在反义链的3'-端。

[1145] 当该具有2个核苷酸的突出端位在反义链的3'-端时,末端三个核苷酸之间可能有

两个硫代磷酸根的核苷酸间键联,其中该三个核苷酸中有两个为突出端核苷酸,第三个核苷酸为邻接该突出端核苷酸的配对核苷酸。在一个实施例中,RNAi剂在正义链5'-端与反义链5'-端的两端的末端三个核苷酸之间另外具有两个硫代磷酸根的核苷酸间键联。在一个实施例中,RNAi剂的正义链与反义链中每一个核苷酸(包括作为基序的一部分的核苷酸)均为经修饰的核苷酸。一实施例,各残基是分别独立经2'-O-甲基或3'-氟修饰,例如:在交替的基序上。RNAi剂可视需要再包含配体(优选为GalNAc₃)。

[1146] 在一个实施例中,RNAi剂包含正义链与反义链,其中正义链的长度为25-30个核苷酸残基,其中第一链始于5'末端核苷酸(位置1)的位置1至23包含至少8个核糖核苷酸;反义链的长度为36-66个核苷酸残基,从3'末端核苷酸开始,在与正义链的位置1-23配对形成双螺旋的位置包含至少8个核糖核苷酸;其中至少反义链的3'末端核苷酸未与正义链配对,且至多6个连续3'末端核苷酸未与正义链配对,借以形成具有1-6个核苷酸的3'单链突出端;其中反义链5'末端包含10-30个未与正义链配对的连续核苷酸,借以形成具有10-30个核苷酸的单链5'突出端;其中当正义与反义链依最大互补性进行排列时,至少正义链5'末端及3'末端核苷酸会与反义链的核苷酸形成碱基对,借以在正义与反义链之间形成实质上双螺旋区;且该反义链沿着反义链上至少19个核糖核苷酸长度与标靶RNA充份互补时,可在双链核酸引进哺乳动物细胞中时,降低标靶基因表达;且其中该正义链包含至少一个在三个连续核苷酸具有三个2'-F修饰的基序,其中至少一个基序出现在裂解位点或接近裂解位点处。该反义链在裂解位点或接近裂解位点处包含至少一个在三个连续核苷酸具有三个2'-O-甲基修饰的基序。

[1147] 在一个实施例中,RNAi剂包含正义与反义链,其中RNAi剂包含长度为至少25个及至多29个核苷酸的第一链与长度为至多30个核苷酸的第二链,其具有至少一个自5'端起位置11、12、13连续三个核苷酸上三个2'-O-甲基修饰的基序;其中第一链3'端与第二链5'端形成钝端,且第二链的3'端比第一链长1至4个核苷酸,其中双螺旋区的长度为至少25个核苷酸,且第二链与标靶mRNA沿着第二链至少19个核苷酸长度充份互补,当RNAi剂引进哺乳动物细胞中时,可以降低标靶基因表达,且其中dicer裂解RNAi剂优选是产生包含第二链3'端的siRNA,借以降低哺乳动物细胞中的标靶基因表达。该RNAi剂可视需要再包含配体。

[1148] 在一个实施例中,RNAi的正义链剂包含至少一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序,其中一个基序出现在正义链的裂解位点。

[1149] 在一个实施例中,RNAi剂的反义链还可包含至少一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序,其中一个基序出现在反义链的裂解位点或接近裂解位点处。

[1150] 当RNAi剂具有长度为17至23个核苷酸的双螺旋区时,反义链的裂解位点通常约在自5'-端起的10、11与12位置。因此,三个相同修饰的基序可能出现在反义链的9、10、11位置;10、11、12位置;11、12、13位置;12、13、14位置;或13、14、15位置,其是从反义链5'-端起的第一个核苷酸开始计数,或从反义链5'-端的双螺旋区内第一对核苷酸开始计数。反义链中的裂解位点还可能随RNAi从5'-端开始的双螺旋区长度变化。

[1151] RNAi剂的正义链可能在该链的裂解位点包含至少一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序;且反义链可能在该链的裂解位点或接近裂解位点处具有至少一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序。当正义链与反义链形成dsRNA双螺旋时,正义链与反义链的排列可让正义链上一个三个核苷酸的基序与反义链上一个三个核苷酸的基序具

有至少一个核苷酸重叠,亦即正义链上至少一个三个核苷酸的基序与反义链上至少一个三个核苷酸的基序形成碱基对。可替代地,可能至少两个核苷酸重叠,或可能所有三个核苷酸重叠。

[1152] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链可能包含超过一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序。该第一基序可能出现在该链的裂解位点或接近裂解位点,且该其他基序可能为侧翼修饰。本文中术语“侧翼修饰”是指出现在该链的另一部分上的基序,其与出现在相同链上的裂解位点或接近裂解位点的基序分开。该侧翼修饰是与第一基序相邻或分隔至少一个或更多个核苷酸。当那些基序彼此紧邻时,则这些基序的化学是彼此独立,且当基序之间分隔一个或多个核苷酸时,则其化学可能相同或不同。可能出现两个或更多个侧翼修饰。例如:当存在两个侧翼修饰时,各侧翼修饰可能存在于相对于该裂解位点或接近裂解位点的第一基序的一端或在该前导基序的另一侧。

[1153] 如同正义链,RNAi剂的反义链可能包含超过一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序,其中至少一个基序出现在该链的裂解位点或接近裂解位点。此反义链还可能包含一个或多个侧翼修饰,其排列应类似可能出现在正义链上的侧翼修饰。

[1154] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链或反义链的侧翼修饰通常不包括该链的3'-端、5'-端或两端上第一个或两个末端核苷酸。

[1155] 另在一个实施例中,RNAi剂的正义链或反义链的侧翼修饰通常不包括该链的3'-端、5'-端或两端上双螺旋区内第一个或两个配对的核苷酸。

[1156] 当RNAi剂的正义链与反义链各包含至少一个侧翼修饰时,该侧翼修饰可能落在双螺旋区的同一端,且具有一、二或三个核苷酸重叠。

[1157] 当RNAi剂的正义链与反义链各包含至少两个侧翼修饰时,正义链与反义链的排列可使各来自一链的两个修饰落在双螺旋区的一端,具有一、二或三个核苷酸重叠;各来自一链的两个修饰落在双螺旋区的另一端,具有一、二或三个核苷酸重叠;各来自一链的两个修饰落在前导基序的每一侧,且在双螺旋区有一、二或三个核苷酸重叠。

[1158] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链与反义链中每一个核苷酸(包括作为基序的一部分的核苷酸)可能经过修饰。各核苷酸可能经过相同或不同修饰法修饰,其可包括以下一种或多种修改:一个或两个非键联性磷酸态氧和/或一个或多个键联性磷酸态氧;修改核糖的组成,例如:核糖上的2'羟基;以“去磷酸”键联体完全置换磷酸根部分基团;修饰或置换天然碱基;及置换或修饰核糖-磷酸根主链。

[1159] 由于核酸为次单元的聚合物,因此许多修饰会出现在核酸内重复的位置,例如:碱基或磷酸根部分基团或磷酸根部分基团的非键联性O的修饰。有些例子中,将在核酸的所有个别位置进行修饰,但许多例子中并未进行修饰。例如:可能仅在3'或5'末端位置进行修饰,可能仅在一个末端区进行,例如:在末端核苷酸的位置或在一链的最后2、3、4、5或10个核苷酸。可能在双链区、单链区或二者进行修饰。可能仅在RNA的双链区或可能仅在RNA的单链区进行修饰,例如:在非键联性O位置的硫代磷酸根修饰可能在末端区的一个或两个末端进行,例如:在一链的末端核苷酸位置或最后2、3、4、5、或10个核苷酸,或可能在双链与单链区,具体地末端进行。该或这些5'端可经磷酸化。

[1160] 为了例如:加强稳定稳定性,可能在突出端中包括特定碱基,或在单链突出端,例如:5'或3'突出端或二者包括经修饰的核苷酸或核苷酸替代物。例如:优选在突出端中包括

嘌呤核苷酸。在一些实施例中,3' 或5' 突出端中所有或有些碱基可经修饰,例如:具有本文所说明的修饰。修饰法可包括,例如:可采用本领域中已知的修饰法在核糖的2' 位置上进行修饰,例如:改用脱氧核糖核苷酸、2' -脱氧-2' -氟(2' -F)或2' -O-甲基修饰替代核碱基的核糖;及磷酸根的修饰,例如:硫代磷酸根修饰法。突出端不一定与靶序列同源。

[1161] 在一个实施例中,正义链与反义链的各残基分别独立经LNA、CRN、cET、UNA、HNA、CeNA、2' -甲氧基乙基、2' -O-甲基、2' -O-烯丙基、2' -C-烯丙基、2' -脱氧、2' -羟基、或2' -氟修饰。这些链包含超过一个修饰。在一个实施例中,正义链与反义链的各残基分别独立经2' -O-甲基或2' -氟修饰。

[1162] 正义链与反义链上通常出现至少两种不同修饰。这两种修饰可能为2' -O-甲基或2' -氟修饰,或其他。

[1163] 在一个实施例中, N_a 和/或 N_b 包含交替修饰形式。本文所采用语“交替基序”是指具有一种或多种修饰的基序,各修饰是在一链的交替核苷酸上进行。该交替核苷酸可能是指每隔一个核苷酸有一个修饰或每隔三个核苷酸有一个修饰,或类似形式。例如:若A、B与C分别代表核苷酸上一种修饰时,则该交替基序可为“ABABABABABAB...”、“AABBAABBAABB...”、“AABAABAABAAB...”、“AAABAAABAAAB...”、“AAABBBAAABBB...”、或“ABCABCABCABC...”,等等。

[1164] 交替基序中可能包括相同或不同的修饰形式。例如:若A、B、C、D分别代表核苷酸上一种修饰形式时,交替形式(亦即每隔一个核苷酸上的修饰形式)可能相同,但各正义链或反义链的修饰形式可能分别选自交替基序中的数种修饰可能性,如:“ABABAB...”、“ACACAC...”、“BDBDBD...”或“CDCDCD...”,等等。

[1165] 在一个实施例中,本发明RNAi剂包含在正义链上交替基序的修饰形式相对于反义链上交替基序的修饰形式出现位移。该位移可使正义链核苷酸的经修饰基团对应于反义链核苷酸的经不同修饰的基团,且反之亦然。例如:当正义链与dsRNA双螺旋中反义链配对时,双螺旋区内的正义链的交替基序可能始于该链的5' -3' 的“ABABAB”,而反义链的交替基序可能始于该链的5' -3' 的“BABABA”。另一项实例中,双螺旋区内的正义链的交替基序可能始于该链的5' -3' 的“AABBAABB”,而反义链的交替基序可能始于该链的5' -3' 的“BBAABBAA”,因此正义链与反义链之间的修饰形式会出现完全或部分位移。

[1166] 在一个实施例中,RNAi剂包含在原始正义链上2' -O-甲基修饰与2' -F修饰的交替基序形式相对于在原始反义链上2' -O-甲基修饰与2' -F修饰的交替基序形式出现位移,亦即正义链上的2' -O-甲基修饰的核苷酸与反义链上2' -F修饰的核苷酸形成碱基配对,且反之亦然。正义链的1-位置可能始于2' -F修饰,及反义链的1-位置可能始于2' -O-甲基修饰。

[1167] 正义链和/或反义链上引进一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序时,可中断正义链和/或反义链的原始修饰形式。这种在正义和/或反义链中引进一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序而中断正义和/或反义链的修饰形式时,惊人地加强该基因对靶基因的沉默活性。

[1168] 在一个实施例中,当在任一链中引进在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序时,邻接该基序的核苷酸修饰为不同于该基序修饰的修饰。例如:包含该基序的序列部分为“... N_a YYY N_b ...”,其中“Y”代表在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序的修饰,及“ N_a ”与“ N_b ”代表邻接基序“YYY”的核苷酸的修饰,其不同于Y的修饰,且其中 N_a 与 N_b 可为相同或不同

修饰。可替代地,当出现侧翼修饰时, N_a 和/或 N_b 可能存在或不存在。

[1169] RNAi剂可能进一步包含至少一个硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联。硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联修饰可能出现在正义链或反义链或两链的链中任何位置的任何核苷酸上。例如:核苷酸间键联修饰可能出现在正义链和/或反义链的每一个核苷酸上;各核苷酸间键联修饰可能呈交替形式出现在正义链和/或反义链上;或正义链或反义链可能包含呈交替形式的两种核苷酸间键联的修饰。正义链上核苷酸间键联的交替修饰形式可能与反义链相同或不同,正义链上核苷酸间键联的交替修饰形式可能相对于反义链上核苷酸间键联的交替修饰形式出现位移。在一个实施例中,双链RNAi剂包含6至8个硫代磷酸根的核苷酸间键联。在一个实施例中,反义链在5'-末端包含两个硫代磷酸根的核苷酸间键联及在3'-末端包含两个硫代磷酸根的核苷酸间键联,正义链则在5'-末端或3'-末端包含至少两个硫代磷酸根的核苷酸间键联。

[1170] 在一个实施例中,RNAi在突出端区包含硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联修饰。例如:突出端区可能包含两个核苷酸,其在两个核苷酸之间具有硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联。还可能进行核苷酸间键联修饰来键联突出端核苷酸与双螺旋区内末端配对的核苷酸。例如:至少2、3、4个或所有突出端核苷酸可能利用硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联,且可视需要可能有额外硫代磷酸根或甲基磷酸根的核苷酸间键联该突出端核苷酸与邻接该突出端核苷酸的配对核苷酸。例如:末端三个核苷酸之间可能有至少两个硫代磷酸根的核苷酸间键联,三个核苷酸中有两个为突出端核苷酸,第三个为邻接该突出端核苷酸的配对核苷酸。末端这三个核苷酸可在反义链3'-端、正义链3'-端、反义链5'-端、和/或反义链5'-端。

[1171] 在一个实施例中,该具有2个核苷酸的突出端是在反义链3'-端,且末端三个核苷酸之间有两个硫代磷酸根的核苷酸间键联,这三个核苷酸中有两个为突出端核苷酸,第三个核苷酸为邻接该突出端核苷酸的配对核苷酸。该RNAi剂可视需要再于正义链5'-端与反义链5'-端两端,于末端三个核苷酸之间另包含两个硫代磷酸根的核苷酸间键联。

[1172] 在一个实施例中,RNAi剂在双螺旋内包含与标靶错配(群),或其组合。错配可能发生于突出端区或双螺旋区。碱基对可能依据其促进解离或熔解的倾向排序(例如:依据特定一对的结合或解离的自由能,最简单的方法为检视该一对核苷酸对另一对核苷酸,但还可针对邻接核苷酸或采用类似分析法)。以促进解离而言:A:U优于G:C;G:U优于G:C;与I:C优于G:C(I=肌苷)。错配,例如:非典型或典型以外的配对(如本文中其他说明)优于典型(A:T、A:U、G:C)配对;且包括通用碱基的配对优于典型配对。

[1173] 在一个实施例中,RNAi剂包含双螺旋区内反义链5'-末端起前1、2、3、4、或5对碱基中至少一对,其是分别独立选自:A:U、G:U、I:C,及错配对,例如:非典型或典型以外的配对或包括通用碱基的配对,以促进双螺旋反义链5'-端的解离。

[1174] 在一个实施例中,双螺旋区中反义链5'-端起1-位置的核苷酸选自下组,该组由以下各项组成:A、dA、dU、U、与dT。可替代地,双螺旋区中反义链5'-端起前1、2或3对碱基中至少一对为AU碱基对。例如:双螺旋区中反义链5'-端起第一对碱基为AU碱基对。

[1175] 另在一个实施例中,正义链3'-端的核苷酸为脱氧-胸腺嘧啶(dT)。另在一个实施例中,反义链3'-端的核苷酸为脱氧-胸腺嘧啶(dT)。在一个实施例中,正义和/或反义链的3'-端上有一个脱氧-胸腺嘧啶核苷酸短序列,例如:两个dT核苷酸。

[1176] 在一个实施例中,正义链序列可由式(I)代表:

[1177] $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3' (I)$

[1178] 其中:

[1179] i 及 j 分别独立为0或1;

[1180] p 及 q 分别独立为0-6;

[1181] 各 N_a 分别独立代表包含0-25个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸;

[1182] 各 N_b 分别独立代表包含0-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列;

[1183] 各 n_p 及 n_q 分别独立代表突出端核苷酸;

[1184] 其中 N_b 及 Y 不具有相同修饰;及

[1185] XXX 、 YYY 及 ZZZ 分别独立代表一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序。优选为 YYY 为均经2'-F修饰的核苷酸。

[1186] 在一个实施例中, N_a 和/或 N_b 包含交替形式的修饰。

[1187] 在一个实施例中, YYY 基序出现在正义链裂解位点或接近该位点。例如:当该RNAi剂具有17-23个核苷酸长度的双螺旋区时, YYY 基序出现在正义链的裂解位点或其邻近位点(例如:可能在位置6、7、8,7、8、9,8、9、10,9、10、11,10、11、12,或11、12、13),其是从5'-端第一个核苷酸开始算起;或可视需要从双螺旋区内5'-端第一对核苷酸算起。

[1188] 在一个实施例中, i 为1及 j 为0,或 i 为0及 j 为1,或 i 与 j 均为1。因此正义链可由下式代表:

[1189] $5' n_p - N_a - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q 3' (Ib);$

[1190] $5' n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_a - n_q 3' (Ic);$ 或

[1191] $5' n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q 3' (Id)。$

[1192] 当正义链由式(Ib)代表时, N_b 代表包含0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 可分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1193] 当正义链由式(Ic)代表时, N_b 代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 可分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1194] 当正义链由式(Id)代表时,各 N_b 分别独立代表包含0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。优选是 N_b 为0、1、2、3、4、5或6。各 N_a 可分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 X 、 Y 及 Z 可彼此相同或相异。

[1195] 其他实施例中, i 为0及 j 为0,且正义链可由下式代表:

[1196] $5' n_p - N_a - YYY - N_a - n_q 3' (Ia)。$

[1197] 当正义链由式(Ia)代表时,各 N_a 可分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1198] 在一个实施例中,RNAi的反义链序列可由式(II)代表:

[1199] $5' n_q - N_a' - (Z' Z' Z')_k - N_b' - Y' Y' Y' - N_b' - (X' X' X')_l - N_a' - n_p' 3' (II)$

[1200] 其中:

[1201] k 及 l 分别独立为0或1;

- [1202] p' 及 q' 分别独立为0-6;
- [1203] 各 N_a' 分别独立代表包含0-25个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸;
- [1204] 各 N_b' 分别独立代表包含0-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列;
- [1205] 各 n_p' 及 n_q' 分别独立代表突出端核苷酸;
- [1206] 其中 N_b' 及 Y' 不具有相同修饰;及
- [1207] $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 及 $Z'Z'Z'$ 分别独立代表一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序。
- [1208] 在一个实施例中, N_a' 和/或 N_b' 包含交替形式的修饰。
- [1209] $Y'Y'Y'$ 基序出现在反义链的裂解位点或接近裂解位点。例如:当RNAi剂的双螺旋区长度为17-23个核苷酸时,该 $Y'Y'Y'$ 基序可发生于反义链的位置9、10、11;10、11、12;11、12、13;12、13、14;或13、14、15,其是从5'-端的第一个核苷酸开始计算;或可视需要从双螺旋区内5'-端的第一对配对核苷酸开始计算。优选是该 $Y'Y'Y'$ 基序出现在位置11、12、13。
- [1210] 在一个实施例中, $Y'Y'Y'$ 基序为均经2'-OMe修饰的核苷酸。
- [1211] 在一个实施例中, k 为1及1为0,或 k 为0及1为1,或 k 与1均为1。
- [1212] 因此反义链可由下式代表:
- [1213] $5'n_q'-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_p',3'$ (IIb);
- [1214] $5'n_q'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-n_p',3'$ (IIc);或
- [1215] $5'n_q'-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-N_a'-n_p',3'$ (IId)。
- [1216] 当反义链由式 (IIb) 代表时, N_b' 代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a' 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。
- [1217] 当反义链由式 (IIc) 代表时, N_b' 代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a' 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。
- [1218] 当反义链由式 (IId) 代表时,各 N_b' 分别独立代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a' 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。优选是, N_b' 为0、1、2、3、4、5或6。
- [1219] 其他实施例中, k 为0及1为0,且反义链可由下式代表:
- [1220] $5'n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q',3'$ (IIa)。
- [1221] 当反义链由式 (IIa) 代表时,各 N_a' 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 X' 、 Y' 及 Z' 可彼此相同或相异。正义链与反义链的各核苷酸可能分别独立经LNA、CRN、UNA、cEt、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羟基、或2'-氟修饰。例如:正义链与反义链的各核苷酸是分别独立经2'-O-甲基或2'-氟修饰。具体地,各 X 、 Y 、 Z 、 X' 、 Y' 与 Z' 可代表2'-O-甲基修饰或2'-氟修饰。
- [1222] 在一个实施例中,当RNAi剂的双螺旋区为21聚体时,其正义链可能包含出现在该链9、10与11位置的YYY基序,其是从5'-端第一个核苷酸开始算起,或可视需要从双螺旋区内5'-端第一对配对核苷酸开始算起;及 Y 代表2'-F修饰。正义链可另外在双螺旋区的相反端包含XXX基序或ZZZ基序作为侧翼修饰;及XXX与ZZZ各分别独立代表2'-OMe修饰或2'-F修

饰。

[1223] 在一个实施例中,反义链可能包含出现在该链的位置11、12、13的Y'Y'Y'基序,其是从5'-端第一个核苷酸开始算起,或可视需要从双螺旋区内5'-端第一对配对核苷酸开始算起;及Y'代表2'-O-甲基修饰。该反义链可另外在双螺旋区的相反端包含X'X'X'基序或Z'Z'Z'基序作为侧翼修饰;及X'X'X'与Z'Z'Z'各分别独立代表2'-OMe修饰或2'-F修饰。

[1224] 由上式(Ia)、(Ib)、(Ic)与(Id)中任一式代表的正义链可分别与上式(IIa)、(IIb)、(IIc)与(IId)中任一式代表的反义链形成双螺旋。

[1225] 因此用于本发明方法的RNAi剂可包含正义链与反义链,各链具有14至30个核苷酸, RNAi双螺旋由式(III)代表:

[1226] 正5'-n_p-N_a-(X X X)_i-N_b-Y Y Y-N_b-(Z Z Z)_j-N_a-n_q

[1227] 义:3'

[1228] 反3'

[1229] 义:n_p'-N_a'-(X'X'X')_k-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')_l-N_a'-n_q'5' (III)

[1230] 其中:

[1231] i、j、k、及l分别独立为0或1;

[1232] p、p'、q、及q'分别独立为0-6;

[1233] 各N_a及N_a'分别独立代表包含0-25个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸;

[1234] 各N_b及N_b'分别独立代表包含0-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列;

[1235] 其中各n_p'、n_p、n_q'、及n_q,分别可能存在或不存在,分别独立代表突出端核苷酸;及

[1236] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'Y'Y'Y'、及Z'Z'Z'分别独立代表一个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序。

[1237] 在一个实施例中,i为0及j为0;或i为1及j为0;或i为0及j为1;或i与j均为0;或i与j均为1。另在一个实施例中,k为0及l为0;或k为1及l为0;或k为0及l为1;或k与l均为0;或k与l均为1。

[1238] 形成RNAi双螺旋的正义链及反义链的组合实例包括下式:

[1239] 5'-n_p-N_a-Y Y Y-N_a-n_q 3'

[1240] 3'-n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5'

[1241] (IIIa)

[1242] 5'-n_p-N_a-Y Y Y-N_b-Z Z Z-N_a-n_q 3'

[1243] 3'-n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a'-n_q' 5'

[1244] (IIIb)

[1245] 5'-n_p-N_a-X X X-N_b-Y Y Y-N_a-n_q 3'

[1246] 3'-n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5'

[1247] (IIIc)

[1248] 5'-n_p-N_a-X X X-N_b-Y Y Y-N_b-Z Z Z-N_a-n_q 3'

[1249] 3'-n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a'-n_q' 5'

[1250] (IIId)

[1251] 当该RNAi剂由式(IIIa)代表时,各 N_a 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1252] 当该RNAi剂由式(IIIb)代表时,各 N_b 分别独立代表包含1-10、1-7、1-5或1-4个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1253] 当该RNAi剂由式(IIIc)代表时,各 N_b 、 N_b' 分别独立代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 分别独立代表包含2-20、2-15、或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。

[1254] 当RNAi剂由式(IIId)代表时,各 N_b 、 N_b' 分别独立代表包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 、 N_a' 分别独立代表包含2-20、2-15或2-10个经修饰核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 、 N_a' 、 N_b 与 N_b' 分别独立包含交替的修饰形式。

[1255] 式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)、与(IIId)中各X、Y与Z可彼此相同或相异。

[1256] 当RNAi剂由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)与(IIId)代表时,至少一个Y核苷酸可与一个Y'核苷酸形成碱基对。可替代地,至少两个Y核苷酸与对应Y'核苷酸形成碱基对;或所有三个Y核苷酸均与对应Y'核苷酸形成碱基对。

[1257] 当RNAi剂由式(IIIb)或(IIId)代表时,至少一个Z核苷酸可与一个Z'核苷酸形成碱基对。可替代地,至少两个Z核苷酸可与对应Z'核苷酸形成碱基对;或所有三个Z核苷酸均与对应Z'核苷酸形成碱基对。

[1258] 当RNAi剂由式(IIIc)或(IIId)代表时,至少一个X核苷酸可与一个X'核苷酸形成碱基对。可替代地,至少两个X核苷酸可与对应X'核苷酸形成碱基对;或所有三个X核苷酸均与对应X'核苷酸形成碱基对。

[1259] 在一个实施例中,Y核苷酸上的修饰不同于Y'核苷酸上的修饰,Z核苷酸上的修饰不同于Z'核苷酸上的修饰,和/或X核苷酸上的修饰不同于X'核苷酸上的修饰。

[1260] 在一个实施例中,当RNAi剂由式(IIId)代表时, N_a 修饰为2'-O-甲基或2'-氟修饰。另在一个实施例中,当RNAi剂如式(IIId)代表时, N_a 修饰为2'-O-甲基或2'-氟修饰,且 $n_p > 0$,及至少一个 n_p' 是利用硫代磷酸根键联相邻核苷酸。另在一个实施例中,当RNAi剂如式(IIId)代表时,该 N_a 修饰为2'-O-甲基或2'-氟修饰, $n_p > 0$,及至少一个 n_p' 是利用硫代磷酸根键联相邻核苷酸,且正义链是利用附接的二价或三价分支键联体(如下说明)来接合一种或多种GalNAc衍生物。另在一个实施例中,当RNAi剂如式(IIId)代表时,该 N_a 修饰为2'-O-甲基或2'-氟修饰, $n_p > 0$,及至少一个 n_p' 是利用硫代磷酸根键联相邻核苷酸,正义链包含至少一个硫代磷酸根键联基,且正义链是利用附接的二价或三价分支键联体来接合一种或多种GalNAc衍生物。

[1261] 在一个实施例中,当RNAi剂由式(IIIa)代表时, N_a 修饰为2'-O-甲基或2'-氟修饰, $n_p > 0$,及至少一个 n_p' 是利用硫代磷酸根键联相邻核苷酸,正义链包含至少一个硫代磷酸根键联基,且正义链是利用附接的二价或三价的分支键联体来接合一种或多种GalNAc衍生物。

[1262] 在一个实施例中,RNAi剂为包含至少两个如式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)与(IIId)代表的双螺旋的多聚体,其中双螺旋是利用键联体连接。该键联体可以裂解或不可以裂解。该多聚体可视需要进一步包含配体。各双螺旋可靶向相同基因或两个不同基因;或

各双螺旋可靶向相同基因上的两个不同靶位点。

[1263] 在一个实施例中, RNAi 剂为包含三个、四个、五个、六个或更多个如式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 与 (IIId) 所代表双螺旋的多聚体, 其中双螺旋是利用键联体连接。该键联体可以裂解或不可以裂解。该多聚体可视需要进一步包含配体。各双螺旋可靶向相同基因或两个不同基因; 或各双螺旋可靶向相同基因上的两个不同靶位点。

[1264] 在一个实施例中, 两个如式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 与 (IIId) 代表的 RNAi 剂是在 5' 端及其中一个或两个 3' 端彼此连接, 且可视需要接合配体。各制剂可靶向相同基因或两个不同基因; 或各制剂可靶向相同基因上的两个不同靶位点。

[1265] 各种不同文献说明的多聚体 RNAi 剂均可用于本发明方法。这些文献包括 WO 2007/091269、美国专利案案号 7858769、WO 2010/141511、WO 2007/117686、WO 2009/014887 及 WO 2011/031520, 其揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1266] 如下文更详细说明, 包含一个或多个碳水化合物部分基团与 RNAi 剂的接合物的 RNAi 剂可使一种或多种 RNAi 剂的性质达优化。许多例子中, 由碳水化合物部分基团附接 RNAi 剂的经修饰亚单位。例如: dsRNA 剂的一个或多个核糖核苷酸亚单位的核糖可被另一个部分基团 (例如: 附接碳水化合物配体的非碳水化合物 (优选为环状) 载剂) 置换。依此方式置换亚单位中核糖的核糖核苷酸亚单位在本文中称为核糖置换修饰亚单位 (RRMS)。环状载剂可能为碳环状环系 (亦即所有环原子均为碳原子) 或杂环状环系 (亦即一个或多个环原子可能为杂原子, 例如: 氮、氧、硫)。该环状载剂可能为单环状环系, 或可能包含两个或更多个环, 例如: 稠合环。环状载剂可能为完全饱和环系, 或其可能包含一个或多个双键。

[1267] 配体可能利用载剂附接聚核苷酸。该载剂包括 (i) 至少一个“主链附接点”, 优选为两个“主链附接点”与 (ii) 至少一个“系链附接点”。本文所采用“主链附接点”是指可用于且适于让载剂进入主链 (例如: 核糖核酸的磷酸根或经修饰磷酸根 (例如: 含硫) 主链) 中的官能基, 例如: 羟基, 或通常为一个键联。在一些实施例中, “系链附接点” (TAP) 是指环状载剂的组成环原子, 例如: 碳原子或杂原子 (不同于提供主链附接点的原子), 其连接所选定的部分基团。该部分基团可为例如: 碳水化合物, 例如: 单糖、双糖、三糖、四糖、寡糖、与多糖。该选定的部分基团可视需要利用穿插的系链 (tether) 连接该环状载剂。因此该环状载剂经常包括适合引进或连是另一个化学部分体 (例如: 配体) 至组成环的官能基, 例如: 氨基, 或通常提供一个键联。

[1268] 该 RNAi 剂可能利用载剂接合配体, 其中该载剂可为环状基团或无环基团; 优选为该环状基团是选自: 吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、[1,3] 二氧杂环戊烷、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、喹啉基、哒嗪酮基、四氢呋喃基、与十氢萘; 优选该无环基团是选自: 丝氨酸主链或二乙醇胺主链。

[1269] 某些明确实施例中, 用于本发明方法的 RNAi 剂为选自表 3、4、6、7、12、13、22、23、25、与 26 中任一表所列制剂的组中。这些制剂可进一步包含配体。

[1270] IV. 与配体接合的 iRNA

[1271] 本发明 iRNA 中 RNA 的另一种修饰涉及化学键联 RNA 与一个或多个可加强 iRNA 的活性、细胞分布或细胞吸收的配体、部分基团或接合物。这些部分基团包括 (但不限于): 脂质部分基团, 如: 胆固醇部分基团 (Letsinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556)、胆酸 (Manoharan 等人, Biorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4: 1053-1060)、硫醚, 例如:

hexyl-S-三苯甲基硫醇 (Manoharan等人, Ann.N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan等人, Biorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765-2770)、硫胆固醇 (Oberhauser等人, Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538)、脂系链, 例如: 十二碳烷二醇或十一碳烷基 (Saison-Behmoaras等人, EMBO J, 1991, 10:1111-1118; Kabanov等人, FEBS Lett., 1990, 259:327-330; Svinarchuk等人, Biochimie, 1993, 75:49-54)、磷脂, 例如: 二-十六碳烷基-消旋性-甘油或1,2-二-0-十六碳烷基-消旋性-甘油基-3-磷酸三乙基铵盐 (Manoharan等人, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654; Shea等人, Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783)、多元胺或聚乙二醇链 (Manoharan等人, Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969-973)、或金刚烷乙酸 (Manoharan等人, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654)、棕榈基部分基团 (Mishra等人, Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237)、或十八碳烷基胺或己基氨基-羧基氧胆固醇部分基团 (Crooke等人, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923-937)。

[1272] 在一个实施例中, iRNA剂引进配体后会改变其分布、靶向或寿命。优选实施例中, 相较于例如: 没有这些配体的物种, 这些配体可加强对所选定标靶 (例如: 对分子、细胞或细胞形式、隔室 (例如: 细胞或器官隔室)、组织、器官或身体区域) 的亲合性。优选配体将不会参与双螺旋核酸中的双螺旋配对。

[1273] 配体可包括天然物质, 如: 蛋白质 (例如: 人类血清白蛋白 (HSA)、低密度脂蛋白 (LDL)、或球蛋白); 碳水化合物 (例如: 葡聚糖、普兰多糖 (pullulan)、几丁质、几丁聚糖、菊糖、环糊精、N-乙酰基半乳糖胺或玻尿酸); 或脂质。配体还可为重组或合成性分子, 如: 合成性聚合物, 例如: 合成性聚氨基酸。聚氨基酸实例包括聚赖氨酸 (PLL)、聚L-天冬氨酸、聚L-谷氨酸等聚氨基酸; 苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚 (L-丙交酯-共-乙交酯) 共聚物、二乙烯基醚-马来酸酐共聚物、N-(2-羟基丙基) 甲基丙烯酰胺共聚物 (HMPA)、聚乙二醇 (PEG)、聚乙烯醇 (PVA)、聚氨基甲酸酯、聚 (2-乙基丙烯酸)、N-异丙基丙烯酰胺聚合物、或聚磷腈。多元胺实例包括: 聚乙烯亚胺、聚赖氨酸 (PLL)、精胺、精脒、多元胺、伪肽-多元胺、模拟肽性多元胺、树枝状多元胺、精氨酸、脒、鱼精蛋白、阳离子性脂质、阳离子性紫质、多元胺的四级盐、或 α 螺旋肽。

[1274] 配体还可包括靶向基团, 例如: 靶向细胞或组织的制剂, 例如: 凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质, 例如: 会结合特定细胞形式 (如: 肾脏细胞) 的抗体。靶向基团可为促甲状腺激素、促黑激素、凝集素、糖蛋白、表面活性蛋白质A、黏蛋白碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-葡萄糖胺、多价甘露糖、多价岩藻糖、糖基化聚氨基酸、多价半乳糖、转铁蛋白、双磷酸、聚谷氨酸、聚天冬氨酸、脂质、胆固醇、类固醇、胆汁酸、叶酸盐、维生素B12、维生素A、生物素、或RGD肽或RGD肽模拟物。

[1275] 其他配体实例包括染料、螯合剂 (例如: 吡啶类)、交链剂 (例如: 补骨脂内酯、丝裂霉素C)、卟啉 (TPPC4、德卟啉 (texaphyrin)、噻卟啉 (Sapphyrin))、多环状芳香烃 (例如: 吩、二氢吩)、人造内切核酸酶 (例如: EDTA)、亲脂性分子, 例如: 胆固醇、胆酸、金刚烷乙酸、1-萘丁酸、双氢睾酮、1,3-双-0(十六碳烷基) 甘油、香叶草基氧己基、十六碳烷基甘油、苡醇、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七碳烷基、棕榈酸、肉豆蔻酸、03-(油基) 石胆酸、03-(油基) 胆烯酸、二甲氧基三苯甲基、或吩) 与肽接合物 (例如: 触足肽 (antennopedia peptide)、Tat肽)、烷化剂、磷酸盐、氨基、巯基、PEG (例如: PEG-40K)、MPEG、[MPEG]₂、聚氨基、烷基、经取代的烷基、标记

放射性的标记物、酶、半抗原(例如:生物素)、转运/吸收促进剂(例如:阿司匹林、维生素E、叶酸)、合成性核糖核酸酶(例如:咪唑、双咪唑、组胺、咪唑簇集物、吡啶-咪唑接合物、Eu³⁺四氮杂大环复合物)、二硝基苯基、HRP、或AP。

[1276] 配体可为蛋白质(例如:糖蛋白)、或肽(例如:对辅配体具有特异亲和性的分子)、或抗体(例如:结合特异化细胞形式(如:肝细胞)的抗体)。配体还可包括激素与激素受体。其还可包括非肽物质,如:脂质、凝集素、碳水化合物、维生素、辅因子、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-葡萄糖胺、多价甘露糖、或多价岩藻糖。配体可为例如:脂多糖、p38 MAP激酶的活化剂、或NF- κ B的活化剂。

[1277] 配体可为例如:可借由例如:破坏细胞的细胞骨架,例如:破坏细胞的微小管、微丝、和/或中间丝而促进细胞吸收iRNA剂的药物物质。该药物可为例如:紫杉醇(taxol)、长春新碱、长春花碱、细胞松弛素(cytochalasin)、诺考达唑(nocodazole)、促进微丝聚合剂(japlakinolide)、微丝解聚剂(latrunculin A)、毒伞素(phalloidin)、红海海绵抗菌素(swinholide A)、茚酮衍生物(indanocine)、或迈尔素(myoservin)。

[1278] 在一些实施例中,附接本文所说明iRNA的配体的作用为药物动力学调控剂(PK调控剂)。PK调控剂包括:亲脂物、胆汁酸、类固醇、磷脂类似物、肽类、蛋白质结合剂、PEG、维生素,等等。PK调控剂实例包括(但不限于):胆固醇、脂肪酸、胆酸、石胆酸、二烷基甘油酯、二酰基甘油酯、磷脂类、鞘脂类、那普洛辛(naproxen)、布洛芬(ibuprofen)、维生素E、生物素,等等。亦已知包含许多硫代磷酸根键联基的寡核苷酸可以结合血清蛋白质,因此在主链中包含许多硫代磷酸根键联基的短寡核苷酸,例如:约5个碱基、10个碱基、15个碱基或20个碱基的寡核苷酸亦适用为本发明的配体(例如:作为PK调控配体)。此外,在本文说明的实施例中,可结合血清组分(例如:血清蛋白质)的适体亦适用为PK调控配体。

[1279] 本发明配体-接合寡核苷酸可利用带有侧接反应性官能基的寡核苷酸合成,如:由键联分子附接在寡核苷酸上所衍生者(如下文说明)。此反应性寡核苷酸可能直接与自商品取得的配体、经由合成而带有任何各种不同保护基的配体、或已附接键联性部分基团的配体反应。

[1280] 本发明接合物所使用的寡核苷酸可能适宜且照例采用公知的固相合成技术制造。这些合成法的仪器是由数个供货商提供,包括例如:Applied Biosystems(Foster City, Calif.)。还可额外使用或改用本领域中已知任何其他方式进行这些合成法。亦已知使用类似技术来制备其他寡核苷酸,如:硫代磷酸酯与烷基化衍生物。

[1281] 本发明配体-接合寡核苷酸与带有配体分子的序列专一性键联核苷中,可能在合适的DNA合成仪上,利用标准核苷酸或核苷前体、或已经带有键联性部分基团的核苷酸或核苷接合物前体、已经带有配体分子的配体-核苷酸或核苷-接合物前体、或带有非核苷配体的构成嵌段组装成寡核苷酸与寡核苷。

[1282] 当使用已经带有键联性部分基团的核苷酸-接合物前体时,通常先完成与专一性序列键联的核苷的合成法,然后由配体分子与键联性部分基团反应,形成配体-接合寡核苷酸。在一些实施例中,本发明寡核苷酸或键联核苷是采用自动化合成仪,除了使用可自商品购得常用于合成寡核苷酸的标准亚磷酰胺与非标准亚磷酰胺外,尚可使用衍生自配体-核苷接合物的亚磷酰胺合成。

[1283] A. 脂质接合物

[1284] 在一个实施例中,配体或接合物为脂质或基于脂质的分子。这些脂质或基于脂质的分子优选是与血清蛋白质,例如:人类血清白蛋白(HSA)结合。HSA结合性配体可以让接合物分布在靶组织上,例如:身体的非肾脏靶组织。例如:该靶组织可为肝脏,包括肝实质细胞。其他可结合HAS的分子也可作为配体使用。例如:可使用那普洛辛或阿司匹林。脂质或基于脂质配体可以(a)提高接合物对降解的抗性,(b)提高靶向或转运至靶细胞或细胞膜,和/或(c)可用于调整与血清蛋白质(例如:HAS)的结合性。

[1285] 基于脂质的配体可用于抑制(例如:控制)接合物与靶组织的结合性。例如:脂质或基于脂质的配体与HAS的结合性越强时,越不容易靶向肾脏,因此越不容易从身体清除。与HAS的结合性较低的脂质或基于脂质配体可用于让该接合物靶向肾脏。

[1286] 一项优选实施例中,该基于脂质的配体会结合HAS。优选是其与HAS具有充份亲和性,以使该接合物优选是分布至非肾脏组织。然而,该亲和性最好不要太强导致无法逆转HSA-配体结合性。

[1287] 另一项优选实施例中,该基于脂质配体与HAS的亲和性弱或完全没有亲和性,因此该接合物将会优先分布至肾脏。除了基于脂质的配体外,也可改用或额外使用其他靶向肾脏细胞的部分基团。

[1288] 另一方面中,该配体为例如:维生素的部分基团,其可被靶细胞(例如:增殖细胞)吸收。其等特别适用于治疗特征在于不期望的细胞增生的病症,例如:恶性或非恶性型,例如:癌细胞。维生素实例包括维生素A、E、与K。其他可被靶细胞(如:肝细胞)吸收的维生素实例包括B维生素,例如:叶酸、B12、核黄素、生物素、吡哆醛或其他维生素,或营养素。还包括HSA与低密度脂蛋白(LDL)。

[1289] B. 细胞渗透剂

[1290] 另一方面中,该配体为细胞渗透剂,优选为螺旋细胞渗透剂。该制剂优选为两亲性。该制剂实例为肽,如:tat肽或触足肽。若该制剂为肽时,其可经修饰,包括肽基模拟物、反转异构物、非肽或伪肽键联基,及使用D-氨基酸。该螺旋剂优选为 α -螺旋剂,其优选具有亲脂相与疏脂相。

[1291] 配体可为肽或肽模拟物。肽模拟物(本文也称为寡肽模拟物)为可以折叠成类似天然肽的限定三度空间结构的分子。在iRNA剂上附接肽及肽模拟物时,可以借由如:加强细胞辨识与吸收来影响iRNA的药物动力学分布性。该肽或肽模拟物部分基团的长度可为约5至50个氨基酸,例如:长度约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸。

[1292] 肽或肽模拟物可为例如:细胞渗透肽、阳离子性肽、两亲性肽、或疏水性肽(例如:主要由Tyr、Trp或Phe组成)。肽部分基团可为树枝状肽、限定构象肽或交链肽。可替代地,肽部分基团可包括疏水性跨膜序列(MTS)。含疏水性MTS的肽实例为具有下列氨基酸序列的RFGF:AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO:43)。包含疏水性MTS的RFGF类似物(例如:氨基酸序列AALLPVLLAAP(SEQ ID NO:44))也可作为靶向部分基团。该肽部分基团可为“传递”肽,其可携带大型极性分子(包括肽、寡核苷酸与蛋白质)穿越细胞膜。已发现例如:来自HIV Tat蛋白质(GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO:45)与果蝇触足肽(*Drosophila antennapedia*)蛋白质(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:46)的序列具有作为传递肽的功能。肽或肽模拟物可由DNA的随机序列编码,如:从噬菌体展示库或一树脂球一种化合物(one-bead-one-compound(OBOC))组合库(Lam等人,Nature,354:82-84,1991)判别的肽。为了靶向细胞目的而借由引

进的单体单位与dsRNA剂系链的肽或肽模拟物实例为精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)-肽、或RGD模拟物。肽部分基团的长度范围可为约5个氨基酸至约40个氨基酸。该肽部分基团具有的结构修饰为如:提高稳定性或指导构型性质。可采用下文说明的任何结构修饰。

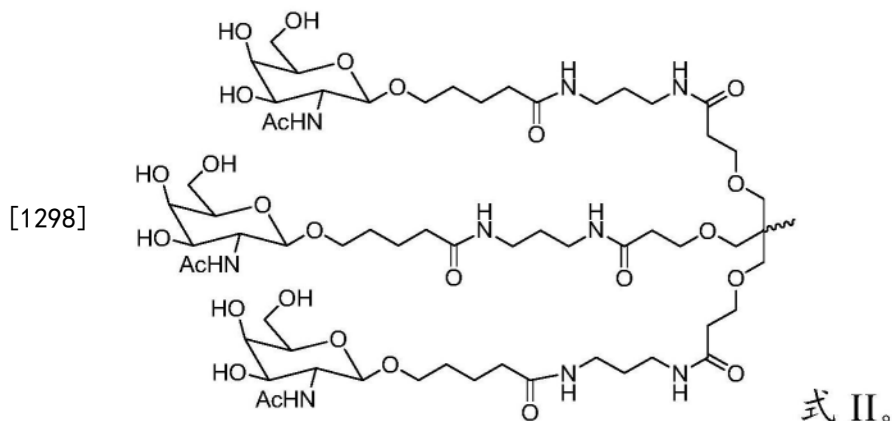
[1293] 本发明方法与组合物所使用的RGD肽可为线性或环状,且可经过修饰,例如:糖基化或甲基化,以促进靶向特定组织(群)。包含RGD的肽与肽模拟物可包括D-氨基酸及合成性RGD模拟物。除了RGD外,尚可使用靶向整合素配体的其他部分基团。此配体的优选接合物是靶向PECAM-1或VEGF。

[1294] “细胞渗透性肽”可以通透细胞,例如:微生物细胞,如:细菌或真菌细胞,或哺乳动物细胞,如:人类细胞。可通透微生物细胞的肽可为例如: α -螺旋线性肽(例如:LL-37或Ceropin P1)、包含二硫键的肽(例如: α -防御素(defensin)、 β -防御素或制菌肽(bactenecin)),或仅包含一个或两个主要氨基酸的肽(例如:PR-39或吲哚抗生肽(indolicidin))。细胞渗透性肽还可包括核定位讯号(NLS)。例如:细胞渗透性肽可为二部组合的两亲性肽,如:MPG,其是衍生自HIV-1gp41与SV40大型T抗原的NLS的稠合肽功能域(Simeoni等人,Nucl.Acids Res.31:2717-2724,2003)。

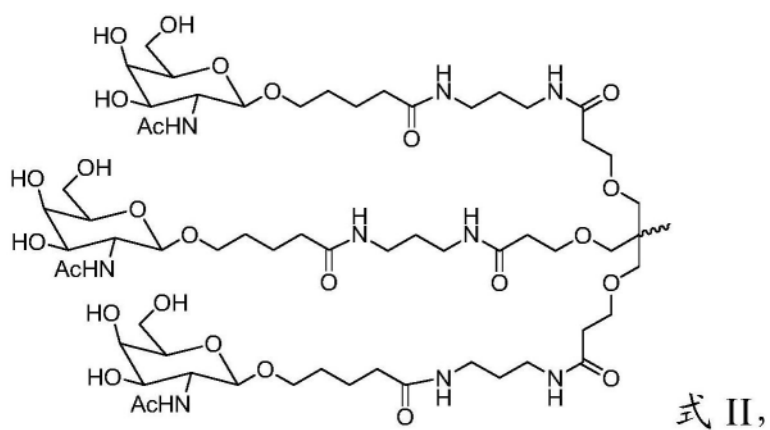
[1295] C.碳水化合物接合物

[1296] 本发明组合物与方法的在一些实施例中,iRNA寡核苷酸进一步包含碳水化合物。接合iRNA的碳水化合物的优点在于活体内传递核酸,且其组合物适合活体内的治疗用途,如本文所说明。本文所采用“碳水化合物”是指其本身即为由一个或多个具有至少6个碳原子(其可为线性、支链或环状)与在各碳原子上键联的氧、氮或硫原子的单糖单位所组成碳水化合物的化合物;或具有由一个或多个具有至少6个碳原子(其可为线性、分支或环状)与在各碳原子上键联的氧、氮或硫原子的单糖单位所组成的碳水化合物作为其中一部分的化合物。代表性碳水化合物包括糖类(单糖、双糖、三糖与包含约4、5、6、7、8、或9个该单糖单位的寡糖类),与多糖类,如:淀粉、肝糖、纤维素与多糖胶质。明确的单糖包括HBV与更多碳(例如:HBV、C6、C7、或C8)的糖类;双糖与三糖包括具有两个或三个该单糖单位的糖类(例如:HBV、C6、C7、或C8)。

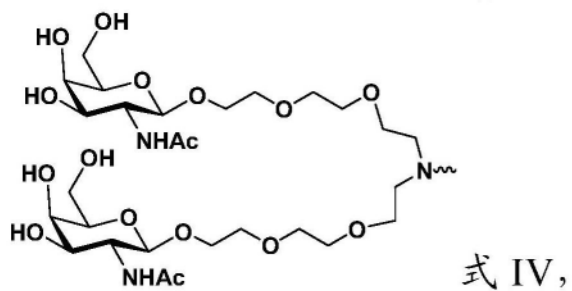
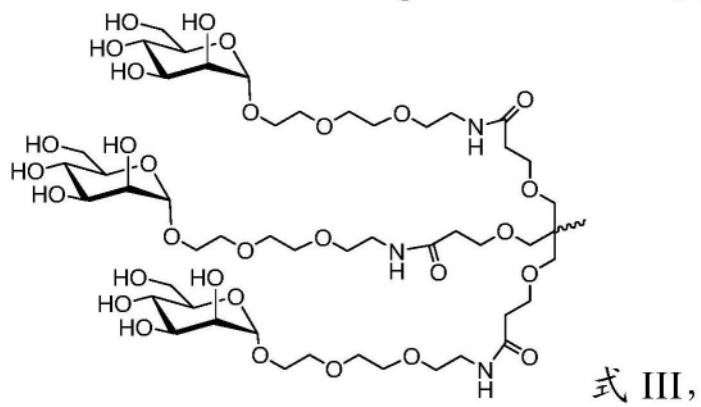
[1297] 在一个实施例中,本发明方法与组合物所使用的碳水化合物接合物为单糖。另在一个实施例中,该单糖为N-乙酰基半乳糖胺,如

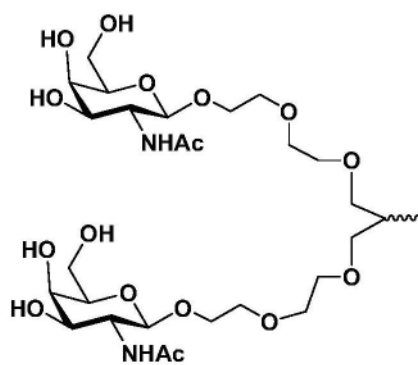


[1299] 另在一个实施例中,用于本发明组合物及方法的碳水化合物接合物选自下组,该组由以下各项组成:

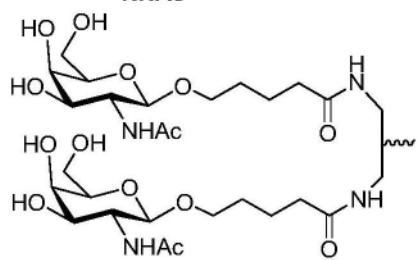


[1300]

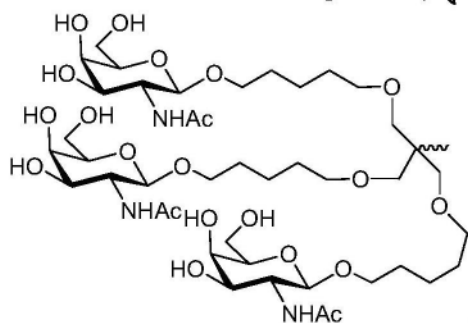




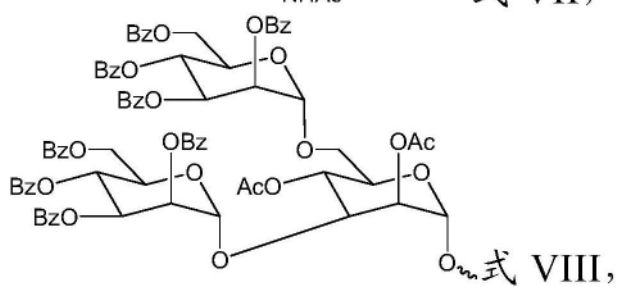
式 V,



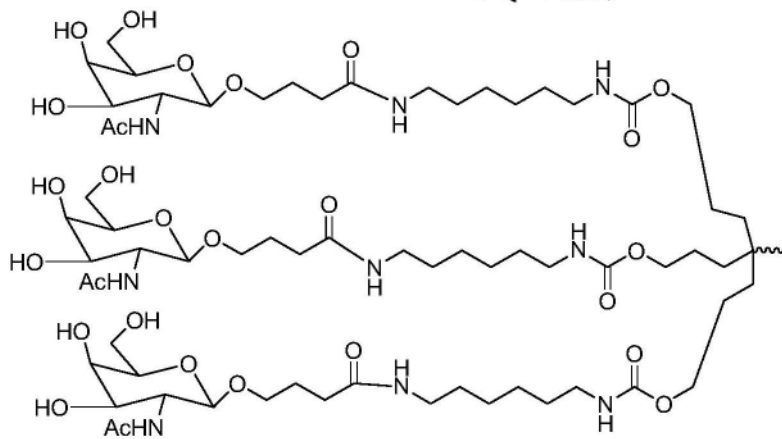
式 VI,



式 VII,

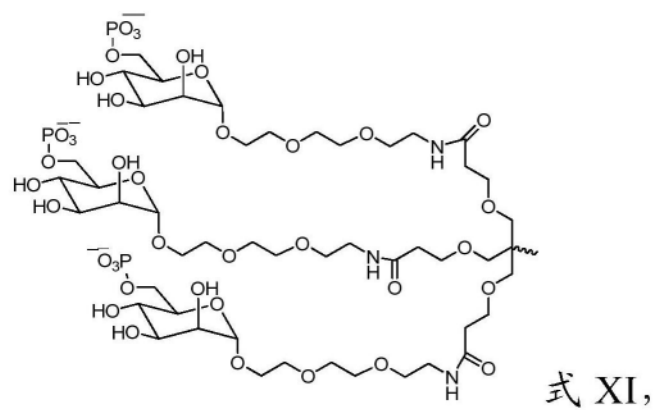
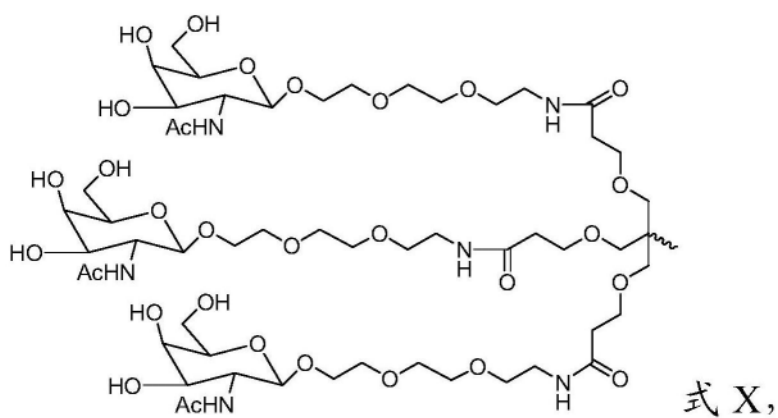


式 VIII,

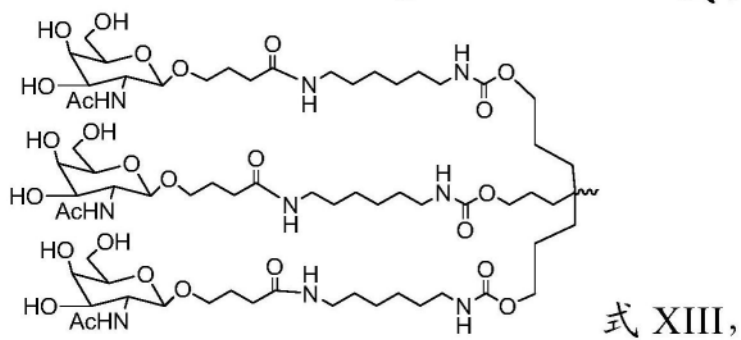
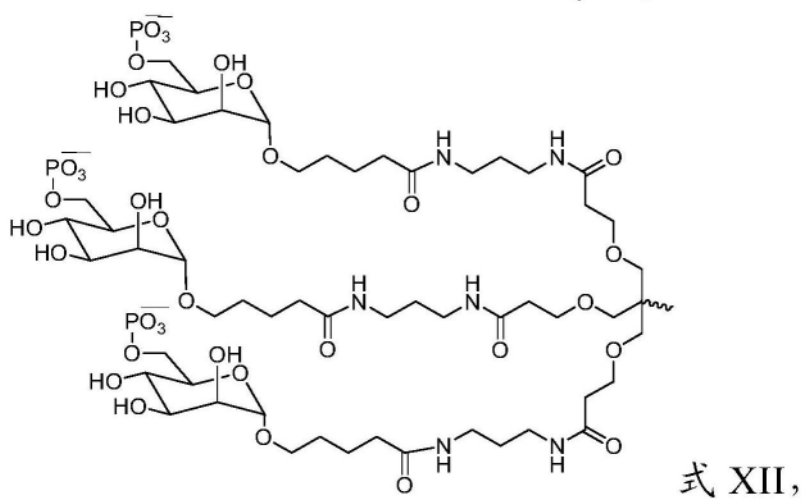


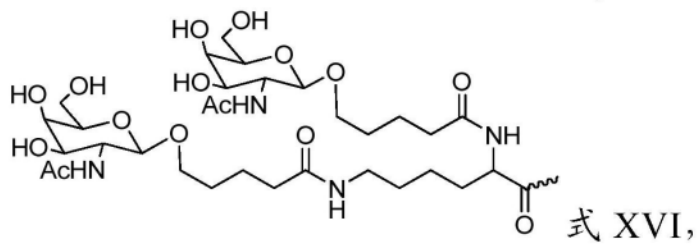
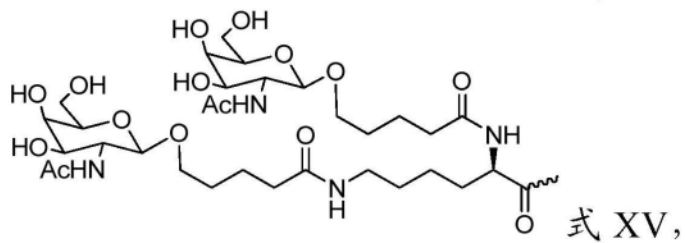
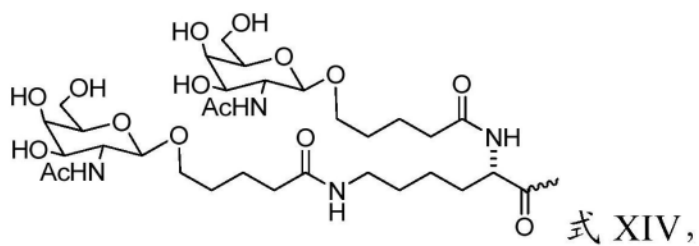
式 IX,

[1301]

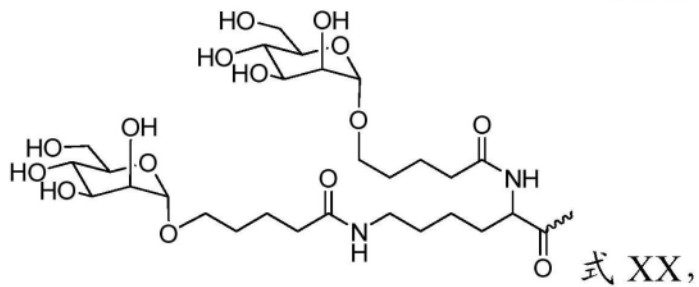
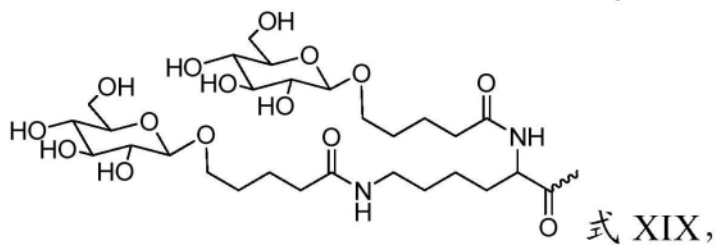
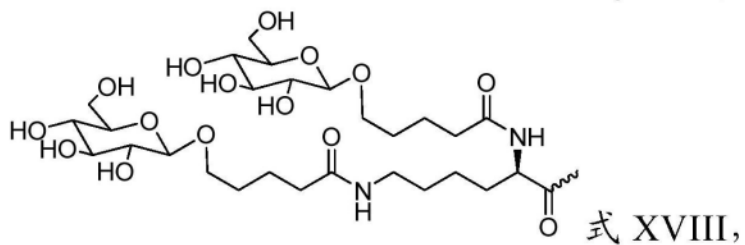
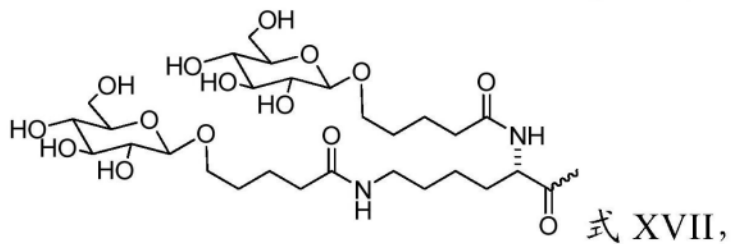


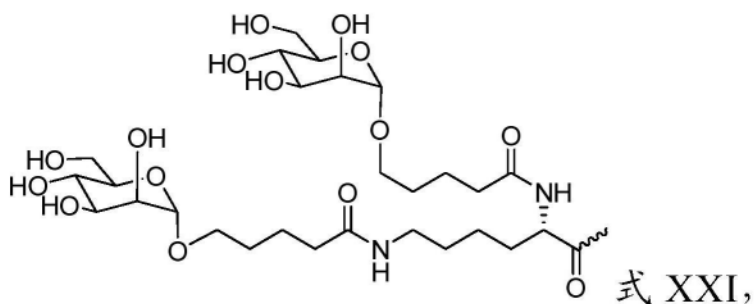
[1302]



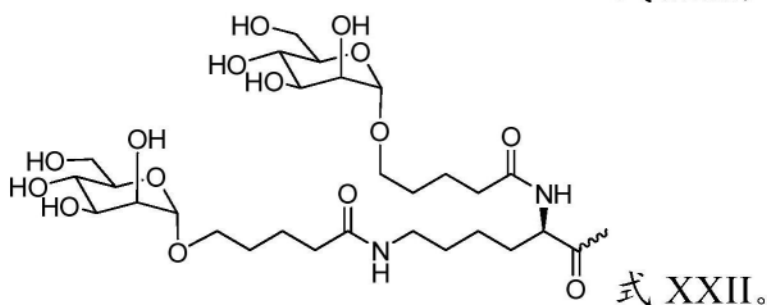


[1303]



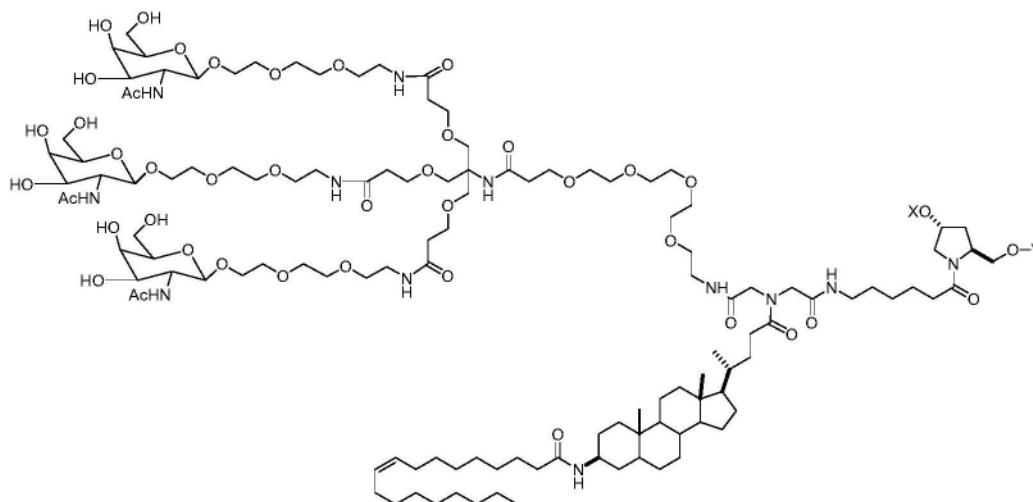


[1304]



[1305] 用于本文所说明实施例的另一种代表性碳水化合物接合物包括(但不限于):

[1306]



[1307] (式XXIII), 当X或Y中的一为寡核苷酸时, 另一个为氢。

[1308] 在一些实施例中, 碳水化合物接合物进一步包含一个或多个其他上述配体, 如: PK 调控剂和/或细胞渗透性肽, 但不限于这些。

[1309] 其他适用于本发明的碳水化合物接合物(与键联体) 包括那些说明于PCT公告案案号W0 2014/179620及W0 2014/179627中者, 其揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1310] D. 键联体

[1311] 在一些实施例中, 本文说明的接合物或配体可利用各种不同可以裂解或不可裂解的键联体附接iRNA寡核苷酸。

[1312] 术语“键联体”或“键联基”意指连接化合物的两个部分的有机部分基团, 例如: 共价附接化合物的两个部分。该键联体通常包含一个直接键联或原子(如: 氧或硫)、单位(如: NR_8 、 $\text{C}(0)$ 、 $\text{C}(0)\text{NH}$ 、 SO 、 SO_2 、 SO_2NH 或原子链), 如, (但不限于): 经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的炔基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基、杂环基烷基、杂环基烯基、杂环基炔基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基、环烯基、烷基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基炔基、烯基芳基烷基、烯基芳基

烯基、烯基芳基炔基、炔基芳基烷基、炔基芳基烯基、炔基芳基炔基、烷基杂芳基烷基、烷基杂芳基烯基、烷基杂芳基炔基、烯基杂芳基烷基、烯基杂芳基烯基、烯基杂芳基炔基、炔基杂芳基烷基、炔基杂芳基烯基、炔基杂芳基炔基、烷基杂环基烷基、烷基杂环基烯基、烷基杂环基炔基、烯基杂环基烷基、烯基杂环基烯基、烯基杂环基炔基、炔基杂环基烷基、炔基杂环基烯基、炔基杂环基炔基、烷基芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基杂芳基、烯基杂芳基、炔基杂芳基,其中一个或多个亚甲基可穿插或末端为O、S、S(O)、SO₂、N(R8)、C(O)、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的杂芳基、经取代或未经取代的杂环;其中R8为氢、酰基、脂系或经取代的脂系。另在一个实施例中,键联体为约1-24个原子、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、6-18、7-18、8-18个原子、7-17、8-17、6-16、7-16、或8-16个原子。

[1313] 可裂解的键联基为在细胞外具有充份稳定性,但当进入标靶细胞内时即会裂解而释出该键联体所共同固定的两个部分的基团。优选实施例中,可裂解的键联基在标靶细胞中或在第一参考条件(其可为例如:选择模拟或代表细胞内条件)的裂解速度比在受试者血液中或在第二参考条件(其可为例如:选择模拟或代表血液或血清中的条件)至少快约10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或更多倍,或至少快约100倍。

[1314] 可裂解键联基可感受裂解剂的作用,例如:pH、氧化还原电位或降解性分子的存在。通常,裂解剂于细胞内部的存在或含量或活性高于其在血清或血液中。这些降解剂实例包括:针对特定底物选择或没有底物专一性的氧化还原剂,包括例如:存在于细胞中的氧化性或还原性酶或还原剂,如:氢硫醇,其可利用还原作用降解可经氧化还原性裂解的键联基;酯酶;核内体或可产生酸性环境的制剂,例如:那些造成pH 5或更低的制剂;可水解或降解酸可裂解键联基的酶,其作用为一般酸类、肽酶(其可为底物专一性)与磷酸酶。

[1315] 可裂解键联基(如:二硫键)对pH敏感。人类血清的pH为7.4,而细胞内平均pH稍低,在约7.1-7.3的范围内。核内体具有较酸的pH,在5.5-6.0的范围内,溶小体的pH甚至更酸,约5.0。有些键联体具有可裂解的键联基,可在优选pH裂解,借以从细胞内的配体释放阳离子性脂质,或进入所需的细胞隔室内。

[1316] 键联体可包括可被特定酶裂解的可裂解键联基。引进键联体中的可裂解键联基形式依所靶向的细胞而定。例如:靶向肝的配体可通过包括酯基的键联体连接阳离子性脂质。肝细胞富含酯酶,因此该键联体在肝细胞中的裂解效率高于在没有富含酯酶的细胞形式中的效率。其他富含酯酶的细胞形式包括肺、肾皮质与睪丸的细胞。

[1317] 当靶向富含肽酶的细胞形式(如:肝细胞与滑液膜细胞)时,可使用包含肽键的键联体。

[1318] 通常,可借由测试降解剂裂解候选键联基的能力(或条件)来分析该候选的可裂解键联基的合适性。亦需要亦测试候选的可裂解键联基于血液中或当与其他非标靶组织接触时阻抗裂解的能力。因此,可以决定第一与第二条件之间对裂解作用的相对敏感性,其中所选择的第一条件是其于标靶细胞中的裂解指标,所选择的第二条件是其于其他组织或生物液体(例如:血液或血清)中的裂解指标。该分析法可于无细胞系统、细胞、细胞培养物、器官或组织培养物、或在完整动物体内进行。其适用于在无细胞或培养条件下进行初次分析,并进一步在完整动物体内确认。优选实施例中,适用的候选化合物在细胞(或在选择拟似细胞内条件的活体外条件下)的裂解速度比在血液或血清(或在选择拟似细胞外条件的活体外条件下)至少快约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90、或约100倍。

[1319] i. 可经氧化还原裂解的键联基

[1320] 在一个实施例中,可裂解的键联基为可经氧化还原裂解的键联基,亦即可在还原或氧化时裂解。可经还原裂解的键联基实例为二硫键联基(-S-S-)。可参见本文说明的方法来决定该候选的可裂解键联基是否为合适的“可经还原裂解的键联基”,或例如:是否适用于带有特定iRNA部分基团与特定靶向剂。例如:可借由与二硫苏糖醇(DTT)或其他还原剂培养,使用本领域中已知拟似细胞(例如:靶细胞)中所观察到的裂解速率的试剂来分析候选物。这些候选物还可在选择拟似血液或血清的条件下分析。在一个实施例中,候选化合物在血液中至多裂解约10%。其他实施例中,适用的候选化合物在细胞(或在选择拟似细胞内条件的活体外条件下)的裂解速度比在血液(或在选择拟似细胞外条件的活体外条件下)至少快约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90、或约100倍。候选化合物的裂解速度可采用标准酶动力学分析法,在选择拟似细胞内基质条件下分析,并与选择拟似细胞外基质的条件下的结果比较。

[1321] ii. 基于磷酸根的可裂解键联基

[1322] 另在一个实施例中,可裂解的键联体包含基于磷酸根的可裂解键联基。基于磷酸根的可裂解键联基是被可降解或水解磷酸根的制剂裂解。该可于细胞中裂解磷酸根的制剂为酶,如:细胞中的磷酸酶。基于磷酸根的键联基实例为-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-。优选实施例为-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-。优选实施例为-O-P(O)(OH)-O-。这些候选物可采用类似上述的方法分析。

[1323] iii. 酸可裂解的键联基

[1324] 另在一个实施例中,该可裂解键联体包含酸可裂解的键联基。酸可裂解的键联基为可在酸性条件下裂解的键联基。优选实施例中,酸可裂解的键联基为在pH约6.5或更低(例如:约6.0、5.75、5.5、5.25、5.0或更低)的酸性环境下裂解,或被如同一般酸的作用的制剂(如:酶)裂解的基团。在细胞中,明确的低pH细胞器(如:核内体与溶小体)可提供作为该酸可裂解键联基的裂解环境。该酸可裂解键联基实例包括(但不限于):胺类、酯类及氨基酸的酯类。该酸可裂解基团具有通式-C=NN-、C(O)O,或-OC(O)。优选实施例为当附接酯的氧(烷氧基)的碳为芳基、经取代的烷基、或三级烷基(如:二甲基戊基或第三丁基)时。这些候选物可采用类似那些上述方法分析。

[1325] iv. 基于酯的键联基

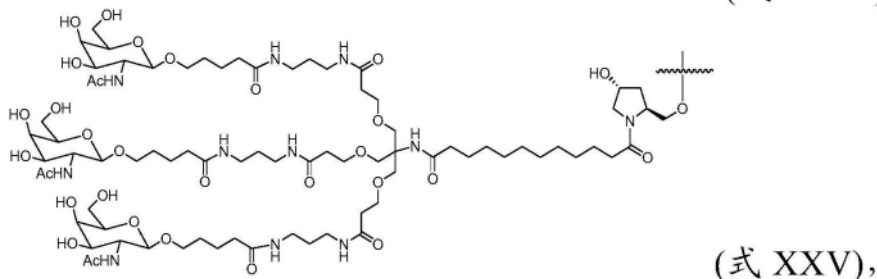
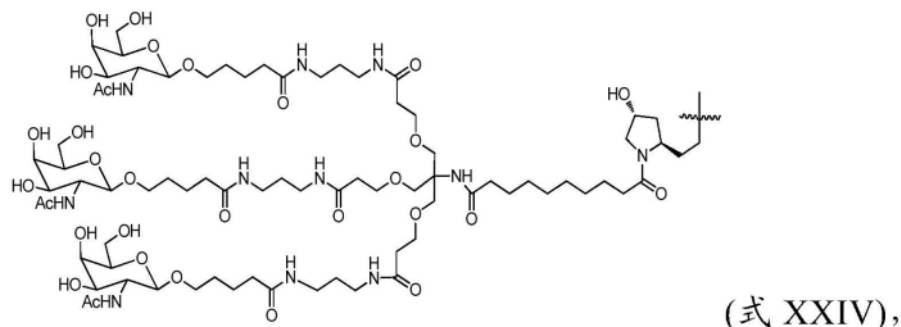
[1326] 另在一个实施例中,可裂解键联体包含基于酯的可裂解键联基。该基于酯的可裂解键联基可被细胞中的酶裂解,如:酯酶与酰氨酶。基于酯的可裂解键联基实例包括(但不限于):亚烷基、伸烯基与伸炔基的酯类。可裂解的酯键联基具有通式-C(O)O-或-OC(O)-。这些候选物可采用类似那些上述方法分析。

[1327] v. 基于肽的裂解基团

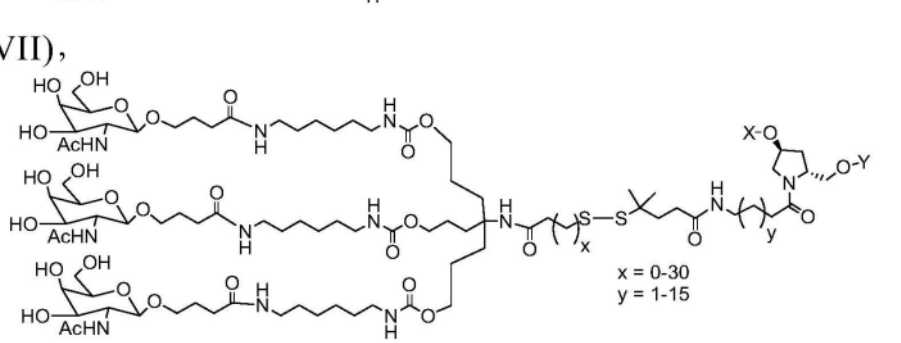
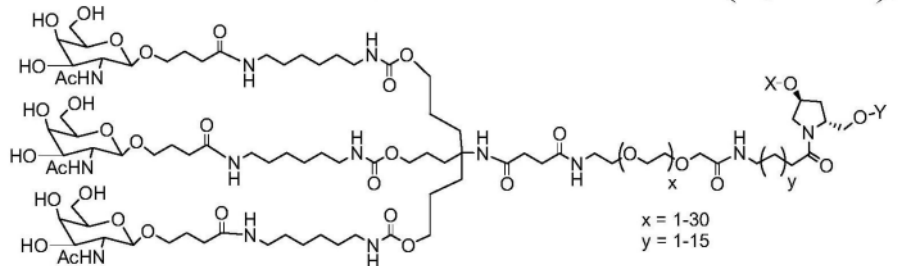
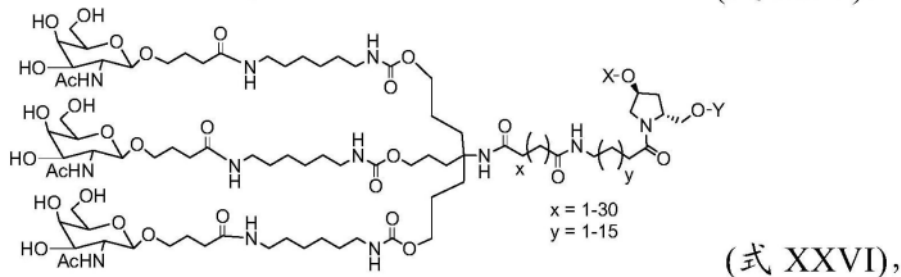
[1328] 再另在一个实施例中,该可裂解的键联体包含基于肽的可裂解键联基。该基于肽的可裂解键联基可被细胞中酶裂解,如:肽酶与蛋白酶。该基于肽的可裂解键联基为在氨基酸之间形成的肽键,产生寡肽(例如:二肽、三肽,等等)与多肽。该基于肽的可裂解

基团不包括酰胺基(-C(O)NH-)。该酰胺基可在任何亚烷基、伸烯基或伸炔基之间形成。肽键为在氨基酸之间形成酰胺键的特别形式,产生肽与蛋白质。该基于肽的裂解基团通常限于氨基酸之间的肽键(亦即酰胺键),产生肽与蛋白质,且不包括整个酰胺官能基。该基于肽的可裂解键联基具有通式-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-,其中RA与RB为两个相邻氨基酸的R基团。这些候选物可采用那些类似上述的方法分析。

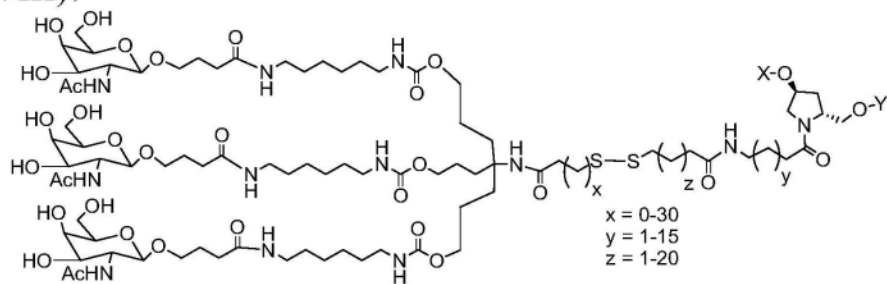
[1329] 在一个实施例中,本发明iRNA通过键联体接合碳水化合物。使用本发明组合物与方法的键联体的iRNA碳水化合物接合物的无限制实例包括(但不限于),



[1330]

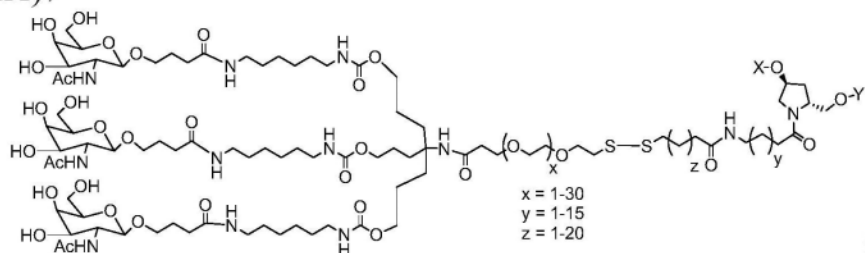


XXVIII),

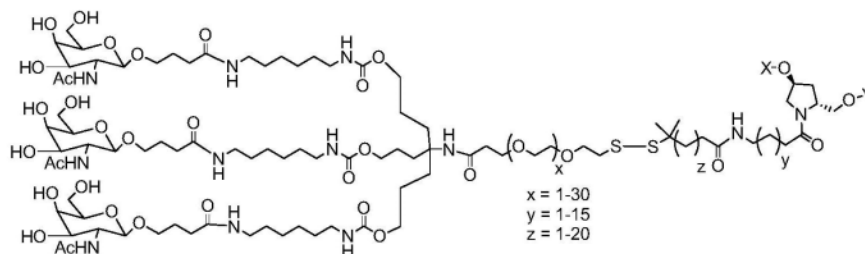


XXIX),

[1331]



及



XXXI),

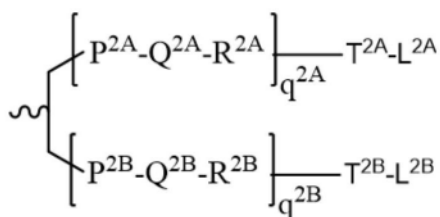
[1332] 当X或Y中的一为寡核苷酸时,另一个为氢。

[1333] 本发明组合物与方法的在某些实施例中,配体是通过二价或三价的分支键联体附接的一种或多种“GalNAc” (N-乙酰基半乳糖胺) 衍生物。

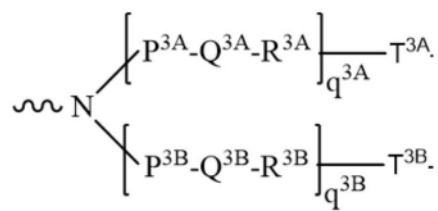
[1334] 另在一个实施例中,本发明dsRNA是接合二价或三价的分支键联体,其是选自式 (XXXII) - (XXXV) 中任一式所示结构的组中:

式 XXXII

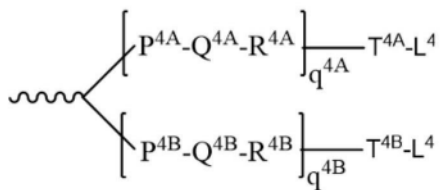
[1335]



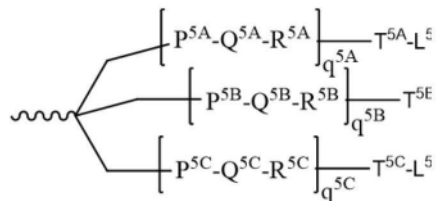
式 XXXIII



[1336]



式 XXXIV



式 XXXV

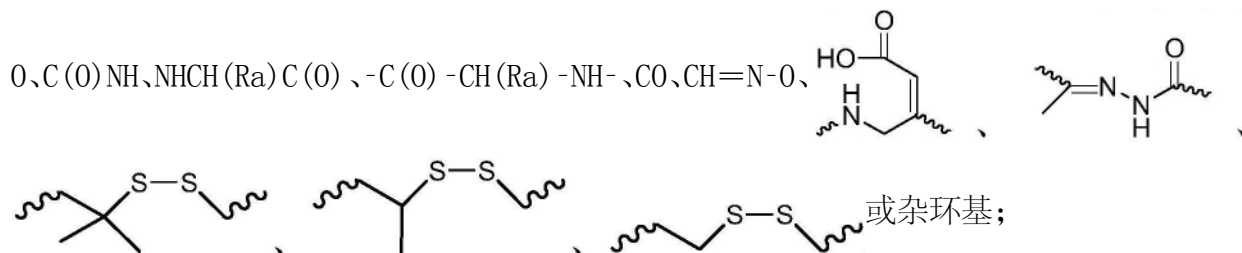
[1337] 其中:

[1338] q^{2A} 、 q^{2B} 、 q^{3A} 、 q^{3B} 、 q^{4A} 、 q^{4B} 、 q^{5A} 、 q^{5B} 及 q^{5C} 每次出现时代表分别独立的0至20,且其中重复单位可相同或不同;

[1339] P^{2A} 、 P^{2B} 、 P^{3A} 、 P^{3B} 、 P^{4A} 、 P^{4B} 、 P^{5A} 、 P^{5B} 、 P^{5C} 、 T^{2A} 、 T^{2B} 、 T^{3A} 、 T^{3B} 、 T^{4A} 、 T^{4B} 、 T^{4A} 、 T^{5B} 、 T^{5C} 每次出现时分别独立为不存在、CO、NH、O、S、OC(O), NHC(O), CH₂、CH₂NH或CH₂O;

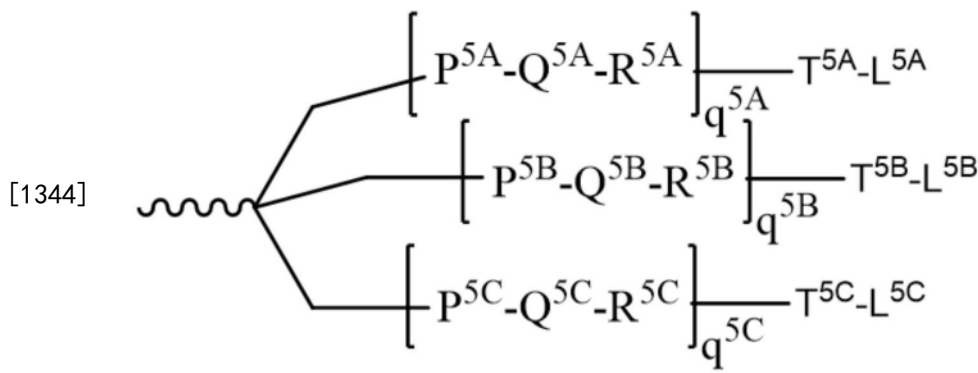
[1340] Q^{2A} 、 Q^{2B} 、 Q^{3A} 、 Q^{3B} 、 Q^{4A} 、 Q^{4B} 、 Q^{5A} 、 Q^{5B} 、 Q^{5C} 每次出现时分别独立为不存在、亚烷基、经取代的亚烷基,其中可在一个或多个亚甲基中穿插或末端基团为一个或多个O、S、S(O), SO₂、N(RN)、C(R')=C(R'')、C≡C或C(O);

[1341] R^{2A} 、 R^{2B} 、 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 、 R^{4B} 、 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 每次出现时分别独立为不存在、NH、O、S、CH₂、C(O)



[1342] L^{2A} 、 L^{2B} 、 L^{3A} 、 L^{3B} 、 L^{4A} 、 L^{4B} 、 L^{5A} 、 L^{5B} 及 L^{5C} 代表配体;亦即每次出现时分别独立为单糖(如:GalNAc)、双糖、三糖、四糖、寡糖或多糖;及Ra为H或氨基酸侧链。RNAi剂特别适合使用三价接合GalNAc衍生物来抑制靶基因表达,如:那些式(XXXVI):

[1343] 式XXXVI



[1345] 其中 L^{5A} 、 L^{5B} 与 L^{5C} 代表单糖,如:GalNAc衍生物。

[1346] 合适的二价与三价的分支键联基接合GalNAc衍生物的实例包括(但不限于):如上述式II、VII、XI、X、与XIII的结构。

[1347] 教示RNA接合物制备的代表性美国专利案包括(但不限于):美国专利案案号4,828,979;4,948,882;5,218,105;5,525,465;5,541,313;5,545,730;5,552,538;5,578,717;5,580,731;5,591,584;5,109,124;5,118,802;5,138,045;5,414,077;5,486,603;5,512,439;5,578,718;5,608,046;4,587,044;4,605,735;4,667,025;4,762,779;4,789,737;4,824,941;4,835,263;4,876,335;4,904,582;4,958,013;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,245,022;5,254,469;5,258,506;5,262,536;5,272,250;5,292,873;5,317,098;5,371,241;5,391,723;5,416,203;5,451,463;5,510,475;5,512,667;5,514,785;5,565,552;5,567,810;5,574,142;5,585,481;5,587,371;5,595,726;5,597,696;5,599,923;5,599,928及5,688,941;6,294,664;6,320,017;6,

576,752;6,783,931;6,900,297;7,037,646;8,106,022,其完整揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1348] 上述化合物不一定所有位置均经一致修饰,事实上可在单一化合物中或甚至在iRNA的单一核苷中引进超过一个上述修饰。本发明还包括为嵌合化合物的iRNA化合物。

[1349] 本发明内容中,“嵌合”iRNA化合物或“嵌合体”为包含两个或更多个化学上独立区的iRNA化合物,优选为dsRNA,该各区分别由至少一个单体单位组成,亦即以dsRNA化合物为例,为由核苷酸组成。这些iRNA通常包含至少一个区,其中RNA是经修饰,以致提高iRNA对抗核酸酶降解的抗性,提高细胞吸收性,和/或提高对标靶核酸的结合亲和性。iRNA的额外一区可作为可以裂解RNA:DNA或RNA:RNA杂交体的酶的底物。例如:RNase H为细胞内切核酸酶,其裂解RNA:DNA双螺旋的RNA链。因此活化RNase H会裂解RNA标靶,借以大幅加强iRNA抑制基因表达的效力。结果,当采用嵌合性dsRNA时,经常可以采用较短的iRNA得到类似硫代磷酸酯脱氧dsRNA与相同标靶区杂交后得到的结果。RNA标靶的裂解作用照例可采用凝胶电泳分析法检测,且若必要时,可联合采用本领域中已知的核酸杂交技术。

[1350] 某些例子中,iRNA的RNA可经过非配体基团修饰。许多种非配体分子已与iRNA接合,以加强iRNA的活性、细胞分布性或细胞吸收性,且进行这些接合法的程序可从科学文献中取得。这些非配体部分基团包括脂质部分基团,如:胆固醇(Kubo,T.等人*Biochem.Biophys.Res.Comm.*,2007,365(1):54-61;Letsinger等人*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,1989,86:6553)、胆酸(Manoharan等人*Bioorg.Med.Chem.Lett.*,1994,4:1053)、硫醚,例如:己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人*Ann.N.Y.Acad.Sci.*,1992,660:306;Manoharan等人*Bioorg.Med.Chem.Lett.*,1993,3:2765)、硫代胆固醇(Oberhauser等人*Nucl.Acids Res.*,1992,20:533)、脂系链,例如:十二碳烷二醇或十一碳烷基(Saison-Behmoaras等人,*EMBO J*,1991,10:1111;Kabanov等人,*FEBS Lett.*,1990,259:327;Svinarchuk等人,*Biochimie*,1993,75:49)、磷脂,例如:二-十六碳烷-消旋性-甘油或1,2-二-O-十六碳烷基-消旋性-甘油基-3-H-磷酸三乙基铵盐(Manoharan等人,*Tetrahedron Lett.*,1995,36:3651;Shea等人,*Nucl.Acids Res.*,1990,18:3777)、多元胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,*Nuclosides&Nuclotides*,1995,14:969)、或金刚烷乙酸(Manoharan等人,*Tetrahedron Lett.*,1995,36:3651)、棕榈基部分基团(Mishra等人,*Biochim.Biophys.Acta*,1995,1264:229)、或十八碳烷基胺或己基氨基-羰基氧胆固醇部分基团(Crooke等人,*J.Pharmacol.Exp.Ther.*,1996,277:923)。教导这些RNA接合物制备的代表性美国专利案已如上述。典型接合法程序涉及在序列的一个或多个位置带有氨基键联体的RNA的合成法。该氨基再与准备接合的分子采用适当偶合或活化试剂反应。该接合反应可在RNA仍结合在固态支撑体上进行或可在裂解RNA后,在溶液相中进行。通常采用HPLC法纯化RNA接合物,产生纯接合物。

[1351] V. 本发明iRNA的传递

[1352] 可采用许多不同方式传递本发明iRNA至细胞中,例如:受试者(如:人类受试者,例如:有此需要的受试者,如:罹患HBV-相关疾病的受试者)的细胞。例如:可能由细胞与本发明iRNA于活体外或活体内接触,进行传递。也可直接给予包含iRNA(例如:dsRNA)的组合物给受试者,于活体内传递。可替代地,可能间接给予编码并指导iRNA表达的一种或多种载体,于活体内传递。这些替代法更进一步于下文中说明。

[1353] 通常,本发明iRNA可采用任何传递核酸分子的方法(活体外或活体内)(参见例如: Akhtar S.与Julian RL.(1992)Trends Cell.Biol.2(5):139-144与WO 94/02595,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中)。用于活体内传递时,要传递iRNA分子的考虑因素包括例如:所传递分子的生物稳定性、预防所传递分子在靶组织中的非专一性效应及累积。可借由局部给予法使iRNA的非专一性效应降至最低,例如:采用直接注射或植入组织中或局部表面给予制剂。局部给予至治疗位点时,可使该制剂达最大局部浓度,限制该制剂暴露在可能会受到制剂伤害且使制剂降解的全身组织,并可以降低iRNA分子的总给予剂量。数项研究已成功显示,当局部给予iRNA时,可减弱基因产物。例如:在马来猴(*cynomolgus monkeys*)玻璃体内注射(Tolentino,MJ.等人(2004)Retina 24:132-138)及在小鼠视网膜下注射(Reich,SJ.等人(2003)Mol.Vis.9:210-216),以经眼内传递VEGF dsRNA时,均显示可在老年性黄斑部病症的实验模式中预防新血管形成。此外,直接在小鼠肿瘤内注射dsRNA时,可缩小肿瘤体积(Pille,J.等人(2005)Mol.Ther.11:267-274),并可延长带肿瘤小鼠的寿命(Kim,WJ.等人(2006)Mol.Ther.14:343-350;Li,S.等人(2007)Mol.Ther.15:515-523)。RNA干扰法亦已显示可借由直接注射法成功局部传递至CNS(Dorn,G.,等人(2004)Nucleic Acids 32:e49;Tan,PH.等人(2005)Gene Ther.12:59-66;Makimura,H.等人(2002)BMC Neurosci.3:18;Shishkina,GT.等人(2004)Neuroscience 129:521-528;Thakker,ER.等人(2004)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.101:17270-17275;Akaneya,Y.等人(2005)J.Neurophysiol.93:594-602)及借由鼻内给予法给予至肺部(Howard,KA.等人(2006)Mol.Ther.14:476-484;Zhang,X.等人(2004)J.Biol.Chem.279:10677-10684;Bitko,V.等人(2005)Nat.Med.11:50-55)。全身给予iRNA以治疗疾病时,RNA可经修饰或改用药物传递系统传递;这两种方法均可预防dsRNA于活体内被内切-与外切-核酸酶快速降解。修饰RNA或医药载剂也可让iRNA组合物靶向靶组织,并避免不期望的偏离靶效应。iRNA分子可采用化学法接合亲脂性基团(如:胆固醇)进行修饰,以加强细胞吸收并预防降解。例如:由指导对抗ApoB的iRNA与亲脂性胆固醇部分基团的接合物全身注射至小鼠,结果减弱肝与空肠中的apoB mRNA(Soutschek,J.等人(2004)Nature 432:173-178)。iRNA与适体的接合物已在小鼠摄护腺癌模式中显示可抑制肿瘤生长,并介导肿瘤消退(McNamara,J0.等人(2006)Nat.Biotechnol.24:1005-1015)。另一实施例,可使用药物传递系统(如:纳米粒子、树枝状物、聚合物、脂质体或阳离子性传递系统)传递iRNA。带正电价的阳离子性传递系统可促进iRNA分子(带负电价)的结合性,亦加强在带负电价的细胞膜上的交互作用,让细胞有效吸收iRNA。阳离子性脂质、树枝状聚合物、或聚合物可与iRNA结合,或诱发形成包埋iRNA的囊泡或微胞(参见例如:Kim SH.等人(2008)Journal of Controlled Release 129(2):107-116)。形成囊泡或微胞可在全身给予时进一步预防iRNA降解。制造及给予阳离子性-iRNA复合物的方法是本领域普通技术人员的能力范围内(参见例如:Sorensen,DR.等人(2003)J.Mol.Biol. 327:761-766;Verma,UN.等人(2003)Clin.Cancer Res.9:1291-1300;Arnold,AS等人(2007)J.Hypertens.25:197-205,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中)。适用于全身性传递iRNA的药物传递系统的有些非限制性实例包括DOTAP(Sorensen,DR.等人(2003),如上述文献;Verma,UN.等人(2003),如上述文献)、寡染胺(Oligofectamine)“固态核酸脂质粒子”(Zimmermann,TS.等人(2006)Nature 441:111-114)、心磷脂(cardiolipin)(Chien,PY.等人(2005)Cancer Gene Ther.12:321-328;Pal,

A.等人(2005) *Int. J. Oncol.* 26:1087-1091)、聚乙二胺(Bonnet ME.等人(2008) *Pharm. Res.* 8月16日电子书(Epub ahead of print); Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 7:1659)、Arg-Gly-Asp(RGD)肽类(Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487)、与聚酰胺基胺类(Tomalia, DA.等人(2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H.等人(1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804)。在一些实施例中,iRNA与环糊精形成复合物,供全身性给予。iRNA与环糊精的给予方法与药物组合物可参见美国专利案案号7,427,605,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1354] A.编码本发明iRNA的载体

[1355] 靶向HBV基因的iRNA可由嵌入DNA或RNA载体中的转录单位表达(参见例如:Couture, A等人TIG. (1996), 12:5-10; Skillern, A.等人的国际PCT公告案案号WO 00/22113、Conrad的国际PCT公告案案号WO 00/22114、与Conrad的美国专利案案号6,054,299)。该表达可为过渡性(数小时至数周)或持续性(数周至数月或更久),依所采用的特定构建体与标靶组织或细胞形式而定。这些转基因可呈线性构建体、环状质体、或病毒载体引进,其可为整合或非整合载体。还可构建该转基因,使其得以呈染色体外质体遗传(Gassmann等人Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 92:1292)。

[1356] iRNA的个别链或两链可由表达载体上的启动子转录。当希望这两个分开链可以表达产生例如:dsRNA时,可以将两个分开的表达载体共同引进(例如:转染或感染)至标靶细胞中。可替代地,dsRNA的各个别链可利用均位于相同表达质体上的启动子转录。在一个实施例中,dsRNA是呈利用键联体聚核苷酸序列键联的反向重复序列聚核苷酸表达,因此dsRNA具有茎与环结构。

[1357] iRNA表达载体通常为DNA质体或病毒载体。可采用可与真核生物细胞兼容,优选为那些与脊椎动物细胞相容的表达载体来制造重组构建体,供表达本文所说明的iRNA。真核生物细胞表达载体是所属领域中熟知的,且可从许多商品来源取得。通常,所提供的这些载体包含合宜的限制酶切割位点,供嵌入所需的核酸节段。可经全身性传递iRNA表达载体,如:经静脉内或经肌内给予、给予至从患者取出的标靶细胞后再引进患者体内、或采用可以进入所需标靶细胞中的任何其他方式。

[1358] iRNA表达质体可与阳离子性脂质载剂(例如:寡染胺(Oligofectamine)或基于非阳离子性脂质的载剂(例如:Transit-TKO™)形成复合物转染至标靶细胞。本发明范围内还包括持续一周或更久的多重脂质转染法,供iRNA介导减弱靶向标靶RNA的不同区。可采用各种不同已知方法追踪成功引进载体进入宿主细胞。例如:过渡转染可利用报导子的讯号,如:荧光标记物,如:绿色荧光蛋白质(GFP)。采用可让转染细胞对特定环境因子(例如:抗体与药物)具有抗性的标记物,如:潮霉素B(hygromycin B)抗性来确认离体细胞的稳定转染。

[1359] 本文所说明方法与组合物可利用的病毒载体系统包括(但不限于):(a)腺病毒载体;(b)逆转录病毒载体,包括(但不限于):慢病毒(lentivirus)载体、莫罗尼氏白血病病毒(moloney murine leukemia virus),等等;(c)腺相关病毒载体;(d)单纯疱疹病毒载体;(e)SV 40载体;(f)多瘤病毒载体;(g)乳突病毒载体;(h)小核糖核酸病毒载体;(i)痘病毒载体,如:正痘(orthopox),例如:牛痘病毒载体或鸟痘,例如:金丝雀痘或禽痘;与(j)辅助病毒依赖性或无肠腺病毒。复制缺陷病毒亦有利。细胞基因组中不一定会引进不同载体。若需要时,该构建体可包括用于转录的病毒序列。可替代地,该构建体可引进可以进行附加体

型复制的载体,例如:EPV与EBV载体。用于iRNA的重组表达的构建体通常需要调节元素,例如:启动子、加强子,等等,以确保iRNA于靶细胞中的表达。下文将进一步说明有关载体与构建体的其他方面。

[1360] 适用于传递iRNA的载体包括足以在所需靶细胞或组织中表达iRNA的调节元素(启动子、加强子,等等)。可选择这些调节元素来提供组成性或调节/诱发性表达。

[1361] 可以例如:利用对某些生理调节剂(例如:循环葡萄糖含量或激素)敏感的诱发性调节序列准确调节iRNA的表达(Docherty等人,1994,FASEB J.8:20-24)。这些适用于细胞中或哺乳动物中控制dsRNA表达的诱发性表达系统包括例如:利用蜕皮激素、雌激素、黄体酮、四环素、二聚合的化学诱变剂、与异丙基- β -D1-硫代嘌呤半乳糖苷(IPTG)的调节作用。本领域普通技术人员将有能力依据iRNA转基因意图的用途选择适当的调节/启动子序列。

[1362] 可使用包含编码iRNA的核酸序列的病毒载体。例如:可使用逆转录病毒载体(参见Miller等人,Meth.Enzymol.217:581-599(1993))。这些逆转录病毒载体包含正确包裹病毒基因组并整合进入宿主细胞DNA时所必要的组分。选殖编码iRNA的核酸序列进入一种或多种载体中,促进传递核酸至患者中,有关逆转录病毒载体的更详细说明可参见例如:Boesen等人的Biotherapy 6:291-302(1994),其说明使用逆转录病毒载体传递mdr1基因至造血干细胞,以便制造更能抵抗化疗的干细胞。其他说明逆转录病毒载体于基因疗法中用途的参考文献为:Clowes等人,J.Clin.Invest.93:644-651(1994);Kiem等人,Blood 83:1467-1473(1994);Salmons与Gunzberg,Human Gene Therapy 4:129-141(1993);与Grossman与Wilson,Curr.Opin.In Genetics and Devel.3:110-114(1993)。欲使用的慢病毒载体包括例如:美国专利案案号6,143,520;5,665,557;与5,981,276所说明的基于HIV的载体,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1363] 亦欲使用腺病毒来传递本发明iRNA。腺病毒为特别值得注意的媒介,例如:用于传递基因至呼吸上皮。腺病毒会自然感染呼吸上皮,在此造成轻度疾病。基于腺病毒的传递系统的其他靶为肝脏、中枢神经系统、内皮细胞、与肌肉。腺病毒的优点在于可以感染非分裂细胞。Kozarsky与Wilson,Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503(1993)提出有关基于腺病毒的基因疗法的概论。Bout等人,Human Gene Therapy 5:3-10(1994)证实使用腺病毒载体转移基因至恒河猴的呼吸上皮。腺病毒于基因疗法中的其他用途实例可参见Rosenfeld等人,Science 252:431-434(1991);Rosenfeld等人,Cell 68:143-155(1992);Mastrangeli等人,J.Clin.Invest.91:225-234(1993);PCT公告案W0 94/12649;与Wang等人的Gene Therapy 2:775-783(1995)。适合表达如本文所说明特征的iRNA的AV载体、构建重组AV载体的方法及传递载体至靶细胞的方法说明于Xia H等人(2002),Nat.Biotech.20:1006-1010。

[1364] 还可使用腺相关病毒(AAV)载体来传递本发明iRNA(Walsh等人,Proc.Soc.Exp.Biol.Med.204:289-300(1993);美国专利案案号5,436,146)。在一个实施例中,可由具有例如:U6或H1 RNA启动子或巨细胞病毒(CMV)启动子的重组AAV载体表达iRNA,其是呈两个分开的互补单链RNA分子。适合表达如本发明所说明特征的dsRNA的AAV载体、构建重组AV载体的方法及传递载体至靶细胞的方法说明于Samulski R等人(1987),J.Virol.61:3096-3101;Fisher K J等人(1996),J.Virol.70:520-532;Samulski R等人(1989),J.Virol.63:3822-3826;美国专利案案号5,252,479;美国专利案案号5,139,941;

国际专利申请案案号W0 94/13788;与国际专利申请案案号W0 93/24641,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1365] 另一种适合传递本发明iRNA的病毒载体为痘病毒,如:牛痘病毒,例如:减毒牛痘,如:经修饰的安卡拉(Ankara)病毒(MVA)或NYVAC、鸟痘,如:禽痘或金丝雀痘。

[1366] 病毒载体的向性可利用将带有套膜蛋白质或来自其他病毒的其他表面抗原的载体假型化而进行修饰,或适当时改用不同病毒壳体蛋白质替代。例如:慢病毒载体可利用来自水泡性病毒(VSV)、狂犬病、伊波拉(Ebola)、蒙古拉(mokola),等等的表面蛋白质进行假型处理。AAV载体可经过处理,让载体表达不同壳体蛋白质血清型,而靶向不同细胞;参见例如:Rabinowitz J E等人(2002),J Virol 76:791-801,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1367] 载体的医药制剂中可包括含在可接受的稀释剂中的载体,或可包括其中已包埋基因传递媒剂的缓释基质。可替代地,若可从重组细胞(例如:逆转录病毒载体)完整产生完整基因传递载体时,医药制剂可包括产生基因传递系统的一种或多种细胞。

[1368] VI. 本发明药物组合物

[1369] 本发明还包括包含本发明iRNA的药物组合物与配制品。在一个实施例中,本文提供包含本文说明的iRNA与医药上可接受的载剂的药物组合物。包含iRNA的药物组合物适用于治疗与HBV基因的表达或活性相关的疾病或病症。这些药物组合物是依据传递模式调配。其中一项实例为调配成以非经肠方式传递而全身性给予的组合物,例如:经皮下(SC)或经静脉内(IV)传递。另一项实例为调配成直接传递至脑实质的组合物,例如:采用如:连续泵输注至脑内。本发明药物组合物可给予足以抑制HBV基因表达的剂量。

[1370] 在一个实施例中,本发明iRNA剂是依体重计算的剂量给予至受试者。“依体重计算的剂量”(例如:以mg/kg计的剂量)是指iRNA剂量的剂量将随受试者体重变化。另在一个实施例中,iRNA剂是依固定剂量给予至受试者。“固定剂量”(例如:以mg计的剂量)意指所有受试者均采用同一种剂量的iRNA剂,不考虑与受试者相关的任何特定因素,如:体重。一项特定实施例中,本发明iRNA剂的固定剂量是依据预定体重或年龄来决定。

[1371] 通常,本发明iRNA的合适剂量将在每天对接受者每公斤体重给予约0.001至约200.0毫克的范围内,通常在每天每公斤体重约1至50mg。例如:dsRNA可给予每单剂约0.01mg/kg、约0.05mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约1.5mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约10mg/kg、约20mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg、或约50mg/kg。

[1372] 例如:dsRNA的给予剂量可为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、或约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1373] 另在一个实施例中,dsRNA是给予剂量约0.1至约50mg/kg、约0.25至约50mg/kg、约0.5至约50mg/kg、约0.75至约50mg/kg、约1至约50mg/kg、约1.5至约50mg/kg、约2至约50mg/kg、约2.5至约50mg/kg、约3至约50mg/kg、约3.5至约50mg/kg、约4至约50mg/kg、约4.5至约

50mg/kg、约5至约50mg/kg、约7.5至约50mg/kg、约10至约50mg/kg、约15至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约30至约50mg/kg、约35至约50mg/kg、约40至约50mg/kg、约45至约50mg/kg、约0.1至约45mg/kg、约0.25至约45mg/kg、约0.5至约45mg/kg、约0.75至约45mg/kg、约1至约45mg/kg、约1.5至约45mg/kg、约2至约45mg/kg、约2.5至约45mg/kg、约3至约45mg/kg、约3.5至约45mg/kg、约4至约45mg/kg、约4.5至约45mg/kg、约5至约45mg/kg、约7.5至约45mg/kg、约10至约45mg/kg、约15至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约30至约45mg/kg、约35至约45mg/kg、约40至约45mg/kg、约0.1至约40mg/kg、约0.25至约40mg/kg、约0.5至约40mg/kg、约0.75至约40mg/kg、约1至约40mg/kg、约1.5至约40mg/kg、约2至约40mg/kg、约2.5至约40mg/kg、约3至约40mg/kg、约3.5至约40mg/kg、约4至约40mg/kg、约4.5至约40mg/kg、约5至约40mg/kg、约7.5至约40mg/kg、约10至约40mg/kg、约15至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约30至约40mg/kg、约35至约40mg/kg、约0.1至约30mg/kg、约0.25至约30mg/kg、约0.5至约30mg/kg、约0.75至约30mg/kg、约1至约30mg/kg、约1.5至约30mg/kg、约2至约30mg/kg、约2.5至约30mg/kg、约3至约30mg/kg、约3.5至约30mg/kg、约4至约30mg/kg、约4.5至约30mg/kg、约5至约30mg/kg、约7.5至约30mg/kg、约10至约30mg/kg、约15至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约25至约30mg/kg、约0.1至约20mg/kg、约0.25至约20mg/kg、约0.5至约20mg/kg、约0.75至约20mg/kg、约1至约20mg/kg、约1.5至约20mg/kg、约2至约20mg/kg、约2.5至约20mg/kg、约3至约20mg/kg、约3.5至约20mg/kg、约4至约20mg/kg、约4.5至约20mg/kg、约5至约20mg/kg、约7.5至约20mg/kg、约10至约20mg/kg、或约15至约20mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1374] 例如：dsRNA可给予剂量为约0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、或约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1375] 另在一个实施例中，dsRNA是给予剂量约0.5至约50mg/kg、约0.75至约50mg/kg、约1至约50mg/kg、约1.5至约50mg/kg、约2至约50mg/kg、约2.5至约50mg/kg、约3至约50mg/kg、约3.5至约50mg/kg、约4至约50mg/kg、约4.5至约50mg/kg、约5至约50mg/kg、约7.5至约50mg/kg、约10至约50mg/kg、约15至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约30至约50mg/kg、约35至约50mg/kg、约40至约50mg/kg、约45至约50mg/kg、约0.5至约45mg/kg、约0.75至约45mg/kg、约1至约45mg/kg、约1.5至约45mg/kg、约2至约45mg/kg、约2.5至约45mg/kg、约3至约45mg/kg、约3.5至约45mg/kg、约4至约45mg/kg、约4.5至约45mg/kg、约5至约45mg/kg、约7.5至约45mg/kg、约10至约45mg/kg、约15至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约30至约45mg/kg、约35至约45mg/kg、约40至约45mg/kg、约0.5至约40mg/kg、约0.75至约40mg/kg、约1至约40mg/kg、约1.5至约40mg/kg、约2至约40mg/kg、约2.5至约40mg/kg、约3

至约40mg/kg、约3.5至约40mg/kg、约4至约40mg/kg、约4.5至约40mg/kg、约5至约40mg/kg、约7.5至约40mg/kg、约10至约40mg/kg、约15至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约30至约40mg/kg、约35至约40mg/kg、约0.5至约30mg/kg、约0.75至约30mg/kg、约1至约30mg/kg、约1.5至约30mg/kg、约2至约30mg/kg、约2.5至约30mg/kg、约3至约30mg/kg、约3.5至约30mg/kg、约4至约30mg/kg、约4.5至约30mg/kg、约5至约30mg/kg、约7.5至约30mg/kg、约10至约30mg/kg、约15至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约25至约30mg/kg、约0.5至约20mg/kg、约0.75至约20mg/kg、约1至约20mg/kg、约1.5至约20mg/kg、约2至约20mg/kg、约2.5至约20mg/kg、约3至约20mg/kg、约3.5至约20mg/kg、约4至约20mg/kg、约4.5至约20mg/kg、约5至约20mg/kg、约7.5至约20mg/kg、约10至约20mg/kg、或约15至约20mg/kg。在一个实施例中,dsRNA是给予剂量约10mg/kg至约30mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1376] 例如:受试者可接受例如:经皮下或经静脉内给予单剂治疗量的iRNA,如:约0.1、0.125、0.15、0.175、0.2、0.225、0.25、0.275、0.3、0.325、0.35、0.375、0.4、0.425、0.45、0.475、0.5、0.525、0.55、0.575、0.6、0.625、0.65、0.675、0.7、0.725、0.75、0.775、0.8、0.825、0.85、0.875、0.9、0.925、0.95、0.975、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24、24.5、25、25.5、26、26.5、27、27.5、28、28.5、29、29.5、30、31、32、33、34、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、或约50mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1377] 在一些实施例中,受试者是接受例如:经皮下或经静脉内给予多剂治疗量的iRNA,如:剂量为约0.1、0.125、0.15、0.175、0.2、0.225、0.25、0.275、0.3、0.325、0.35、0.375、0.4、0.425、0.45、0.475、0.5、0.525、0.55、0.575、0.6、0.625、0.65、0.675、0.7、0.725、0.75、0.775、0.8、0.825、0.85、0.875、0.9、0.925、0.95、0.975、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24、24.5、25、25.5、26、26.5、27、27.5、28、28.5、29、29.5、30、31、32、33、34、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、或约50mg/kg。多剂量疗程可包括每天给予治疗量的iRNA,如:持续两天、三天、四天、五天、六天、七天或更多天。

[1378] 其他实施例中,该受试者是接受例如:经皮下或经静脉内重复给予治疗量的iRNA,如:一剂约0.1、0.125、0.15、0.175、0.2、0.225、0.25、0.275、0.3、0.325、0.35、0.375、0.4、0.425、0.45、0.475、0.5、0.525、0.55、0.575、0.6、0.625、0.65、0.675、0.7、0.725、0.75、

0.775、0.8、0.825、0.85、0.875、0.9、0.925、0.95、0.975、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24、24.5、25、25.5、26、26.5、27、27.5、28、28.5、29、29.5、30、31、32、33、34、34.5、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、或约50mg/kg。重复剂量疗程可包括依规律方式给予治疗量的iRNA,如:每隔一天、每隔三天、每隔四天、一周两次、一周一次、每隔一周、或一个月一次。

[1379] 在某些实施例中,例如:当本发明组合物包含如本文说明的dsRNA与脂质时,可对受试者给予治疗有效量的iRNA,如:约0.01mg/kg至约5mg/kg、约0.01mg/kg至约10mg/kg、约0.05mg/kg至约5mg/kg、约0.05mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约5mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约0.2mg/kg至约5mg/kg、约0.2mg/kg至约10mg/kg、约0.3mg/kg至约5mg/kg、约0.3mg/kg至约10mg/kg、约0.4mg/kg至约5mg/kg、约0.4mg/kg至约10mg/kg、约0.5mg/kg至约5mg/kg、约0.5mg/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg、约1mg/kg至约10mg/kg、约1.5mg/kg至约5mg/kg、约1.5mg/kg至约10mg/kg、约2mg/kg至约about 2.5mg/kg、约2mg/kg至约10mg/kg、约3mg/kg至约5mg/kg、约3mg/kg至约10mg/kg、约3.5mg/kg至约5mg/kg、约4mg/kg至约5mg/kg、约4.5mg/kg至约5mg/kg、约4mg/kg至约10mg/kg、约4.5mg/kg至约10mg/kg、约5mg/kg至约10mg/kg、约5.5mg/kg至约10mg/kg、约6mg/kg至约10mg/kg、约6.5mg/kg至约10mg/kg、约7mg/kg至约10mg/kg、约7.5mg/kg至约10mg/kg、约8mg/kg至约10mg/kg、约8.5mg/kg至约10mg/kg、约9mg/kg至约10mg/kg、或约9.5mg/kg至约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。例如:dsRNA可给予剂量为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、或约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1380] 某些本发明实施例中,例如:当双链RNAi剂包括修饰(例如:一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序)(包括一个位在或接近制剂的裂解位点的这些基序)、六个硫代磷酸酯键联基、与配体时,这些制剂是给予剂量约0.01至约0.5mg/kg、约0.01至约0.4mg/kg、约0.01至约0.3mg/kg、约0.01至约0.2mg/kg、约0.01至约0.1mg/kg、约0.01mg/kg至约0.09mg/kg、约0.01mg/kg至约0.08mg/kg、约0.01mg/kg至约0.07mg/kg、约0.01mg/kg至约0.06mg/kg、约0.01mg/kg至约0.05mg/kg、约0.02至约0.5mg/kg、约0.02至约0.4mg/kg、约0.02至约0.3mg/kg、约0.02至约0.2mg/kg、约0.02至约0.1mg/kg、约0.02mg/kg至约0.09mg/kg、约0.02mg/kg至约0.08mg/kg、约0.02mg/kg至约0.07mg/kg、约0.02mg/kg至约0.06mg/kg、约0.02mg/kg至约0.05mg/kg、约0.03至约0.5mg/kg、约0.03至约0.4mg/kg、约0.03至约0.3mg/kg、约0.03至约0.2mg/kg、约0.03至约0.1mg/kg、约0.03mg/kg至约0.09mg/kg、约

0.03mg/kg至约0.08mg/kg、约0.03mg/kg至约0.07mg/kg、约0.03mg/kg至约0.06mg/kg、约0.03mg/kg至约0.05mg/kg、约0.04至约0.5mg/kg、约0.04至约0.4mg/kg、约0.04至约0.3mg/kg、约0.04至约0.2mg/kg、约0.04至约0.1mg/kg、约0.04mg/kg至约0.09mg/kg、约0.04mg/kg至约0.08mg/kg、约0.04mg/kg至约0.07mg/kg、约0.04mg/kg至约0.06mg/kg、约0.05至约0.5mg/kg、约0.05至约0.4mg/kg、约0.05至约0.3mg/kg、约0.05至约0.2mg/kg、约0.05至约0.1mg/kg、约0.05mg/kg至约0.09mg/kg、约0.05mg/kg至约0.08mg/kg、或约0.05mg/kg至约0.07mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分,例如:该RNAi剂可对受试者给予约0.015mg/kg至约0.45mg/kg的剂量。

[1381] 例如:该RNAi剂,例如:呈药物组合物的RNAi剂,可给予剂量约0.01mg/kg、0.0125mg/kg、0.015mg/kg、0.0175mg/kg、0.02mg/kg、0.0225mg/kg、0.025mg/kg、0.0275mg/kg、0.03mg/kg、0.0325mg/kg、0.035mg/kg、0.0375mg/kg、0.04mg/kg、0.0425mg/kg、0.045mg/kg、0.0475mg/kg、0.05mg/kg、0.0525mg/kg、0.055mg/kg、0.0575mg/kg、0.06mg/kg、0.0625mg/kg、0.065mg/kg、0.0675mg/kg、0.07mg/kg、0.0725mg/kg、0.075mg/kg、0.0775mg/kg、0.08mg/kg、0.0825mg/kg、0.085mg/kg、0.0875mg/kg、0.09mg/kg、0.0925mg/kg、0.095mg/kg、0.0975mg/kg、0.1mg/kg、0.125mg/kg、0.15mg/kg、0.175mg/kg、0.2mg/kg、0.225mg/kg、0.25mg/kg、0.275mg/kg、0.3mg/kg、0.325mg/kg、0.35mg/kg、0.375mg/kg、0.4mg/kg、0.425mg/kg、0.45mg/kg、0.475mg/kg、或约0.5mg/kg。上述该所引用数值之间的数值亦意图成为本发明的一部分。

[1382] 在一些实施例中,该RNAi剂是给予固定剂量约100mg至约900mg之间,例如:约100mg至约850mg之间、约100mg至约800mg之间、约100mg至约750mg之间、约100mg至约700mg之间、约100mg至约650mg之间、约100mg至约600mg之间、约100mg至约550mg之间、约100mg至约500mg之间、约200mg至约850mg之间、约200mg至约800mg之间、约200mg至约750mg之间、约200mg至约700mg之间、约200mg至约650mg之间、约200mg至约600mg之间、约200mg至约550mg之间、约200mg至约500mg之间、约300mg至约850mg之间、约300mg至约800mg之间、约300mg至约750mg之间、约300mg至约700mg之间、约300mg至约650mg之间、约300mg至约600mg之间、约300mg至约550mg之间、约300mg至约500mg之间、约400mg至约850mg之间、约400mg至约800mg之间、约400mg至约750mg之间、约400mg至约700mg之间、约400mg至约650mg之间、约400mg至约600mg之间、约400mg至约550mg、或约400mg至约500mg之间。

[1383] 在一些实施例中,该RNAi剂是给予固定剂量约100mg、约125mg、约150mg、约175mg、200mg、约225mg、约250mg、约275mg、约300mg、约325mg、约350mg、约375mg、约400mg、约425mg、约450mg、约475mg、约500mg、约525mg、约550mg、约575mg、约600mg、约625mg、约650mg、约675mg、约700mg、约725mg、约750mg、约775mg、约800mg、约825mg、约850mg、约875mg、或约900mg。

[1384] 药物组合物可经静脉内输注持续一段时间,如:持续5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、及21、22、23、24、或约25分钟。可能例如:依规律方式重复给予,如:每周、每两周(亦即每隔一周)持续一个月、两个月、三个月、四个月或更久。经过初次治疗疗程后,即可依较少频率给予治疗。例如:经过每周或每两周给予一次持续三个月后,可以每个月重复一次,持续六个月或一年或更久。

[1385] 药物组合物可以一天给予一次,或iRNA可在一天内依适当间隔给予两个、三个或

更多个小剂量,或甚至使用连续输注或通过控制释放的配制品传递。此时,各小剂量中的iRNA含量必需相对较少,以达到总日剂量。该剂量单位还可组合以供持续传递数天,例如:采用常用的持续释放配制品,其可历经数天持续释放iRNA。持续释放配制品是本领域中已知,且特别适用于在特定位点传递该制剂,如:可与本发明制剂一起使用。此实施例中,该剂量单位包含对应的多重日剂量。

[1386] 其他实施例中,药物组合物的单一剂量可以为长效性,因此下一个剂量可在间隔不超过3、4或5天内或间隔不超过1、2、3或4周内给予。本发明在一些实施例中,本发明药物组合物的单一剂量是一周给予一次。本发明其他实施例中,本发明药物组合物的单一剂量是每两个月给予一次。本发明在一些实施例中,本发明药物组合物的单一剂量是每个月给予一次、每隔一个月给予一次、或每季给予一次(亦即每三个月给予一次)。

[1387] 相关技术者应了解某些因素会影响有效治疗受试者时所需的剂量与给予时间,包括(但不限于):疾病或病症的严重性、过去的治疗、一般健康和/或该受试者年龄、及其他现有疾病。此外,以治疗有效量的组合物治疗该受试者时可包括单次治疗或连续治疗。本发明所包括的个别iRNA可采用常规方法或使用本文说明的适当动物模式,依据活体内试验估测其有效剂量及活体内半衰期。

[1388] 本发明药物组合物可依许多方式给予,取决于是否需要局部或全身性治疗及需要治疗的区域而定。给予法可能为局部表面(例如:采用穿皮式贴布)、经肺部,例如:吸入或吹入粉剂或气雾剂,包括利用喷雾器;经气管内、经鼻内、经表皮与穿皮、经口或非经肠胃式。非经肠胃式给予法包括经静脉内、经动脉内、经皮下、经腹膜内或经肌内注射或输注;皮肤下,例如:经由植入装置;或经颅内,例如:经脑实质内(intraparenchymal)、脊髓内或脑室内给予。

[1389] iRNA可依靶向方式传递到特定组织,如:肝脏(例如:肝脏的肝细胞)。

[1390] 供局部表面给予的药物组合物与配制品可包括穿皮式贴布、油膏、洗液、乳霜、凝胶、滴剂、栓剂、喷液、液体与粉剂。可能必须或需要使用常用的医药载剂、水性、粉状或油性基质、增稠剂,等等。有涂层的保险套、手套,等等亦适用。合适的局部表面配制品包括那些由如本发明所说明特征的iRNA与局部表面传递剂(如:脂质、脂质体、脂肪酸、脂肪酸酯类、类固醇、螯合剂与表面活性剂)混合者。合适脂质与脂质体包括中性(例如:二油酰基磷脂酰基DOPE乙醇胺、二肉豆蔻酰基磷脂酰基胆碱DMPC、二硬脂酰基磷脂酰基胆碱)、阴性(例如:二肉豆蔻酰基磷脂酰基甘油DMPG)与阳离子性(例如:二油酰基四甲基氨基丙基DOTAP与二油酰基磷脂酰基乙醇胺DOTMA)。如本发明所说明特征的iRNA可包埋在脂质体内或可与其(具体地为阳离子性脂质体)形成复合物。可替代地,iRNA可与脂质(具体地与阳离子性脂质)复合。合适脂肪酸与酯类包括(但不限于):花生四烯酸、油酸、廿碳烷酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、单油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二碳烷基氮杂环庚烷-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱或C₁₋₂₀烷基酯(例如:肉豆蔻酸异丙基酯IPM)、单酸甘油酯、二酸甘油酯或其医药上可接受的盐)。局部表面配制品详细说明于美国专利案案号6,747,014,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1391] A. 包含膜性分子集合体的iRNA配制品

[1392] 本发明方法与组合物中所使用的iRNA可调配成用于在膜性分子集合体(例如:脂

质体或微胞)中传递。本文所采用术语“脂质体”是指由两亲性脂质排成至少一个双层(例如:一个双层或复数个双层)所组成的囊泡。脂质体包括单层与多层囊泡,其具有由亲脂性材料形成的膜与水性内部。该水性部分包含iRNA组合物。亲脂性材料隔离该水性内部与水性外部(其通常不包括iRNA组合物,但某些实例中可能包括)。脂质体适用于转运及传递活性成份至作用位点。由于脂质体膜的结构类似生物膜,因此当施加脂质体至组织时,脂质体双层会与细胞膜的双层融合。当脂质体并入且继续进行细胞过程时,包括iRNA的内部水性内容物即传递至细胞中,此时iRNA专一性结合靶RNA,并可介导RNAi。有时候,脂质体亦为特定靶向,例如:指导iRNA专一性靶向特定细胞形式。

[1393] 包含iRNA剂的脂质体可依各种不同方法制备。其中一项实例中,脂质体的脂质成分溶于清洁剂中,因此与脂质组分形成微胞。例如:脂质成分可为两亲性阳离子性脂质或脂质接合物。清洁剂具有高的临界微胞浓度,且可能为非离子性。清洁剂实例包括胆酸盐、CHAPS、辛基葡糖苷、脱氧胆酸盐、与月桂酰基肌氨酸。然后添加iRNA制剂至包括脂质组分的微胞中。脂质上的阳离子性基团会与iRNA剂交互作用,在iRNA剂周围缩合,形成脂质体。浓缩后,排除清洁剂(例如:采用透析法),产生iRNA剂的脂质体制剂。

[1394] 若必要时,可在缩合反应期间添加(例如:采用控制添加法)促进缩合的载剂化合物。例如:载剂化合物可为核酸以外的聚合物(例如:精胺或精脒)。还可调整pH以便有利于缩合。

[1395] 引进聚核苷酸/阳离子性脂质复合物作为该传递媒剂的结构组分来制造稳定的聚核苷酸传递媒剂的方法进一步说明于例如:WO 96/37194,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。脂质体配制品还包括以下文献所说明方法实例的一个或多个方面:Felgner, P.L.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA 8:7413-7417,1987;美国专利案案号4,897,355;美国专利案案号5,171,678;Bangham等人的M.Mol.Biol.23:238,1965;Olson等人的Biochim.Biophys.Acta 557:9,1979;Szoka等人的Proc.Natl.Acad.Sci.75:4194,1978;Mayhew等人的Biochim.Biophys.Acta 775:169,1984;Kim等人的Biochim.Biophys.Acta 728:339,1983;与Fukunaga等人的Endocrinol.115:757,1984。常用于制备适当大小的脂质凝集物作为传递媒剂使用的技术包括音波处理法与冷冻-解冻加挤压法(参见例如:Mayer等人的Biochim.Biophys.Acta 858:161,1986)。当需要一致的大小(50至200nm)且相当均一的凝集物时,可能使用微流体化法(Mayhew等人的Biochim.Biophys.Acta 775:169,1984)。很容易采用这些方法来包裹RNAi剂制剂进入脂质体中。

[1396] 脂质体分成两大类。阳离子性脂质体为带正电价的脂质体,其会与带着电负价的核酸分子反应,形成稳定复合物。带正电价的核酸/脂质体复合物会与带负电价的细胞表面结合,并在核内体中内化。由于核内体中为酸性pH,因此脂质体会瓦解,释出其内容物进入细胞质中(Wang等人,Biochem.Biophys.Res.Commun.,1987,147,980-985)。

[1397] 对pH-敏感或带负电价的脂质体会包埋核酸,而不是与其复合。由于核酸与脂质均带同样电价,因此会发生排斥而不是形成复合物。尽管如此,有些核酸会包埋在这些脂质体的水性内部。对pH敏感的脂质体已被用于传递编码胸苷激酶基因的核酸至培养物的细胞单层中。已在靶细胞中检测到外源性基因的表达(Zhou等人,Journal of Controlled Release,1992,19,269-274)。

[1398] 其中一种主要脂质体组合物形式包括除了天然衍生的磷脂酰基胆碱以外的磷脂

质。中性脂质体组合物可由例如：二肉豆蔻酰基磷脂酰基胆碱 (DMPC) 或二棕榈酰基磷脂酰基胆碱 (DPPC) 形成。阴离子性脂质体组合物通常是由二肉豆蔻酰基磷脂酰基甘油形成，而阴离子性基因融合性脂质体则主要由二油酰基磷脂酰基乙醇胺 (DOPE) 形成。另一种脂质体组合物是由磷脂酰基胆碱 (PC) 形成，如，例如：大豆PC与蛋PC。另一种是由磷脂质和/或磷脂酰基胆碱和/或胆固醇的混合物形成。

[1399] 于活体外与活体内引进脂质体进入细胞的其他方法实例包括美国专利案案号5, 283,185;美国专利案案号5,171,678;WO 94/00569;WO 93/24640;WO 91/16024;Felgner, J.Biol.Chem.269:2550,1994;Nabel,Proc.Natl.Acad.Sci.90:11307,1993;Nabel,Human Gene Ther.3:649,1992;Gershon,Biochem.32:7143,1993;及Strauss EMBO J.11:417, 1992。

[1400] 亦曾检视非离子性脂质体系统，以判断其传递药物至皮肤的用途，具体地包含非离子性表面活性剂与胆固醇的系统。曾利用包含Novasome™I (二月桂酸甘油基酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚) 与Novasome™II (二硬脂酸甘油基酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚) 的非离子性脂质体配制品传递环孢素-A进入小鼠皮肤的真皮。结果显示，这些非离子性脂质体系统可以有效促进环孢素-A沉积在不同皮肤层内 (Hu等人S.T.P.Pharma.Sci., 1994,4(6)466)。

[1401] 脂质体还包括“立体上稳定的”脂质体，本文所采用该名词是指包含一种或多种特异化脂质的脂质体，引进这些特异化脂质的脂质体，较缺乏这些特异化脂质的脂质体可更延长其循环寿命。立体上稳定的脂质体实例为那些在脂质体形成囊泡的脂质部分中，(A) 包含一种或多种配糖脂，如：单唾液酸神经节苷脂G_{M1}，或 (B) 经一种或多种亲水性聚合物，如：聚乙二醇 (PEG) 部分加以衍化。虽然不希望受到任何特定理论的限制，但本领域中认为，至少针对包含神经节苷脂、鞘磷脂或PEG-衍生的脂质的立体上稳定的脂质体，延长这些立体上稳定的脂质体的循环半衰期可以减少吸收进入细胞的网状内皮系统 (RES) (Allen等人, FEBS Letters,1987,223,42;Wu等人,Cancer Research,1993,53,3765)。

[1402] 本领域中已知各种不同包含一种或多种配糖脂的脂质体。Papahadjopoulos等人 (Ann.N.Y.Acad.Sci.,1987,507,64) 提出单唾液酸神经节苷脂G_{M1}、半乳糖脑苷脂硫酸酯与磷脂酰基肌醇改善脂质体的血液半衰期的能力。这些结果已阐述于Gabizon等人 (Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,1988,85,6949)。均颁与Allen等人的美国专利案案号4, 837,028与WO 88/04924揭示的脂质体包含 (1) 鞘磷脂与 (2) 神经节苷脂G_{M1}或半乳糖脑苷脂硫酸酯。美国专利案案号5,543,152 (Webb等人) 揭示包含鞘磷脂的脂质体。WO 97/13499 (Lim等人) 揭示包含1,2-sn-二肉豆蔻酰基磷脂酰基胆碱的脂质体。

[1403] 在一个实施例中，使用阳离子性脂质体。阳离子性脂质体的优点在于可与细胞膜融合。非阳离子性脂质体虽然无法如同浆膜一般有效融合，但可于活体内被巨噬细胞吸收，并可用于传递iRNA剂至巨噬细胞。

[1404] 脂质体的其他优点包括：得自天然磷脂质的脂质体具有生物兼容性与生物降解性；脂质体可进入许多种水可溶性与脂质可溶性药物中；脂质体可保护包埋在其内部隔室內的iRNA剂免于被代谢与降解 (Rosoff说明于“Pharmaceutical Dosage Forms”，Lieberman、Rieger与Banker (编辑)，1988，第一册，p.245)。制备脂质体配制品时的重要考虑为脂质表面电价、囊泡大小及脂质体的水性体积。

[1405] 带正电价的合成性阳离子性脂质:N-[1-(2,3-二油基氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)可用于形成小脂质体,其会与核酸自发性交互反应,形成脂质-核酸复合物,其可再与组织培养细胞的细胞膜的带负电价脂质融合,造成传递iRNA剂(有关DOTMA及其使用DNA的方法的说明可参见例如:Felgner,P.L.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA 8:7413-7417,1987与美国专利案案号4,897,355)。

[1406] DOTMA类似物:1,2-双(油酰基氧基)-3-(三甲基铵)丙烷(DOTAP)可与磷脂质组合使用,形成与DNA-复合的囊泡。LipofectinTM(Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg,Md.)为一种传递高阴离子性核酸进入活组织培养细胞的有效剂,其包含带正电价的DOTMA脂质体,会与带负电价的聚核苷酸自发性交互作用,形成复合物。当使用带充份正电价的脂质体时,所得复合物上净电价亦带正电。依此方式制得的带正电价复合物会自发性附接带负电价细胞表面,与浆膜融合,有效传递功能性核酸至例如:组织培养细胞中。另一种可自商品取得的阳离子性脂质:1,2-双(油酰基氧基)-3,3-(三甲基铵)丙烷(“DOTAP”)(Boehringer Mannheim,Indianapolis,Indiana)不同于DOTMA的处在于该油酰基部分基团是利用酯而非醚键联。

[1407] 其他提出的阳离子性脂质化合物包括那些已接合各种不同部分基团者,包括例如:羧基精胺,其已接合两种脂质中的一,且包括化合物,如:5-羧基精氨基甘氨酸二辛基油酰基酰胺(“DOGS”)(TransfectamTM,Promega,Madison,Wisconsin)与二棕榈酰基磷脂酰基乙醇胺5-羧基精氨基-酰胺(“DPPE”) (参见例如:美国专利案案号5,171,678)。

[1408] 另一种阳离子性脂质接合物包括经过胆固醇衍化的脂质(“DC-Chol”),其已与DOPE组合调配至脂质体中(参见Gao,X.与Huang,L.,Biochim.Biophys.Res.Comm.179:280,1991)。有报告提出由聚赖氨酸接合DOPE制成的脂聚赖氨酸可以在血清的存在下有效转染(Zhou,X.等人,Biochim.Biophys.Acta 1065:8,1991)。某些细胞株中,这些包含接合阳离子性脂质的脂质体据称比包含DOTMA的组合物具有更低的毒性,并可提供更有效的转染。其他可自商品取得的阳离子性脂质产品包括DMRIE与DMRIE-HP(Vical,La Jolla, California)与脂染胺(Lipofectamine)(DOSPA)(Life Technology,Inc.,Gaithersburg, Maryland)。其他适合传递寡核苷酸的阳离子性脂质说明于W0 98/39359与W0 96/37194。

[1409] 脂质体制制品特别适合局部给予,脂质体比其他配制品具有数项优点。这些优点包括降低与全身性高度吸收所给予药物有关的副作用、提高所给予药物在所需标靶处的累积量、及给予iRNA剂至皮肤中的能力。有些实施例中,采用脂质体传递iRNA剂至表皮细胞,且亦加强iRNA剂渗透进入真皮组织,例如:进入皮肤中。例如:脂质体可局部表面施用。药物调配成脂质体经局部表面传递至皮肤的作用已有文献说明(参见例如:Weiner等人Journal of Drug Targeting,1992,vol.2,405-410及du Plessis等人Antivirus Research,18, 1992,259-265;Mannino,R.J.及Fould-Fogerite,S.,Biotechniques 6:682-690,1988; Itani,T.等人Gene 56:267-276.1987;Nicolau,C.等人Meth.Enz.149:157-176,1987; Straubinger,R.M.及Papahadjopoulos,D.Meth.Enz.101:512-527,1983;Wang,C.Y.及Huang,L.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:7851-7855,1987)。

[1410] 亦曾检测非离子性脂质体系统来判断其于传递药物至皮肤的用途,具体地包含非离子性表面活性剂与胆固醇的系统。采用包含Novasome I(二月桂酸甘油基酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚)与Novasome II(二硬脂酸甘油基酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基

醚)的非离子性脂质体配制品来传递药物至小鼠皮肤的真皮。这些使用iRNA剂的配制品适用于治疗皮肤病症。

[1411] 包括iRNA的脂质体可具有高度变形性。这些变形性让脂质体得以渗透比脂质体平均半径更小的小孔。例如:传递体(transfersomes)即为一种可变形的脂质体。可以添加表面边界活化剂(通常为表面活性剂)至标准脂质体组合物中来制备传递体。包括iRNA剂的传递体可例如:经皮下注射传递,以传递iRNA剂至皮肤中的角质细胞。为了穿过完整的哺乳动物皮肤,脂质囊泡必需在合适的跨皮梯度下穿过一是列细孔,每个孔的直径均小于50nm。此外,基于脂质的性质,这些传递体可以自行最优化(配合例如:皮肤的小孔形状)、自行修补,并经常不需要切断即可到达其标靶,并经常可自行装载。

[1412] 其他适合本发明的配制品说明于例如:PCT公告案号WO 2008/042973,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1413] 传递体为另一种脂质体形式,且为可高度变形的脂质凝集体,其是传递药物的媒介的值得注意的候选物。传递体可称为脂质液滴,其可高度变形,因此容易穿透小于液滴的小孔。传递体可适应所使用的环境,例如:其可自行最优化(配合皮肤的孔形状)、自行修补,并经常不需要切断即可到达其标靶,并经常可自行装载。可以添加表面边界活化剂(通常为表面活性剂)至标准脂质体组合物中来制备传递体。传递体曾用于传递血清白蛋白至皮肤。传递体所介导传递血清白蛋白已显示与经皮下注射包含血清白蛋白的溶液一样有效。

[1414] 表面活性剂可广泛用于如:乳液(包括微乳液)与脂质体的配制品。许多不同形式的表面活性剂(包括天然与合成性)的性质最常用的分类与分级方式为亲水性/疏水性平衡值(HLB)。亲水性基团(也称为“头基”)为配制品中所采用不同表面活性剂提供最适用的分类方式(Rieger述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Marcel Dekker,Inc.,New York, N.Y.,1988,p.285)。

[1415] 若表面活性剂分子未离子化,则归类于非离子性表面活性剂。非离子性表面活性剂广泛用于医药与化妆品,且适用于大范围的pH值。通常其HLB值范围为2至约18,依其结构而定。非离子性表面活性剂包括非离子性酯类,如:乙二醇酯类、丙二醇酯类、甘油基酯类、聚甘油基酯类、山梨糖醇酐酯类、蔗糖酯类与乙氧基化酯类。此类表面活性剂还包括非离子性烷醇酰胺类与醚类,如:脂肪醇乙氧化物、丙氧化醇、与乙氧基化/丙氧基化嵌段聚合物。聚氧乙烯表面活性剂为最常用的非离子性表面活性剂类的成员。

[1416] 若溶解或分散于水中的表面活性剂分子携带负电价时,则该表面活性剂归类为阴离子性。阴离子性表面活性剂包括羧酸盐类,如:皂类、乳酸酐基酯类、氨基酸的酐基酰胺类、硫酸的酯类(如:硫酸烷基酯与硫酸乙氧基化烷基酯类)、磺酸酯类(如:苯磺酸烷基酯、羟乙基磺酸酐基酯、牛磺酸酐基酯与磺基琥珀酸酯类)、与磷酸酯类。阴离子性表面活性剂类的最重要成员为硫酸烷基酯类与皂类。

[1417] 若溶解或分散于水中的表面活性剂分子携带正电价时,则该表面活性剂归类为阳离子性。阳离子性表面活性剂包括四级铵盐类与乙氧基化胺类。该四级铵盐类为此类物质的最常用成员。

[1418] 若表面活性剂分子有能力携带正电价或负电价时,该表面活性剂则归类于两亲性。两亲性表面活性剂包括丙烯酸衍生物、经取代的烷基酰胺类、N-烷基甜菜碱与磷脂。

[1419] 表面活性剂于药品、配制品与乳液中的用法已有说明(Rieger述于

“Pharmaceutical Dosage Forms”, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p.285)。

[1420] 本发明方法所使用的iRNA还可呈微胞配制品提供。本文中“微胞”的定义为一种特别的分子集合,其中两亲性分子呈球状结构排列,因此分子的所有疏水性部分均向内,让亲水性部分与周围水相接触。若环境为疏水性时,其排列则相反。

[1421] 适合穿过皮肤膜传递的混合微胞配制品的可能制备为混合siRNA组合物的水溶液、C₈至C₂₂烷基硫酸的碱金属盐与微胞形成性化合物。微胞形成性化合物实例包括卵磷脂、玻尿酸、玻尿酸的医药上可接受的盐、乙醇酸、乳酸、洋甘菊萃取物、小黄瓜萃取物、油酸、亚油酸、亚麻酸、单油酸甘油酯、单油酸酯、单月桂酸酯、琉璃苣油、月见草油、薄荷醇、三羟基侧氧基胆烷基甘氨酸与其医药上可接受的盐、甘油、聚甘油、赖氨酸、聚赖氨酸、三油酸甘油酯、聚氧乙烯醚类与其类似物、聚多卡醇(polidocanol)烷基醚类与其类似物、鹅脱氧胆酸盐、脱氧胆酸盐、与其混合物。微胞形成性化合物可能在烷基硫酸碱金属盐同时或之后添加。实质上任何混合成份均可形成混合微胞,但需要剧烈混合,以提供较小微胞。

[1422] 其中一种方法中,制备包含siRNA组合物与至少一种烷基硫酸碱金属盐的第一微胞组合物。该第一微胞组合物再与至少三种微胞形成性化合物形成混合微胞组合物。另一种方法中,微胞组合物制备为混合siRNA组合物、烷基硫酸碱金属盐与至少一种微胞形成性化合物,然后在剧烈混合下添加其余微胞形成性化合物。

[1423] 可能添加苯酚和/或间甲酚至混合微胞组合物中,以稳定配制品,并保护防止细菌生长。可替代地,苯酚和/或间甲酚可能与微胞形成性成份一起添加。还可在形成混合微胞组合物后添加等渗剂,如:甘油。

[1424] 呈喷液方式传递微胞配制品时,配制品可装进气雾剂配送器中,在该配送器中填装推进剂。配送器中的推进剂在加压下呈液态。调整成份比例,以使水相与推进剂相合而为一,亦即呈单一相。若出现两相时,必需先摇动配送器,再通过例如:定量阀门配送一部分内容物。将会从定量阀门呈细雾推送出所配送剂量的医药剂。

[1425] 推进剂可包括含氢的氯氟碳化物、含氢的氟碳化物、二甲基醚与乙醚。在某些实施例中,可使用HFA 134a(1,1,1,2四氟乙烷)。

[1426] 必要成份的明确浓度可由相当直接的实验决定。从口腔吸收时,经常需要使剂量比通过注射或经过胃肠道给予的剂量提高例如:至少两倍或三倍。

[1427] B. 脂质粒子

[1428] 本发明iRNA,例如:dsRNA可以完全包埋在脂质配制品,例如:LNP或其他核酸-脂质粒子。

[1429] 本文所采用术语“LNP”是指稳定的核酸-脂质粒子。LNP通常包含阳离子性脂质、非阳离子性脂质、与防止粒子(例如:PEG-脂质接合物)凝集的脂质。LNP极适用于全身性给予用途,因为其在经静脉注射(i.v.)后,具有延长的循环寿命,并可在远方位点(例如:离开给予位点的身体部位)累积。LNP包括“pSPLP”,其包括包埋的缩合剂-核酸复合物,其说明于PCT公告案案号W0 00/03683。本发明粒子典型地具有平均直径约50nm至约150nm,更典型为约60nm至约130nm,更典型为约70nm至约110nm,最典型为约70nm至约90nm,且实质上无毒。此外,当核酸存在于本发明的核酸-脂质粒子中时,可以在水溶液中抵抗核酸酶的降解。核酸-脂质粒子与其制备揭示于例如:美国专利案案号5,976,567;5,981,501;6,534,484;6,586,410;6,815,432;美国公告案案号2010/0324120及PCT公告案案号W0 96/40964。

[1430] 在一个实施例中,脂质对药物的比值(质量/质量比值)(例如:脂质对dsRNA比值)将在约1:1至约50:1、约1:1至约25:1、约3:1至约15:1、约4:1至约10:1、约5:1至约9:1、或约6:1至约9:1的范围。上述范围之间的范围还包括在本发明的一部分。

[1431] 该阳离子性脂质可为例如:N,N-二油基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1-(2,3-二油酰基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTAP)、N-(1-(2,3-二油基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、N,N-二甲基-2,3-二油基氧基)丙基胺(DODMA)、1,2-二亚油基氧-N,N-二甲基氨基丙烷(DLinDMA)、1,2-二亚麻基氧-N,N-二甲基氨基丙烷(DLenDMA)、1,2-二亚油基胺甲酰基氧-3-二甲基氨基丙烷(DLin-C-DAP)、1,2-二亚油基氧-3-(二甲基氨基)乙酰氧基丙烷(DLin-DAC)、1,2-二亚油基氧-3-N-吗啉基丙烷(DLin-MA)、1,2-二亚油酰基-3-二甲基氨基丙烷(DLinDAP)、1,2-二亚油基硫-3-二甲基氨基丙烷(DLin-S-DMA)、1-亚油酰基-2-亚油基氧-3-二甲基氨基丙烷(DLin-2-DMA)、1,2-二亚油基氧-3-三甲基氨基丙烷氯化物盐(DLin-TMA.Cl)、1,2-二亚油酰基-3-三甲基氨基丙烷氯化物盐(DLin-TAP.Cl)、1,2-二亚油基氧-3-(N-甲基哌嗪基)丙烷(DLin-MPZ)、或3-(N,N-二亚油基氨基)-1,2-丙二醇(DLinAP)、3-(N,N-二油基氨基)-1,2-丙二醇(DOAP)、1,2-二亚油基侧氧基-3-(2-N,N-二甲基氨基)乙氧基丙烷(DLin-EG-DMA)、1,2-二亚麻基氧-N,N-二甲基氨基丙烷(DLinDMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧杂环戊烷(DLin-K-DMA)或其类似物、(3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)四氢-3aH-环戊并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-胺(ALN100)、4-(二甲基氨基)丁酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基酯(MC3)、1,1'-(2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二碳烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二碳烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基氮烷二基(azanediyl))十二碳烷-2-醇(Tech G1)、或其混合物。阳离子性脂质占粒子中总脂质含量的约20摩尔%至约50摩尔%或约40摩尔%。

[1432] 另在一个实施例中,可使用化合物2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷制备脂质-siRNA纳米粒子。2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷的合成法说明于美国临时专利申请案案号61/107,998(申请日:2008年10月23日),其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1433] 在一个实施例中,脂质-siRNA粒子包括40%2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷:10%DSPC:40%胆固醇:10%PEG-C-DMG(摩尔百分比),粒度为 $63.0 \pm 20\text{nm}$,及0.027siRNA/脂质比值。

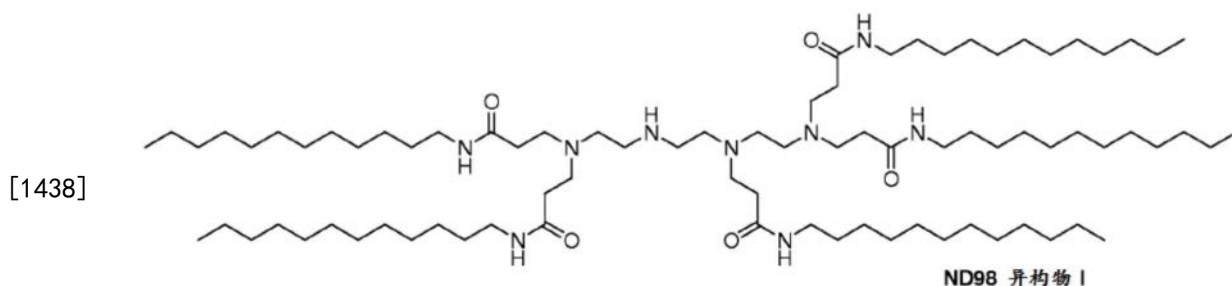
[1434] 该离子化/非阳离子性脂质可为阴离子性脂质或中性脂质,包括(但不限于):二硬脂酰基磷脂酰基胆碱(DSPC)、二油酰基磷脂酰基胆碱(DOPC)、二棕榈酰基磷脂酰基胆碱(DPPC)、二油酰基磷脂酰基甘油(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰基甘油(DPPG)、二油酰基-磷脂酰基乙醇胺(DOPE)、棕榈酰基油酰基磷脂酰基胆碱(POPC)、棕榈酰基油酰基磷脂酰基乙醇胺(POPE)、二油酰基-磷脂酰基乙醇胺4-(N-马来酰亚氨基甲基)-环己烷-1-羧酸盐(DOPE-mal)、二棕榈酰基磷脂酰基乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰基-磷脂酰基-乙醇胺(DSPE)、16-0-单甲基PE、16-0-二甲基PE、18-1-反式PE、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰基乙醇胺(SOPE)、胆固醇、或其混合物。若包含胆固醇时,该非阳离子性脂质可占粒子中总脂质含量的约5摩尔%至约90摩尔%、约10摩尔%、或约58摩尔%。

[1435] 该抑制粒子凝集的接合脂质可为例如:聚乙二醇(PEG)-脂质,包括(但不限于):

PEG-二酰基甘油(DAG)、PEG-二烷基氧丙基(DAA)、PEG-磷脂质、PEG-神经酰胺(Cer),或其混合物。PEG-DAA接合物可为例如:PEG-二月桂基氧丙基(Ci₂)、PEG-二肉豆蔻基氧丙基(Ci₄)、PEG-二棕榈基氧丙基(Ci₆)、或PEG-二硬脂基氧丙基(Ci₈)。该防止粒子凝集的接合脂质可占粒子中总脂质含量的0摩尔%至约20摩尔%或约2摩尔%。

[1436] 在一些实施例中,该核酸-脂质粒子可进一步包括胆固醇,例如:占粒子中总脂质含量的约10摩尔%至约60摩尔%或约48摩尔%。

[1437] 在一个实施例中,可使用类脂质ND98 • 4HCl (MW 1487) (参见美国专利申请案号12/056,230(申请日:3/26/2008,其揭示内容已以引用的方式并入本文中)、胆固醇(Sigma-Aldrich)、与PEG-神经酰胺C16(Avanti Polar Lipids)制备脂质-dsRNA纳米粒子(亦即LNP01粒子)。分别于乙醇中制备各储备液如下:ND98,133mg/ml;胆固醇,25mg/ml;PEG-神经酰胺C16,100mg/ml。然后由ND98、胆固醇、与PEG-神经酰胺C16储备液依例如:42:48:10摩尔比组合。组合的脂质溶液再与dsRNA水溶液(例如:乙酸钠溶液,pH 5)混合,使最终乙醇浓度为约35%-45%,最终乙酸钠浓度为约100-300mM。通常会在混合时自发形成脂质-dsRNA纳米粒子。依所需粒度分布而定,所得纳米粒子混合物可使用例如:热桶挤压机,如:Lipex Extruder(Northern Lipids, Inc),经过聚碳酸膜(例如:截断值100nm)挤押。有时候可以省略挤押步骤。可采用例如:透析或切向流过滤法排除乙醇,并同时进行缓冲液交换。缓冲液可与例如:约pH 7,例如:约pH 6.9、约pH 7.0、约pH 7.1、约pH 7.2、约pH 7.3、或约pH 7.4的磷酸盐缓冲生理食盐水(PBS)交换。



式 1

[1439] LNP01配制品说明于,例如:国际申请案公告案号W02008/042973,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1440] 其他脂质-dsRNA配制品实例说明于表1。

[1441] 表1

[1442]

	可离子化/阳离子性脂质	阳离子性脂质/非阳离子性脂质/胆固醇/PEG-脂质接合物 脂质： siRNA 比值
SNALP-1	1,2-二亚麻基氧-N,N-二甲基氨基丙烷 (DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/胆固醇/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂质： siRNA ~ 7: 1
2-XTC	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	XTC/DPPC/ 胆 固 醇 /PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂质： siRNA ~ 7 : 1
LNP05	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基	XTC/DSPC/ 胆 固 醇

[1443]

	乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂质: siRNA ~ 6 : 1
LNP06	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基 乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	XTC/DSPC/ 胆 固 醇 /PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂质: siRNA ~ 11 : 1
LNP07	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基 乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	XTC/DSPC/ 胆 固 醇 /PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂质: siRNA ~ 6 : 1
LNP08	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基 乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	XTC/DSPC/ 胆 固 醇 /PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂质: siRNA ~ 11 : 1
LNP09	2,2-二亚油基-4-二甲基氨基 乙基-[1,3]-二氧杂环戊烷 (XTC)	XTC/DSPC/ 胆 固 醇 /PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA 10 : 1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N- 二 甲 基 -2,2- 二 ((9Z,12Z)- 十 八 碳 -9,12-二烯基)四氢-3aH-环 戊并[d][1,3]二氧杂环戊烯 -5-胺 (ALN100)	ALN100/DSPC/胆固醇/ PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA 10 : 1
LNP11	4-(二 甲 基 氨 基) 丁 酸 (6Z,9Z,28Z,31Z)- 三 十 七 碳 -6,9,28,31- 四 烯 -19- 基 酯 (MC3)	MC-3/DSPC/ 胆 固 醇 /PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA 10 : 1

[1444]

LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二碳烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二碳烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基氮烷二基(azanediy1))十二碳烷-2-醇(Tech G1)	Tech G1/DSPC/胆固醇/ PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA 10 : 1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 33 : 1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DM G 40/15/40/5 脂质: siRNA: 11 : 1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG /GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂质: siRNA: 11 : 1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DM G 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 7 : 1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 10 : 1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DM G 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 12 : 1

[1445]

LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DM G 50/10/35/5 脂质: siRNA: 8 : 1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 10 : 1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-D SG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 7 : 1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂质: siRNA: 10 : 1

[1446] DSPC:二硬脂酰基磷脂酰基胆碱

[1447] DPPC:二棕榈酰基磷脂酰基胆碱

[1448] PEG-DMG:PEG-二肉豆蔻酰基甘油(C14-PEG或PEG-C14)(PEG平均分子量为2000)

[1449] PEG-DSG:PEG-二硬脂基甘油(C18-PEG或PEG-C18)(PEG平均分子量为2000)

[1450] PEG-cDMA:PEG-胺甲酰基-1,2-二肉豆蔻基氧丙基胺(PEG平均分子量为2000)包含SNALP(1,2-二亚麻基氧基-N,N-二甲基氨基丙烷(DLinDMA))的配制品说明于国际公告案号W0 2009/127060(申请日:2009年4月15日),其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1451] 包含XTC的配制品说明于例如:PCT公告案号W0 2010/088537,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1452] 包含MC3的配制品说明于例如:美国公告案号2010/0324120(申请日:2010年6月10日),其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1453] 包含ALNY-100的配制品说明于例如:PCT公告案号W0 2010/054406,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1454] 包含C12-200的配制品说明于PCT公告案号W0 2010/129709,其揭示内容已以引用的方式并入本文中。

[1455] 供经口给予组合物与配制品包括粉剂或粒剂、微粒、纳米粒、含于水性或非水性介质中的悬浮液或溶液、胶囊、明胶囊、药包、锭剂或迷你锭剂。可能需要增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或结合剂。在一些实施例中,经口配制品为那些其中由如本发明所说明特征的dsRNA与一种或多种渗透加强剂表面活性剂及螯合剂组合给予。合适表面活性剂包括脂肪酸和/或酯类或其盐类、胆汁酸和/或其盐类。合适胆汁酸/盐类包括鹅脱氧胆酸(CDCA)与熊脱氧胆酸(UDCA)、胆酸、去氢胆酸、脱氧胆酸、葡胆酸、甘胆酸、脱氧甘胆

酸、牛磺胆酸、牛磺脱氧胆酸、牛磺-24,25-二氢-褐霉酸钠与糖二氢褐霉酸钠。合适脂肪酸包括花生四烯酸、十一碳烷酸、油酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、单油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二碳烷基氮杂环庚烷-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱、或单酸甘油酯、二酸甘油酯或其医药上可接受的盐(例如:钠盐)。在一些实施例中,可使用渗透加强剂的组合,例如:脂肪酸/盐类与胆汁酸/盐类的组合。其中一种组合实例为月桂酸钠盐、癸酸与UDCA的组合。其他渗透加强剂包括聚氧乙烯-9-月桂基醚、聚氧乙烯-20-鲸蜡基醚。如本发明所说明特征的dsRNA可呈包括喷雾干燥的粒子或复合形成微粒或纳米粒子的粒型经口传递。DsRNA复合剂包括聚-氨基酸;聚亚胺;聚丙烯酸酯;聚烷基丙烯酸酯、聚氧杂环丁烷(oxethane)、聚烷基氰基丙烯酸酯;阳离子化明胶、白蛋白、淀粉、丙烯酸酯、聚乙二醇(PEG)与淀粉;聚烷基氰基丙烯酸酯;DEAE-衍生的聚亚胺、短梗霉多糖(pollulans)、纤维素与淀粉。合适复合剂包括几丁聚糖、N-三甲基几丁聚糖、聚-L-赖氨酸、聚组氨酸、聚鸟氨酸、聚精胺、鱼精蛋白,聚乙烯吡啶、聚硫二乙基氨基甲基乙烯P(TDAE)、聚氨基苯乙烯(例如:对氨基)、聚(甲基氰基丙烯酸酯)、聚(乙基氰基丙烯酸酯)、聚(丁基氰基丙烯酸酯)、聚(异丁基氰基丙烯酸酯)、聚(异己基氰基丙烯酸酯)、DEAE-甲基丙烯酸酯、DEAE-己基丙烯酸酯、DEAE-丙烯酰胺、DEAE-白蛋白与DEAE-葡聚糖、聚甲基丙烯酸酯、聚己基丙烯酸酯、聚(D,L-乳酸)、聚(DL-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)、藻酸盐、与聚乙二醇(PEG)。dsRNA的口服配制品与其制备详细说明于美国专利案6,887,906、美国公告案案号20030027780与美国专利案案号6,747,014,其揭示内容已分别以引用的方式并入本文中。

[1456] 供非经肠胃式、侵入性脑内(进入脑中)、脊髓内、脑室内或肝内给予的组合物与配制品可包括无菌水溶液,其中还可包含缓冲剂、稀释剂与其他合适添加剂,如,(但不限于):渗透加强剂、载剂化合物与其他医药上可接受的载剂或赋形剂。

[1457] 本发明药物组合物包括(但不限于):溶液、乳液与包含脂质体的配制品。这些组合物可由各种不同组分产生,包括(但不限于):预成型液体、自行乳化的固体与自行乳化的半固体。当治疗肝病(如:肝癌)时,特别佳为靶向肝脏的配制品。

[1458] 适合呈单位剂型的本发明医药配制品可依据医药业常规技术制备。这些技术包括组合活性成份与医药载剂(群)或赋形剂(群)的步骤。通常,配制品的制备为均匀且密切组合活性成份与液态载剂或细碎固态载剂或二者,然后若必要时,使产物成型。

[1459] 本发明组合物可调配成许多可能剂型中的任一种,如(但不限于):锭剂、胶囊、明胶囊、液态糖浆、软明胶囊、栓剂与灌肠剂。本发明组合物还可于水性、非水性或混合介质中调配成悬浮液。水性悬浮液可进一步包含可提高该悬浮液黏度的物质,包括例如:羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。该悬浮液还可包含稳定剂。

[1460] C.其他配制品

[1461] i.乳液

[1462] 本发明组合物可制造并调配成乳液。乳液为其中一种液体呈直径通常超过0.1 μ m的液滴形式匀散在另一种液体中的典型不均相系统(参见例如:Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. 与 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY; Idson 述于 "Pharmaceutical Dosage Forms", Lieberman, Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New

York, N.Y., 第一册, p.199; Rosoff 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p.245; Block 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第2册, p.335; Higuchi 等人述于“Remington's Pharmaceutical Sciences”, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p.301)。乳液通常为双相系统, 其包含两个彼此密切混合与分散的不可混溶的液相。通常, 乳液可为油包水 (w/o) 型或水包油 (o/w) 型。当水相分成小液滴均匀分布且分散在大体积的油相中时, 所得组合物称为油包水性 (w/o) 乳液。可替代地, 当油相分成小液滴均匀分布且分散在大体积的水相中时, 所得组合物称为水包油性 (o/w) 乳液。乳液中除了分散相外, 可再包含其他组分, 且活性药物可呈溶液存在于水相、油相或本身另呈一相。需要时, 乳液中还可包含医药赋形剂, 如: 乳化剂、稳定剂、染料、与抗氧化剂。医药乳液还可为由超过两相组成的多相乳液, 如, 例如: 以油包水包油性 (o/w/o) 与水包油包水性 (w/o/w) 乳液为例。这些复合配制品经常提供单纯二元乳液没有的优点。其中 o/w 乳液的个别油滴包埋小水滴的多相乳液即构成 w/o/w 乳液。同样地, 由油滴包埋在于油连续相中稳定化的水球中, 提供 o/w/o 乳液。

[1463] 乳液的特征在于很低或没有热动力学稳定性。通常, 乳液的分散相或不连续相均匀分布在外相或连续相内, 并利用乳化剂或配制品的黏度维持此形式。乳液的任一相可以为半固体或固体, 如: 乳液型油膏基质与乳霜。其他稳定乳液方式可以使用乳化剂, 引进乳液的任一相中。乳化剂可广义分为四类: 合成性表面活性剂、天然乳化剂、吸收基质、与均匀分散的固体 (参见例如: Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. 与 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY; Idson 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p.199)。

[1464] 合成性表面活性剂亦已知为表面活性剂, 已广泛用于乳液的配制品, 且已于文献中说明 (参见例如: Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. 与 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY; Rieger 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p.285; Idson 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, 第一册, p.199)。表面活性剂通常为两亲性, 其包含亲水性与疏水性部分。表面活性剂的亲水性对疏水性性质的比值称为亲水物/亲脂物平衡值 (HLB), 是在制备配制品时用于分类及选择表面活性剂的有利工具。表面活性剂可依据亲水性基团性质分成不同类型: 非离子性、阴离子性、阳离子性、与两亲性 (参见例如: Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. 与 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY; Rieger 述于“Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman、Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p.285)。

[1465] 用于乳液配制品的天然乳化剂包括羊毛脂、蜂蜡、磷脂、卵磷脂与阿拉伯胶。吸收性基质具有亲水性性质, 因此可吸收水形成 w/o 乳液, 但仍保留其半固态坚实度, 如: 无水羊毛脂与亲水性石蜡。还可使用细碎固体作为良好乳化剂, 尤其与表面活性剂组合及用于黏

性制剂中时。这些包括极性无机固体,如:重金属氢氧化物、非膨胀性黏土,如:皂土、硅镁土、锂蒙脱石、高岭土、蒙托土、胶体硅酸铝与胶体硅酸镁铝、色素、与非极性固体,如:碳或三硬脂酸甘油酯。

[1466] 乳液配制品中还可包括许多种不同的非乳化材料,其可赋与乳液性质。这些物质包括脂肪、油类、蜡类、脂肪酸、脂肪醇类、脂肪酯类、保湿剂、亲水性胶体、防腐剂与抗氧化剂(Block述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Lieberman、Rieger与Banker(编辑),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,第一册,p.335;Idson述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Lieberman、Rieger与Banker(编辑),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,第一册,p.199)。

[1467] 亲水性胶体或水胶体包括天然胶质与合成性聚合物,如:多糖类(例如:阿拉伯胶、洋菜、藻酸、鹿角菜胶、关华豆胶、卡拉胶与黄蓍胶)、纤维素衍生物(例如:羧甲基纤维素与羧丙基纤维素)、与合成性聚合物(例如:卡波姆(carbomers)、纤维素醚与羧乙烯基聚合物)。这些物质于水中分散或膨胀,形成胶体溶液,借由在分散相的液滴周围形成强力介面膜并提高外相的黏度,而稳定该乳液。

[1468] 由于乳液经常包含许多如:碳水化合物、蛋白质、固醇类、与磷脂的成份,很容易支持微生物生长,因此这些配制品经常添加防腐剂。常包括于乳液配制品中的防腐剂包括对羟基苯甲酸甲基酯、对羟基苯甲酸丙基酯、四级铵盐类、氯化苄二甲烃铵、对羟基苯甲酸的酯类、与硼酸。亦经常添加抗氧化剂至乳液配制品中,以防止破坏配制品。所使用的抗氧化剂可为游离基清除剂,如:生育酚、烷基没食子酸、丁基化羟基苯甲醚、丁基化羟基甲苯,或还原剂,如:抗坏血酸与偏亚硫酸氢钠,与抗氧化促效剂,如:柠檬酸、酒石酸与卵磷脂。

[1469] 乳液配制品经由皮肤、口、与非经肠胃式途径的用途与其制造方法已有文献说明(参见例如:Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.、Popovich NG.与Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(第8版),New York,NY;Idson述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Lieberman、Rieger与Banker(编辑),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,第一册,p.199)。用于经口传递的乳液配制品因为容易调配,且从吸收效力与生体可用率观点,已极广泛使用(参见例如:Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.、Popovich NG.与Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(第8版),New York,NY;Rosoff述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Lieberman、Rieger与Banker(编辑),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,第一册,p.199)。基于矿物油的缓泻剂、油溶性维生素与高脂肪营养制剂为常用于呈o/w乳液经口给予的材料。

[1470] ii.微乳液

[1471] 本发明在一个实施例中,iRNA与核酸的组合物是调配成微乳液。微乳液的定义为由水、油与两亲物形成单一的光学上各向同性且热动力学上稳定的液体溶液的系统(参见例如:Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.、Popovich NG.与Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(第8版),New York,NY;Rosoff述于“Pharmaceutical Dosage Forms”,Lieberman、Rieger与Banker(编辑),1988,

Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p. 245)。典型微乳液为先让油分散在水性表面活性剂溶液中, 然后添加足量的第四组分所形成的系统, 通常添加中链长醇类, 以形成透明系统。因此, 微乳液也称为两种不混溶液体的动力学上稳定的各向同性透明分散液, 其是利用表面活性分子的界面膜稳定化 (Leung 与 Shah 述于: “Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate System”, Rosoff, M, 编辑, 1989, VCH Publishers, New York, p. 185-215)。微乳液通常是由 3 至 5 种组分组合制成, 其包括油、水、表面活性剂、辅表面活性剂与电解质。该微乳液为油包水 (w/o) 或水包油 (o/w) 型取决于所使用油及表面活性剂的性质及表面活性剂分子的极性头端与烃尾端的结构与几何堆栈而定 (Schott 述于 “Remington's Pharmaceutical Sciences”, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271)。

[1472] 利用相态图的现象学方法已有深入研究, 且已产生大量知识, 让本领域普通技术人员了解如何调配微乳液 (参见例如: Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. 与 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第 8 版), New York, NY; Rosoff 述于 “Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman, Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p. 245; Block 述于 “Pharmaceutical Dosage Forms”, Lieberman, Rieger 与 Banker (编辑), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第一册, p. 335)。相较于一般乳液, 微乳液的优点在于可在自发性形成的热动力学上稳定的液滴的配制品中溶解水不溶性药物。

[1473] 制备微乳液时所使用的表面活性剂包括 (但不限于): 离子性表面活性剂、非离子性表面活性剂、Brij 96、聚氧乙烯油基醚类、聚甘油脂肪酸酯类、单月桂酸四甘油酯 (ML310)、单油酸四甘油酯 (MO310)、单油酸六甘油酯 (PO310)、五油酸六甘油酯 (PO500)、单癸酸十甘油酯 (MCA750)、单油酸十甘油酯 (MO750)、倍半油酸十甘油酯 (SO750)、十油酸十甘油酯 (DA0750), 其可单独使用或与辅表面活性剂组合使用。辅表面活性剂通常为短链醇, 如: 乙醇、1-丙醇、与 1-丁醇, 其借由渗透表面膜, 在表面活性剂分子之间产生空隙, 因此造成无序膜, 而提高界面流动性。然而不需要使用辅表面活性剂还可制备微乳液, 且本领域中已知不含醇的可自行乳化的微乳液系统。典型的水相为 (但不限于): 水、药物水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇、与乙二醇的衍生物。该油相可包括 (但不限于): 下列材料, 如: Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯类、中链 (C8-C12) 单酸-、二酸-、与三酸甘油酯、聚氧乙基化甘油基脂肪酸酯类、脂肪醇类、聚二醇化甘油酯类、饱和聚二醇化 C8-C10 甘油酯类、植物油与硅酮油类。

[1474] 从药物溶解度与加强药物吸收性的观点而言, 微乳液特别值得注意。已提出基于脂质的微乳液 (包括 o/w 与 w/o) 来加强药物 (包括肽) 的口服生体可用率 (参见例如: 美国专利案案号 6,191,105; 7,063,860; 7,070,802; 7,157,099; Constantinides 等人, Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385-1390; Ritschel 的 Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205)。微乳液提供的优点为改善药物溶解性、保护药物免于酶水解、可能基于表面活性剂诱发改变膜流动性与通透性而加强药物吸收性、容易制备、比固态剂型容易经口给予、改善临床效力、及降低毒性 (参见例如: 美国专利案案号 6,191,105; 7,063,860; 7,070,802; 7,157,099; Constantinides 等人, Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385; Ho 等人, J. Pharm. Sci., 1996, 85, 138-143)。当

于环境温度下将微乳液组分组合在一起时,经常可自发性形成微乳液。当调配对热敏感的药物、肽、或iRNA时,微乳液特别有利。微乳液还可在化妆品与医药用途上有效地穿皮式传递活性组分。预期本发明微乳液组合物与配制品将可促进胃肠道提高iRNA与核酸的全身吸收性,并改善局部细胞吸收iRNA与核酸。

[1475] 本发明微乳液还可包含其他组分与添加剂,如:山梨糖醇酐单硬脂酸酯(Grill 3)、聚乙二醇-8-辛酸/癩酸酯(Labrasol)与渗透加强剂,以改善配制品性质,及加强本发明iRNA与核酸的吸收性。本发明微乳液所采用的渗透加强剂可分为1至5大类-表面活性剂、脂肪酸,胆汁盐类、螯合剂与非螯合性非表面活性剂(Lee等人,“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92)。

[1476] iii.微粒子

[1477] 本发明iRNA剂可以引至粒子,例如:微粒子中。微粒子可由喷雾干燥法产生,但还可采用其他方法,包括冷冻干燥、蒸发、流化床干燥、真空干燥、或这些技术的组合。

[1478] iv.渗透加强剂

[1479] 在一个实施例中,本发明使用各种不同渗透加强剂,让核酸(具体地iRNA)有效传递至动物皮肤。大多数药物在溶液中是呈离子化与非离子化型。然而,通常仅有脂质可溶性或亲脂性药物容易通过细胞膜。已发现,若膜经过渗透加强剂处理时,即使非亲脂性药物还可穿过该细胞膜。此外,为了协助非亲脂性药物扩散通过细胞膜,渗透加强剂还可加强亲脂性药物的通透性。

[1480] 渗透加强剂可分成1至5大类,亦即表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐类、螯合剂、与非螯合性非表面活性剂(参见例如:Malmsten,M.的“Surfactants and polymers in drug delivery”,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee等人的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92)。上述各类渗透加强剂将更详细说明于下文中。

[1481] 表面活性剂(或“表面活性剂”)为一种在溶于水溶液中时可以降低溶液的表面张力或水溶液与另一种液体之间的界面张力的化学物质,结果将加强iRNA通过黏膜的吸收性。除了胆汁盐类与脂肪酸外,这些渗透加强剂包括例如:月桂基硫酸钠、聚氧乙烯-9-月桂基醚与聚氧乙烯-20-鲸蜡基醚(参见例如:Malmsten,M.的“Surfactants and polymers in drug Delivery”,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee等人的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92);与全氟化学乳液,如:FC-43,Takahashi等人,J.Pharm.Pharmacol.,1988,40,252)。

[1482] 作为渗透加强剂的各种不同脂肪酸与其衍生物包括例如:油酸、月桂酸、癩酸(正癩酸)、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癩酸酯、三癩酸酯、单油酸甘油酯(1-单油基-消旋性-甘油)、二月桂酸甘油酯、辛酸、花生四烯酸、1-单癩酸甘油酯、1-十二碳烷基氮杂环庚烷-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱、其C₁₋₂₀烷基酯(例如:甲基酯、异丙基酯与第三丁基酯)、及其单酸-与二酸甘油酯(亦即油酸酯、月桂酸酯、癩酸酯、肉豆蔻酸酯、棕榈酸酯、硬脂酸酯、亚油酸酯,等等)(参见例如:Touitou,E.等人的“Enhancement in Drug Delivery”,CRC Press,Danvers,MA,2006;Lee等人,“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92;Muranishi的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1990,7,1-33;El Hariri等人,J.Pharm.Pharmacol.,1992,44,

651-654)。

[1483] 胆汁的生理性角色包括促进脂质与脂溶性维生素分散与吸收(参见例如:Malmsten,M.的“Surfactants and polymers in drug Delivery”,Informa Health Care, New York,NY,2002;Brunton述于:Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutic,第9版,第38章,Hardman等人编辑,McGraw-Hill,New York,1996,pp.934-935)。各种不同天然胆汁盐类与其合成性衍生物均可作为渗透加强剂。因此术语“胆汁盐类”包括胆汁的任何天然组分及其任何合成性衍生物。合适胆汁盐包括例如:胆酸(或其医药上可接受的钠盐、胆酸钠)、去氢胆酸(去氢胆酸钠)、脱氧胆酸(脱氧胆酸钠)、葡胆酸(葡胆酸钠)、甘胆酸(甘胆酸钠)、脱氧甘胆酸(脱氧甘胆酸钠)、牛磺胆酸(牛磺胆酸钠)、牛磺脱氧胆酸(牛磺脱氧胆酸钠)、鹅脱氧胆酸(鹅脱氧胆酸钠)、熊脱氧胆酸(UDCA)、牛磺-24,25-二氢-褐霉酸钠(STDHF)、甘胺二氢褐霉酸钠与聚氧乙烯-9-月桂基醚(POE)(参见例如:Malmsten,M.的“Surfactants and polymers in drug delivery”,Informa Health Care, New York,NY,2002;Lee等人的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92;Swinyard述于:“Remington's Pharmaceutical Sciences”,第18版,第39章,Gennaro编辑,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1990,p.782-783;Muranishi的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1990,7,1-33;Yamamoto等人,J.Pharm.Exp.Ther.,1992,263,25;Yamashita等人,J.Pharm.Sci.,1990,79,579-583)。

[1484] 本发明所使用的螯合剂可定义为可与溶液中金属离子形成复合物而借以排除的化合物,结果可以借此加强iRNA通过黏膜的吸收性。螯合剂在本发明中作为渗透加强剂的相关用法中,其附加价值在于还可作为DNase抑制剂,因为大多数已判断特征的DNA核酸酶均需要二价金属离子,供进行催化作用,因此可被螯合剂抑制(Jarrett,J.Chromatogr.,1993,618,315-339)。合适螯合剂包括(但不限于):乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、柠檬酸、水杨酸盐(例如:水杨酸钠、5-甲氧基水杨酸盐与高碳香兰酸盐)、胶原蛋白的N-酰基衍生物、月桂基醚-9与 β -二酮的N-氨基酰基衍生物(烯胺类)(参见例如:Katdare,A.等人的“Excipient development for pharmaceutical,biotechnology,and drug delivery)”,CRC Press,Danvers,MA,2006;Lee等人,“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92;Muranishi的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1990,7,1-33;Buur等人,J.Control Rel.,1990,14,43-51)。

[1485] 本文所采用非螯合性非表面活性剂渗透加强化合物可定义为已证实没有显著螯合剂或表面活性剂的活性,但仍可加强iRNA通过消化道黏膜吸收的化合物(参见例如:Muranishi的“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1990,7,1-33)。此类渗透加强剂包括例如:不饱和环状脲类、1-烷基-与1-烯基氮杂环-烷酮类衍生物(Lee等人,“Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems”,1991,p.92);及非类固醇消炎剂,如:双氯芬酸钠(diclofenac sodium)、吲哚美辛(indomethacin)与苯丁吡唑酮(phenylbutazone)(Yamashita等人,J.Pharm.Pharmacol.,1987,39,621-626)。

[1486] 还可添加可在细胞层级上加强吸收iRNA的本发明医药与其他组合物。亦已知例如:阳离子性脂质,如:微脂体(lipofectin)(Junichi等人,美国专利案案号5,705,188)、阳离子性甘油衍生物、与聚阳离子性分子,如:聚赖氨酸(Lollo等人,PCT申请案WO 97/30731)可加强细胞吸收dsRNA。可自商品取得的转染剂实例包括例如:LipofectamineTM

(Invitrogen;Carlsbad,CA)、Lipofectamine 2000TM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、293fectinTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、CellfectinTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、DMR1E-CTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、FreeStyleTMMAX(Invitrogen;Carlsbad,CA)、LipofectamineTM2000CD(Invitrogen;Carlsbad,CA)、LipofectamineTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、iRNAMAX(Invitrogen;Carlsbad,CA)、OligofectamineTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、OptifectTM(Invitrogen;Carlsbad,CA)、X-tremeGENE Q2转染剂(Roche;Grenzacherstrasse,瑞士)、DOTAP脂质体转染剂(Grenzacherstrasse,瑞士)、DOSPER脂质体转染剂(Grenzacherstrasse,瑞士)、或Fugene(Grenzacherstrasse,瑞士)、**Transfectam®**试剂(Promega;Madison,WI)、TransFastTM转染剂(Promega;Madison,WI)、TfxTM-20试剂(Promega;Madison,WI)、TfxTM-50试剂(Promega;Madison,WI)、DreamFectTM(OZ Biosciences;Marseille,法国)、EcoTransfect(OZ Biosciences;Marseille,法国)、TransPass^a D1转染剂(New England Biolabs;Ipswich,MA,USA)、LyoVecTM/LipoGenTM(Invitrogen;San Diego,CA,USA)、PerFectin转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、NeuroPORTER转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、GenePORTER转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、GenePORTER 2转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、Cytofectin转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、BaculoPORTER转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、TroganPORTERTM转染剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、RiboFect(Bioline;Taunton,MA,USA)、PlasFect(Bioline;Taunton,MA,USA)、UniFECTOR(B-Bridge International;Mountain View,CA,USA)、SureFECTOR(B-Bridge International;Mountain View,CA,USA),或HiFectTM(B-Bridge International;Mountain View,CA,USA),等等。

[1487] 其他可用于为所给予核酸加强渗透的制剂包括二醇类(如:乙二醇与丙二醇)、吡咯类(如:2-吡咯)、氮酮类与萜烯类,如:柠檬烯与薄荷酮。

[1488] v. 载剂

[1489] 某些本发明组合物还可在配制品中纳入载剂化合物。本文所采用“载剂化合物”或“载剂”可指核酸或其类似物,其是惰性(亦即本身没有生物活性),但仍可在活体内过程中被辨识为核酸,该过程是借由例如:降解生物活性核酸或促进其从循环过程中排出,而降低该具有生物活性的核酸的生体可用率。共同给予核酸与载剂化合物(后者物质通常使用过量)可以大幅降低肝脏、肾脏或其他外循环器官的核酸回收量,可能归因于载剂化合物与核酸竞争共享受体所致。例如:当与聚肌苷酸、葡聚糖硫酸盐、聚胞苷酸或4-乙酰胺基-4'异硫氰酰基-芪-2,2'-二磺酸共同给予时,可减少肝脏组织回收部分硫代磷酸dsRNA(Miyao等人,DsRNA Res.Dev.,1995,5,115-121;Takakura等人,DsRNA&Nucl.Acid Drug Dev.,1996,6,177-183。

[1490] vi. 赋形剂

[1491] 与载剂化合物相反,“医药载剂”或“赋形剂”为供传递一种或多种核酸至动物体的医药上可接受的溶剂、悬浮剂或任何其他医药惰性媒剂。赋形剂可呈液态或固态,并依计划的给予方式选择,以在与核酸与指定的药物组合物中其他组分组合时提供所需的填充体积、坚实度,等等。典型医药载剂包括(但不限于):结合剂(例如:预糊化玉米淀粉、聚乙烯吡啶咯酮或羟基丙基甲基纤维素,等等);填料(例如:乳糖与其他糖类、微晶纤维素、果胶、明胶、硫酸钙、乙基纤维素、聚丙烯酸酯或磷酸氢钙,等等);润滑剂(例如:硬脂酸镁、滑石、硅

石、胶体二氧化硅、硬脂酸、硬脂酸金属盐、氢化植物油、玉米淀粉、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠,等等);崩解剂(例如:淀粉、淀粉乙醇酸钠,等等);与湿化剂(例如:月桂基硫酸钠,等等)。

[1492] 还可使用适合非-非经肠胃式给予且不会与核酸有不利反应的医药上可接受的有机或无机赋形剂来调配本发明组合物。合适的医药上可接受的载剂包括(但不限于):水、盐溶液、醇类、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、黏性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮,等等。

[1493] 供局部表面给予核酸的配制品可包括无菌与非无菌水溶液、于常用溶剂(如:醇类)中的非水性溶液、或含核酸的液态或固态油基质溶液。溶液中还可包含缓冲剂、稀释剂与其他合适添加剂。可使用适合非-非经肠胃式给予且不会与核酸有不利反应的医药上可接受的有机或无机赋形剂。

[1494] 合适的医药上可接受的赋形剂包括(但不限于):水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、黏性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮,等等。

[1495] viii.其他组分

[1496] 本发明组合物可再包含药物组合物中常用且本领域中已建立用量的其他辅助组分。因此例如:组合物可再包含其他可兼容的医药活性材料,如,例如:止痒剂、收敛剂、局部麻醉药或消炎剂,或可包含其他适用于物理性调配本发明组合物各种不同剂型的材料,如:染料、调味剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、增稠剂与稳定剂。然而,当添加这些材料时,不应不当干扰本发明组合物中组分的生物活性。配制品可经过杀菌,且若需要时,可与不会与配制品的核酸(群)出现不良交互作用的辅剂混合,例如:润滑剂、防腐剂、稳定剂、湿化剂、乳化剂、影响渗透压的盐类、缓冲剂、着色剂、调味剂和/或芳香物质,等等。

[1497] 水性悬浮液可包含提高悬浮液黏度的物质,包括例如:羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。该悬浮液还可包含稳定剂。

[1498] 在一些实施例中,如本发明所说明特征的药物组合物包括(a)一种或多种iRNA化合物与(b)一种或多种其功能为非iRNA机制且适用于治疗HBV感染的制剂。这些制剂实例包括(但不限于):目标在于借由干扰病毒复制来压制或破坏HBV的抗病毒剂;及目标在于帮助人类免疫系统架起防御来对抗病毒的免疫调控剂。反之,如:会诱发加强病毒及病毒抗原表达,及压制T-淋巴球功能的皮质类固醇、或阿糖腺苷、无环鸟苷(acyclovir)、或二脱氧肌苷等免疫调控剂并无法有利地治疗慢性B型肝炎。合适制剂将于下文中更详细讨论。

[1499] 这些化合物的毒性与治疗效力可采用标准医药制程,于细胞培养中或实验动物中测定,例如:测定LD50(造成50%试验群死亡时的剂量)与ED50(有效治疗50%试验群时的剂量)。毒性与治疗效应之间的剂量比值即为治疗指数,以LD50/ED50比值表示。优选治疗指数高的化合物。

[1500] 可采用由细胞培养分析法与动物研究得到的数据来调配用于人类的剂量范围。如本发明所说明特征的组合物的剂量通常落在包括极低或无毒性的ED50的循环浓度范围内。剂量可依所采用剂型及所利用的给予途径,在此范围内变化。用于如本发明所说明特征的方法所使用的任何化合物的治疗有效剂量可先从细胞培养分析法估测。可在动物模式中调配剂量,以使该化合物或若适当时使标靶序列的多肽产物的循环血浆浓度范围达到(例如:降低多肽浓度达到)包括细胞培养物所决定IC50(亦即试验化合物使症状达到一半最大抑

制性时的浓度)在内的范围。这些信息可用于更精确决定适用于人类的剂量。可借由例如:高效液相层析法测定血浆中浓度。

[1501] 除了如上述给予法外,如本发明所说明特征的iRNA可与其他已知可有效治疗受HBV表达介导的病理过程的制剂组合给予。任何情况下,给予的医师均可依据采用本领域中已知或本文所说明标准效力测定法所观察到的结果来调整iRNA的给予量与给予时间。

[1502] VII. 本发明方法

[1503] 本发明提供一种治疗与预防方法,其包括对患有HBV感染和/或HBV相关疾病、病症、和/或病况的受试者、或有发展出HBV相关疾病、病症、和/或病况(例如:CHB)倾向的受试者给予包含本发明iRNA剂的组合物、或包含iRNA剂的药物组合物、或包含本发明iRNA的载体。

[1504] 本发明方法适用于治疗患有HBV感染的受试者,例如:可能因降低HBV基因表达和/或HBV复制而受益的受试者。一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者降低B型肝炎病毒ccc DNA含量的方法。另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者降低HBV抗原(例如:HbsAg和/或HbeAg)含量的方法。另一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者降低HBV病毒量的方法。本发明还提供一种使感染HBV的受试者降低丙氨酸氨基转移酶(ALT)和/或天冬氨酸氨基转移酶(AST)含量的方法。一方面中,本发明提供一种使感染HBV的受试者提高抗-HBV抗体含量的方法。另一方面中,本发明提供一种治疗患有HBV感染的受试者的方法。一方面中,本发明提供一种治疗患有HBV相关疾病(例如:D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌)的受试者的方法。此外,由于HDV感染是依赖HBV所提供的义务助手功能进行传播,因此,患有HBV感染的受试者还可能患有HDV感染,本文所说明治疗方法亦适用于治疗患有HDV感染和/或HDV-相关病症(如:B型肝炎病毒感染、慢性B型肝炎感染(CHB)、慢性B型肝炎感染(CHB)、硬化、肝衰竭、与肝细胞癌(HCC))的受试者。本发明治疗方法(与用途)包括对该受试者(例如:人类)给予治疗有效量的本发明靶向HBV基因的iRNA剂或包含本发明靶向HBV基因的iRNA剂的药物组合物或包含本发明靶向HBV基因的iRNA剂的载体。

[1505] 一方面中,本发明提供一种为患有HBV感染的受试者预防至少一种症状的方法,例如:出现血清和/或肝HBV ccc DNA、出现血清HBV DNA、出现血清和/或肝HBV抗原(例如:HbsAg和/或HbeAg)、提高的ALT、提高的AST、没有或低量的抗-HBV抗体、肝损伤;硬化;D型肝炎病毒感染、 δ 型(delta)肝炎、急性B型肝炎;急性暴发性B型肝炎;慢性B型肝炎;肝硬化;末期肝病;肝细胞癌;类似血清病症候群;厌食;恶心;呕吐、低度发烧;肌痛;易疲劳性;味觉敏锐度与嗅觉感受度异常(厌恶食物与香烟);和/或左上四分之一腹痛与心窝部痛(间歇性、轻度至中度);肝性脑病症;嗜睡;睡眠形式紊乱;精神错乱;昏迷;腹水;胃肠出血;凝血病症;黄疸;肝肿大(轻度肿大、肝柔软);脾肿大;手掌红斑;蜘蛛痣;肌肉消瘦;蜘蛛形血管瘤;血管炎;静脉曲张出血;四肢水肿;男性乳房发育症;睪丸萎缩;腹部连结静脉(静脉扩张);高含量丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天冬氨酸氨基转移酶(AST),在1000-2000IU/mL的范围内,但还可判别到高于正常值上限(ULN)100倍;ALT含量高于AST含量;提高的 γ -谷酰胺转氨酶(GGT)及碱性磷酸酶(ALP)含量(例如:不超过3倍ULN);稍低的白蛋白含量;提高的血清铁含量;白血球减少症(亦即粒细胞减少症);血液淋巴细胞增多;红血球沉降速率(ESR)升高;红血球存活期缩短;溶血症;血小板减少症;国际标准凝血时间比(INR)延长;出现血清

和/或肝HBsAg、HBeAg、B型肝炎核心抗体(抗-HBc)免疫球蛋白M(IgM);B型肝炎表面抗体(抗-HBs)、B型肝炎e抗体(抗-HBe)、和/或HBV DNA;氨基转移酶提高(≤ 5 倍ULN);ALT含量高于AST含量;胆红素含量升高、凝血酶原时间(PT)延长;高球蛋白血症;出现非组织专一性抗体,如:抗平滑肌抗体(ASMA)或抗核抗体(ANAs)(10%-20%);出现组织专一性抗体,如:对抗甲状腺的抗体(10%-20%);类风湿因子(RF)含量提高;高胆红素血症、延长的PT、低量血小板及白血球细胞数、AST含量高于ALT含量;提高的碱性磷酸酶(ALP)及GGT含量;小叶具有退化与再生肝细胞变化、及并发发炎;主要为小叶中心坏死。该方法包括对该受试者给予治疗有效量的本发明iRNA剂(例如:dsRNA)、药物组合物、或载体,借以为罹患可能因降低HBV基因表达而受益的病症的受试者,如:患有HBV感染的受试者或同时罹患HBV与HDV感染的受试者,预防至少一种症状。

[1506] 另一方面中,本发明提供一种以治疗有效量的本发明iRNA剂于治疗受试者上的用途,例如:可能因降低和/或抑制HBV基因表达而受益的受试者,如:患有HBV感染的受试者或同时罹患HBV与HDV感染的受试者。

[1507] 另一方面中,本发明提供一种以本发明靶向HBV基因的iRNA剂(例如:dsRNA)或包含靶向HBV基因的iRNA剂的药物组合物于制造供治疗受试者(例如:可能因降低和/或抑制HBV基因表达和/或HBV复制而受益的受试者,如:患有HBV感染的受试者或同时罹患HBV与HDV感染的受试者,及罹患可能因降低HBV基因表达而受益的病症,例如:HBV相关疾病的受试者)的医药上的用途。

[1508] 另一方面中,本发明提供一种以本发明iRNA,例如:dsRNA为罹患可能因降低和/或抑制HBV基因表达和/或HBV复制而受益的病症的受试者预防至少一种+ -+症状的用途。

[1509] 另一方面中,本发明提供一种以本发明iRNA剂于制造为罹患可能因降低和/或抑制HBV基因表达和/或HBV复制而受益的病症(如:HBV相关疾病)的受试者预防至少一种症状的医药上的用途。

[1510] 在一个实施例中,靶向HBV的iRNA剂是给予患有HBV感染或同时患有HBV与HDV感染、和/或HBV相关疾病的受试者,使接受给予dsRNA剂时的受试者的例如:细胞、组织、血液或其他组织或流体中一种或多种HBV基因表达、HBV ccc DNA含量、HBV抗原含量、HBV病毒量、ALT、和/或AST降低至少约10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、62%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或至少约99%或更多。

[1511] 在一个实施例中,靶向HBV的iRNA剂是给予患有患有HBV感染或同时患有HBV与HDV感染、和/或HBV相关疾病的受试者,使接受给予dsRNA剂时的受试者的例如:细胞、组织、血液或其他组织或流体中抗-HBV抗体含量升高至少约10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、

61%、62%、62%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或至少约99%或更高。

[1512] 本发明方法及用途包括给予本文所说明组合物,以降低标靶HBV基因的表达,其是持续如:约1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、或约80小时。在一个实施例中,可长期降低标靶HBV基因表达,例如:至少约两天、三天、四天、五天、六天、七天或更久,例如:约一周、两周、三周、或约四周或更久。

[1513] 根据本发明方法与用途给予dsRNA可以为罹患HBV感染或同时罹患HBV与HDV感染、和/或HBV相关疾病的患者降低这些疾病或病症的严重性、征兆、症状和/或标记物。本文中,“降低”意指这些程度在统计学上显著降低。该降低程度可为例如:至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或约100%。

[1514] 治疗或预防疾病的效力的评估法可为例如:测定疾病进展、疾病消退、症状严重性、疼痛减轻、生活质量、需要维持治疗效果时的医药剂量、适合该所治疗疾病或预防目标的疾病标记物或任何其他可测量的参数。本领域普通技术人员均有能力借由测定其中任一种参数或任何参数组合,来追踪治疗或预防的效力。例如:可能借由例如:定期追踪病毒量及传播程度来评估CHB的治疗效力。由后来的读数与原始的读数比较,即可指示医师该治疗是否有效。本领域普通技术人员均有能力借由测定其中任一种参数或任何参数组合,来追踪治疗或预防的效力。在给予靶向HBV的iRNA或其药物组合物的相关内容中,“有效对抗”HBV相关疾病是指依临床上适当方式给予时,可以让至少统计上显著比例的患者得到有利效应,如:改善症状、治愈、减轻疾病、延长寿命、改善生活质量或熟悉治疗HBV感染和/或HBV相关疾病及相关病因的医师通常认定为正向的其他效应。

[1515] 当一种或多种疾病状态的参数出现统计上显著改善时,或不会再恶化或发展出原本预期的症状时,即证实该治疗或预防效果。例如:疾病的可测定参数的有利变化为至少10%,优选为至少20%、30%、40%、50%或更高,表示为有效的治疗。针对特定iRNA药物或该药物的配制品的效力还可采用本领域中已知针对该疾病的实验动物模式来判断。当采用实验动物模式时,当观察到标记物或症状在统计学上显著下降时,即证实有治疗效力。

[1516] 可对受试者给予治疗量的iRNA,如:约0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.3mg/kg、0.35mg/kg、0.4mg/kg、0.45mg/kg、0.5mg/kg、0.55mg/kg、0.6mg/kg、0.65mg/kg、0.7mg/kg、0.75mg/kg、0.8mg/kg、0.85mg/kg、0.9mg/kg、0.95mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.2mg/kg、1.3mg/kg、1.4mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.0mg/kg、2.1mg/kg、2.2mg/kg、2.3mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg dsRNA、2.6mg/kg dsRNA、2.7mg/kg dsRNA、2.8mg/kg dsRNA、2.9mg/kg dsRNA、3.0mg/kg dsRNA、3.1mg/kg dsRNA、3.2mg/kg dsRNA、3.3mg/kg dsRNA、3.4mg/kg dsRNA、3.5mg/kg dsRNA、3.6mg/kg dsRNA、3.7mg/kg dsRNA、3.8mg/kg dsRNA、3.9mg/kg dsRNA、4.0mg/kg dsRNA、4.1mg/kg dsRNA、4.2mg/kg dsRNA、4.3mg/kg dsRNA、4.4mg/kg dsRNA、4.5mg/kg dsRNA、4.6mg/kg dsRNA、4.7mg/kg dsRNA、4.8mg/kg dsRNA、4.9mg/kg dsRNA、5.0mg/kg dsRNA、5.1mg/kg dsRNA、5.2mg/kg dsRNA、5.3mg/kg dsRNA、5.4mg/kg dsRNA、5.5mg/kg dsRNA、5.6mg/kg dsRNA、5.7mg/kg dsRNA、5.8mg/kg

dsRNA、5.9mg/kg dsRNA、6.0mg/kg dsRNA、6.1mg/kg dsRNA、6.2mg/kg dsRNA、6.3mg/kg dsRNA、6.4mg/kg dsRNA、6.5mg/kg dsRNA、6.6mg/kg dsRNA、6.7mg/kg dsRNA、6.8mg/kg dsRNA、6.9mg/kg dsRNA、7.0mg/kg dsRNA、7.1mg/kg dsRNA、7.2mg/kg dsRNA、7.3mg/kg dsRNA、7.4mg/kg dsRNA、7.5mg/kg dsRNA、7.6mg/kg dsRNA、7.7mg/kg dsRNA、7.8mg/kg dsRNA、7.9mg/kg dsRNA、8.0mg/kg dsRNA、8.1mg/kg dsRNA、8.2mg/kg dsRNA、8.3mg/kg dsRNA、8.4mg/kg dsRNA、8.5mg/kg dsRNA、8.6mg/kg dsRNA、8.7mg/kg dsRNA、8.8mg/kg dsRNA、8.9mg/kg dsRNA、9.0mg/kg dsRNA、9.1mg/kg dsRNA、9.2mg/kg dsRNA、9.3mg/kg dsRNA、9.4mg/kg dsRNA、9.5mg/kg dsRNA、9.6mg/kg dsRNA、9.7mg/kg dsRNA、9.8mg/kg dsRNA、9.9mg/kg dsRNA、9.0mg/kg dsRNA、10mg/kg dsRNA、15mg/kg dsRNA、20mg/kg dsRNA、25mg/kg dsRNA、30mg/kg dsRNA、35mg/kg dsRNA、40mg/kg dsRNA、45mg/kg dsRNA、或约50mg/kg dsRNA。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1517] 在某些实施例中,例如:当本发明组合物包含本文说明的dsRNA及脂质时,可对受试者给予治疗量的iRNA,如:约0.01mg/kg至约5mg/kg、约0.01mg/kg至约10mg/kg、约0.05mg/kg至约5mg/kg、约0.05mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约5mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约0.2mg/kg至约5mg/kg、约0.2mg/kg至约10mg/kg、约0.3mg/kg至约5mg/kg、约0.3mg/kg至约10mg/kg、约0.4mg/kg至约5mg/kg、约0.4mg/kg至约10mg/kg、约0.5mg/kg至约5mg/kg、约0.5mg/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg、约1mg/kg至约10mg/kg、约1.5mg/kg至约5mg/kg、约1.5mg/kg至约10mg/kg、约2mg/kg至约2.5mg/kg、约2mg/kg至约10mg/kg、约3mg/kg至约5mg/kg、约3mg/kg至约10mg/kg、约3.5mg/kg至约5mg/kg、约4mg/kg至约5mg/kg、约4.5mg/kg至约5mg/kg、约4mg/kg至约10mg/kg、约4.5mg/kg至约10mg/kg、约5mg/kg至约10mg/kg、约5.5mg/kg至约10mg/kg、约6mg/kg至约10mg/kg、约6.5mg/kg至约10mg/kg、约7mg/kg至约10mg/kg、约7.5mg/kg至约10mg/kg、约8mg/kg至约10mg/kg、约8.5mg/kg至约10mg/kg、约9mg/kg至约10mg/kg、或约9.5mg/kg至约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1518] 例如:dsRNA可给予剂量为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、或约10mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1519] 其他实施例中,例如:当本发明组合物包含本文说明的dsRNA与N-乙酰基半乳糖胺时,可对受试者给予治疗量的iRNA,如:剂量为约0.1至约50mg/kg、约0.25至约50mg/kg、约0.5至约50mg/kg、约0.75至约50mg/kg、约1至约50mg/kg、约1.5至约50mg/kg、约2至约50mg/kg、约2.5至约50mg/kg、约3至约50mg/kg、约3.5至约50mg/kg、约4至约50mg/kg、约4.5至约50mg/kg、约5至约50mg/kg、约7.5至约50mg/kg、约10至约50mg/kg、约15至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约20至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约25至约50mg/kg、约30至约50mg/kg、约35至约50mg/kg、约40至约50mg/kg、约45至约50mg/kg、约0.1至约45mg/kg、约0.25至约45mg/kg、约0.5至约45mg/kg、约0.75至约45mg/kg、约1至约45mg/kg、约1.5至约45mg/kg、约

2至约45mg/kg、约2.5至约45mg/kg、约3至约45mg/kg、约3.5至约45mg/kg、约4至约45mg/kg、约4.5至约45mg/kg、约5至约45mg/kg、约7.5至约45mg/kg、约10至约45mg/kg、约15至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约20至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约25至约45mg/kg、约30至约45mg/kg、约35至约45mg/kg、约40至约45mg/kg、约0.1至约40mg/kg、约0.25至约40mg/kg、约0.5至约40mg/kg、约0.75至约40mg/kg、约1至约40mg/kg、约1.5至约40mg/kg、约2至约40mg/kg、约2.5至约40mg/kg、约3至约40mg/kg、约3.5至约40mg/kg、约4至约40mg/kg、约4.5至约40mg/kg、约5至约40mg/kg、约7.5至约40mg/kg、约10至约40mg/kg、约15至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约20至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约25至约40mg/kg、约30至约40mg/kg、约35至约40mg/kg、约0.1至约30mg/kg、约0.25至约30mg/kg、约0.5至约30mg/kg、约0.75至约30mg/kg、约1至约30mg/kg、约1.5至约30mg/kg、约2至约30mg/kg、约2.5至约30mg/kg、约3至约30mg/kg、约3.5至约30mg/kg、约4至约30mg/kg、约4.5至约30mg/kg、约5至约30mg/kg、约7.5至约30mg/kg、约10至约30mg/kg、约15至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约20至约30mg/kg、约25至约30mg/kg、约0.1至约20mg/kg、约0.25至约20mg/kg、约0.5至约20mg/kg、约0.75至约20mg/kg、约1至约20mg/kg、约1.5至约20mg/kg、约2至约20mg/kg、约2.5至约20mg/kg、约3至约20mg/kg、约3.5至约20mg/kg、约4至约20mg/kg、约4.5至约20mg/kg、约5至约20mg/kg、约7.5至约20mg/kg、约10至约20mg/kg、或约15至约20mg/kg。在一个实施例中，当本发明组合物包含本文说明的dsRNA与N-乙酰基半乳糖胺时，可对受试者给予治疗量约10至约30mg/kg的dsRNA。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1520] 例如：可对受试者给予治疗量的iRNA，如：约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24、24.5、25、25.5、26、26.5、27、27.5、28、28.5、29、29.5、30、31、32、33、34、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、或约50mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分。

[1521] 某些本发明实施例中，例如：当双链RNAi剂包括一种修饰（例如：一个或多个在三个连续核苷酸具有三个相同修饰的基序，包括一个在该制剂的裂解位点或接近裂解位点处的这些基序）、六个硫代磷酸酯键联体、与配体时，这些制剂的给予剂量为约0.01至约0.5mg/kg、约0.01至约0.4mg/kg、约0.01至约0.3mg/kg、约0.01至约0.2mg/kg、约0.01至约0.1mg/kg、约0.01mg/kg至约0.09mg/kg、约0.01mg/kg至约0.08mg/kg、约0.01mg/kg至约0.07mg/kg、约0.01mg/kg至约0.06mg/kg、约0.01mg/kg至约0.05mg/kg、约0.02至约0.5mg/kg、约0.02至约0.4mg/kg、约0.02至约0.3mg/kg、约0.02至约0.2mg/kg、约0.02至约0.1mg/kg、约0.02mg/kg至约0.09mg/kg、约0.02mg/kg至约0.08mg/kg、约0.02mg/kg至约0.07mg/kg、约0.02mg/kg至约0.06mg/kg、约0.02mg/kg至约0.05mg/kg、约0.03至约0.5mg/kg、约0.03至约0.4mg/kg、约0.03至约0.3mg/kg、约0.03至约0.2mg/kg、约0.03至约0.1mg/kg、约0.03mg/kg至约0.09mg/kg、约0.03mg/kg至约0.08mg/kg、约0.03mg/kg至约0.07mg/kg、约

0.03mg/kg至约0.06mg/kg、约0.03mg/kg至约0.05mg/kg、约0.04至约0.5mg/kg、约0.04至约0.4mg/kg、约0.04至约0.3mg/kg、约0.04至约0.2mg/kg、约0.04至约0.1mg/kg、约0.04mg/kg至约0.09mg/kg、约0.04mg/kg至约0.08mg/kg、约0.04mg/kg至约0.07mg/kg、约0.04mg/kg至约0.06mg/kg、约0.05至约0.5mg/kg、约0.05至约0.4mg/kg、约0.05至约0.3mg/kg、约0.05至约0.2mg/kg、约0.05至约0.1mg/kg、约0.05mg/kg至约0.09mg/kg、约0.05mg/kg至约0.08mg/kg、或约0.05mg/kg至约0.07mg/kg。该所引用数值之间的数值与范围亦意图成为本发明的一部分,例如:该RNAi剂可给予至受试者的剂量为约0.015mg/kg至约0.45mg/kg。

[1522] 例如:该RNAi剂,例如:于药物组合物的RNAi剂,可给予剂量为约0.01mg/kg、0.0125mg/kg、0.015mg/kg、0.0175mg/kg、0.02mg/kg、0.0225mg/kg、0.025mg/kg、0.0275mg/kg、0.03mg/kg、0.0325mg/kg、0.035mg/kg、0.0375mg/kg、0.04mg/kg、0.0425mg/kg、0.045mg/kg、0.0475mg/kg、0.05mg/kg、0.0525mg/kg、0.055mg/kg、0.0575mg/kg、0.06mg/kg、0.0625mg/kg、0.065mg/kg、0.0675mg/kg、0.07mg/kg、0.0725mg/kg、0.075mg/kg、0.0775mg/kg、0.08mg/kg、0.0825mg/kg、0.085mg/kg、0.0875mg/kg、0.09mg/kg、0.0925mg/kg、0.095mg/kg、0.0975mg/kg、0.1mg/kg、0.125mg/kg、0.15mg/kg、0.175mg/kg、0.2mg/kg、0.225mg/kg、0.25mg/kg、0.275mg/kg、0.3mg/kg、0.325mg/kg、0.35mg/kg、0.375mg/kg、0.4mg/kg、0.425mg/kg、0.45mg/kg、0.475mg/kg、或约0.5mg/kg。该所引用数值之间的数值亦意图成为本发明的一部分。

[1523] 在一些实施例中,该RNAi剂是给予固定剂量约100mg至约900mg之间,例如:约100mg至约850mg之间、约100mg至约800mg之间、约100mg至约750mg之间、约100mg至约700mg之间、约100mg至约650mg之间、约100mg至约600mg之间、约100mg至约550mg之间、约100mg至约500mg之间、约200mg至约850mg之间、约200mg至约800mg之间、约200mg至约750mg之间、约200mg至约700mg之间、约200mg至约650mg之间、约200mg至约600mg之间、约200mg至约550mg之间、约200mg至约500mg之间、约300mg至约850mg之间、约300mg至约800mg之间、约300mg至约750mg之间、约300mg至约700mg之间、约300mg至约650mg之间、约300mg至约600mg之间、约300mg至约550mg之间、约300mg至约500mg之间、约400mg至约850mg之间、约400mg至约800mg之间、约400mg至约750mg之间、约400mg至约700mg之间、约400mg至约650mg之间、约400mg至约600mg之间、约400mg至约550mg之间、或约400mg至约500mg之间。

[1524] 在一些实施例中,该RNAi剂是给予固定剂量约100mg、约125mg、约150mg、约175mg、200mg、约225mg、约250mg、约275mg、约300mg、约325mg、约350mg、约375mg、约400mg、约425mg、约450mg、约475mg、约500mg、约525mg、约550mg、约575mg、约600mg、约625mg、约650mg、约675mg、约700mg、约725mg、约750mg、约775mg、约800mg、约825mg、约850mg、约875mg、或约900mg。

[1525] 该iRNA可经静脉内输注一段时间,如:历经5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或约25分钟时间。该给予法可以重复,例如:定期重复,如:每周、每两周(亦即每两个星期),持续一个月、两个月、三个月、四个月或更久。经过初次疗程后,可依较低频率给予。例如:每周或每两周给予持续三个月后,可以每个月重复给予一次,持续6个月或一年或更久。

[1526] 给予iRNA可以使患者的例如:细胞、组织、血液、尿液或其他隔室的血清和/或肝HBV ccc DNA含量、血清和/或肝HBV抗原(例如:HBsAg和/或HBeAg)含量、ALT含量、和/或AST

含量降低至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或至少约99%或以上,例如:降至分析检测值以下。

[1527] 给予iRNA可以使患者的例如:细胞、组织、血液、尿液或其他隔室的血清和/或肝抗HBV抗体含量提高至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或至少约99%或以上。

[1528] 给予全剂量iRNA之前,患者先接受给予较小剂量,如:5%输液,并追踪不良效应,如:过敏反应。另一项实例中,可以追踪患者不期望的免疫刺激效应,如:细胞激素(例如:TNF- α 或INF- α)含量升高。

[1529] 由于根据本发明组合物或由其制成的药物组合物对HBV表达具有抑制效力,因此可以提高生活质量。

[1530] 本发明iRNA可呈“裸”型给予,其中是由经修饰或未修饰的iRNA剂直接悬浮于水性或合适缓冲溶剂中,呈“游离iRNA”。游离iRNA是在没有药物组合物的存在下给予。游离iRNA可含于合适缓冲溶液中。缓冲溶液可能包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐、或磷酸盐、或其任何组合。在一个实施例中,缓冲溶液为磷酸盐缓冲生理食盐水(PBS)。可以调整包含iRNA的缓冲溶液的pH值与渗透压以便适合给予至受试者。

[1531] 可替代地,本发明iRNA可呈药物组合物给予,如:dsRNA脂质体制成品。

[1532] 可能因降低和/或抑制HBV基因表达而受益的受试者为那些罹患本文所说明患有HBV感染和/或HBV相关疾病或病症者。

[1533] 可能因降低和/或抑制HBV基因表达而受益的受试者的治疗法包括治疗性与预防性治疗法。

[1534] 本发明进一步提供一种以iRNA剂或其药物组合物,与其他医药和/或其他疗法(例如:已知医药和/或已知疗法,如,例如:那些目前用于治疗这些病症者)组合,于治疗可能因降低和/或抑制HBV基因表达而受益的受试者(例如:罹患HBV相关疾病的受试者)的方法与用途。

[1535] 例如:在某些实施例中,靶向一种或多种HBV基因的iRNA是与例如:适用于治疗本文所说明HBV相关疾病的制剂组合。例如:适用于治疗可能因降低HBV基因表达而受益的受试者(例如:罹患HBV相关疾病的受试者)的其他疗法及治疗方法包括靶向不同的HBV基因组部分的iRNA剂、抗病毒剂、反转录酶抑制剂(例如:泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate)(TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿

德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir) (ETV)、喜必福(Telbivudine)、及AGX-1009)、免疫刺激剂(例如:聚乙二醇基化干扰素 α 2a (PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、及Toll-样受体7 (TLR7) 促效剂)、治疗性疫苗(例如:GS-4774、DV-601、及TG1050)、病毒侵入抑制剂(例如:麦克乐斯(Myrccludex))、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸(例如:REP 9AC)、壳体抑制剂(例如:Bay41-4109及NVR-1221)、cccDNA抑制剂(例如:IHVR-25)、或其他治疗剂和/或程序,例如:肝移植、用于HBV相关疾病的化疗法、上述任何组合。

[1536] 在某些实施例中,靶向一种或多种HBV基因的第一iRNA剂是与靶向不同HBV基因组部分的第二iRNA剂组合给予。例如:靶向一种或多种结构基因的第一iRNA剂可与靶向X基因的第二RNAi剂组合给予。例如:第一RNAi剂包含形成双链区的第一正义链及第一反义链,其中该第一正义链实质上所有核苷酸及该第一反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中该第一正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;及该第二RNAi剂包含形成双链区的第二正义链及第二反义链,其中第二正义链实质上所有核苷酸及第二反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸,其中第二正义链是接合附接在3'-末端的配体,且其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物;其中第一正义链包含选自下组的序列,该组由以下各项组成:

[1537] 5'-UCGUGGUGGACUUCUCUCA-3' (SEQ ID NO:5),

[1538] 5'-GUGCACUUCGCUUCACCUCUA-3' (SEQ ID NO:7),

[1539] 5'-CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU-3' (SEQ ID NO:9),

[1540] 5'-CGUGGUGGUCUUCUCUAAAUU-3' (SEQ ID NO:37),

[1541] 5'-GGUGGACUUCUCUCAUUUUUA-3' (SEQ ID NO:11), 及

[1542] 5'-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3' (SEQ ID NO:39) (或与上述任何核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 且其中该第一与第二反义链分别独立包含选自下组的序列, 该组由以下各项组成:

[1543] 5'-UGAGAGAAGUCCACCACGAUU-3' (SEQ ID NO:6);

[1544] 5'-UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU-3' (SEQ ID NO:8);

[1545] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCAG-3' (SEQ ID NO:10);

[1546] 5'-AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU-3' (SEQ ID NO:38),

[1547] 5'-UAAAAUUGAGAGAAGUCCACCAC-3' (SEQ ID NO:12), 及

[1548] 5'-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3' (SEQ ID NO:40) (或与上述任何核苷酸序列的全长具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的核苷酸序列), 借以治疗该受试者。

[1549] 在一个实施例中, 该第一与第二正义链的所有核苷酸和/或该第一与第二反义链的所有核苷酸包含一种修饰。

[1550] 在一个实施例中, 至少一个经修饰的核苷酸选自下组, 该组由以下各项组成: 3'-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2'-C-烷基-修饰的核苷酸、2'-羟

基-修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基磷酸酯基的核苷酸、包含5'-磷酸酯的核苷酸、及包含5'-磷酸酯模拟物的核苷酸。

[1551] 在某些实施例中,靶向一种或多种HBV基因的第一iRNA剂是与第二iRNA剂组合给予,该第二iRNA剂靶向不同于该一种或多种HBV基因的基因,例如:该靶向一种或多种HBV基因的iRNA剂可与靶向CD274/PD-L1基因的iRNA剂组合给予。该靶向CD274/PD-L1基因的iRNA剂实例说明于W0 2011/127180,其完整揭示内容已以引用的方式并入本文中。靶向一种或多种HBV基因的第一iRNA剂及靶向不同于该一种或多种HBV基因的基因(例如:CD274/PD-L1基因和/或HDV基因)的iRNA剂可作为同一种药物组合物的一部分给予。可替代地,靶向一种或多种HBV基因的第一iRNA剂及靶向不同于该一种或多种HBV基因的基因(例如:CD274/PD-L1基因和/或HDV基因)的第二iRNA剂可作为不同药物组合物的一部分给予。

[1552] CD274或PD-L1为由CD274基因在小鼠染色体19及人类染色体9上编码的290个氨基酸的I型穿膜蛋白质。CD274/PD-L1的表达暗示其逃避涉及慢性感染例如:病毒(包括例如:HIV、HBV、HCV及HTLV,等等)、细菌(包括例如:幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*),等等)及寄生虫(包括例如:曼森氏住血吸虫(*Schistosoma mansoni*))的免疫反应。

[1553] PD-L1可借由参与PD-1或B7-1(CD80)及修饰TCR或BCR讯号传导来影响免疫反应,但还可传送讯号至表达PD-L1的细胞,亦即通过PD-L1逆转讯号传导。表面电浆共振研究证实PD-L1与B7-1之间(亲和性 $1.7\mu\text{M}$)及PD-L1与PD-1之间(亲和性 $0.5\mu\text{M}$)两种专一性及独特性交互作用。化学交联研究显示,PD-L1与B7-1,如同PD-L1与PD-1,还可通过其IgV-样功能域交互作用。PD-L1:B7-1界面与推断的PD-L1:PD-1接口至少有部分重叠。B7-1:PD-L1交互作用可诱发抑制讯号传导入T细胞。由PD-L1利用B7-1黏合至CD4T细胞上,或由B7-1利用PD-L1黏合至CD4 T细胞上,即传送具有显著功能的抑制讯号。由于PD-L1及B7-1二者均表达在T细胞、B细胞、DC、与巨噬细胞上,因此这些细胞形式上的B7-1与PD-L1之间可能有双向交互作用。此外,非造血细胞上的PD-L1可能与T细胞上的B7-1及PD-1交互作用来调节细胞(Keir ME等人2008.*Annu Rev Immunol.*26:677-704)。

[1554] 在人类的慢性病毒感染中,有几组研究已显示PD-1高度表达在HIV-专一性(Petrovas C等人2006,*J.Exp.Med.*203:2281-92;Day CL等人2006,*Nature* 443:350-54;Trautmann L等人2006,*Nat.Med.*12:1198-202)、HBV-专一性(Boettler T等人2006,*J.Virol.*80:3532-40;Boni C等人2007,*J.Virol.*81:4215-25)、与HCV-专一性T细胞(Urbani S等人2006,*J.Virol.*80:11398-403)。在慢性感染HBV患者的周边血液CD14+单核细胞及骨髓性DC上(Chen L等人2007,*J.Immunol.*178:6634-41;Ceng L等人2006,*J.Virus Hepat.*13:725-33)、及HIV患者的CD14+细胞与T细胞(Trabattoni D等人2003.*Blood* 101:2514-20)上的PD-L1亦向上调节。于活体外阻断PD-LPD-L交互作用可逆转HIV-专一性、HBV-专一性(Boni C等人2007,*J.Virol.*81:4215-25)、HCV-专一性、与SIV-专一性(Velu V等人2007,*J.Virol.*81:5819-28)CD8及CD4 T细胞的消耗并恢复增殖及产生细胞素(Petrovas C等人2006,*J.Exp.Med.*203:2281-92;Day CL等人2006,*Nature* 443:350-54;Trautmann L等人2006,*Nat.Med.*12:1198-202;Urbani S等人2006,*J.Virol.*80:11398-403)。最近研究显示,HCV核心(即核壳体蛋白质)可向上调节健康供体的T细胞上的PD-1及PD-L1表达,且该

PD-1的上调是由HCV核心与补体受体C1QBP交互作用所介导(Yao ZQ等人2007,Virus Immunol.20:276-87)。

[1555] 接受给予第一RNAi剂或第一与第二RNAi剂的受试者可进一步接受给予一种或多种其他以非-iRNA机制发挥功能且适用于治疗HBV感染的疗法。可用于与本发明疗法组合的疗法实例包括借由例如:加强T-细胞助手活性、B淋巴细胞成熟、抑制T-细胞压制剂、及加强HLA第I型表达来刺激免疫系统的免疫调节剂。合适的免疫调控剂包括具有各种不同性质的干扰素,包括抗病毒、免疫调控剂、及抗增殖效应。

[1556] 例如:目前慢性B型肝炎的疗法为干扰素疗法,其是给予罹患HBV感染病史至少6个月、肝酶(AST及ALT)提高及血液中有主动分化的病毒(HBeAg、和/或HBV DNA阳性试验)的受试者。干扰素- α 疗法在约35%那些慢性B型肝炎患者中产生长期持续缓解疾病,恢复正常肝酶,及消除三种活性感染的标记物(HBeAg、HBV DNA、与HBsAg)。罹患急性HBV感染、末期硬化或其他严重医学问题的受试者通常不采用干扰素治疗。

[1557] 此外,干扰素疗法对罹患HBV-相关硬化的患者会显著降低肝细胞癌(HCC)比例,尤其在具有大量血清HBV DNA的患者中。罹患HBeAg-阳性代偿期肝硬化的患者,在干扰素疗法后的病毒与生化缓解是与存活率改善有关。罹患慢性HBV感染的患者中,使用干扰素- α 治疗后HBeAg的清除是与临床结果改善有关。

[1558] 该疗法的标准持续期应为16周。在标准疗程结束时具有低量病毒复制的患者将可在长期治疗时受到最大效益。

[1559] 可用于本发明组合疗法的其他治疗剂实例包括例如:抗病毒剂、核苷酸类似物、核苷类似物、反转录酶抑制剂(例如:泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate)(TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir)(ETV)、喜必福(Telbivudine)、AGX-1009、恩曲他滨(emtricitabine)、克拉夫定(clevudine)、利托那韦(ritonavir)、迪夫昔(dipivoxil)、洛布卡韦(lobucavir)、泛维尔(famvir)、FTC、N-乙酰基-半胱氨酸(NAC)、PC1323、特拉奇(theradigm)-HBV、胸腺素- α 、及更昔洛韦(ganciclovir)、免疫刺激剂(例如:聚乙二醇基化干扰素 α 2a(PEG-IFN- α 2a)、干扰素 α -2b、重组体人类介白素-7、及Toll-样受体7(TLR7)促效剂)、治疗性疫苗(例如:GS-4774、DV-601、及TG1050)、病毒侵入抑制剂(例如:麦克乐斯(Myrclex)、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸(例如:REP 9AC)、壳体抑制剂(例如:Bay41-4109及NVR-1221)、cccDNA抑制剂(例如:IHVR-25)、或其他治疗剂和/或过程,例如:肝移植、用于HBV相关疾病的化疗法、上述任一者的组合。

[1560] 在一个实施例中,本发明方法包括对患有HBV感染和/或HBV-相关疾病的受试者给予反转录酶抑制剂。另在一个实施例中,本发明方法包括对患有HBV感染和/或HBV-相关疾病的受试者给予反转录酶抑制剂及免疫刺激剂。

[1561] iRNA剂(群)与另一种治疗剂和/或治疗法可能在相同时间和/或相同组合中给予,例如:非经肠胃式,或该另一种治疗剂成为分开组合物的一部分或在分开时间点和/或采用本领域中已知或本文说明的另一种方法给予。

[1562] 本发明还提供一种使用本发明iRNA剂和/或包含本发明iRNA剂的组合物于降低和/或抑制细胞中HBV表达的方法。其他方面中,本发明提供一种本发明iRNA和/或包含本发明iRNA的组合物,用于降低和/或抑制细胞中HBV基因的表达。再一方面中,提供一种以本发

明iRNA和/或包含本发明iRNA的组合物于制造供降低和/或抑制细胞中HBV基因的表达的医药上的方法。再另一方面中,本发明提供一种本发明iRNA和/或包含本发明iRNA的组合物,用于降低和/或抑制细胞中的HBV复制。再另一方面中,提供一种以本发明iRNA和/或包含本发明iRNA的组合物于制造用于降低和/或抑制细胞中HBV复制的医药上的用途。这些方法及用途包括使细胞与本发明iRNA(例如:dsRNA)接触并维持细胞一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间,借以抑制细胞中HBV基因的表达或抑制细胞中的HBV复制。

[1563] 可采用本领域中已知的任何方法分析基因表达的降低。例如:测定HBV表达的降低的方法可能为采用本领域普通技术人员公知的方法测定HBV的mRNA表达程度(例如:北方墨点法、qRT-PCR),采用本领域普通技术人员公知的方法测定HBV的蛋白质含量(如:西方墨点法、免疫技术,流式细胞计方法、ELISA),和/或测定HBV的生物活性。

[1564] 本发明方法与用途中,细胞可能于活体外或活体内(亦即细胞可能在受试者内)接触。

[1565] 适合使用本发明方法处理的细胞可为任何表达HBV基因的细胞。例如:感染HBV的细胞或包含含有HBV基因组或HBV基因的一部分的表达载体的细胞。适合用于本发明方法与用途的细胞可为哺乳动物细胞,例如:灵长类细胞(如:人类细胞或非人类灵长类细胞,例如:猴细胞或黑猩猩细胞)、非灵长类细胞(如:牛细胞、猪细胞、骆驼细胞、骆马细胞、马细胞、山羊细胞、兔子细胞、绵羊细胞、仓鼠细胞、天竺鼠细胞、猫细胞、狗细胞、大鼠细胞、小鼠细胞、狮子细胞、老虎细胞、熊细胞或水牛细胞)、鸟细胞(例如:鸭细胞或鹅细胞)、或鲸鱼细胞。在一个实施例中,细胞为人类细胞,例如:人类肝细胞。

[1566] 细胞中的HBV基因表达可能被抑制至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或约100%,亦即至分析检测度以下。

[1567] 细胞中的HBV复制可能被抑制至少约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或约100%,亦即至分析检测度以下。

[1568] 本发明的活体内方法与用途可包括对该受试者给予包含iRNA的组合物,其中该iRNA所包括的核苷酸序列可与所治疗哺乳动物的HBV基因的RNA转录本的至少一部分互补。当所治疗的生物体为人类时,该组合物可采用本领域中已知的任何方式给予,包括(但不限于):经皮下、经静脉内、经口、经腹膜内、或非经肠胃式途径,包括经颅内(例如:脑室内、侵

入性脑内与脊髓内)、经肌内、穿皮式、呼吸道(气雾剂)、经鼻、直肠与局部(包括颊与舌下)给予。在某些实施例中,该组合物是经皮下注射给予。在某些实施例中,该组合物是经静脉内输注或注射给予。其他实施例中,该组合物是经肌内注射给予。

[1569] 在一些实施例中,是经由储积式注射法给予。储积式注射可依持续方式长期释放iRNA。因此储积式注射法可减少为了达到所需效果(例如:需要抑制HBV,或治疗或预防效应)时的给予频率。储积式注射法还可提供更稳定的血清含量。储积式注射法可包括经皮下注射或经肌内注射。优选实施例中,储积式注射法为皮下注射法。

[1570] 在一些实施例中,是利用泵给予。该泵可能为体外泵或手术植入的泵。在某些实施例中,该泵为经皮下植入的渗透压泵。其他实施例中,该泵为输注泵。该输注泵可能用于经静脉内、经皮下、动脉或硬膜外输注。优选实施例中,该输注泵为皮下输注泵。其他实施例中,该泵为手术植入的泵,其可传递iRNA至肝脏。

[1571] 给予模式可依据是否需要局部或全身性治疗,且依据所治疗的区域来选择。可选择给予途径与部位来加强靶向性。

[1572] 一方面中,本发明还提供一种抑制哺乳动物(例如:人类)的HBV基因表达的方法。本发明还提供一种包含靶向哺乳动物细胞中HBV基因的iRNA(例如:dsRNA)的组合物,用于抑制哺乳动物的HBV基因表达。另一方面中,本发明提供一种靶向哺乳动物细胞的HBV基因的iRNA(例如:dsRNA)的用途,供制造抑制哺乳动物的HBV基因表达的医药。

[1573] 这些方法与用途包括对哺乳动物(例如:人类)给予包含靶向哺乳动物细胞的HBV基因的iRNA(例如:dsRNA)的组合物,并维持该哺乳动物一段足以达到HBV基因的mRNA转录本降解的时间,借以抑制哺乳动物的HBV基因表达。

[1574] 可采用本领域中已知的任何方法,例如:本文说明的qRT-PCR,来分析该接受iRNA给予的受试者的周边血液样品的基因表达的降低。可采用本领域中已知的任何方法及采用本文说明的方法,例如:ELISA或西方墨点法,分析蛋白质产物的降低。在一个实施例中,可采用肝穿刺切片样品作为组织材料,来追踪HBV基因和/或蛋白质表达的降低。另在一个实施例中,以血液样品作为组织材料,来追踪HBV基因和/或蛋白质表达的降低。

[1575] 在一个实施例中,采用本领域中已知5'-RACE或其修改程序来证实给予iRNA剂后,RISC于活体内介导裂解标靶(Lasham A等人(2010)Nucleic Acid Res.,38(3)p-e19)(Zimmermann等人(2006)Nature 441:111-4)。

[1576] 本发明利用下列实例进一步说明,这些实例不应构成限制性实例。本文所摘录所有参考文献、专利案与公开的专利申请案,及图示与序列表等揭示内容均已以引用的方式并入本文中。

[1577] 实例

[1578] 实例1.iRNA合成法

[1579] 试剂来源

[1580] 若本文中未明确说明试剂来源时,则这些试剂可得自任何分子生物学试剂供货商,依分子生物学应用的品质/纯度标准。

[1581] 转录本

[1582] siRNA设计

[1583] 采用两种主要因素选择靶向HBV的siRNA设计:a)效力及b)稳定性,使用与所有已

知血清型的大量已公开HBV序列(A至H)达超过90%比例的完全匹配的siRNA的需求。选择siRNA时的协调性是相对于NCBI HBV参考基因组序列NC_003977.1 (GenBank Accession No. GI:21326584 (SEQ ID NO:1) 决定。设计、合成及于活体外筛选包含结构活性修饰的第一组siRNA,包括集中在编码表面抗原(HbSAg)与HBV聚合酶的HBV基因组的两个相邻区的各种不同2'-O-甲基及2'-氟取代形式。设计、合成及筛选靶向其他靶区的第二组siRNA,该靶区特别着重于除了编码HbSAg与聚合酶外,还编码X基因的SEQ ID NO:1的位置1581-1599。

[1584] 未修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表示于表3。

[1585] 经修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表示于表4。

[1586] siRNA合成法

[1587] HBV siRNA序列是依1 μ mol规模,于Mermade 192合成仪(BioAutomation)上,使用固态支撑体媒介的亚磷酰胺化学所合成。该固态支撑体为控制孔径的玻璃(500Å),添加订制的GalNAc配体或通用的固态支撑体(AM biochemical)。Ancillary合成试剂、2'-F与2'-O-甲基RNA及脱氧亚磷酰胺得自Thermo-Fisher (Milwaukee, WI) 及Hongene (China)。利用对应的亚磷酰胺引进2'-F/2'-O-甲基、GNA(二醇核酸)、5'磷酸酯及无碱基修饰。与3' GalNAc接合的单链的合成法是经GalNAc修饰的CPG支撑体上进行。采用订制的CPG通用固态支撑体来合成反义单链。所有亚磷酰胺(100mM乙腈溶液)使用5-乙基硫-1H-四唑(ETT)作为活化剂(0.6M乙腈溶液)的偶合时间为5分钟。使用50mM 3-((二甲基氨基-亚甲基)氨基)-3H-1,2,4-二噻唑-3-硫酮(DDTT,得自Chemgenes (Wilmington, MA, USA))于无水乙腈/吡啶(1:1v/v)中的溶液产生硫代磷酸酯键联基。氧化时间为3分钟。所有序列在最后脱除DMT基团(“去除DMT”)后即合成。

[1588] 当完成固相合成法时,从固态支撑体上裂解寡核糖核苷酸,并于密封的96-深孔盘中,使用200 μ L甲基胺水溶液试剂,于60°C下20分钟,以脱除保护基。裂解步骤及脱除保护基步骤结束后,让合成盘回升室温,添加1mL乙腈:乙醇混合物(9:1)让沉淀析出。分析盘于-80°C下冷却2小时,借助多注吸管小心倾析上清液。寡核苷酸集结块再悬浮于20mM NaOAc缓冲液中,使用5mL HiTrap分子筛析管柱(GE Healthcare),于加装A905自动取样器与Frac 950溶出液收集器的AKTA纯化系统上脱盐。于96-孔盘中收集脱盐的样本。采用LC-MS分析来自各序列的样本,判别同一性,以UV(260nm)定量,及采用IEX层析法测定所选择一组样本的纯度。

[1589] 于Tecan液体自动操作器上黏合HBV单链。于96孔盘中组合正义与反义单链的等摩尔混合物并黏合。互补的单链组合后,密封96-孔盘,于100°C烘箱中加热10分钟,并经过2-3小时慢慢回升至室温。于1X PBS中校正各双螺旋浓度至10 μ M。

[1590] 实例2. 活体外筛选siRNA双螺旋

[1591] 细胞培养与转染

[1592] 取Cos7细胞(ATCC, Manassas, VA)于37°C与5%CO₂氛围下,于补充10%FBS的DMEM(ATCC)中生长至接近汇合,然后使用胰蛋白酶处理,从培养板释出细胞。使用脂染胺(Lipofectamine) 2000 (Invitrogen, Carlsbad CA. 目录#11668-019),让在包含约1.1kb HBV基因组序列的psiCHECK2质体中所产生的Dual-Glo®荧光素酶构建体转染至约15 \times 10⁴个细胞中。在96孔盘各孔中,添加0.2 μ L脂染胺至含10ng质体载体的14.8 μ L Opti-MEM中,并于室温下复合15分钟。然后添加混合物至已再悬浮于80 μ L新鲜完全培养基的细胞中。

约24小时后,排除培养基,使用siRNA再转染细胞。让各siRNA转染至已先经过psiCHECK2-HBV载体(其已与siRNA完全匹配)转染的细胞中。siRNA的转染法是在添加14.8μl Opti-MEM加0.2μl脂染胺RNAiMax(Invitrogen,Carlsbad CA.目录#13778-150)至96孔盘中每孔5μl siRNA双螺旋中,于室温下培养15分钟。然后添加混合物至已先经过psiCHECK2-HBV质体(其已与siRNA序列完全匹配)转染的细胞中。细胞培养24小时后,测定荧光素酶。

[1593] 以10nM及0.01nM最终双螺旋浓度进行单剂量实验。

[1594] *Dual-Glo*[®] 荧光素酶分析法

[1595] siRNA转染24小时后,测定萤火虫(转染对照组)与海肾(Rinella)(与HBV标靶序列耦合)荧光素酶。首先,排除细胞的培养基。然后在各孔中添加等于培养基体积的75μl *Dual-Glo*[®] 荧光素酶试剂并混合,来测定萤火虫荧光素酶活性。于室温下培养混合物30分钟后,于Spectramax(Molecular Devices)上测定发光度(500nm),以检测萤火虫荧光素酶讯号。海肾荧光素酶活性测定法为添加75μl室温的*Dual-Glo*[®]*Stop & Glo*[®]试剂至各孔中,分析盘培养10-15分钟后,再度测定发光度,以测定海肾荧光素酶讯号。以*Dual-Glo*[®]*Stop&Glo*[®]试剂中止萤火虫荧光素酶讯号,并维持海肾荧光素酶反应的发光。以各孔的海肾(HBV)讯号相对于萤火虫(对照组)讯号校正,测定siRNA活性。然后相对于经过相同载体转染但未经过siRNA处理的细胞或经过非靶向siRNA处理的细胞分析siRNA活性程度。所有转染法均进行n=2或更多。

[1596] 表5显示经过所指定HBV iRNA转染的Cos7细胞的单剂量筛选结果。数据是以相对于阴性对照组的mRNA残留百分比表示。

[1597] 表2.所出示核酸序列中所采用的核苷酸单体缩写。应了解,这些单体当存在于寡核苷酸中时,是利用5'-3'-磷酸二酯键彼此互相键联,除非另有说明。

[1598]

缩写	核苷酸
A	腺苷-3'-磷酸
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸
As	腺苷-3'-硫代磷酸
C	胞苷-3'-磷酸

[1599]

Cf	2'-氟胞苷-3'-磷酸
Cfs	2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸
G	鸟苷-3'-磷酸
Gf	2'-氟鸟苷-3'-磷酸
Gfs	2'-氟鸟苷-3'-硫代磷酸
Gs	鸟苷-3'-硫代磷酸
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸
Tfs	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
U	尿苷-3'-磷酸
Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸
Us	尿苷-3'-硫代磷酸
N	任何核苷酸 (G、A、C、T 或 U)
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸
cs	2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸
g	2'-O-甲基鸟苷-3'-磷酸
gs	2'-O-甲基鸟苷-3'-硫代磷酸
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
s	硫代磷酸根键联基
L96	N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基)]-4-羟基脯氨酸 Hyp-(GalNAc-烷基) ₃

[1600]

(dT)	2'-脱氧胸苷-3'-磷酸
Y34	2-羟基甲基-四氢呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯 (无碱基 2'-OMe 呋喃糖)
Y44	2-羟基甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯
(Agn)	腺苷-二醇核酸 (GNA)
(Tgn)	胸苷-二醇核酸 (GNA) S-异构物
(Cgn)	胞苷-二醇核酸 (GNA)
P	磷酸酯
VP	乙烯基-磷酸酯

[1601]

表 3. HBV dsRNA 的未经修饰正义与反义链序列

双螺旋名称	正义寡聚物 名称	正义序列 (5'向3')	SEQ ID NO	反义寡聚物 名称	反义序列 (5'向3')	SEQ ID NO:	NC_003977.1 中的位置
AD-61522.2	A-123463.2	AGUUAUAUGGAUGAUGGUA	47	A-123464.2	UACCACAUCAUCCAUAUAACUGA	263	731_753
AD-61547.2	A-123487.2	GGAUGUGUCUGCGGCUUUA	48	A-123488.2	UAAACGCCGACAGACAUCCAG	264	373_395
AD-63938.2	A-127896.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	49	A-127897.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	265	250_272
AD-63939.2	A-127909.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	50	A-127906.3	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	266	250_272
AD-63940.2	A-127917.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	51	A-127906.11	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	267	250_272
AD-63941.2	A-127905.8	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	52	A-127925.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	268	250_272
AD-63942.2	A-127933.1	UCGUGGUGGACUUCUCA	53	A-127934.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGU	269	252_274
AD-63943.2	A-127944.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	54	A-127942.2	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	270	250_272
AD-63945.2	A-127910.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	55	A-127906.4	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	271	250_272
AD-63946.2	A-127918.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	56	A-127906.12	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	272	250_272
AD-63947.2	A-127905.9	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	57	A-127926.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	273	250_272
AD-63948.2	A-127935.1	GUGGUGGACUUCUCA	58	A-127936.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGACGA	274	254_276
AD-63949.2	A-127944.3	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	59	A-127906.14	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	275	250_272
AD-63950.2	A-127900.1	UCGUGGUGGACUUCUCAU	60	A-127901.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAU	276	252_274
AD-63951.2	A-127911.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	61	A-127906.5	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	277	250_272
AD-63952.2	A-127905.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	62	A-127919.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	278	250_272
AD-63953.2	A-127905.10	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	63	A-127927.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	279	250_272
AD-63955.2	A-127945.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	64	A-127940.3	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	280	250_272
AD-63956.2	A-127902.1	UCGUGGUGGACUUCUCA	65	A-127903.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAU	281	252_274
AD-63957.2	A-127912.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	66	A-127906.6	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	282	250_272
AD-63958.2	A-127905.3	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	67	A-127920.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	283	250_272
AD-63959.2	A-127905.11	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	68	A-127928.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	284	250_272
AD-63960.2	A-126619.2	UAUUUCCUAGGGUACAA	69	A-127938.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGACGA	285	254_276
AD-63961.2	A-127945.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	70	A-127942.3	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	286	250_272

[1602]

AD-63962.2	A-127902.2	UCGUGGUGGACUUCUCUCA	71	A-127904.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUU	287	252_274
AD-63963.2	A-127913.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	72	A-127906.7	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	288	250_272
AD-63964.2	A-127905.4	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	73	A-127921.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	289	250_272
AD-63965.2	A-127905.12	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	74	A-127929.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	290	250_272
AD-63966.2	A-127939.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	75	A-127940.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	291	250_272
AD-63967.2	A-127945.3	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	76	A-127906.15	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	292	250_272
AD-63968.2	A-127905.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	77	A-127906.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	293	250_272
AD-63968.4	A-127905.15	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	78	A-127906.17	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	294	250_272
AD-63968.5	A-127905.17	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	79	A-127906.18	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	295	250_272
AD-63969.2	A-127914.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	80	A-127906.8	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	296	250_272
AD-63970.2	A-127905.5	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	81	A-127922.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	297	250_272
AD-63971.2	A-127905.13	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	82	A-127930.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	298	250_272
AD-63972.2	A-127941.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	83	A-127942.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	299	250_272
AD-63973.2	A-127946.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	84	A-127947.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	300	250_272
AD-63975.2	A-127915.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	85	A-127906.9	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	301	250_272
AD-63976.2	A-127905.6	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	86	A-127923.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	302	250_272
AD-63977.2	A-127917.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	87	A-127931.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	303	250_272
AD-63978.2	A-127943.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	88	A-127906.13	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	304	250_272
AD-63979.2	A-127908.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	89	A-127906.2	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	305	250_272
AD-63980.2	A-127916.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	90	A-127906.10	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	306	250_272
AD-63981.2	A-127905.7	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	91	A-127924.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	307	250_272
AD-63982.2	A-127917.3	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	92	A-127932.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	308	250_272
AD-63983.2	A-127944.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	93	A-127940.2	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUUCU	309	250_272
AD-63985.2	A-127961.1	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	94	A-127956.4	AAAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	310	254_276
AD-63986.2	A-127969.1	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	95	A-127956.12	AAAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	311	254_276
AD-63987.2	A-127955.9	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	96	A-127977.1	AAAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	312	254_276
AD-63988.2	A-127986.1	UGGACUUCUCUCAUUU	97	A-127987.1	AAAUUGAGAGAAAGUCCACC	313	258_280

[1603]

AD-63989.2	A-127996.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	98	A-127992.2	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	314	254_276
AD-63990.2	A-127950.1	GGUGGACUUCUCUCAAUUUU	99	A-127951.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACC UU	315	256_278
AD-63991.2	A-127962.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	100	A-127956.5	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	316	254_276
AD-63992.2	A-127955.2	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	101	A-127970.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	317	254_276
AD-63993.2	A-127955.10	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	102	A-127978.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	318	254_276
AD-63994.2	A-127984.2	GGUGGACUUCUCUCAAUUU	103	A-127988.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	319	256_278
AD-63995.2	A-127996.2	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	104	A-127993.2	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	320	254_276
AD-63996.2	A-127952.1	GGUGGACUUCUCUCAAUUU	105	A-127953.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACC UU	321	256_278
AD-63997.2	A-127963.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	106	A-127956.6	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	322	254_276
AD-63999.2	A-127955.11	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	107	A-127979.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	323	254_276
AD-64000.2	A-127986.2	UGGACUUCUCUCAAUUU	108	A-127989.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACC	324	258_280
AD-64001.2	A-127996.3	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	109	A-127994.2	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	325	254_276
AD-64002.2	A-127952.2	GGUGGACUUCUCUCAAUUU	110	A-127954.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACC UU	326	256_278
AD-64003.2	A-127964.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	111	A-127956.7	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	327	254_276
AD-64004.2	A-127955.4	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	112	A-127972.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	328	254_276
AD-64005.2	A-127955.12	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	113	A-127980.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	329	254_276
AD-64006.2	A-127990.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	114	A-127991.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	330	254_276
AD-64007.2	A-127996.4	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	115	A-127995.2	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	331	254_276
AD-64008.2	A-127955.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	116	A-127956.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	332	254_276
AD-64008.4	A-127955.15	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	117	A-127956.14	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	333	254_276
AD-64009.2	A-127965.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	118	A-127956.8	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	334	254_276
AD-64010.2	A-127955.5	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	119	A-127973.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	335	254_276
AD-64011.2	A-127955.13	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	120	A-127981.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	336	254_276
AD-64012.2	A-127990.2	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	121	A-127992.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	337	254_276
AD-64013.2	A-127997.1	GUGGUGGACTTCUCUCAAUUU	122	A-127998.1	AAUUGAGAGAAAGTCCACCACGA	338	254_276
AD-64014.2	A-127957.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	123	A-127958.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	339	254_276
AD-64015.2	A-127966.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	124	A-127956.9	AAUUGAGAGAAAGUCCACCACGA	340	254_276

[1604]

AD-64016.2	A-127955.6	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	125	A-127974.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	341	254_276
AD-64017.2	A-127968.2	GUGGUGGACUTUCUCAAUUU	126	A-127982.1	AAAUGAGAGAAAGTCCACCACGA	342	254_276
AD-64018.2	A-127990.3	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	127	A-127993.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	343	254_276
AD-64019.2	A-127959.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	128	A-127956.2	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	344	254_276
AD-64020.2	A-127967.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	129	A-127956.10	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	345	254_276
AD-64021.2	A-127955.7	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	130	A-127975.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	346	254_276
AD-64022.2	A-127968.3	GUGGUGGACUTUCUCUCAAUUU	131	A-127983.1	AAAUGAGAGAAAGTCCACCACGA	347	254_276
AD-64023.2	A-127990.4	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	132	A-127994.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	348	254_276
AD-64024.2	A-127960.1	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	133	A-127956.3	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	349	254_276
AD-64025.2	A-127968.1	GUGGUGGACUTUCUCUCAAUUU	134	A-127956.11	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	350	254_276
AD-64026.2	A-127955.8	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	135	A-127976.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	351	254_276
AD-64027.2	A-127984.1	GGUGGACUUCUCUCAAUUU	136	A-127985.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCAC	352	256_278
AD-64028.2	A-127990.5	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	137	A-127995.1	AAAUGAGAGAAAGUCCACCACGA	353	254_276
AD-6427.2	A-128001.2	GUGCACUUCGCUUACCCUCUG	138	A-128002.2	CAGAGGUGAAGCGGAAGUGCACAC	354	1577_1599
AD-64274.1	A-128363.1	GUUGACAAAAAUCCUCACAAU	139	A-128364.1	AUUGAGGGAUUUUUGUCAACAA	355	215_237
AD-64275.1	A-128377.1	UGUUGACAAAAAUCCUCACAA	140	A-128378.1	UUGAGGGAUUUUUGUCAACAAAG	356	214_236
AD-64276.1	A-128393.1	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	141	A-128394.1	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	357	256_278
AD-64277.1	A-128407.1	UCUUUUGGAGUGUGGAUUCGA	142	A-128408.1	UCGAAUCCACACUCCAAAAGACA	358	2259_2281
AD-64277.1	A-128407.1	UCUUUUGGAGUGUGGAUUCGA	143	A-128408.1	UCGAAUCCACACUCCAAAAGACA	359	2259_2281
AD-64278.1	A-128423.1	ACUGUUCAAAGCCUCCAAAGCUA	144	A-128424.1	UAGCUUGGAGGCUUUGAACAAAGAC	360	1857_1879
AD-64279.1	A-128435.1	UCUGCCGAUCCAUACUGCGGA	145	A-128436.1	UCCGCAGUAUUGGAUCGCGCAGAGG	361	1255_1277
AD-64280.1	A-128379.1	AUGUGUCUGCGGCGUUUUUAUA	146	A-128380.1	UAUAAAAACGCCGACAGACAUCC	362	375_397
AD-64281.1	A-128395.1	CCCCGUCUGGCCUUCUCAUA	147	A-128396.1	UAUGAGAAAGGCACAGACGGGAG	363	1545_1567
AD-64282.1	A-128409.1	GCCUAUAUCAUCUCUUGUUCAU	148	A-128410.1	AUGAACAAAGAGAUUAUAGCGAG	364	1831_1853
AD-64283.1	A-128425.1	UCUAGACUCUGUGGUGGACUUC	149	A-128426.1	GAAUCCACCACGAGUCUAGACU	365	245_267
AD-64284.1	A-128437.1	CUGCCGAUCCAUACUGCGGAA	150	A-128438.1	UUCCGCAGUAUUGGAUCGGCAGAG	366	1256_1278
AD-64285.1	A-128365.1	UUUUUCUUGUUGACAAAAUA	151	A-128366.1	UAUUUUUGUCAACAAGAAAAACC	367	207_229

[1605]

AD-64286.1	A-128381.1	AUCUUCUUGUUGUUCUUCUA	152	A-128382.1	UAGAAGAACCAACAAGAAUGA	368	426_448
AD-64289.1	A-128367.1	GUUUUUUUUUUGACAAAAU	153	A-128368.1	AUUUUUUCACAAAGAAAAACCC	369	206_228
AD-64290.1	A-128383.1	CUGCCUAAUUAUCUCUUGUUA	154	A-128384.1	UAAACAAGAGAUUAUAGGCAGAG	370	1829_1851
AD-64291.1	A-128399.1	UCCUCACAAUACACACAGAGUA	155	A-128400.1	UACUCUGUGUAUUGUGAGGAUU	371	226_248
AD-64292.1	A-128413.1	CUUGUUGACAAAAUCCUCAA	156	A-128414.1	UUAGGAUUUUUUGUCAACAAGAA	372	212_234
AD-64293.1	A-128439.1	GCAACUUUUUACACCUCUGCCU	157	A-128440.1	AGGCAGAGGUAAAAAGUUGCAU	373	1814_1836
AD-64294.1	A-128369.1	GGGAACAAGAGCUACAGCAUA	158	A-128370.1	UAUGCUGUAGCUCUUGUCCCAA	374	2828_2850
AD-64295.1	A-128385.1	CGUGGUGGACUUCUCUCAUU	159	A-128386.1	AAUUGAGAGAAAGUCCACCAGCAG	375	253_275
AD-64297.1	A-128415.1	CUGCUGCUAUGCCUCAUCUUA	160	A-128416.1	UAAAGAUAGGCAUAGCAGCAGGA	376	411_433
AD-64298.1	A-128427.1	GUUGGAUGUGUCUGCGGCGUU	161	A-128428.1	AACGCCGACAGACACAUCCAAACGA	377	370_392
AD-64299.1	A-128441.1	UUCAUCCUGCUGCUAUGCCUA	162	A-128442.1	UAGGCAUAGCAGCAGGGAUAAAGA	378	405_427
AD-64300.1	A-128371.1	UUCUUGUUUGACAAAAUCCUA	163	A-128372.1	UAGGAUUUUUUGUCAACAAGAAAA	379	210_232
AD-64302.1	A-128417.1	UAUAUGGAUGAUGUGUAUUA	164	A-128418.1	UAAUACCACAUCAUCCAUUAUAAAC	380	734_756
AD-64303.1	A-128429.1	UUCAUCCUGCUGCUAUGCCUC	165	A-128430.1	GAGGCAUAGCAGCAGGGAUAAAGA	381	405_427
AD-64304.1	A-128443.1	GUGCACUUCGCUUACCCUUA	166	A-128444.1	UAGAGGUGAAGCGAAGUUGCACAC	382	1577_1599
AD-64305.1	A-128373.1	UUGACAAAAAUCCUCACAAUA	167	A-128374.1	UAUUGAGGGAUUUUUGUCAACA	383	216_238
AD-64307.1	A-128403.1	AAGCCUCCAAGCUGUGCCUUA	168	A-128404.1	UAAAGGCACAGCUUGGAGGCUUGA	384	1864_1886
AD-64308.1	A-128419.1	CCUCUUCAUCCUGCUGCUUAUA	169	A-128420.1	UAUAGCAGCAGGGAUAAAGAGGAA	385	401_423
AD-64309.1	A-128431.1	CCUGCUGCUAUGCCUCAUCUU	170	A-128432.1	AAGAUGAGGCAUAGCAGCAGGGAU	386	410_432
AD-64310.1	A-128375.1	CAUCUUCUUGUUGGUUUCUUCU	171	A-128376.1	AGAAGAACCACAAAGAAAGAUAGAG	387	425_447
AD-64311.1	A-128391.1	CCGUCUGUGCCUUCUCAUCUA	172	A-128392.1	UAGAUGAGAAGGCACAGACGGGG	388	1547_1569
AD-64312.1	A-128405.1	CCUCAUCUUUCUUGUUGGUUCU	173	A-128406.1	AGAACCACAAAGAAAGAUAGAGGCA	389	422_444
AD-64313.1	A-128421.1	CCACCAAAUUGCCCCUAUCUUA	174	A-128422.1	UAAAGAUAGGGGCAUUUGGUGGUC	390	2298_2320
AD-64314.1	A-128433.1	GCUCUCUGCCGAUCCAUACU	175	A-128434.1	AGUAUGGAUCGGCAGAGAGGCCA	391	1250_1272
AD-64315.1	A-128363.2	GUUGACAAAAAUCCUCACAAU	176	A-128445.1	AUUGUGAGGAUUUUUGUCAACAA	392	215_237
AD-64316.1	A-128377.2	UGUUGACAAAAAUCCUCACAA	177	A-128453.1	UUUGAGGAUUUUUGUCAACAAG	393	214_236
AD-64317.1	A-128393.2	GGUGACUUCUCUCAAUUUA	178	A-128461.1	UAAAAUUUGAGAGAAAGUCCACCAC	394	256_278

[1606]

AD-64318.1	A-128407.2	UCUUUGGAGUGGUAUCGA	179	A-128469.1	UCGAAUCCACACUCCAAAAGACA	395	2259_2281
AD-64318.1	A-128407.2	UCUUUGGAGUGGUAUCGA	180	A-128469.1	UCGAAUCCACACUCCAAAAGACA	396	2259_2281
AD-64319.1	A-128423.2	ACUGUCAAAGCCUCCAAGCUA	181	A-128477.1	UAGCUUGGAGGCUUGAACAAAGAC	397	1857_1879
AD-64320.1	A-128435.2	UCUGCCGAUCCAUACUGCGGA	182	A-128483.1	UCCGCAGUAUGGAUCGGCAGAGG	398	1255_1277
AD-64321.1	A-123463.3	AGUUAUAUGGAUGAUGUGGUA	183	A-128446.1	UACCACAUCAUCCAUAUAACUGA	399	731_753
AD-64322.1	A-128379.2	AUGUGUCUGCGGCUUUUAUA	184	A-128454.1	UAUAAAACGCCGCAGACACAUCC	400	375_397
AD-64323.1	A-128395.2	CCCCGUCUGUGCCUUCUCAUA	185	A-128462.1	UAUGAGAAGGCACAGACGGGAG	401	1545_1567
AD-64324.1	A-128409.2	GCCUAAUCAUCUUGUUAU	186	A-128470.1	AUGAACAAAGAGAUGAUUAGCGAG	402	1831_1853
AD-64325.1	A-128425.2	UCUAGACUCUGUGGAGACUUC	187	A-128478.1	GAAGUCCACCACGAGUCUAGACU	403	245_267
AD-64326.1	A-128437.2	CUGCCGAUCCAUACUGCGGAA	188	A-128484.1	UUCCGCAGUAUGGAUCGGCAGAG	404	1256_1278
AD-64328.1	A-128381.2	AUCUUCUUGUGGUAUCUUA	189	A-128455.1	UAGAAGAACAACAAGAAAGUA	405	426_448
AD-64330.1	A-128411.2	UUCUCUCAAUUUUCUAGGGGA	190	A-128471.1	UCCCCUAGAAAAUUGAGAGAAU	406	263_285
AD-64331.1	A-127905.16	ACUCGUGGUGGACUUCUCA	191	A-127907.2	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	407	250_272
AD-64332.1	A-128001.3	GUGCACUUCGCUACCCUCUG	192	A-128485.1	CAGAGGUGAAGCGAAGUGCACAC	408	1577_1599
AD-64333.1	A-128367.2	GUUUUUCUUGUUGACAAAAAU	193	A-128448.1	AUUUUUGUCAACAAGAAAAACCC	409	206_228
AD-64334.1	A-128383.2	CUGCCUAAUUAUCUCUUGUUA	194	A-128456.1	UAACAAGAGAUGAUUAGGCAGAG	410	1829_1851
AD-64335.1	A-128399.2	UCCUCACAAUACACACAGUA	195	A-128464.1	UACUCUGUGGUAUUGUGAGGAUU	411	226_248
AD-64336.1	A-128413.2	CUUGUUGACAAAAAUCCUCA	196	A-128472.1	UUAGGAAUUUUUGUCAACAAGAA	412	212_234
AD-64337.1	A-127955.16	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	197	A-127958.2	AAAUGAGAGAAGUCCACCACGA	413	254_276
AD-64338.1	A-128439.2	GCAACUUUUUACCCUCUGCCU	198	A-128486.1	AGGCAGAGGUGAAAAAGUUGCAU	414	1814_1836
AD-64339.1	A-128369.2	GGGAACAAGAGCUACAGCAUA	199	A-128449.1	UAUUCUGUAGCUCUUGUCCCAA	415	2828_2850
AD-64341.1	A-128401.2	UCAUCUUCUUUGUUGUUCUUA	200	A-128465.1	UAAAGAACCAACAAGAAAGUAGG	416	424_446
AD-64342.1	A-128415.2	CUGCUGCUAUGCCUCAUCUUA	201	A-128473.1	UAAAGAUGAGGCAUAGCAGAGGA	417	411_433
AD-64343.1	A-128427.2	GUUGGAUGUGUCUGCGGCGUU	202	A-128479.1	AACGCCGCAGACACAUCCAACGA	418	370_392
AD-64344.1	A-128441.2	UUCAUCCUGCUGCUAUGCCUA	203	A-128487.1	UAGGCAUAGCAGCAGGAUGAAGA	419	405_427
AD-64345.1	A-128371.2	UUUUUGUUGACAAAAAUCCUA	204	A-128450.1	UAGGAUUUUUUGUCAACAAGAAAA	420	210_232
AD-64347.1	A-123487.3	GGAUGUGUCUGCGGCGUUUA	205	A-128466.1	UAAAAACGCCGCAGACACAUCCAG	421	373_395

[1607]

AD-64348.1	A-128417.2	UAUAUGGAUGAUGGUAUAUA	206	A-128474.1	UAAUACCACAUCUCCAUUAAC	422	734_756
AD-64349.1	A-128429.2	UUCAUCCUGUGCUAUGCCUC	207	A-128480.1	GAGGCAUAGCAGCAGGAUGAAGA	423	405_427
AD-64350.1	A-128443.2	GUGCACUUCGCUUACCCUCA	208	A-128488.1	UAGAGGUGAAGCGAAGUCACAC	424	1577_1599
AD-64351.1	A-128373.2	UUGACAAAAUCCUCACAAUA	209	A-128451.1	UAUUGAGGAUUUUUGUCAACA	425	216_238
AD-64352.1	A-128389.2	CCAAGUUUUGCUGACGCAAA	210	A-128459.1	UUUGCGUCAGCAAAACACUUGGCA	426	1174_1196
AD-64352.1	A-128389.2	CCAAGUUUUGCUGACGCAAA	211	A-128459.1	UUUGCGUCAGCAAAACACUUGGCA	427	1174_1196
AD-64353.1	A-128403.2	AAGCCUCCAAGCUGUGCCUUA	212	A-128467.1	UAAAGGCACAGCUUGGAGGCUUGA	428	1864_1886
AD-64354.1	A-128419.2	CCUCUUAUCCUGCUGCUAUA	213	A-128475.1	UAUAGCAGCAGGAUGAAGAGGAA	429	401_423
AD-64355.1	A-128431.2	CCUGCUGCUAUGCCUCAUCU	214	A-128481.1	AAGAUGAGGCAUAGCAGCAGGAU	430	410_432
AD-64356.1	A-128375.2	CAUCUUCUUGUUGGUUCUUCU	215	A-128452.1	AGAAGAACCAACAAGAAUGAG	431	425_447
AD-64357.1	A-128391.2	CCGUCUGUGCCUUCUCAUCA	216	A-128460.1	UAGAUGAGAAGGCACACAGCGGG	432	1547_1569
AD-64358.1	A-128405.2	CCUCAUCUUCUUGUUGGUUCU	217	A-128468.1	AGAACCAACAAGAAUGAGGCA	433	422_444
AD-64359.1	A-128421.2	CCACCAAAUGCCCCUAUCUUA	218	A-128476.1	UAAAGUAAGGGCAUUUGGUGGUC	434	2298_2320
AD-64360.1	A-128433.2	GCUCCUCUGCCGAUCCAUACU	219	A-128482.1	AGUAUGGAUUGGCAGAGAGGCCA	435	1250_1272
AD-64700.1	A-129379.1	ACUCGUGGUGTACUUCUCA	220	A-127906.26	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	436	250_272
AD-64701.1	A-127905.20	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	221	A-129387.1	UGAGAGAAGTCCACCACGAGUCU	437	250_272
AD-64702.1	A-127905.28	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	222	A-129395.1	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	438	250_272
AD-64703.1	A-129376.2	ACUCGUGGUGGACUUCACUCA	223	A-129385.5	UGAGAGAAGTCCACCACGAGUCU	439	250_272
AD-64704.1	A-129381.3	ACUCGUGGUGTACUUCACUCA	224	A-129389.6	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	440	250_272
AD-64705.1	A-129380.1	ACUCGUGGUGTACUUCACUCA	225	A-127906.27	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	441	250_272
AD-64706.1	A-127905.21	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	226	A-129388.1	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	442	250_272
AD-64707.1	A-127905.29	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	227	A-129396.1	UGAGAGAAGTCCACCACGAGUCU	443	250_272
AD-64708.1	A-129382.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	228	A-129385.6	UGAGAGAAGTCCACCACGAGUCU	444	250_272
AD-64709.1	A-129373.4	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	229	A-129391.2	UGAGAGAAGTCCACCACGAGUCU	445	250_272
AD-64710.1	A-129373.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	230	A-127906.20	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	446	250_272
AD-64711.1	A-129381.1	ACUCGUGGUGTACUUCACUCA	231	A-127906.28	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	447	250_272
AD-64712.1	A-127905.22	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	232	A-129389.1	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	448	250_272

[1608]

AD-64713.1	A-127905.30	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	233	A-129397.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	449	250_272
AD-64714.1	A-129384.2	ACUCGUGGTGGACUUCACUCA	234	A-129385.7	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	450	250_272
AD-64715.1	A-129376.4	ACUCGUGGUGGACUUCACUCA	235	A-129391.3	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	451	250_272
AD-64716.1	A-129374.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	236	A-127906.21	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	452	250_272
AD-64717.1	A-129382.1	ACUCGUGGTGGACUUCUCUCA	237	A-127906.29	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	453	250_272
AD-64718.1	A-127905.23	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	238	A-129390.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	454	250_272
AD-64719.1	A-127917.5	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	239	A-129385.2	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	455	250_272
AD-64720.1	A-129381.2	ACUCGUGGTGTACUUCACUCA	240	A-129385.8	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	456	250_272
AD-64721.1	A-129382.4	ACUCGUGGTGGACUUCUCUCA	241	A-129391.4	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	457	250_272
AD-64722.1	A-129375.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	242	A-127906.22	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	458	250_272
AD-64723.1	A-129383.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	243	A-127906.30	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	459	250_272
AD-64725.1	A-127917.6	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	244	A-129398.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	460	250_272
AD-64726.1	A-129373.3	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	245	A-129389.2	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	461	250_272
AD-64727.1	A-129384.4	ACUCGUGGTGGACUUCACUCA	246	A-129391.5	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	462	250_272
AD-64728.1	A-129376.1	ACUCGUGGUGGACUUCACUCA	247	A-127906.23	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	463	250_272
AD-64729.1	A-129384.1	ACUCGUGGTGGACUUCACUCA	248	A-127906.31	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	464	250_272
AD-64730.1	A-127905.25	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	249	A-129392.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	465	250_272
AD-64731.1	A-129399.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	250	A-129385.3	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	466	250_272
AD-64732.1	A-129376.3	ACUCGUGGUGGACUUCACUCA	251	A-129389.3	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	467	250_272
AD-64733.1	A-129381.4	ACUCGUGGTGTACUUCACUCA	252	A-129391.6	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	468	250_272
AD-64734.1	A-129377.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	253	A-127906.24	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	469	250_272
AD-64735.1	A-127905.18	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	254	A-129385.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	470	250_272
AD-64736.1	A-127905.26	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	255	A-129393.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	471	250_272
AD-64737.1	A-129399.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	256	A-129398.2	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	472	250_272
AD-64738.1	A-129382.3	ACUCGUGGTGGACUUCUCUCA	257	A-129389.4	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	473	250_272
AD-64739.1	A-129378.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	258	A-127906.25	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	474	250_272
AD-64740.1	A-127905.19	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	259	A-129386.1	UGAGAGAAAGTCCACACGAGUCU	475	250_272

[1609]

AD-64741.1	A-127905.27	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	260	A-129394.1	UGAGAGAAAGTCCACCCACGAGUCU	476	250_272
AD-64742.1	A-129373.2	ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	261	A-129385.4	UGAGAGAAAGTCCACCCACGAGUCU	477	250_272
AD-64743.1	A-129384.3	ACUCGUGGTGGACUUCACUCA	262	A-129389.5	UGAGAGAAAGUCCACCCACGAGUCU	478	250_272

表 4. HBV dsRNA 的经修饰正义与反义链序列

双螺旋名称	正义寡聚物 名称	正义序列 (5'向3')	SEQ ID NO:	反义寡聚物 名称	反义序列 (5'向3')	SEQ ID NO:
AD-61522.2	A-123463.2	AfsgsUfuAfuAfuGfGfAfuGfaUfgUfgGfuAfl.96	479	A-123464.2	usAfcCfaCfaUfcAfuCfaAfuAfuAfaCfusgsa	694
AD-61547.2	A-123487.2	GfsgsAfuGfuGfuCfuGfcGfgCfgUfuUfuAfl.96	480	A-123488.2	usAfsaAfaCfGcCfGfcagAfcAfcAfuCfcsasg	695
AD-63938.2	A-127896.1	Y44ACUCUGGUGGACUUCUCUCA	481	A-127897.1	UGAGAGAAAGUCCACCCACGAGUCU	696
AD-63939.2	A-127909.1	ascsucGfuGfgUfgGfGfaCfmcUfcucaL96	482	A-127906.3	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaGfuscsu	697
AD-63940.2	A-127917.1	ascsucgugugdGacumc(Tgn)cucaL96	483	A-127906.11	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaGfuscsu	698
AD-63941.2	A-127905.8	AfscsUfcGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	484	A-127925.1	usGfsaGfagaAfuCcaCfcAfcgaGfuscsu	699
AD-63942.2	A-127933.1	uscsGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	485	A-127934.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfagsu	700
AD-63943.2	A-127944.2	ascsucGfuGfgUfgGfGfaCfmcucuaL96	486	A-127942.2	usGfsAfgaGfaAfgUfccAfcAfcGfaguscscu	701
AD-63945.2	A-127910.1	ascsucguGfgUfgGfGfaCfmcUfcucaL96	487	A-127906.4	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaguscscu	702
AD-63946.2	A-127918.1	ascsucguGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	488	A-127906.12	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaguscscu	703
AD-63947.2	A-127905.9	AfscsUfcGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	489	A-127926.1	usGfsaGfagaagUfccAfcAfcgaGfuscsu	704
AD-63948.2	A-127935.1	gsusGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	490	A-127936.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcgsa	705
AD-63949.2	A-127944.3	ascsucGfuGfgUfgGfGfaCfmcucuaL96	491	A-127906.14	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaguscscu	706
AD-63950.2	A-127900.1	Y44UfcGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfsuY44	492	A-127901.1	usGfsasGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfau	707
AD-63951.2	A-127911.1	ascsucguGfgUfgGfGfaCfmcucuaL96	493	A-127906.5	usGfsaGfaGfaAfgUfccAfcAfcGfaguscscu	708
AD-63952.2	A-127905.2	AfscsUfcGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	494	A-127919.1	usGfsaGfaGfaagUfccAfcAfcGfaguscscu	709
AD-63953.2	A-127905.10	AfscsUfcGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	495	A-127927.1	usGfsagagaAfgUfccAfcAfcgaguscscu	710
AD-63955.2	A-127945.1	ascsucgugguGfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	496	A-127940.3	usGfsAfgAfgAfaGfuCfaCfGfAfguscscu	711
AD-63956.2	A-127902.1	Y44uscsGfuGfgUfgGfGfaCfuUfcUfcAfl.96	497	A-127903.1	usGfsaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfau	712

[1610]

AD-63957.2	A-127912.1	ascnucguGfgUfGfGfaenuecuaL96	498	A-127906.6	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfufscsu	713
AD-63958.2	A-127905.3	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	499	A-127920.1	usGfsagaGfaAfgUfccaCfcAfcgaGfufscsu	714
AD-63959.2	A-127905.11	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	500	A-127928.1	usGfsaGfagaAfgUfccaCfcAfcgagufscsu	715
AD-63960.2	A-126619.2	usasUfuUfcCfuAfgUfGfGfaCfuAfl96	501	A-127938.1	PusGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcsgsa	716
AD-63961.2	A-127945.2	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	502	A-127942.3	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	717
AD-63962.2	A-127902.2	Y44uscsGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	503	A-127904.1	PusGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	718
AD-63963.2	A-127913.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	504	A-127906.7	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	719
AD-63964.2	A-127905.4	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	505	A-127921.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcgagufscsu	720
AD-63965.2	A-127905.12	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	506	A-127929.1	usGfsagaGfaaGfufccaCfcAfcgagufscsu	721
AD-63966.2	A-127939.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	507	A-127940.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	722
AD-63967.2	A-127945.3	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	508	A-127906.15	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	723
AD-63968.2	A-127905.1	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	509	A-127906.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	724
AD-63968.4	A-127905.15	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	510	A-127906.17	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	725
AD-63968.5	A-127905.17	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	511	A-127906.18	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	726
AD-63969.2	A-127914.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	512	A-127906.8	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	727
AD-63970.2	A-127905.5	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	513	A-127922.1	usGfsagaGfaaGfufccaCfcAfcgaGfufscsu	728
AD-63971.2	A-127905.13	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	514	A-127930.1	usGfsagaGfaaGfufccaCfcAfcgagufscsu	729
AD-63972.2	A-127941.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	515	A-127942.1	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	730
AD-63973.2	A-127946.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	516	A-127947.1	usdGsaGfaGfaAfgdTccadCfcAfcGfagufscsu	731
AD-63975.2	A-127915.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	517	A-127906.9	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	732
AD-63976.2	A-127905.6	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	518	A-127923.1	usGfsagaGfaAfgUfccaCfcAfcgagufscsu	733
AD-63977.2	A-127917.2	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	519	A-127931.1	usdGsaGfaaGfufccaCfcAfcgagufscsu	734
AD-63978.2	A-127943.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	520	A-127906.13	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	735
AD-63979.2	A-127908.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	521	A-127906.2	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	736
AD-63980.2	A-127916.1	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	522	A-127906.10	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfagufscsu	737
AD-63981.2	A-127905.7	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfl96	523	A-127924.1	usGfsaGfagaAfgUfccaCfcAfcgaGfufscsu	738
AD-63982.2	A-127917.3	ascnucgugguGfGfaenuecuaL96	524	A-127932.1	PusdGsaGfaaGfufccaCfcAfcgagufscsu	739

[1611]

AD-63983.2	A-127944.1	ascsucGfuGfgGfaCfufGfaCfmucuecaL96	525	A-127940.2	usGfsAfgAfgAfaGfuuccaCfcaCfzAfguscsu	740
AD-63985.2	A-127961.1	gsusggugGfaCfufUfcUfcucAfaumL96	526	A-127956.4	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfaCfcsaga	741
AD-63986.2	A-127969.1	gsusggugGfaCfufUfcucCfaumL96	527	A-127956.12	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfaCfcsaga	742
AD-63987.2	A-127955.9	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	528	A-127977.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccAfcsgsa	743
AD-63988.2	A-127986.1	usgsGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	529	A-127987.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfascsc	744
AD-63989.2	A-127996.1	gsusggugGacUfUfcucuaumL96	530	A-127992.2	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	745
AD-63990.2	A-127950.1	Y44GfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	531	A-127951.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcsu	746
AD-63991.2	A-127962.1	gsusggugGfaCfufUfcUfcucuaumL96	532	A-127956.5	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	747
AD-63992.2	A-127955.2	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	533	A-127970.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	748
AD-63993.2	A-127955.10	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	534	A-127978.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccacsaga	749
AD-63994.2	A-127984.2	gsGfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	535	A-127988.1	PasAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsasc	750
AD-63995.2	A-127996.2	gsusggugGacUfUfcucuaumL96	536	A-127993.2	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	751
AD-63996.2	A-127952.1	Y44gsGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	537	A-127953.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcsu	752
AD-63997.2	A-127963.1	gsusggugGfaCfufUfcucuaumL96	538	A-127956.6	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	753
AD-63999.2	A-127955.11	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	539	A-127979.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccacsaga	754
AD-64000.2	A-127986.2	usgsGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	540	A-127989.1	PasAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfascsc	755
AD-64001.2	A-127996.3	gsusggugGacUfUfcucuaumL96	541	A-127994.2	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	756
AD-64002.2	A-127952.2	Y44gsGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	542	A-127954.1	PasAfsaUfuGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcsu	757
AD-64003.2	A-127964.1	gsusggugGacUfUfcucuaumL96	543	A-127956.7	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	758
AD-64004.2	A-127955.4	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	544	A-127972.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccacsaga	759
AD-64005.2	A-127955.12	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	545	A-127980.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccacsaga	760
AD-64006.2	A-127990.1	gsusGfgugGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	546	A-127991.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	761
AD-64007.2	A-127996.4	gsusggugGacUfUfcucuaumL96	547	A-127995.2	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	762
AD-64008.2	A-127955.1	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	548	A-127956.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	763
AD-64008.4	A-127955.15	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	549	A-127956.14	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	764
AD-64009.2	A-127965.1	gsusggugGacuUfcucuaumL96	550	A-127956.8	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsaga	765
AD-64010.2	A-127955.5	GfsusGfgUfgGfaCfufUfcUfcAfaUfuUfL96	551	A-127973.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaccAfcsgsa	766

[1612]

AD-64011.2	A-127955.13	GfsnsGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfaUfuUfL96	552	A-127981.1	asAfsaunGfagaagUfcCfaccacsgsa	767
AD-64012.2	A-127990.2	gsusGfgugGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfumuL96	553	A-127992.1	asAfsAfUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcacsgsa	768
AD-64013.2	A-127997.1	gsusggugacdTdTcucuaaumL96	554	A-127998.1	asdAsAfungaGfaGfaagdTdCaCfcacsgsa	769
AD-64014.2	A-127957.1	Y44GfsnsGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfaUfuUfL96	555	A-127958.1	PasAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	770
AD-64015.2	A-127966.1	gsusggugaCfuUfcucuc(Agn)aumL96	556	A-127956.9	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	771
AD-64016.2	A-127955.6	GfsnsGfgUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfL96	557	A-127974.1	asAfsaunGfaGfaGfaagUfcCfaccacsgsa	772
AD-64017.2	A-127968.2	gsusggugacudTcucuc(Agn)aumL96	558	A-127982.1	asdAsaunagagaagdTccaccacsgsa	773
AD-64018.2	A-127990.3	gsusGfgugGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfumuL96	559	A-127993.1	asAfsAfhuUfaGfaGfaagUfcCfaCfcacsgsa	774
AD-64019.2	A-127959.1	gsusggUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaunUfL96	560	A-127956.2	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	775
AD-64020.2	A-127967.1	gsusggugacuuUfcucuc(Agn)aumL96	561	A-127956.10	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	776
AD-64021.2	A-127955.7	GfsnsGfgUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfL96	562	A-127975.1	asAfsaUfugaGfaGfaagUfcCfaccAfcsghsa	777
AD-64022.2	A-127968.3	gsusggugacudTcucuc(Agn)aumL96	563	A-127983.1	PasDasaunagagaagdTccaccacsgsa	778
AD-64023.2	A-127990.4	gsusGfgugGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfumuL96	564	A-127994.1	asAfsAfUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcacsgsa	779
AD-64024.2	A-127960.1	gsusggUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaunUfL96	565	A-127956.3	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	780
AD-64025.2	A-127968.1	gsusggugacudTcucuc(Agn)aumL96	566	A-127956.11	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsghsa	781
AD-64026.2	A-127955.8	GfsnsGfgUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfL96	567	A-127976.1	asAfsaUfugaGfagaagUfcCfaccAfcsghsa	782
AD-64027.2	A-127984.1	gsuUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfL96	568	A-127985.1	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcacsgsa	783
AD-64028.2	A-127990.5	gsusGfgugGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfumuL96	569	A-127995.1	asAfsAfUfugaGfaGfaagUfcCfaCfcacsgsa	784
AD-64272.2	A-128001.2	GfsnsGfcAfcUfucGfcCfuUfcAfcCfuCfuUfL96	570	A-128002.2	csAfsagAfgGfuGfaAfagcGfaGfuGfcAfcsasc	785
AD-64274.1	A-128363.1	GfsnsUfgAfcAfaAfAfAfucCfcUfcAfcAfaUfL96	571	A-128364.1	asUfsuGfuUfgGfaGfaGfaGfaGfuCfaAfcsasa	786
AD-64275.1	A-128377.1	UfsusUfuGfaCfaAfAfAfAfUfcCfuCfaCfaAfL96	572	A-128378.1	usUfsuUfgAfgGfaUfumuUfgUfcAfaCfasasg	787
AD-64276.1	A-128393.1	GfsusUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfL96	573	A-128394.1	usAfsaAfaUfuGfaGfagaAfgUfcCfaCfcacsg	788
AD-64277.1	A-128407.1	UfsesUfuUfuGfgAfGfUfgUfgGfaUfucfGafL96	574	A-128408.1	usCfsgAfaUfcCfaCfacuCfcAfaAfaGfascsa	789
AD-64277.1	A-128407.1	UfsesUfuUfuGfgAfGfUfgUfgGfaUfucfGafL96	575	A-128408.1	usCfsgAfaUfcCfaCfacuCfcAfaAfaGfascsa	790
AD-64278.1	A-128423.1	AfsesUfgUfuCfaAfGfCfcUfcCfaAfGfCfuAfL96	576	A-128424.1	usAfsagCfuUfgGfaGfgcuUfgAfaCfaAfgsasc	791
AD-64279.1	A-128435.1	UfsesUfgCfcGfaUfcCfaUfaCfuGfcGfgAfL96	577	A-128436.1	usCfscGfcAfgUfaUfegaUfcGfgCfaGfasgsg	792
AD-64280.1	A-128379.1	AfsnsGfuGfuCfuGfCfGfgCfuUfuUfuAfL96	578	A-128380.1	usAfsuAfaAfaCfGcCfcGcAfaCfcAfusesc	793

[1613]

AD-64281.1	A-128395.1	CfsCsCfcGfuCfuGfuUfgCfuUfcUfcAfuAfl96	579	A-128396.1	usAfsuGfaGfaAfgGfcacAfgAfcGfgGfgsasg	794
AD-64282.1	A-128409.1	GfscsCfuAfaUfcAfuUfcCfuUfgUfuCfuAfl96	580	A-128410.1	asUfsgAfaCfaAfgAfgauGfaUfuAfgCfsgasg	795
AD-64283.1	A-128425.1	UfscsUfaGfaCfuCfuUfgGfuGfgAfcUfuCfl96	581	A-128426.1	gsAfsaGfuCfcAfcCfagAfgUfcUfaGfascsu	796
AD-64284.1	A-128437.1	CfsusGfcCfGfaAfuCfcAfuAfcUfgCfGfGfaAfl96	582	A-128438.1	usUfscCfGcGfaGfuAfuGfgAfuCfGfGfcAfgsasg	797
AD-64285.1	A-128365.1	UfsusUfuUfcUfuGfuUfgAfcAfaAfuAfl96	583	A-128366.1	usAfsuUfuUfuGfuCfaacAfaGfaAfaAfascc	798
AD-64286.1	A-128381.1	AfsusCfuUfcUfuGfuUfgGfuUfcUfuCfuAfl96	584	A-128382.1	usAfsGfaGfaAfcCfaacAfaGfaAfgAfuAfgsa	799
AD-64289.1	A-128367.1	GfscsUfuUfuCfuUfgGfuGfaCfaAfaAfuAfl96	585	A-128368.1	asUfsuUfuUfgUfcAfaCfaAfgAfaAfaAfcscsc	800
AD-64290.1	A-128383.1	CfsusGfcCfuAfaUfcAfuCfuCfuUfgUfuAfl96	586	A-128384.1	usAfsaCfaAfgAfgAfuAfuUfuUfgAfuAfgCfAfgsasg	801
AD-64291.1	A-128399.1	UfscsCfuCfaCfaAfuUfcAfcCfaCfaGfaGfuAfl96	587	A-128400.1	usAfsCufcUfgUfgGfuUfuUfgAfuUfgGfasusu	802
AD-64292.1	A-128413.1	CfsusUfgUfuGfaCfaAfaAfaUfcCfuCfuAfl96	588	A-128414.1	usUfsgAfgGfaUfuUfuUfuUfgUfcAfaCfaAfgsasa	803
AD-64293.1	A-128439.1	GfscsAfaCfuUfuUfcCfaCfcUfcUfgCfcUfl96	589	A-128440.1	asGfsgCfaGfaGfgUfgaaAfaAfgUfuGfcsasu	804
AD-64294.1	A-128369.1	GfsgsGfaAfcAfaGfaGfcUfaCfaGfcAfuAfl96	590	A-128370.1	usAfsuGfcUfgUfaGfcUfuUfuUfuUfcCfcsasa	805
AD-64295.1	A-128385.1	CfsgsUfgGfuGfgAfcUfuCfuCfuCfaAfuUfl96	591	A-128386.1	asAfsuUfgAfgAfgAfgAfgCfcAfcCfaGfcsasg	806
AD-64297.1	A-128415.1	CfsusGfcUfgCfuAfuUfgCfcCfuCfuUfuAfl96	592	A-128416.1	usAfsaGfaUfgAfgGfcAfaUfgCfaGfcAfgsasa	807
AD-64298.1	A-128427.1	GfscsUfgGfaUfgUfgUfcUfgCfGfcGfcGfuUfl96	593	A-128428.1	asAfsCfcCfGcCfaGfaCfaUfcCfaAfcsgsa	808
AD-64299.1	A-128441.1	UfsusCfaUfcCfuGfcUfgCfuAfuGfcCfuAfl96	594	A-128442.1	usAfsGfcAfuAfuUfgCfagcAfgGfaUfgAfasga	809
AD-64300.1	A-128371.1	UfsusCfuUfgUfuGfaCfaAfaAfaUfcCfuAfl96	595	A-128372.1	usAfsGfaUfuUfuUfgUfcAfaCfaAfgAfasasa	810
AD-64302.1	A-128417.1	UfsasUfaUfgGfaUfgAfuGfuGfgUfaUfuAfl96	596	A-128418.1	usAfsaUfaCfcAfcAfuCfaUfcCfaUfaUfasasc	811
AD-64303.1	A-128429.1	UfsusCfaUfcCfuGfcUfgCfuAfuGfcCfuCfl96	597	A-128430.1	gsAfsGfcAfuAfuUfgCfagcAfgGfaUfgAfasga	812
AD-64304.1	A-128443.1	GfscsGfcAfcUfuCfGfcUfuUfcAfcCfuAfl96	598	A-128444.1	usAfsGafGfuGfuCfaAfgCfagcAfaGfuGfcAfcscsc	813
AD-64305.1	A-128373.1	UfsusGfaCfaAfaAfaUfcCfuCfaCfaAfuAfl96	599	A-128374.1	usAfsuUfgUfgAfgGfaUfuUfuUfgUfcAfasasa	814
AD-64307.1	A-128403.1	AfsasGfcCfuCfcAfaAfgUfgUfgCfcUfuAfl96	600	A-128404.1	usAfsaGfgCfaCfaGfcUfgAfgGfcUfugsasa	815
AD-64308.1	A-128419.1	CfscsUfcUfuCfaUfcCfuGfcUfgCfuAfuAfl96	601	A-128420.1	usAfsuAfgCfaGfcAfgGfaUfgAfaGfaGfgsasa	816
AD-64309.1	A-128431.1	CfscsUfgCfuGfcUfaUfgCfcUfcAfuCfuUfl96	602	A-128432.1	asAfsGafuGfaGfgCfaaGfcAfgCfaGfgsasusu	817
AD-64310.1	A-128375.1	CfsasUfcUfuCfuUfgUfuGfgUfuCfuUfcUfl96	603	A-128376.1	asGfscAfgAfaCfcAfaCfaAfgAfaGfaUfgsasg	818
AD-64311.1	A-128391.1	CfscsGfuCfuGfuGfcCfcUfuUfcUfcAfuCfuAfl96	604	A-128392.1	usAfsGafuGfaGfaAfgGfcAfcAfgAfcGfgsgsg	819
AD-64312.1	A-128405.1	CfscsUfcAfuCfuUfcUfuGfuUfgGfuUfcUfl96	605	A-128406.1	asGfscAfcCfaAfcAfaGfaAfgAfuGfaGfgscsa	820

[1614]

AD-64313.1	A-128421.1	CfsCsAfcCfaAfaUfgCfcCfcUfaUfcUfuAfl96	606	A-128422.1	usAfsaGfaUfaGfgGfgeaUfuUfgGfuGfgsusc	821
AD-64314.1	A-128433.1	GfscsUfcCfuCfuGfcCfcGfaAfuCfcAfuAfcUfl96	607	A-128434.1	asGfsuAfuGfgAfuCfgecAfgAfgGfaGfcscsa	822
AD-64315.1	A-128363.2	GfscsUfgAfcAfaAfaAfuCfcUfcAfcAfaUfl96	608	A-128445.1	PasUfsuGfuGfaGfgAfuUfuUfuGfuCfaAfcscsa	823
AD-64316.1	A-128377.2	UfscsUfuGfaCfaAfaAfaUfcCfcCfaCfaAfl96	609	A-128453.1	PusUfsgUfgAfgGfaUfuUfuUfuUfcAfaCfasasg	824
AD-64317.1	A-128393.2	GfscsUfgGfaCfuUfcUfcUfcUfaAfuUfuAfl96	610	A-128461.1	PusAfsaAfaUfuGfaGfagaAfgUfcCfaCfcsasc	825
AD-64318.1	A-128407.2	UfscsUfuUfuGfgAfgUfgUfgGfaUfuCfcAfl96	611	A-128469.1	PusCfsgAfaUfcCfaCfaCfcAfaAfaGfascsa	826
AD-64319.1	A-128423.2	AfscsUfgUfuCfaAfaGfcUfcCfaAfaCfuAfl96	612	A-128477.1	PusAfsaCfuUfgGfaGfgcUfgAfaCfaAfgsasc	827
AD-64320.1	A-128435.2	UfscsUfgCfcGfaUfcCfaUfaCfuGfcGfgAfl96	613	A-128483.1	PusCfscGfcAfgUfaUfgaUfgGfgCfaGfascsg	828
AD-64321.1	A-123463.3	AfscsUfuAfuAfuGfgAfuGfaUfgUfgGfuAfl96	614	A-128446.1	PusAfsaCfaCfaUfcAfuAfuAfuAfuAfaCfusgsa	829
AD-64322.1	A-128379.2	AfscsGfuGfuCfuGfcGfgCfcUfuUfuAfuAfl96	615	A-128454.1	PusAfsuAfaAfaCfcCfcCfcAfcAfcAfcscsc	830
AD-64323.1	A-128395.2	CfscsCfcGfuCfuGfuUfgCfcUfcUfcAfuAfl96	616	A-128462.1	PusAfsuGfaGfaAfgGfcacAfgAfcGfgGfscasg	831
AD-64324.1	A-128409.2	GfscsCfuAfaUfcAfuUfcCfuUfgUfuCfaUfl96	617	A-128470.1	PasUfsgAfaCfaAfaAfgAfgaUfuAfgCfscasg	832
AD-64325.1	A-128425.2	UfscsUfaGfaCfuCfcGfgUfgGfuGfaAfcUfl96	618	A-128478.1	PgsAfsaGfuCfcAfcAfcAfcAfgUfcUfaGfascsu	833
AD-64326.1	A-128437.2	CfscsGfcCfcAfuCfcAfuAfcUfcCfcGfaAfl96	619	A-128484.1	PusUfscCfcCfaGfuAfuGfaAfuCfcGfcAfgsasc	834
AD-64328.1	A-128381.2	AfscsCfuUfcUfuGfuUfgGfuUfcUfuCfuAfl96	620	A-128455.1	PusAfsaAfaGfaAfcCfaacAfaGfaAfgAflsgsa	835
AD-64330.1	A-128411.2	UfscsCfuCfuCfaAfuUfuUfcUfaGfgGfgAfl96	621	A-128471.1	PusCfscCfcUfaGfaAfaUfuUfgAfgAfgAfgsu	836
AD-64331.1	A-127905.16	AfscsUfcGfuGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfl96	622	A-127907.2	PusGfsgGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfiscsu	837
AD-64332.1	A-128001.3	GfscsGfcAfcUfuCfcGfcUfuUfcAfcCfuGfl96	623	A-128485.1	PcsAfsaAfgGfuGfaAfgcAfaGfuGfcAfcscsc	838
AD-64333.1	A-128367.2	GfscsUfuUfuCfuUfgUfuGfaCfaAfaUfl96	624	A-128448.1	PasUfsuUfuUfgUfcAfaAfaAfaAfaAfcscsc	839
AD-64334.1	A-128383.2	CfscsGfcCfuAfaUfcAfuCfuCfuUfgUfuAfl96	625	A-128456.1	PusAfsaCfaAfgAfgAfuAfuAfgGfcAfgsasc	840
AD-64335.1	A-128399.2	UfscsCfuCfaCfaAfuAfcCfaCfaGfaGfuAfl96	626	A-128464.1	PusAfsaUfcUfgUfgGfuUfgUfgAfgGfasusu	841
AD-64336.1	A-128413.2	CfscsUfgUfuGfaCfaAfaAfaUfcCfuCfaAfl96	627	A-128472.1	PusUfsgAfgGfaUfuUfuUfuUfcAfaCfaAfgsasa	842
AD-64337.1	A-127955.16	GfscsGfgUfgGfaCfuUfcUfcUfcAfaUfuUfl96	628	A-127958.2	PasAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsgsa	843
AD-64338.1	A-128439.2	GfscsAfaCfuUfuUfuUfcCfcUfcUfgCfcUfl96	629	A-128486.1	PasGfsgCfaGfaGfgUfgaaAfaAfgUfuGfcsasu	844
AD-64339.1	A-128369.2	GfscsGfaAfaAfaGfaAfgfcUfaCfaGfaAfl96	630	A-128449.1	PusAfsuGfcUfgUfaGfcUfuGfuUfcCfcscsa	845
AD-64341.1	A-128401.2	UfscsAfuCfuUfcUfuUfgfuUfgGfuUfcUfl96	631	A-128465.1	PusAfsaGfaAfcCfaAfaAfaAfaAfgAfuGfascsg	846
AD-64342.1	A-128415.2	CfscsGfcUfgCfuAfuUfgCfcCfuCfaUfcUfl96	632	A-128473.1	PusAfsaGfaUfgAfgGfcAfaCfaGfaAfgsasa	847

[1615]

AD-64343.1	A-128427.2	GfsusUfgGfaUfgUfgUfcUfgUfcGfcGfuUfL96	633	A-128479.1	PasAfcGfcCfcCfaGfacaCfaUfcCfaAfcsgsa	848
AD-64344.1	A-128441.2	UfsusCfaUfcCfuGfcUfgCfuAfuGfcCfuAfl96	634	A-128487.1	PusAfcGfcAfuAfcCfagCfagGfaUfgAfasga	849
AD-64345.1	A-128371.2	UfsusCfuUfgUfgUfcCfuAfaAfaUfcCfuAfl96	635	A-128450.1	PusAfcGfcAfuUfuUfgUfcAfaCfaAfgAfasa	850
AD-64347.1	A-123487.3	GfsgsAfuGfuGfuCfuUfgCfcGfcGfuUfuAfl96	636	A-128466.1	PusAfaAfaCfcCfcGfcagAfcAfuCfcasg	851
AD-64348.1	A-128417.2	UfsasUfaUfgGfaUfgAfuGfuGfcUfaUfuAfl96	637	A-128474.1	PusAfaUfaCfcAfcAfucaUfcCfaUfaUfasac	852
AD-64349.1	A-128429.2	UfsusCfaUfcCfuGfcUfgCfuAfuGfcCfuCfl96	638	A-128480.1	PgsAfcGfcAfuAfcCfagCfagGfaUfgAfasga	853
AD-64350.1	A-128443.2	GfsusGfcAfcUfcCfuGfcUfcAfcCfuCfuAfl96	639	A-128488.1	PusAfcGfcAfuGfuGfaAfcGfcAfuGfuCfcAfcsc	854
AD-64351.1	A-128373.2	UfsusGfaCfaAfaAfaUfcCfuCfaCfaAfuAfl96	640	A-128451.1	PusAfsuUfgUfgAfcGfaUfgGfaUfuUfgUfcAfasca	855
AD-64352.1	A-128389.2	CfscsAfaGfuGfuUfuUfgCfcUfgAfcGfcAfaAfl96	641	A-128459.1	PusUfsuGfcGfuCfaGfcaAfcAfcUfuGfgscsa	856
AD-64352.1	A-128389.2	CfscsAfaGfuGfuUfuUfgCfcUfgAfcGfcAfaAfl96	642	A-128459.1	PusUfsuGfcGfuCfaGfcaAfcAfcUfuGfgscsa	857
AD-64353.1	A-128403.2	AfsasGfcCfuCfcAfaGfcUfgUfgCfcUfuAfl96	643	A-128467.1	PusAfaGfcCfaCfaGfcUfgUfgAfcUfuGfgscsa	858
AD-64354.1	A-128419.2	CfscsUfcUfcCfuUfcCfuGfcUfgCfuAfuAfl96	644	A-128475.1	PusAfsuAfcCfaGfcAfcGfaUfgAfcGfaGfgsasa	859
AD-64355.1	A-128431.2	CfscsUfgCfuGfcUfaUfgCfcUfcAfuCfuUfl96	645	A-128481.1	PasAfcGfaAfuGfaGfgCfanaGfcAfcGfaGfgsas	860
AD-64356.1	A-128375.2	CfscsUfcUfcCfuUfgUfuUfgUfcCfuUfcUfl96	646	A-128452.1	PasGfsaAfcAfaCfaAfaCfaAfcAfaGfaUfgsasg	861
AD-64357.1	A-128391.2	CfscsGfuCfuGfuGfcCfuUfcUfcAfuCfuAfl96	647	A-128460.1	PusAfcGfaAfuGfaGfaAfcGfaAfcAfcGfgsgsg	862
AD-64358.1	A-128405.2	CfscsUfcAfuCfuUfcUfuGfuUfgGfuUfcUfl96	648	A-128468.1	PasGfsaAfcCfaAfcAfaGfaAfcAfuGfaGfgscsa	863
AD-64359.1	A-128421.2	CfscsAfcCfaAfaUfgCfcCfcUfaUfcUfuAfl96	649	A-128476.1	PusAfaGfaUfaGfgGfgcaUfuUfgGfuGfgus	864
AD-64360.1	A-128433.2	GfscsUfcCfuCfuGfcCfcAfuCfcAfuAfcUfl96	650	A-128482.1	PasGfsuAfuGfaAfuCfagCfcAfcGfaGfgscsa	865
AD-64700.1	A-129379.1	ascscugugugdTacum(Cgn)ucuaL96	651	A-127906.26	usGfsaGfaGfaAfcUfcaCfcAfcGfaGfscsu	866
AD-64701.1	A-127905.20	AfscsUfcGfuGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfl96	652	A-129387.1	PusgsagaagdTccadCacagagusc	867
AD-64702.1	A-127905.28	AfscsUfcGfuGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfl96	653	A-129395.1	usGsagadGaaguccaCacagagusc	868
AD-64703.1	A-129376.2	ascscugugugdTacumAcuaL96	654	A-129385.5	usdGsagagaagdTccadCacagagusc	869
AD-64704.1	A-129381.3	ascscugugugdTacumAcuaL96	655	A-129389.6	usdGsagadGaaguccadCacagagusc	870
AD-64705.1	A-129380.1	ascscugugugdTacumAcuaL96	656	A-127906.27	usGfsaGfaGfaAfcUfcaCfcAfcGfaGfscsu	871
AD-64706.1	A-127905.21	AfscsUfcGfuGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfl96	657	A-129388.1	usdGsadGaagaguccadCacagagusc	872
AD-64707.1	A-127905.29	AfscsUfcGfuGfgUfgGfaCfuUfcUfcAfl96	658	A-129396.1	usgsagadGaagdTccadCacagagusc	873
AD-64708.1	A-129382.2	ascscugugugdTacumAcuaL96	659	A-129385.6	usdGsagagaagdTccadCacagagusc	874

[1616]

AD-64709.1	A-129373.4	ascnucgugugdgGacuu(Cgn)ucuaL96	660	A-129391.2	usdGsagadGaagdTccadCcacgaguscus	875
AD-64710.1	A-129373.1	ascnucgugugdgGacuu(Cgn)ucuaL96	661	A-127906.20	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	876
AD-64711.1	A-129381.1	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	662	A-127906.28	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	877
AD-64712.1	A-127905.22	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	663	A-129389.1	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscus	878
AD-64713.1	A-127905.30	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	664	A-129397.1	PusgsagadGaagdTccadCcacgaguscus	879
AD-64714.1	A-129384.2	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	665	A-129385.7	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	880
AD-64715.1	A-129376.4	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	666	A-129391.3	usdGsagadGaagdTccadCcacgaguscus	881
AD-64716.1	A-129374.1	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	667	A-127906.21	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	882
AD-64717.1	A-129382.1	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	668	A-127906.29	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	883
AD-64718.1	A-127905.23	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	669	A-129390.1	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscus	884
AD-64719.1	A-127917.5	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	670	A-129385.2	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	885
AD-64720.1	A-129381.2	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	671	A-129385.8	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	886
AD-64721.1	A-129382.4	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	672	A-129391.4	usdGsagadGaagdTccadCcacgaguscus	887
AD-64722.1	A-129375.1	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	673	A-127906.22	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	888
AD-64723.1	A-129383.1	ascnucgugugdgGdAcumcdAcuaL96	674	A-127906.30	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	889
AD-64725.1	A-127917.6	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	675	A-129398.1	PusdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	890
AD-64726.1	A-129373.3	ascnucgugugdgGacuu(Cgn)ucuaL96	676	A-129389.2	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscus	891
AD-64727.1	A-129384.4	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	677	A-129391.5	usdGsagadGaagdTccadCcacgaguscus	892
AD-64728.1	A-129376.1	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	678	A-127906.23	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	893
AD-64729.1	A-129384.1	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	679	A-127906.31	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	894
AD-64730.1	A-127905.25	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	680	A-129392.1	usGsagagaagdTccadCcacgaguscus	895
AD-64731.1	A-129399.1	Y34ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	681	A-129385.3	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	896
AD-64732.1	A-129376.3	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	682	A-129389.3	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscus	897
AD-64733.1	A-129381.4	ascnucgugugdgTgdTacumcdAcuaL96	683	A-129391.6	usdGsagadGaagdTccadCcacgaguscus	898
AD-64734.1	A-129377.1	ascnucgugugdgGacumcdAcuaL96	684	A-127906.24	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscus	899
AD-64735.1	A-127905.18	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	685	A-129385.1	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscus	900
AD-64736.1	A-127905.26	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	686	A-129393.1	usdGsagagaagdTccaCcacgaguscus	901

[1617]

AD-64737.1	A-129399.2	Y34ascnucgugugdgacumc(Tgn)cucaL96	687	A-129398.2	PusdGsagagaagdTccadCcacgaguscusu	902
AD-64738.1	A-129382.3	ascnucguggdTgdGacumc(Tgn)cucaL96	688	A-129389.4	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscusu	903
AD-64739.1	A-129378.1	ascnucgugugdgacumcdGcucaL96	689	A-127906.25	usGfsaGfaGfaAfgUfccaCfcAfcGfaGfuscusu	904
AD-64740.1	A-127905.19	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	690	A-129386.1	usgsagagaagdTccadCcacgaguscusu	905
AD-64741.1	A-127905.27	AfscsUfcGfnGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAflL96	691	A-129394.1	usGsagagaagdTccaCcacgaguscusu	906
AD-64742.1	A-129373.2	ascnucgugugdgacum(Cgn)ucucaL96	692	A-129385.4	usdGsagagaagdTccadCcacgaguscusu	907
AD-64743.1	A-129384.3	ascnucguggdTgdGacumcdAcucaL96	693	A-129389.5	usdGsagadGaaguccadCcacgaguscusu	908

[1618] 表5.采用Dual-Glo**Luciferase**®分析法的HBV单剂量筛选

[1619]

双螺旋 ID	10 nM Avg	0.1 nM Avg	10 nM SD	0.1 nM_SD
AD-63938.2	0.12	ND	0.01	ND
AD-63950.2	0.38	ND	0.04	ND
AD-63956.2	0.31	ND	0.02	ND
AD-63962.2	0.16	ND	0.03	ND
AD-63968.2	0.56	ND	0.10	ND
AD-63968.2	0.79	ND	0.09	ND
AD-63979.2	0.54	ND	0.02	ND
AD-63939.2	0.51	ND	0.01	ND
AD-63945.2	0.54	ND	0.08	ND
AD-63951.2	0.60	ND	0.03	ND
AD-63957.2	0.57	ND	0.02	ND
AD-63963.2	0.91	ND	0.06	ND
AD-63969.2	0.92	ND	0.02	ND
AD-63975.2	0.83	ND	0.01	ND
AD-63980.2	0.77	ND	0.01	ND
AD-63940.2	0.77	ND	0.06	ND
AD-63946.2	0.60	ND	0.10	ND
AD-63952.2	0.48	ND	0.04	ND
AD-63958.2	0.51	ND	0.01	ND
AD-63964.2	0.58	ND	0.04	ND
AD-63970.2	0.69	ND	0.07	ND
AD-63976.2	0.63	ND	0.04	ND
AD-63981.2	0.60	ND	0.04	ND
AD-63941.2	0.56	ND	0.09	ND
AD-63947.2	0.55	ND	0.08	ND
AD-63953.2	0.56	ND	0.06	ND
AD-63959.2	0.51	ND	0.03	ND

[1620]

AD-63965.2	0.55	ND	0.03	ND
AD-63971.2	0.65	ND	0.02	ND
AD-63977.2	0.88	ND	0.01	ND
AD-63982.2	0.73	ND	0.07	ND
AD-63942.2	0.32	ND	0.09	ND
AD-63948.2	0.57	ND	0.09	ND
AD-63960.2	0.92	ND	0.05	ND
AD-63966.2	0.85	ND	0.06	ND
AD-63972.2	0.82	ND	0.06	ND
AD-63978.2	0.83	ND	0.02	ND
AD-63983.2	0.89	ND	0.02	ND
AD-63943.2	0.86	ND	0.04	ND
AD-63949.2	0.76	ND	0.02	ND
AD-63955.2	0.82	ND	0.02	ND
AD-63961.2	0.83	ND	0.07	ND
AD-63967.2	0.86	ND	0.03	ND
AD-63973.2	0.86	ND	0.03	ND
AD-63990.2	0.27	ND	0.07	ND
AD-63996.2	0.29	ND	0.06	ND
AD-64002.2	0.30	ND	0.11	ND
AD-64008.2	0.28	ND	0.05	ND
AD-64008.2	0.34	ND	0.07	ND
AD-64014.2	0.30	ND	0.03	ND
AD-64019.2	0.36	ND	0.04	ND
AD-64024.2	0.27	ND	0.03	ND
AD-63985.2	0.28	ND	0.06	ND
AD-63991.2	0.33	ND	0.02	ND
AD-63997.2	0.47	ND	0.07	ND
AD-64003.2	0.69	ND	0.06	ND

[1621]

AD-64009.2	0.91	ND	0.03	ND
AD-64015.2	0.69	ND	0.09	ND
AD-64020.2	0.81	ND	0.06	ND
AD-64025.2	0.77	ND	0.06	ND
AD-63986.2	0.28	ND	0.05	ND
AD-63992.2	0.44	ND	0.04	ND
AD-64004.2	0.45	ND	0.04	ND
AD-64010.2	0.37	ND	0.05	ND
AD-64016.2	0.48	ND	0.05	ND
AD-64021.2	0.39	ND	0.03	ND
AD-64026.2	0.30	ND	0.02	ND
AD-63987.2	0.20	ND	0.02	ND
AD-63993.2	0.33	ND	0.02	ND
AD-63999.2	0.36	ND	0.05	ND
AD-64005.2	0.45	ND	0.11	ND
AD-64011.2	0.39	ND	0.08	ND
AD-64017.2	0.84	ND	0.06	ND
AD-64022.2	0.81	ND	0.03	ND
AD-64027.2	0.38	ND	0.05	ND
AD-63988.2	0.37	ND	0.04	ND
AD-63994.2	0.23	ND	0.01	ND
AD-64000.2	0.29	ND	0.00	ND
AD-64006.2	0.40	ND	0.04	ND
AD-64012.2	0.45	ND	0.17	ND
AD-64018.2	0.65	ND	0.07	ND
AD-64023.2	0.53	ND	0.07	ND
AD-64028.2	0.52	ND	0.07	ND
AD-63989.2	0.47	ND	0.04	ND
AD-63995.2	0.81	ND	0.03	ND

[1622]

AD-64001.2	0.83	ND	0.04	ND
AD-64007.2	0.87	ND	0.04	ND
AD-64013.2	0.88	ND	0.03	ND
AD-64289.1	0.276	ND	0.009	ND
AD-64333.1	0.208	ND	0.015	ND
AD-64285.1	0.324	ND	0.034	ND
AD-64300.1	0.225	ND	0.005	ND
AD-64345.1	0.102	ND	0.090	ND
AD-64292.1	0.288	ND	0.232	ND
AD-64336.1	0.199	ND	0.056	ND
AD-64275.1	0.287	ND	0.185	ND
AD-64316.1	0.297	ND	0.024	ND
AD-64274.1	0.209	ND	0.033	ND
AD-64315.1	0.199	ND	0.002	ND
AD-64305.1	0.360	ND	0.035	ND
AD-64351.1	0.281	ND	0.014	ND
AD-64291.1	0.725	ND	0.005	ND
AD-64335.1	0.478	ND	0.020	ND
AD-64283.1	0.917	ND	0.018	ND
AD-64304.1	0.937	ND	0.050	ND
AD-64325.1	0.446	ND	0.223	ND
AD-64350.1	0.934	ND	0.055	ND
AD-63968.4	0.748	ND	0.008	ND
AD-64331.1	0.294	ND	0.038	ND
AD-64008.4	0.416	ND	0.028	ND
AD-64337.1	0.318	ND	0.049	ND
AD-64295.1	0.415	ND	0.034	ND
AD-64276.1	0.453	ND	0.073	ND
AD-64317.1	0.203	ND	0.040	ND

[1623]

AD-64330.1	0.313	ND	0.030	ND
AD-64298.1	0.797	ND	0.007	ND
AD-64343.1	0.667	ND	0.020	ND
AD-61547.2	0.637	ND	0.019	ND
AD-64347.1	0.418	ND	0.066	ND
AD-64280.1	0.754	ND	0.092	ND
AD-64322.1	0.407	ND	0.013	ND
AD-64308.1	0.720	ND	0.055	ND
AD-64354.1	0.315	ND	0.034	ND
AD-64303.1	0.815	ND	0.150	ND
AD-64349.1	0.447	ND	0.030	ND
AD-64299.1	0.831	ND	0.007	ND
AD-64344.1	0.404	ND	0.009	ND
AD-64309.1	0.856	ND	0.005	ND
AD-64355.1	0.498	ND	0.040	ND
AD-64297.1	0.895	ND	0.024	ND
AD-64342.1	0.508	ND	0.006	ND
AD-64312.1	0.590	ND	0.034	ND
AD-64358.1	0.425	ND	0.044	ND
AD-64341.1	0.223	ND	0.119	ND
AD-64310.1	0.301	ND	0.064	ND
AD-64356.1	0.336	ND	0.024	ND
AD-64286.1	0.611	ND	0.012	ND
AD-64328.1	0.317	ND	0.043	ND
AD-61522.2	0.447	ND	0.008	ND
AD-64321.1	0.237	ND	0.009	ND
AD-64302.1	0.523	ND	0.020	ND
AD-64348.1	0.208	ND	0.003	ND
AD-64352.1	0.343	ND	0.224	ND

[1624]

AD-64352.1	0.567	ND	0.015	ND
AD-64314.1	0.920	ND	0.044	ND
AD-64360.1	0.778	ND	0.029	ND
AD-64279.1	0.882	ND	0.034	ND
AD-64320.1	0.589	ND	0.017	ND
AD-64284.1	0.696	ND	0.119	ND
AD-64326.1	0.552	ND	0.009	ND
AD-64281.1	0.921	ND	0.019	ND
AD-64323.1	0.715	ND	0.097	ND
AD-64311.1	0.815	ND	0.030	ND
AD-64357.1	0.549	ND	0.001	ND
AD-64272.2	0.965	ND	0.024	ND
AD-64332.1	0.548	ND	0.013	ND
AD-64293.1	0.837	ND	0.013	ND
AD-64338.1	0.597	ND	0.031	ND
AD-64290.1	0.489	ND	0.026	ND
AD-64334.1	0.368	ND	0.003	ND
AD-64282.1	0.767	ND	0.009	ND
AD-64324.1	0.726	ND	0.077	ND
AD-64278.1	0.951	ND	0.077	ND
AD-64319.1	0.895	ND	0.029	ND
AD-64307.1	0.890	ND	0.065	ND
AD-64353.1	0.567	ND	0.500	ND
AD-64277.1	0.416	ND	0.019	ND
AD-64277.1	0.839	ND	0.058	ND
AD-64318.1	0.613	ND	0.042	ND
AD-64318.1	0.768	ND	0.042	ND
AD-64313.1	0.698	ND	0.062	ND
AD-64359.1	0.441	ND	0.081	ND

[1625]

AD-64294.1	0.563	ND	0.066	ND
AD-64339.1	0.486	ND	0.044	ND
AD-63968.5	0.57	0.72	0.07	0.03
AD-63940.3	0.81	0.83	0.11	0.03
AD-64710.1	0.79	0.85	0.12	0.04
AD-64716.1	0.73	0.85	0.08	0.01
AD-64722.1	0.67	0.80	0.06	0.02
AD-64728.1	0.74	0.87	0.06	0.05
AD-64734.1	0.78	0.83	0.08	0.05
AD-64739.1	0.73	0.85	0.07	0.02
AD-64700.1	0.54	0.75	0.13	0.02
AD-64705.1	0.67	0.79	0.15	0.04
AD-64711.1	0.57	0.83	0.13	0.04
AD-64717.1	0.72	0.83	0.13	0.02
AD-64723.1	0.83	0.87	0.12	0.01
AD-64729.1	0.74	0.87	0.08	0.07
AD-64735.1	0.73	0.89	0.05	0.04
AD-64740.1	0.89	0.88	0.05	0.07
AD-64701.1	0.88	0.84	0.07	0.05
AD-64706.1	0.71	0.88	0.12	0.05
AD-64712.1	0.81	0.86	0.13	0.07
AD-64718.1	0.84	0.89	0.16	0.01
AD-64730.1	0.88	0.89	0.02	0.04
AD-64736.1	0.80	0.88	0.10	0.05
AD-64741.1	0.85	0.83	0.06	0.05
AD-64702.1	0.87	0.93	0.02	0.06
AD-64707.1	0.95	0.88	0.05	0.08
AD-64713.1	0.90	0.85	0.08	0.03
AD-64719.1	0.80	0.89	0.09	0.09

[1626]

AD-64725.1	0.70	0.84	0.09	0.03
AD-64731.1	0.82	0.87	0.04	0.08
AD-64737.1	0.76	0.84	0.09	0.08
AD-64742.1	0.76	0.85	0.09	0.03
AD-64703.1	0.79	0.88	0.05	0.02
AD-64708.1	0.83	0.82	0.08	0.06
AD-64714.1	0.75	0.85	0.12	0.03
AD-64720.1	0.61	0.81	0.17	0.04
AD-64726.1	0.75	0.83	0.07	0.02
AD-64732.1	0.86	0.84	0.14	0.10
AD-64738.1	0.80	0.90	0.04	0.02
AD-64743.1	0.75	0.85	0.12	0.04
AD-64704.1	0.67	0.78	0.16	0.02
AD-64709.1	0.83	0.86	0.16	0.03
AD-64715.1	0.87	0.88	0.09	0.04
AD-64721.1	0.77	0.82	0.12	0.06
AD-64727.1	0.75	0.85	0.14	0.02
AD-64733.1	0.67	0.81	0.14	0.03

[1627] 实例3.其他siRNA双螺旋的合成与活体外筛选

[1628] 如上述合成其他靶向HBV基因组的iRNA分子。其他未经修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表示于表6,及经修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表示于表7。

[1629]

表 6. HBV dsRNA 的未经修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:	反义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:
AD-65369.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	909	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	938
AD-65381.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	910	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	939
AD-63962.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	911	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	940
AD-63938.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUA	912	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	941
AD-65561.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	913	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	942
AD-65566.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	914	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	943
AD-63944.1	UCGUGGUGGACUUCUCUAU	915	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	944
AD-63968.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUA	916	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUCU	945
AD-65406.1	UCGUGGUGGACUUCUCUA	917	UGAGAGAAGUCCACCACGAUU	946
AD-65396.1	ACUCGUGGUGGACUUCUCUA	918	UGAGAGAAGUCCACCACGAGUUU	947
AD-65427.1	GUGCACUUCGCUUCACCUCUA	919	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU	948
AD-65573.1	GUGCACUUCGCUUCACCUCUA	920	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACAC	949
AD-65432.1	GCACUUCGCUUCACCUCUA	921	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCAC	950
AD-64332.1	GUGCACUUCGCUUCACCUCUG	922	CAGAGGUGAAGCGAAGUGCACAC	951
AD-64322.1	AUGUGUCUGCGGCGUUUAUA	923	UAUAAAACGCCGCAGACACAUC	952
AD-64272.1	GUGCACUUCGCUUCACCUCUG	924	CAGAGGUGAAGCGAAGUGCACAC	953
AD-65583.1	GCACUUCGCUUCACCUCUA	925	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCUT	954
AD-63994.1	GGUGGACUUCUCUCAUUU	926	AAUUGAGAGAAGUCCACCAC	955
AD-65370.1	CGUGGUGGACUUCUCUCAUU	927	AAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	956
AD-65265.1	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	928	AAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	957
AD-65407.1	CGUGGUGGACUUCUCUCAUU	929	AAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	958
AD-64027.1	GGUGGACUUCUCUCAUUU	930	AAUUGAGAGAAGUCCACCAC	959
AD-65266.1	GUGGUGGACUUCUCUCAUUU	931	AAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	960
AD-65389.1	UGGUGGUUCTUCUCUAAUU	932	AAUUGAGAGAAGUCCACCACAU	961

[1630]

AD-64008.1	GUUGGACUUCUCUCAAUUU	933	AAAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	962
AD-65377.1	CGUGGUGGUCTUCUCUAAAUU	934	AAUUGAGAGAAGUCCACCAGCUU	963
AD-65409.2	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	935	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	964
AD-65403.1	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	936	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	965
AD-65385.1	UGGACUACTCUCAAAUUUA	937	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCAUU	966

表 7. HBV dsRNA 的经修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:	反义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:
AD-65369	uscsuGfgUfGfGfacuucfUfenuaL96	967	PusGfsagaGfaAfGfuuccaCfcAfcgasusu	996
AD-65381	uscsuGfgUfGfGfacuucnucaL96	968	PusGfsagaGfaAfGfuuccaCfcAfcgasusu	997
AD-63962	Y44uscsGfuGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfY44	969	PusGfsaGfaGfaAfGfUfcCfaCfcAfcGfasusu	998
AD-63938	Y44ACUCGUGGUGGACUUCUCUCA	970	UGAGAGAAAGUCCACCACGAGUCU	999
AD-65561	uscsuGfgUfGfGfacuucfUfenuaL96	971	UfsGfsagaGfaAfGfuuccaCfcAfcgasusu	1000
AD-65566	uscsuGfgUfGfGfacuucnucaL96	972	UfsGfsagaGfaAfGfuuccaCfcAfcgasusu	1001
AD-63944	Y44ucGuGuGGAcuucnucaAusuY44	973	UfGfagAfgAfAfGfUfccaCfcAfcgAusu	1002
AD-63968	AfscUfcGfuGfgUfGfGfaCfuUfcUfcAfL96	974	usGfsaGfaGfaAfGfUfccaCfcAfcGfaGfscsu	1003
AD-65406	uscsuGfgUfGfGfacuucfUfenuaL96	975	usGfsagaGfaAfGfuuccaCfcAfcgasusu	1004
AD-65396	ascsucguGfgUfGfGfacuucnucaL96	976	usGfsagaGfaaguccaCfcAfcgagusu	1005
AD-65427	gsusgcacUfuCfGfCfucacnucaL96	977	PusAfsagGfugaagcgAfaGfugcacsusu	1006
AD-65573	gsusgcacUfuCfGfCfucacCfucuaL96	978	UfsAfsagGfufGfAfagcgAfaGfugcacsasc	1007
AD-65432	gsusacUfucGfCfucacCfucuaL96	979	PusAfsagGfufGfAfagcgAfaGfugcsasc	1008
AD-64332	GfsusGfcAfcUfuCfGfCfufUfcAfcCfuCfuGfL96	980	PesAfsagAfgGfufGfAfagcgAfaGfufGfcAfcscasc	1009
AD-64322	AfsusGfuGfuCfuGfCfGfgCfGfUfuAfuAfuL96	981	PusAfsuAfaAfaCfGfCfGfcAfcAfcAfcscsc	1010
AD-64272	GfsusGfcAfcUfuCfGfCfufUfcAfcCfuCfuGfL96	982	csAfsagAfgGfufGfAfagcgAfaGfufGfcAfcscasc	1011
AD-65583	gsusacucgdCnucaC(Cgn)ucuaL96	983	usdAsgadGugaagcgdaugucgsusu	1012
AD-63994	gsusUfgGfaCfuUfcUfcAfaUfuUfL96	984	PasAfsaUfuGfufGfAfagUfcCfaCfcscasc	1013

[1631]

AD-65370	csusgugnuGfgAfCfUfucueUfCfaaunL96	985	asAfsungAfgAfGfaaguCfcAfccagcsasg	1014
AD-65265	gsusggngGfaCfUfUfcUfcucaauunL96	986	asAfsaUfugagaGfaagUfcCfaccAfcsgsa	1015
AD-65407	csusgugnuGfgAfCfUfucueUfCfaaunL96	987	asAfsungAfgAfgAfaguCfcAfccagcsasg	1016
AD-64027	gsusUfgGfaCfUfUfcUfcAfaUfuUfL96	988	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcsasc	1017
AD-65266	gsusggngGfaCfUfUfcucuCfaaunL96	989	asAfsaUfugagaGfaagUfcCfaccAfcsgsa	1018
AD-65389	usgsugndGgncdTucucuaaunL96	990	asdAfsungagagdaagudCcaccasusu	1019
AD-64008	GfsusGfgUfgGfaCfUfUfcUfcAfaUfuUfL96	991	asAfsaUfuGfaGfaGfaagUfcCfaCfcAfcsgsa	1020
AD-65377	csusgugndGgncdTucucuaaunL96	992	asdAfsungagagdaagudCcaccagesusu	1021
AD-65409	gsusguggaCfuUfcUfcucaAfUfuuaL96	993	PusAfsaaaUfuGfaGfaagaAfgUfccaccsasc	1022
AD-65403	gsusguggaCfuUfcUfcucaAfUfuuaL96	994	usAfsaaaUfuGfaGfaagaAfgUfccaccsasc	1023
AD-65385	usgsuacuacdTeucaaaunL96	995	usdAsaaaunagadGagadAguccasusu	1024

[1632] 这些双螺旋的单剂量筛选法是借由双螺旋转染至HepG2.215及Hep3B细胞中及使用一对引物/探针来检测HBV P开放读码框 (ORF) RNA (PORF-1_A及PORF-1_B) 和/或引物组来检测HBV S ORF RNA (SORF-2_A及SORF-2_B) 测定HBV病毒RNA进行二重复。于HepG2.2.15细胞中的分析结果示于表8及于Hep3B细胞中的分析结果示于表9。

[1633] 表8. 于HepG2.2.15细胞中的HBV单剂量筛选

[1634]

双螺旋 ID	PORF-1 引 物/探针组 实验 A	PORF-1 引 物/探针组 二重复 实验 B	SORF-2 引 物/探针组 实验 A	SORF-2 引 物/探针组 二重复 实验 B
AD-65369	0.1875	0.042	0.0446	0.3018
AD-65381	0.086	0.249	0.1008	0.553
AD-63962	0.4838	0.3475	0.2237	0.5258
AD-63938	0.3587	2.1213	0.0501	1.1434
AD-65561	0.1076	0.3801	0.0718	0.6897
AD-65566	0.4127	0.3211	0.185	11.1161
AD-63944	0.9489	0.7098	0.393	0.2771
AD-63968	无 IC50	无 IC50	1.8788	无 IC50
AD-65406	3.3749	18.8396	3.8204	2.2662
AD-65396	无 IC50	6.8758	3.7382	4.2157
AD-65427	0.0089	0.0181	0.0066	0.015
AD-65573	0.0174	0.0332	0.0029	0.0227
AD-65432	0.0211	0.0593	0.0112	0.0366
AD-64332	0.0268	0.0329	0.0624	0.0217
AD-64322	0.0963	0.1077	0.0992	0.0963
AD-64272	0.0773	0.1199	0.0763	0.093
AD-65583	0.1624	0.2228	0.1568	0.1496
AD-63994	0.7019	0.1467	0.0832	0.0385

[1635]

AD-65370	0.2404	0.7916	0.3952	0.1964
AD-65265	0.2255	0.5008	0.2893	0.318
AD-65407	0.9533	0.261	0.4254	0.1121
AD-64027	0.7692	0.5887	0.5208	0.5697
AD-65266	3.4109	0.5055	0.8532	0.3658
AD-65389	0.9172	0.6514	0.4915	0.2872
AD-64008	1.2738	0.7865	1.9519	0.808
AD-65377	0.6052	1.6	24.9403	0.6065
AD-65409	1.8304	1.6479	0.104	0.0557
AD-65403	12.1516	0.667	1.006	0.233
AD-65385	无 IC50	无 IC50	无 IC50	无 IC50

[1636] 表9. 于Hep3B细胞中的HBV单剂量筛选

[1637]

双螺旋 ID	PORF-1 引物/探针组 实验 A	PORF-1 引物/探针组 实验 B
AD-65369	0.0982	0.0508
AD-65381	0.2392	0.1097
AD-63962	0.0769	0.0706
AD-63938	0.039	0.0111
AD-65561	0.6316	0.6931
AD-65566	0.2747	0.5331
AD-63944	0.1317	0.0566
AD-63968	0.4374	0.8811
AD-65406	1.4961	1.2573
AD-65396	1.9971	0.9952
AD-65427	0.0234	0.006
AD-65573	0.0346	0.0334

[1638]

AD-65432	0.0352	0.2664
AD-64332	0.0221	0.4541
AD-64322	0.1743	0.1616
AD-64272	0.1885	0.6699
AD-65583	0.1241	8.1611
AD-63994	3.3623	5.2897
AD-65370	0.2281	无 IC50
AD-65265	无 IC50	7.3426
AD-65407	0.1404	1.3833
AD-64027	27.1417	1.1832
AD-65266	无 IC50	无 IC50
AD-65389	无 IC50	无 IC50
AD-64008	无 IC50	无 IC50
AD-65377	无 IC50	无 IC50
AD-65409	1.8065	3.436
AD-65403	0.5113	18.0359
AD-65385	无 IC50	无 IC50

[1639] 亦采用去污溶酶体稳定性分析法与胞质液稳定性分析法等两种分析法分析这些双螺旋的次组合的活体外代谢稳定性。

[1640] 去污溶酶体稳定性分析法是取大鼠肝去污溶酶体 (Xenotech 订制产品 PR14044) 解冻至室温, 稀释成含 0.5 单位/mL 酸性磷酸酶的 20mM 柠檬酸钠 pH 5.0 缓冲液。24 小时样本制备是于微离心管中混合 100 μ L 0.5 单位/mL 酸性磷酸酶去污溶酶体与 25 μ L 0.4mg/mL siRNA 样本, 并于设定在 37 $^{\circ}$ C 及 300rpm 的 Eppendorf Thermomixer 中培养 24 小时。培养 24 小时后, 添加 300 μ L Phenomenex 溶胞加载缓冲液 (Phenomenex Lysis Loading buffer) (目录 #AL0-8498) 及 12.5 μ L 0.4mg/mL 内标准物 siRNA 至各样本中。0 小时时间点样本制备为混合 100 μ L 0.5 单位/mL 酸性磷酸酶去污溶酶体与 25 μ L 0.4mg/mL siRNA 样本、300 μ L Phenomenex 溶胞加载缓冲液、与 12.5 μ L 0.4mg/mL 内标准物 siRNA。使用 Phenomenex Clarity OTX Starter Kit (目录 #KS0-8494), 从 24 小时样本及 0 小时样本中萃取 siRNA。萃取样本后, 转移至微离心管中, 使用 Labconco CentriVap Concentrator (目录 #7810010) 干燥至干。样本再度悬浮于 500 μ L 无核酸酶的水中。取 50 μ L 各样本于 Agilent Technologies 1260 Infinity Binary LC 偶联 Agilent Technologies 6130 Quadrupole LC/MS 上操作。采用四元泵法, 依 0.400mL/min 及下列时间表操作 12.20 分钟:

[1641]

时间函数	参数
0.20	5%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 95%缓冲液 B (100%甲醇)
2.50	5%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 95%缓冲液 B (100%甲醇)
3.00	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)

[1642] 采用二元泵法,依0.700mL/min及下列时间表操作12.20分钟:

[1643]

时间函数	参数
0.00	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)
0.40	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)
10.00	60%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 40%缓冲液 B (100% ACN)
10.10	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)
12.20	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)

[1644] 左栏及右栏均设定在75.00℃。测定260nm波长下的UV讯号。采用下列公式计算各链的残留百分比:

[1645] 链残留% = 100 * (波峰面积_{链24h} / 波峰面积_{链0h} * (波峰面积_{标准物24h} / 波峰面积_{标准物0h}))。

[1646] 胞质液稳定性分析法是取雌性大鼠肝胞质液(Xenotech目录#R1500.C)解冻至室温,于50mM Tris缓冲液:HCl pH 7.4、5mM MgCl₂中稀释成含1mg/mL。24小时样本制备是于微离心管中混合100μL的1mg/mL胞质液与25μL 0.4mg/mL siRNA样本,并于设定在37℃及300rpm的Eppendorf Thermomixer中培养24小时。培养24小时后,添加300μL Phenomenex溶胞加载缓冲液(Phenomenex Lysis Loading buffer)(目录#AL0-8498)及12.5μL 0.4mg/mL内标准物siRNA至各样本中。0小时时间点样本制备为混合100uL 1mg/mL胞质液与25uL 0.4mg/mL siRNA样本、300μL Phenomenex溶胞加载缓冲液、与12.5μL 0.4mg/mL内标准物siRNA。使用Phenomenex Clarity OTX Starter Kit(目录#KS0-8494),从24小时样本及0小时样本中萃取siRNA。萃取样本后,转移至微离心管中,使用Labconco CentriVap Concentrator(目录#7810010)干燥至干。样本再度悬浮于500μL无核酸酶的水中。取50μL各样本于Agilent Technologies 1260Infinity Binary LC偶联Agilent Technologies 6130Quadrupole LC/MS上操作。采用四元泵法,依0.400mL/min及下列时间表操作12.20分钟:

[1647]

时间函数	参数
0.20	5%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 95%缓冲液 B (100%甲醇)
2.50	5%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 95%缓冲液 B (100%甲醇)
3.00	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)

[1648] 采用二元泵法,依0.700mL/min及下列时间表操作12.20分钟:

[1649] 时间函数参数

[1650]

时间函数	参数
0.00	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)
0.40	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)

[1651]

10.00	60%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP) , 40%缓冲液 B (100% ACN)
10.10	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)
12.20	100%缓冲液 A (16 mM TEA 200 mM HFIP)

[1652] 左栏及右栏均设定在75.00℃。测定260nm波长下的UV讯号。采用下列公式计算各链的残留百分比:

[1653] 链残留% = 100 * (波峰面积_{链24h} / 波峰面积_{链0h} * (波峰面积_{标准物24h} / 波峰面积_{标准物0h}))。

[1654] 24小时去污溶酶体稳定性分析法结果示于表10,及24小时胞质液稳定性分析法结果示于表11。

[1655] 表10.24小时去污溶酶体稳定性分析

[1656]

残留反义链%	残留正义链%	双螺旋ID
87.59	72.43	AD-65381
67.59	82.48	AD-65566
30.52	34.98	AD-63968
115.17	79.61	AD-65427
43.00	76.84	AD-65573
129.69	128.59	AD-64272
100.30	119.85	AD-65407
94.06	110.90	AD-64008
98.63	127.48	AD-65377
105.06	119.88	AD-65409
117.55	104.30	AD-65403

[1657] 表11.24小时胞质液稳定性分析

[1658]	残留反义链%	残留正义链%	双螺旋 ID
	67.78	22.42	AD-65381
[1659]	55.89	15.26	AD-65566
	88.39	46.94	AD-63968
	89.50	66.35	AD-65427
	69.01	41.47	AD-65573
	96.77	78.00	AD-64272
	64.46	24.10	AD-65407
	35.39	26.39	AD-64008
	79.98	66.50	AD-65377
	86.24	74.25	AD-65409
	60.45	62.41	AD-65403

[1660] 实例4.其他siRNA双螺旋的合成法与筛选法

[1661] 如上述设计及合成其他靶向HBV基因组的iRNA分子。其他未经修饰HBV正义与反义链序列的详细列表示于表12,及经修饰HBV正义与反义链序列的详细列表示于表13。

[1662]

表 12. HBV dsRNA 的未经修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义 ID	未经修饰的正义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:	反义 ID	未经修饰的反义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:
AD-65381	A-130366.9	UCGUGGUGGACUUCUCUA	1025	A-131904.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUU	1036
AD-66019	A-130366.9	UCGUGGUGGACUUCUCUA	1026	A-131904.1	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUU	1037
AD-65375	A-130366.9	UCGUGGUGGACUUCUCUA	1027	A-130364.7	UGAGAGAAAGUCCACCACGAUU	1038
AD-65427	A-130441.7	GUGCACUUCGCUUCACCCUCA	1028	A-131905.1	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU	1039
AD-66110	A-130441.7	GUGCACUUCGCUUCACCCUCA	1029	A-131905.1	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU	1040
AD-65421	A-130441.7	GUGCACUUCGCUUCACCCUCA	1030	A-130442.6	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACUU	1041
AD-65407	A-130371.12	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	1031	A-130372.5	AAUUGAGAGAAAGUCCACCAGCAG	1042
AD-65377	A-130384.4	CGUGGUGGUCTUCUCUAAAUU	1032	A-130748.3	AAUUGAGAGAAAGUCCACCAGCUU	1043
AD-65409	A-130388.15	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	1033	A-131906.1	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	1044
AD-66111	A-130388.15	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	1034	A-131906.1	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	1045
AD-65403	A-130388.15	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUA	1035	A-130389.4	UAAAAUUGAGAGAAAGUCCACCAC	1046

[1663]

表 13. HBV dsRNA 的修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义 ID	正义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:	反义 ID	反义序列 (5'向 3')	SEQ ID NO:
AD-65381	A-130366.9	uscsguGfgUfGfGfacuucucuaL96	1047	A-131904.1	<u>P</u> usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu	1058
AD-66019	A-130366.9	uscsguGfgUfGfGfacuucucuaL96	1048	A-131904.1	<u>V</u> PusGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu	1059
AD-65375	A-130366.9	uscsguGfgUfGfGfacuucucuaL96	1049	A-130364.7	usGfsagaGfaAfGfuccaCfcAfcgasusu	1060
AD-65427	A-130441.7	gsusgcacUfuCfGfCfuacacucuaL96	1050	A-131905.1	<u>P</u> usAfsagGfugaagcgAfaGfugeacsusu	1061
AD-66110	A-130441.7	gsusgcacUfuCfGfCfuacacucuaL96	1051	A-131905.1	<u>V</u> PusAfsagGfugaagcgAfaGfugeacsusu	1062
AD-65421	A-130441.7	gsusgcacUfuCfGfCfuacacucuaL96	1052	A-130442.6	usAfsagGfugaagcgAfaGfugeacsusu	1063
AD-65407	A-130371.12	csgsugguGfgAfCfUfuencUfCfaaumL96	1053	A-130372.5	asAfsuugAfgAfgAfaGuCfcAfcagcsasg	1064
AD-65377	A-130384.4	csgsugguGfgAfCfUfuencUfCfaaumL96	1054	A-130748.3	asdAsuugagagdAagudCcaccagcsusu	1065
AD-65409	A-130388.15	gsgsuggaCfuUfCfUfencAfUfuuaL96	1055	A-131906.1	<u>P</u> usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc	1066
AD-66111	A-130388.15	gsgsuggaCfuUfCfUfencAfUfuuaL96	1056	A-131906.1	<u>V</u> PusAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc	1067
AD-65403	A-130388.15	gsgsuggaCfuUfCfUfencAfUfuuaL96	1057	A-130389.4	usAfsaaaUfuGfAfgagaAfgUfccaccsasc	1068

[1664] 这些iRNA双螺旋的单剂量初筛选法是使用如上述Dual-Glo® 荧光素酶分析法进行。此筛选法于经过所指定HBV iRNA转染的Cos7细胞中的结果示于表14中。数据是以24小

时时相对于阴性对照组的残留mRNA百分比表示。

[1665] 表14. 于Cos7细胞中使用Dual-Glo **Luciferase®**分析法的HBV单剂量初筛选

双重荧光素酶初筛选					
24 小时的残留信号%					DRC ED50
双螺旋 ID	在 50 nM	STDE V	在 1 nM	STDE V	(nM)
AD-65381	9.3	0.24	15.6	0.77	0.019
AD-66019	ND	ND	ND	ND	ND
[1666] AD-65375	24.2	0.36	71.4	0.69	无 ED50
AD-65427	28.8	1.60	41.0	1.73	0.117
AD-66110	ND	ND	ND	ND	ND
AD-65421	47.6	3.49	85.5	4.76	无 ED50
AD-65407	14.3	0.52	25.3	2.11	0.038
AD-65377	21.8	0.31	37.9	1.12	0.130
AD-65409	9.5	0.41	13.2	0.71	0.013
AD-66111	ND	ND	ND	ND	ND
AD-65403	12.6	0.50	37.2	2.31	0.069

[1667] ND-未进行

[1668] 亦如上述使用Dual-Glo[®]荧光素酶分析法分析这些双螺旋对沉默病毒RNA的剂量效应。这些分析法所使用双螺旋剂量为50nM、8.333333333nM、1.388888889nM、0.231481481nM、0.038580247nM、0.006430041nM、0.001071674nM、0.000178612nM、 2.97687×10^{-5} nM、 4.96145×10^{-6} nM、 8.26909×10^{-7} nM、及 1.37818×10^{-7} nM,其等代表双螺旋从50nM开始经过1至6次稀释的12种剂量。此筛选法于经过所指定HBV iRNA转染的Cos7细胞中的结果示于表15。数据是以24小时时相对于阴性对照组的残留mRNA百分比表示。

[1669] 表15. 于Cos7细胞中采用Dual-Glo **Luciferase®**分析法的剂量效应筛选

双重荧光素酶 HBV 报告子细胞 24 小时的 IC50 (nM)									
双螺旋 ID	分析 法 1	分析 法 2	分析 法 3	分析 法 4	分析 法 5	分析 法 6	分析 法 7	平 均 值 ¹	标 准 偏差
AD-65381	0.019	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.019	
AD-66019	ND	0.021	0.021	0.016	0.026	0.019	0.031	0.022	0.005
AD-65375	UD	0.215	0.149	0.081	0.246	0.138	0.276	0.184	0.074
AD-65407	0.038	0.045	0.051	0.021	0.050	0.056	0.068	0.047	0.015
AD-65377	0.130	0.029	0.046	0.087	0.096	0.146	0.090	0.089	0.042
AD-65409	0.013	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.013	
AD-66111	ND	0.018	0.013	0.012	0.018	0.021	0.033	0.019	0.007
AD-65403	0.069	0.044	0.033	0.039	0.042	0.046	0.062	0.048	0.013
AD-65427	0.017	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.117	
AD-66110	ND	0.238	0.296	0.145	0.157	0.161	ND	0.199	0.065
AD-65421	UD	1.219	1.385	2.254	0.799	2.906	ND	1.713	0.852

[1670] ¹来自5-7个生物副本重复操作三次的平均值

[1671] ND-未进行

[1672] 亦分析这些双螺旋的活体外效力及药效。具体地,测定双螺旋在经过转染的HepG2.2.15及Hep3B细胞溶胞物中对沉默病毒RNA的剂量效应及在HepG2.2.15细胞上清液中对沉默HBsAg的剂量效应。细胞是经过50nM至 1×10^{-7} nM范围内的12种剂量的双螺旋转染,并在转染72小时后,使用一对引物/探针检测P ORF和/或S ORF测定病毒RNA量。使用ELISA分析法测定HBsAg量。

[1673] 在HepG2.2.15细胞中使用所指定双螺旋对P ORF病毒RNA沉默化结果示于表16。在HepG2.2.15细胞中使用所指定双螺旋对S ORF病毒RNA沉默化结果示于表17。于HepG2.2.15细胞中的HBsAg沉默化结果示于表18。

[1674] 于Hep3B细胞中使用所指定双螺旋对P ORF病毒RNA沉默化结果示于表19。

[1675] 表16. 于HepG2.2.15细胞中的剂量效应筛选

于 HepG2.2.15 细胞中的病毒 RNA 沉默化								
P-ORF 引物/探针组								
72 小时的 IC ₅₀ (nM)								
双螺旋 ID	分析法发展				最优化分析法			
					分析法 1	分析法 2	分析法 3	
AD-65381	0.079	0.208	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66019	ND	ND	0.265	0.010	0.022	0.032	0.023	
AD-65375	12.3	UD	UD	UD	0.172	0.257	0.672	
AD-65407	0.247	1.0	0.365	0.109	0.069	0.103	0.095	
AD-65377	1.3	UD	4.9	UD	0.842	0.838	0.615	
AD-65409	0.436	1.0	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66111	ND	ND	0.456	0.030	50	0.294	ND	
AD-65403	9.2	10.4	3.4	UD	0.114	0.384	1.0	
AD-65427	0.007	0.018	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66110	ND	ND	0.012	0.053	0.016	0.010	0.021	
AD-65421	0.069	0.091	0.034	0.006	0.002	0.003	0.007	

[1678] ND-未进行

[1679] 表17. 于HepG2.2.15细胞中的剂量效应筛选

[1680] 于 HepG2.2.15 细胞中的病毒 RNA 沉默化

[1681]

S-ORF 引物/探针组								
72 小时的 IC50 (nM)								
双螺旋 ID	分析法发展				最优化分析法			
					分 析 法 1	分 析 法 2	分 析 法 3	
AD-65381	0.252	0.215	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66019	ND	ND	0.245	0.011	0.009	0.016	0.005	
AD-65375	45	UD	UD	UD	0.124	0.048	0.056	
AD-65407	0.232	0.645	0.577	0.015	0.021	0.023	0.016	
AD-65377	1.4	8.6	UD	UD	0.575	0.483	0.117	
AD-65409	0.433	0.242	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66111	ND	ND	2.1	0.455	ND	0.416	ND	
AD-65403	0.997	0.670	0.668	UD	0.074	0.270	1.1	
AD-65427	0.008	0.018	ND	ND	ND	ND	ND	
AD-66110	ND	ND	0.022	0.050	0.035	0.038	0.020	
AD-65421	0.083	0.097	0.046	0.003	0.003	0.005	0.001	

[1682] ND-未进行

[1683] 表18. 于HepG2.2.15细胞中的剂量效应筛选

[1684]

HBsAg ELISA	
IC50 (nM)	
双螺旋 ID	分析法 1
AD-65381	ND
AD-66019	0.105
AD-65375	1.2
AD-65407	0.102
AD-65377	2.9

[1685]

AD-65409	ND
AD-66111	0.018
AD-65403	0.064
AD-65427	ND
AD-66110	0.002
AD-65421	0.008

[1686] ND-未进行

[1687] 表19. 于Hep3B细胞中的剂量效应筛选

[1688]

Hep3B 细胞筛选			
DRC ED50 P-ORF 引物/探针组			
双螺旋 ID	P-OR F 操 作 1	P-OR F 操 作 2	组合
AD-65381	0.239	0.110	0.194
AD-66019	ND	ND	ND
AD-65375	ND	ND	ND
AD-65427	0.023	0.006	0.018
AD-66110	ND	ND	ND
AD-65421	ND	ND	ND
AD-65407	0.140	1.383	0.527
AD-65377	无 ED50	无 ED50	无 ED50
AD-65409	1.807	3.436	2.905
AD-66111	ND	ND	ND

[1689]	AD-65403	0.511	18.03 6	5.013
--------	----------	-------	------------	-------

[1690] ND-未进行

[1691] 亦如上述,采用去污溶酶体稳定性分析法与胞质液稳定性分析法等两种分析法分析这些双螺旋的活体外稳定性。这些分析法结果示于表20。

[1692] 表20.24小时去污溶酶体及胞质液稳定性分析法

双螺旋 ID	培养 24 小时后残留亲代 %的活体外代谢稳定性			
	内容酶体		胞质液	
	% AS	% SS	% AS	% SS
AD-65381	88	72	68	22
AD-66019	ND	ND	ND	ND
AD-65375	ND	ND	ND	ND
AD-65407	100	120	64	24
AD-65377	99	127	80	67
AD-65409	105	120	86	74
AD-66111	ND	ND	ND	ND
AD-65403	ND	ND	ND	ND
AD-65427	115	80	89	66
AD-66110	ND	ND	ND	ND
AD-65421	ND	ND	ND	ND

[1694] 亦于HepG2.215细胞中进行这些双螺旋的各种不同组合的剂量-效应筛选法。用于分析法的双螺旋剂量为50nM、8.333333333nM、1.388888889nM、0.231481481nM、0.038580247nM、0.006430041nM、0.001071674nM、0.000178612nM、 2.97687×10^{-5} nM、 4.96145×10^{-6} nM、 8.26909×10^{-7} nM、及 1.37818×10^{-7} nM,其等代表双螺旋从50nM开始经过1至6次稀释的12种剂量。转染这些双螺旋72小时后,如上述测定病毒RNA(P ORF及S ORF)含量及HBsAg分泌量。这些分析法结果示于表21。

[1695]

表 21. 于 HepG2.2.15 细胞中的 72 小时 HBV 单剂量筛选

双螺旋 ID	S-ORF2 IC50_A (nM)	S-ORF2 IC50_B (nM)	S-ORF2 IC50_ 组 合 (nM)	P-ORF1 IC50_A (nM)	P-ORF1 IC50_B (nM)	P-ORF1 IC50_ 组 合 (nM)	S Ag ELISA ED50 (nM)
AD-66019/AD-66110	0.0091	0.0017	0.0038	0.0213	0.002	0.0076	0.007482
AD-66019/AD-65421	0.0438	0.2371	0.0131	0.0367	0.0106	0.0204	0.026398
AD-65375/AD-66110	0.0832	1.0896	0.193	0.0377	0.2348	0.2022	0.004174
AD-65375/AD-65421	0.084	0.0475	0.0708	0.0566	0.0388	0.0371	0.030822
AD-65407/AD-66110	0.0387	0.001	0.0083	0.0402	0.0018	0.0116	0.010172
AD-65407/AD-65421	0.0686	0.0062	0.0225	0.0711	0.0177	0.0396	0.066556
AD-65377/AD-66110	0.0634	0.8267	0.6269	0.0477	0.073	0.0618	0.01435
AD-65377/AD-65421	0.1461	0.0468	0.1372	0.1207	0.0088	0.0451	0.03419
AD-66111/AD-66110	0.0382	0.0094	0.0161	0.0292	0.0027	0.0088	0.013155
AD-66111/AD-65421	0.1628	0.0919	0.1579	0.1297	0.0396	0.0722	0.026889
AD-65403/AD-66110	0.0499	0.0094	0.0444	0.0383	0.0164	0.0348	0.003783
AD-65403/AD-65421	0.1011	0.0007	0.0208	0.1118	0.0031	0.0297	0.014569

[1696] 实例5.其他siRNA双螺旋的合成与活体外筛选

[1697] 依上述设计及合成其他靶向HBV基因组的X ORF的iRNA分子.其他未经修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表示于表22.其他经修饰的HBV正义与反义链序列的详细列表

示于表23。

[1698]

表 22. HBV dsRNA 的未经修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义寡聚物 名称	正义序列 (5' 向 3')	SEQ ID No:	反义寡聚物 名称	反义序列 (5' 向 3')	SEQ ID No:
AD-65776	A-131859.1	UGUGCACUUCGCUUACCCUCU	1069	A-131860.1	AGAGGUGAAGCGAAGUGCACACG	1115
AD-65782	A-131877.1	UGCACUUCGCUUACCCUCUGA	1070	A-131878.1	UCAGAGGUGAAGCGAAGUGCACA	1116
AD-65792	A-131865.1	GUGUGCACUUCGCUUACCCUA	1071	A-131866.1	UAGGUGAAGCGAAGUGCACACGG	1117
AD-65781	A-131861.1	CGUGUGCACUUCGCUUACCCU	1072	A-131862.1	AGGUGAAGCGAAGUGCACACGGU	1118
AD-64304	A-128443.6	GUGCACUUCGCUUACCCUCA	1073	A-128444.5	UAGAGGUGAAGCGAAGUGCACAC	1119
AD-65771	A-131857.1	CCGUGUGCACUUCGCUUACACA	1074	A-131858.1	UGUGAAGCGAAGUGCACACGGUC	1120
AD-65758	A-131867.1	CACUUCGCUUACCCUCUGCAA	1075	A-131868.1	UUGCAGAGGUGAAGCGAAAGUGCA	1121
AD-65777	A-131875.1	ACUUCGCUUACCCUCUGCACA	1076	A-131876.1	UGUGCAGAGGUGAAGCGAAAGUGC	1122
AD-61567	A-123525.2	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	1077	A-123526.2	UACCAAUUUAUUGCCUACAGCCUC	1123
AD-65772	A-131873.1	UUCGCUUACCCUCUGCACGUA	1078	A-131874.1	UACGUGCAGAGGUGAAGCGAAGU	1124
AD-65767	A-131871.1	UCGCUUACCCUCUGCACGUA	1079	A-131872.1	UGACGUGCAGAGGUGAAGCGAAG	1125
AD-65763	A-131869.1	CUUCGCUUACCCUCUGCACGU	1080	A-131870.1	ACGUGCAGAGGUGAAGCGAAGUG	1126
AD-64281	A-128395.3	CCCCGUCUGUGCCUUCUCAUA	1081	A-128396.2	UAUGAGAAGGCACAGACGGGAG	1127
AD-64311	A-128391.3	CCGUCUGUGCCUUCUCAUCUA	1082	A-128392.2	UAGAUGAGAAGGCACAGACGGGG	1128
AD-65790	A-131837.1	CCAGCACCAUGCAACUUUUUA	1083	A-131838.1	UAAAAAGUUGCAUGGUGCUGGUG	1129
AD-65761	A-131841.1	CACCAGCACCAUGCAACUUUU	1084	A-131842.1	AAAAAGUUGCAUGGUGCUGGUCG	1130
AD-65786	A-131849.1	CACCAUGCAACUUUUUACCU	1085	A-131850.1	AGGUGAAAAAGUUGCAUGGUGCU	1131
AD-65785	A-131835.1	CAAUUGUCAACGACCCGACCUUA	1086	A-131836.1	UAAGGUCGGUCGUUGACAUUGCA	1132
AD-65787	A-131863.1	CGCUUACCCUCUGCACGUCGA	1087	A-131864.1	UCGACGUGCAGAGGUGAAGCGAA	1133
AD-65770	A-131845.1	ACCUUGAGGCAUAUUCUCAAAG	1088	A-131846.1	CUUUGAAGUAUUGCCUCAAGGUCG	1134
AD-65766	A-131843.1	CCGACCUUGAGGCAUACUUCUA	1089	A-131844.1	UGAAGUAUGCCUCAAGGUCGGUC	1135
AD-61555	A-123521.2	GACCUUGAGGCAUACUUCAAA	1090	A-123522.2	UUUGAAGUAUUGCCUCAAGGUCGG	1136
AD-65762	A-131855.1	ACCGACCUUGAGGCAUACUUA	1091	A-131856.1	UAAGUAUGCCUCAAGGUCGGUCG	1137
AD-65755	A-131827.1	UCGCAUGGAGACCCCGUGAA	1092	A-131828.1	UUCACGGUGGUCUCCAUUGCGACG	1138

[1699]

AD-65788	A-131811.1	UUACAUAAAGAGGACUCUUGGA	1093	A-131812.1	UCCAAGAGUCCUCUUAUGUAAGA	1139
AD-65768	A-131803.1	UCUACAUAAAGAGGACUCUUA	1094	A-131804.1	UAAAGAGUCCUCUUAUGUAAGACC	1140
AD-61561	A-123523.2	ACUCAAAGACUGUUUGUUUA	1095	A-123524.2	UAAACAAACAGUCUUUUGAAGUAU	1141
AD-65764	A-131801.1	UACUCAAAGACUGUUUGUUU	1096	A-131802.1	AAACAAACAGUCUUUUGAAGUAUG	1142
AD-65753	A-131799.1	AUACUUCAAAGACUGUUUGUU	1097	A-131800.1	AACAAACAGUCUUUUGAAGUAUGC	1143
AD-65765	A-131817.1	UUGUUUAAAGACUGGGAGGAA	1098	A-131818.1	UUCUCCAGUCUUUAAACAAC	1144
AD-65769	A-131819.1	GCAUACUCAAAGACUGUUUA	1099	A-131820.1	UAAACAGUCUUUUGAAGUAUGCCU	1145
AD-65759	A-131815.1	CAAAGACUGUUUGUUUAAAGA	1100	A-131816.1	UCUUUAAACAACAGUCUUUGAA	1146
AD-65774	A-131831.1	AGACUGUUUGUUUAAAGACUA	1101	A-131832.1	UAGUCUUUAAACAACAGUCUUU	1147
AD-65778	A-131807.1	GUUGUUUAAAGACUGGGAGA	1102	A-131808.1	UCUCCAGUCUUUAAACAACACAG	1148
AD-65773	A-131805.1	GGGGAGGAGAUUAGAUUAAA	1103	A-131806.1	UUUAAUCUAAUCUCCUCCCCCA	1149
AD-65789	A-131825.1	GGGAGGAGAUUAGAUUAAAG	1104	A-131826.1	CUUAAUCUAAUCUCCUCCCCCA	1150
AD-65783	A-131809.1	GUUGGGGAGGAGAUUAGAUU	1105	A-131810.1	AAUCUAAUCUCCUCCUCCCCAACUC	1151
AD-65754	A-131813.1	UUGGGGAGGAGAUUAGAUUA	1106	A-131814.1	UAAUCUAAUCUCCUCCUCCCCAACU	1152
AD-65779	A-131821.1	GGGAGGAGAUUAGAUUAAAGA	1107	A-131822.1	UCUUUAAUCUAAUCUCCUCCCC	1153
AD-65791	A-131851.1	UUAGAUUAAAGGUCUUUGUA	1108	A-131852.1	UUACAAAGACCUUUUAAUCUAAUC	1154
AD-65760	A-131829.1	UAGAUUAAAGGUCUUUGUACU	1109	A-131830.1	AGUACAAAGACCUUUUAAUCUAAU	1155
AD-65784	A-131823.1	AUUAGAUUAAAGGUCUUUGUA	1110	A-131824.1	UACAAAGACCUUUUAAUCUAAUCU	1156
AD-65757	A-131853.1	GAGGAGAUUAGAUUAAAGGUA	1111	A-131854.1	UACCUUAAUCUAAUCUCCUCCC	1157
AD-65775	A-131847.1	GGACUCUUGGACUCUCUGCAA	1112	A-131848.1	UUGCAGAGAGUCCAAAGAGUCCUC	1158
AD-65780	A-131833.1	ACUCUUGGACUCUCUGCAAUA	1113	A-131834.1	UAUUGCAGAGAGUCCAAAGAGUCC	1159
AD-65756	A-131839.1	AGAUUAAAGGUCUUUGUACUA	1114	A-131840.1	UAGUACAAAGACCUUUUAAUCUAA	1160

表 23. HBV dsRNA 的未经修饰正义与反义链序列

双螺旋 ID	正义寡聚物 名称	正义序列 (5'向3')	SEQ ID NO:	反义寡聚物 名称	反义序列 (5'向3')	SEQ ID NO:
AD-65776	A-131859.1	UfsgsUfgCfaChUfCfGfcUfhCfaCfcUfcUfl.96	1161	A-131860.1	asGfsaGfgUfgAfaGfegaAfgUfgCfaCfascsg	1207

[1700]

AD-65782	A-131877.1	UfsgsCfaCfuUfcGfCfuUfcCfaCfcUfcUfgAfL96	1162	A-131878.1	usCfsaGfaGfgUfgAfagcGfaAfgUfgCfasca	1208
AD-65792	A-131865.1	GfsusGfuGfcAfcUfuUfcGfcfuUfcAfcCfuAfL96	1163	A-131866.1	usAfsGfuGfaAfgCfcaaGfuGfcAfcAfcsgsg	1209
AD-65781	A-131861.1	CfsgsUfgUfgCfaCfuUfcGfcUfuCfaCfcUfL96	1164	A-131862.1	asGfsgUfgAfaGfcGfaagUfgCfaCfaCfsgsu	1210
AD-64304	A-128443.6	GfsusGfcAfcUfuCfGfcUfcAfcCfuCfuAfL96	1165	A-128444.5	usAfsGfuGfuGfaAfgcgAfaGfuGfcAfcasac	1211
AD-65771	A-131857.1	CfscsGfuGfuGfcAfcUfuCfuCfuUfcAfcAfL96	1166	A-131858.1	usGfsuGfaAfgCfGafaguGfcAfcAfcGfsgusc	1212
AD-65758	A-131867.1	CfsasCfuUfcGfcUfuUfcfaCfcUfcUfgCfaAfL96	1167	A-131868.1	usUfsgCfaGfaGfgUfgaaGfcGfaAfgUfgscsa	1213
AD-65777	A-131875.1	AfscsUfuCfGfcUfuCfaCfcCfuGfcAfcAfL96	1168	A-131876.1	usGfsuGfcAfgAfgGfugaAfgCfGafafusgsc	1214
AD-61567	A-123525.2	GfsgsCfuGfuAfgGfcAfuAfaAfuUfgGfuAfL96	1169	A-123526.2	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcsusc	1215
AD-65772	A-131873.1	UfsusCfGfcUfuUfcAfcCfuCfuGfcAfcGfuAfL96	1170	A-131874.1	usAfsCfuGfuGfcAfgAfgguGfaAfgCfGafasgsu	1216
AD-65767	A-131871.1	UfscsGfcUfuCfaCfcUfuUfcCfaCfcUfcAfL96	1171	A-131872.1	usGfsaCfGfuUfgCfaGfagUfgAfaGfcGfasasg	1217
AD-65763	A-131869.1	CfsusUfcGfcUfuCfaCfcUfcUfgCfaCfGfuL96	1172	A-131870.1	asCfsgUfgCfaGfaGfugAfaGfcGfaAfgsug	1218
AD-64281	A-128395.3	CfscsCfcGfuCfuGfuUfgCfuUfcUfcAfuAfL96	1173	A-128396.2	usAfsuGfaGfaAfgGfcacAfgAfcGfgGfsgsg	1219
AD-64311	A-128391.3	CfscsGfuCfuGfuGfcCfuUfcUfcAfuCfuAfL96	1174	A-128392.2	usAfsGfuGfaGfaAfgGfcAfcAfgAfcGfsgsgsg	1220
AD-65790	A-131837.1	CfscsAfgCfaCfcAfuUfgCfaCfaCfuUfuAfL96	1175	A-131838.1	usAfsaAfaAfgUfuGfcuGfcuUfgCfuGfsgusg	1221
AD-65761	A-131841.1	CfsasCfcAfcCfaCfcAfuGfcAfaCfuUfuUfL96	1176	A-131842.1	asAfsaAfgUfuGfcAfuGfcUfgCfuGfgUfgscsg	1222
AD-65786	A-131849.1	CfsasCfcAfuGfcAfcCfuUfuUfuCfaCfcUfL96	1177	A-131850.1	asGfsgUfgAfaAfaAfguuGfcAfuGfgUfgscsu	1223
AD-65785	A-131835.1	CfsasAfuGfuCfaAfcGfaCfcGfaCfcUfuAfL96	1178	A-131836.1	usAfsaGfgUfcGfgUfcguUfgAfcAfuUfgscsa	1224
AD-65787	A-131863.1	CfsgsCfuUfcAfcCfuUfcfuGfcAfcGfuCfGafL96	1179	A-131864.1	usCfsgAfcGfuGfcAfgagGfuGfaAfgCfsgasa	1225
AD-65770	A-131845.1	AfscsCfuUfgAfgGfcAfuAfcUfuCfaAfaGfL96	1180	A-131846.1	csUfsuUfgAfaGfuAfuGfcCfuCfaAfgGfscsg	1226
AD-65766	A-131843.1	CfscsGfaCfcUfuGfAfgGfcUfaCfuUfcAfL96	1181	A-131844.1	usGfsaAfgUfaUfgCfcucAfaGfgUfcGfsgusc	1227
AD-61555	A-123521.2	GfsasCfcUfuGfaGfGfcfaUfaCfuUfcAfaAfL96	1182	A-123522.2	usUfsuGfaAfgUfaUfgccUfcAfaGfgUfcsgsg	1228
AD-65762	A-131855.1	AfscsCfGfcAfcCfuUfgAfgGfcAfuAfcUfuAfL96	1183	A-131856.1	usAfsaGfuAfuGfcCfucaAfgGfuCfGfscsg	1229
AD-65755	A-131827.1	UfscsGfcAfuGfgAfgAfcCfaCfcGfuGfaAfL96	1184	A-131828.1	usUfscAfcGfgUfgGfucuCfcAfuGfcGfascs	1230
AD-65788	A-131811.1	UfsusAfcAfuAfaGfAfgAfcUfcUfuGfgAfL96	1185	A-131812.1	usCfscAfaGfaGfuCfcucUfuAfuGfuAfasgsa	1231
AD-65768	A-131803.1	UfscsUfuAfcAfuAfaGfaGfgAfcUfuAfL96	1186	A-131804.1	usAfsaGfaGfuCfcUfcuuAfuGfuAfaGfascsc	1232
AD-61561	A-123523.2	AfscsUfuCfaAfaGfAfcfuGfuUfuGfuAfL96	1187	A-123524.2	usAfsaAfcAfaAfcAfgucUfuUfgAfaGfusasu	1233
AD-65764	A-131801.1	UfsasCfuUfcAfaAfgAfcUfgUfuUfgUfuAfL96	1188	A-131802.1	asAfsaCfaAfaCfaGfucUfuGfaAfgUfasusg	1234

[1701]

AD-65753	A-131799.1	AfsusAfcUfuCfaAfAfGfaCfuGfuUfuGfuUfL96	1189	A-131800.1	asAfsaAfaAfcAfgUfcuuUfgAfaGfuAfusgsc	1235
AD-65765	A-131817.1	UfsusGfuUfuAfaAfGfAfcUfgGfgAfgGfaAfl96	1190	A-131818.1	usUfscCfuCfcCfaGfuUfuAfaAfcAfasasc	1236
AD-65769	A-131819.1	GfscsAfuAfcUfuCfaAfaGfaCfuGfuUfuAfl96	1191	A-131820.1	usAfsaAfcAfgUfcUfuugAfaGfuAfuGfscsu	1237
AD-65759	A-131815.1	CfsasAfaGfaCfuGfuUfuGfuUfuAfaAfgAfl96	1192	A-131816.1	usCfsuUfuAfaAfcAfaacAfgUfcUfuUfgsasa	1238
AD-65774	A-131831.1	AfsgsAfcUfgUfuUfgUfuUfaAfaGfaCfuAfl96	1193	A-131832.1	usAfsaUfcUfuUfaAfaAfaCfaGfuCfususu	1239
AD-65778	A-131807.1	GfsusUfuGfuUfuAfaAfaAfgAfcUfgGfgAfgAfl96	1194	A-131808.1	usCfsuUfcCfaGfuCfuUfaAfaAfaAfcAfasag	1240
AD-65773	A-131805.1	GfsgsGfgGfaGfgAfgAfuUfaGfaUfuAfaAfl96	1195	A-131806.1	usUfsuAfaUfcUfaAfuCfuAfuCfcCfcCfcasa	1241
AD-65789	A-131825.1	GfsgsGfgAfgGfaGfaAfuUfaAfuUfaAfaGfl96	1196	A-131826.1	csUfsuUfaAfuCfuAfaucUfcCfuCfcCfcscsa	1242
AD-65783	A-131809.1	GfsusUfgGfgGfaGfgAfgAfuUfaAfuUfl96	1197	A-131810.1	asAfsuUfcUfaAfuUfcUfcuUfcCfcCfaAfcusuc	1243
AD-65754	A-131813.1	UfsusGfgGfgGfaGfgAfgAfuUfaGfaUfuAfl96	1198	A-131814.1	usAfsaUfcUfaAfuCfuUfcUfcCfcCfcAfascsu	1244
AD-65779	A-131821.1	GfsgsGfaGfgAfgAfuUfaGfaUfuAfaAfgAfl96	1199	A-131822.1	usCfsuUfuAfaUfcUfaauCfuCfcUfcCfcscsc	1245
AD-65791	A-131851.1	UfsusAfgAfuUfaAfaAfgGfgUfcUfuUfgUfaAfl96	1200	A-131852.1	usUfsaCfaAfaGfaCfcuUfaAfuCfuAfasusc	1246
AD-65760	A-131829.1	UfsasGfaUfuAfaAfgGfgCfuUfuGfuAfcUfl96	1201	A-131830.1	asGfsuAfcAfaAfgAfcuUfuAfaUfcUfasasu	1247
AD-65784	A-131823.1	AfsusUfaGfaUfuAfaAfaAfgGfuCfuUfuGfuAfl96	1202	A-131824.1	usAfsaAfaAfgAfcCfuUfaUfaUfaAfuscsu	1248
AD-65757	A-131853.1	GfscsGfgAfgAfuUfaAfgAfuUfaAfaAfgGfuAfl96	1203	A-131854.1	usAfsaCfuUfuAfaUfcuAfuCfuCfcUfcscsc	1249
AD-65775	A-131847.1	GfsgsAfcUfcUfuGfgAfcUfcUfcUfgCfaAfl96	1204	A-131848.1	usUfsgCfaGfaGfaGfuCfaAfaGfaGfuCfcusuc	1250
AD-65780	A-131833.1	AfscsUfcUfuGfgAfcUfcUfcUfgCfaAfuAfl96	1205	A-131834.1	usAfsuUfgCfaGfaGfaguCfcAfaGfaGfusesc	1251
AD-65756	A-131839.1	AfsgsAfuUfaAfaGfgUfcUfuUfgUfaCfuAfl96	1206	A-131840.1	usAfsaUfaCfaAfaGfaccUfuUfaAfuCfusasa	1252

[1702] 这些双螺旋的单剂量筛选法是在Cos7细胞中,依1nM与50nM,使用上述Dual-Glo[®]

荧光素酶分析法进行。分析结果示于表24。

[1703] 表24. 使用Dual-Glo**Luciferase**®分析法的HBV单剂量筛选法

[1704]

双螺旋 ID	50 nM	STDE V	1 nM	STDE V
AD-65776	20.11	4.21	40.79	1.89
AD-65782	26.31	3.10	61.07	9.16
AD-65792	43.31	5.24	61.09	6.02
AD-65781	25.77	3.66	39.63	2.87
AD-64304	18.87	1.26	29.72	3.37
AD-65771	17.16	1.78	37.55	2.20
AD-65758	31.74	8.26	65.77	11.05
AD-65777	59.76	11.15	77.63	5.14
AD-61567	17.69	5.29	26.45	5.66
AD-65772	58.07	9.67	75.66	4.92
AD-65767	29.65	1.60	39.64	4.36
AD-65763	25.10	5.77	47.78	9.99
AD-64281	39.07	6.80	51.46	4.19
AD-64311	20.51	1.96	37.80	3.53
AD-65790	50.41	7.00	70.30	1.95
AD-65761	13.30	4.38	21.14	3.49
AD-65786	12.45	3.51	22.62	0.33
AD-65785	36.87	6.04	51.49	4.18
AD-65787	27.97	5.73	48.18	7.65
AD-65770	22.67	5.39	41.48	8.52
AD-65766	31.44	3.35	50.25	0.45
AD-61555	18.43	10.83	22.61	0.57
AD-65762	18.87	4.86	34.94	4.81
AD-65755	47.03	9.38	83.19	9.68
AD-65788	35.85	10.13	58.07	4.78

[1705]

AD-65768	24.02	2.49	28.55	2.53
AD-61561	8.11	1.29	14.26	2.27
AD-65764	16.89	3.99	29.10	1.03
AD-65753	19.10	2.87	29.79	5.26
AD-65765	55.40	10.72	76.93	8.79
AD-65769	19.24	4.47	23.18	2.54
AD-65759	48.86	4.81	87.31	13.75
AD-65774	102.27	12.33	100.79	3.24
AD-65778	64.39	2.60	80.67	2.59
AD-65773	72.64	7.87	80.80	4.83
AD-65789	73.59	4.35	94.72	3.32
AD-65783	54.41	7.15	84.46	4.32
AD-65754	62.51	4.12	102.63	21.42
AD-65779	47.40	7.51	76.20	2.05
AD-65791	12.09	0.70	19.19	3.46
AD-65760	13.50	4.84	25.37	2.09
AD-65784	19.84	1.27	31.04	3.49
AD-65757	22.66	3.97	24.50	5.81
AD-65775	47.78	3.30	58.81	3.05
AD-65780	29.10	2.87	42.85	2.73
AD-65756	10.49	1.62	19.95	2.58

[1706] 依据这些分析法,在HBV X ORF中选择靶向5个位点(GenBank Accession No.NC_003977.1的核苷酸1551、1577、1580、1806、与1812)的RNAi剂,供最优化,并设计及合成其他制剂。如上述于活体外分析法中分析这些其他制剂。其他靶向HBV X ORF的未经修饰正义与反义链序列的详细列表示于表25。其他靶向HBV X ORF的经修饰正义与反义链序列的详细列表示于表26。

[1707] 亦采用AAV-HBV小鼠模式(参见例如:Yang等人(2014)Cell and Mol Immunol 11:71)分析这些iRNA剂的活体内效力。此小鼠模式在感染带有可复制的HBV基因组的重组腺-相关病毒(AAV)后,具有持续性HBV病毒血症。这些小鼠的HBV基因的肝表达拟似人类的HBV感染,且这些小鼠具有显著肝发炎及肝损伤,出现ALT含量升高、纤维化、及硬化等病症。

[1708] 对这些AAV-HBV小鼠经皮下给予单剂3mg/kg的AD-66808、AD-66809、AD-66810、AD-

66811、AD-66812、AD-66813、AD-66814、AD-66815、AD-66816、及AD-66817,并在给予前及给予后第14/15天测定动物血清中HBsAg含量。这些实验结果示于图2及表27,并证实这些制剂在给予单剂后可降低血清中HBsAg含量。表27亦提供以相同RNAi剂,于经过所指定HBV iRNA转染的Cos7细胞中,采用如上述Dual-Glo[®]荧光素酶分析法进行单剂量筛选法的结果。数据是以24小时时相对于阴性对照组的mRNA残留百分比表示。

[1709]

表 25. 未经修饰 HBV X ORF 正义与反义序列

双螺旋 ID	未经修饰的正义序列 (5' 向 3')	SEQ ID NO:	未经修饰的反义序列 (5' 向 3')	SEQ ID NO:
AD-66808	GUCUGUGCCUUCUCA	1253	UAGAUGAGAAAGGCACAGACUU	1263
AD-66809	GUCUGUGCCUUCUCA	1254	UAGAUGAGAAAGGCACAGACUU	1264
AD-66810	GUGUGCACUUCGCUUCACA	1255	UGUGAAGCGAAGUGCACACUU	1265
AD-66811	GUGUGCACUUCGCUUCACA	1256	UGUGAAGCGAAGUGCACACUU	1266
AD-66812	UGUGCACUUCGCUUCACCUU	1257	AGAGGUGAAGCGAAGUGCACAUU	1267
AD-66813	UGUGCACUUCGCUUCACCUU	1258	AGAGGUGAAGCGAAGUGCACAUU	1268
AD-66814	CACCAAGCACCAUGCAACUUUU	1259	AAAAGUUGCAUUGGUGCUGGUGUU	1269
AD-66815	CACCAAGCACCAUGCAACUUUU	1260	AAAAGUUGCAUUGGUGCUGGUGUU	1270
AD-66816	CACCAUGCAACUUUUUUCACCU	1261	AGGU'GAAAAAGUUUGCAUGGUGUU	1271
AD-66817	CACCAUGCAACUUUUUUCACCU	1262	AGGUGAAAAAGUUUGCAUGGUGUU	1272

[1710] 表27.

表 26. 经修饰 HBV X ORF 正义与反义序列

双螺旋 ID	经修饰的正义序列 (5' 向 3')	SEQ ID NO:	经修饰的反义序列 (5' 向 3')	SEQ ID NO:
AD-66808	gsuscuGfuGfcfCfmuucaucaL96	1273	usAfsaganGfaGfAfggcAfcAfgacsusu	1283
AD-66809	gsuscuGfuGfcfCfmuucaucaL96	1274	UfsAfsaganGfaGfAfggcAfcAfgacsusu	1284
AD-66810	gsusguGfcAfcfUfucgcuucacaL96	1275	usGfsugaAfgCfGfaagnGfcAfcacsusu	1285
AD-66811	gsusguGfcAfcfUfucgcuucacaL96	1276	UfsGfsugaAfgCfGfaagnGfcAfcacsusu	1286
AD-66812	usgsugcaCfuUfCfGfmuucaucaL96	1277	asGfsaggUfgAfaGfcgaAfgUfgcacasusu	1287
AD-66813	usgsugcaCfuUfCfGfmuucaucaL96	1278	AfsGfsaggUfgAfaGfcgaAfgUfgcacasusu	1288
AD-66814	csasccagCfaCfcfAfuagcaacuuuL96	1279	asAfsaagUfuGfCfauggUfgCfuggugsusu	1289
AD-66815	csasccagCfaCfcfAfuagcaacuuuL96	1280	AfsAfsaagUfuGfCfauggUfgCfuggugsusu	1290
AD-66816	csasccauGfcAfaCfmuuucacuuL96	1281	asGfsugagAfaAfaGaguuGfcAfuuggugsusu	1291
AD-66817	csasccauGfcAfaCfmuuucacuuL96	1282	AfsGfsugagAfaAfaGaguuGfcAfuuggugsusu	1292

[1711]

位点 (# vRNA ¹)	双螺旋 ID	活体外 IC ₅₀ Luc HBV (nM)	Log ₁₀ HBsAg KD 活体内 @3 mg/kg
1551	AD-66808	0.187	2.4
(4)	AD-66809	0.014	1.46
1577	AD-66810	0.290	1.7
(4)	AD-66811	0.029	1.3
1580	AD-66812	0.795	2.19
(4)	AD-66813	0.074	>>1.14
1806	AD-66814	0.0002	1.5
(4)	AD-66815	0.0001	>>1.56
1812	AD-66816	0.047	1.61
(4)	AD-66817	0.0001	1.60

[1712] ¹病毒RNA沉默化数量

[1713] 实例6.siRNA双螺旋的活体内筛选法

[1714] 由一小组前导iRNA剂采用上述AAV-HBV小鼠模式分析活体内效力。对AAV-HBV小鼠经皮下给予单剂3mg/kg的AD-66019、AD-65375、AD-65407、AD-65377、AD-66111、AD-65421、或AD-66110,并在给予前及给予后第5天及第10天测定动物血清中HBsAg含量。对照组则由AAV-HBV小鼠接受给予一剂3mg/kg的靶向小鼠/大鼠转甲状腺素 (mrTTR) 的dsRNA。这些实验结果示于图3,并证实在给予单剂这些制剂后可降低血清中HBsAg含量。

[1715] 图4是说明这些动物在接受给予单剂3mg/kg后亦于第5天及第10天测定其相对于给予前HBsAg的残留百分比的图示。这些实验结果示于图4。图4还说明给予后第10天的HBsAg相对于动物接受3mg/kg靶向小鼠/大鼠转甲状腺素 (transferrin) (mrTTR) 的对照dsRNA给予后第10天的HBsAg的残留百分比。

[1716] 至少一部分依据上述活体外与活体内分析结果,选择沉默3HBV RNA的AD-65403及沉默X基因的AD-66810作为用于单方疗法或组合疗法的候选药物(DC)。

[1717] 图5证实感染HBV的AAV-HBV小鼠模式中,单剂3mg/kg的AD-65403即可达到强力且专一性地减弱HBsAg。具体地,经皮下给予单剂3mg/kg的AD-65403可使HBsAg含量下降达 $3.91\log_{10}$,给予单剂5至10天后,平均HBsAg下降 $1.81\log_{10}$ 。

[1718] 图6A与6B证实感染HBV的AAV-HBV小鼠模式中,经皮下给予单剂0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、或9mg/kg的AD-66810可达到强力且专一性减弱HBsAg,尤其在高剂量AD-66810下。血清中HBsAg的下降百分比是以标准规定示于图6A,及以 \log_{10} 规定示于图6B。图7证实感染HBV的AAV-HBV小鼠模式中,每周三次经皮下给予剂量0.3mg/kg的AD-66810后,可达到强力且专一性减弱HBsAg且持续4个月以上。

[1719] 实例7.使用靶向HBV的组合制剂治疗HBV感染

[1720] 由一小组本发明iRNA剂采用上述AAV-HBV小鼠模式分析活体内效力。对AAV-HBV小鼠给予一剂或多剂AD-65403及AD-66810,其是单独或彼此组合给予。给予疗程实例包括单剂3mg/kg总iRNA剂量的AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合(亦即各iRNA剂为1.5mg/kg,总计3mg/kg的siRNA,呈混合物或分成两个剂量给予);或给予单剂量0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、或9mg/kg总iRNA剂量的AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合。多剂量疗程实例包括例如:依单剂量疗程实例中所提供任何剂量程度给予三周剂量,一周一次。亦依本领域例行作法给予适当对照iRNA剂作为对照组。

[1721] 在给予前及在给予后预定时间间隔下(例如:给予后每5天)测定动物血清中HBsAg含量,直到HbsAg含量恢复至基线为止。给予AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合的结果可持续且专一性减弱血清HbsAg。

[1722] 实例8.使用靶向B型肝炎病毒的iRNA制剂治疗HDV感染

[1723] δ 型肝炎病毒(HDV)是一种缺陷型RNA病毒,其需要HBV协助新病毒粒子的复制与组装。因此,仅在出现活性HBV感染时才会感染HDV。HDV基因组仅包含一种主动转录的开放读码框,其编码两种D型肝炎抗原同型。涉及磷酸化与异戊二烯化的翻译后修饰的小型及大型 δ 型抗原(S-HDAg与L-HDAg)分别赋与这些抗原的专一性。HBV的有效治疗亦缓解HDV感染。

[1724] HDV黑猩猩模式是已知者。由一小组本发明iRNA剂采用HDV黑猩猩模式或其他适当模式分析活体内效力。感染HDV的黑猩猩接受给予一剂或多剂的AD-65403与AD-66810,其是单独或彼此组合给予。给予疗程实例包括单剂3mg/kg总iRNA剂量的AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合(亦即各iRNA剂为1.5mg/kg,总计3mg/kg的siRNA,呈混合物或分成两个剂量给予);或给予单剂量0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、或9mg/kg总iRNA剂量的AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合。多剂量疗程实例包括例如:依单剂量疗程实例中所提供任何剂量程度给予三周剂量,一周一次。亦依本领域例行作法给予适当对照iRNA剂作为对照组。

[1725] 在给予前及在给予后预定时间间隔下(例如:给予后每5天)测定动物血清中S-HDAg、L-HDAg、与HDV RNA中一者或多者的含量,可视需要与HbsAg组合,以监测抗原或RNA含量。给予AD-65403、AD-66810、或AD-65403与AD-66810的组合的结果可持续且专一性减弱血清HbsAg,造成缓解HDV,此点可由例如:S-HDAg、L-HDAg、与HDV RNA中的一个或多个统计上显著降低来证实。这些结果证实给予AD-65403与AD-66810中的一或二者可以有效治疗HDV。

[1726] 同等物

[1727] 本领域普通技术人员应了解,或可采用例行实验即可确认许多本文所说明的专一性实施例及方法的同等物。这些同等物均意图包括在下列权利要求中。

<110> 阿尔尼拉姆医药有限公司 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.)

<120> B 型肝炎病毒 (HBV) iRNA 组成物及其使用方法

(HEPATITIS B VIRUS (HBV) iRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF)

<130> 121301-02320

<140>

<141>

<150> 62/077, 799

<151> 2014-11-10

<150> 62/077, 672

<151> 2014-11-10

<150> 62/137, 464

<151> 2015-03-24

<160> 1292

<170> PatentIn version 3.5

[0001]

<210> 1

<211> 3215

<212> DNA

<213> B 型肝炎病毒

<400> 1

ctccacaaca ttccaccaag ctctgctaga tcccagagtg aggggcctat attttcctgc	60
tggtggctcc agttccggaa cagtaaacc tgttccgact actgcctcac ccatatcgtc	120
aatcttctcg aggactgggg accctgcacc gaacatggag agcacaacat caggattcct	180
aggaccctcg ctctgtttac aggcgggggt tttcttggtg acaagaatcc tcacaatacc	240
acagagtcta gactcgttgt ggacttctct caattttcta gggggagcac ccacgtgtcc	300
tggccaaaat tcgcagtccc caacctccaa tcaactacca acctcttgtc ctccaacttg	360
tcctggctat cgttgatgt gtctgcggcg tttatcata ttctcttca tcctgtgtct	420
atgcctcatc ttcttggttg ttctcttgga ctaccaaggt atgttgcccg tttgtctct	480
acttcagga acatcaacta ccagcacggg accatgcaga acctgcacga ttctgtctca	540
aggaacctct atgtttccct cttgttgctg tacaaaacct tcggacggaa actgcacttg	600

	tattcccatc ccatcatcct gggttttcgc aagattccta tgggagtggg cctcagtccg	660
	tttctcctgg ctcagtttac tagtgccatt tgttcagtgg ttcgtagggc tttccccac	720
	tgtttgctt tcagctatat ggatgatgtg gtattggggg ccaagtctgt acaacatctt	780
	gagtcctttt ttacctatat taccaatttt cttttgtctt tgggtataca tttgaaccct	840
	aataaaacca aacgttgggg ctactccctt aacttcatgg gatatgtaat tgggaagtgg	900
	ggtactttac cgcaggaaca tattgtacaa aaactcaagc aatgttttcg aaaattgcct	960
	gtaaatagac ctattgattg gaaagtatgt caaagaattg tgggtctttt gggttttgc	1020
	gcccccttta cacaatgtgg ctatcctgcc ttgatgcctt tatatgcatg tatacaatct	1080
	aagcaggett tcactttctc gccaaacttac aaggcctttc tgtgtaaaca atatctaaac	1140
	ctttaccccg ttgcccgga acggtcaggt ctctgccaa tgtttgctga cgcaaccccc	1200
	acgggttggg gcttgcccat aggccatcgg cgcattcgtg gaacctttgt ggctcctctg	1260
	ccgatccata ctgcggaact cctagcagct tgttttgctc gcagccggtc tggagcgaaa	1320
[0002]	cttatcgga cgcacaactc agttgtcctc tctcgaaat acacctcctt tccatggctg	1380
	ctaggctgtg ctgccaactg gatcctgcgc gggacgtcct ttgtctacgt cccgtcggcg	1440
	ctgaatcccg cggacgacc gtctcggggc cgtttgggcc tctaccgtcc ccttcttcat	1500
	ctgccgttcc ggccgaccac ggggcgcacc tctctttacg cggctctccc gtctgtgcct	1560
	tctcatctgc cggaccgtgt gcacttcgtc tcacctctgc acgtagcatg gagaccaccg	1620
	tgaacgccc ccaggtcttg cccaaggtct tacacaagag gactcttga ctctcagcaa	1680
	tgtcaacgac cgaccttgag gcatacttca aagactgttt gtttaagac tgggaggagt	1740
	tgggggagga gattaggtta aaggtctttg tactaggagg ctgtaggcatt aaatttgtct	1800
	gttcaccagc accatgcaac ttttccct ctgcctaac atctcatgtt catgtcctac	1860
	tgttcaagcc tccaagctgt gccttgggtg gctttggggc atggacattg acccgtataa	1920
	agaatttga gcttctgttg agttactctc ttttttgcct tctgacttct ttccttctat	1980
	tcgagatctc ctgcacaccg cctctgtctt gtatcgggag gccttagagt ctccggaaca	2040
	ttgttcacct caccatacag cactcaggca agctattctg tgttggggtg agttgatgaa	2100

	tctggccacc tgggtgggaa gtaatttga agaccagca tccagggaat tagtagtcag	2160
	ctatgtcaat gttaatatgg gcctaaaaat tagacaacta ttgtggtttc acatttcctg	2220
	ccttactttt ggaagagaaa ctgtccttga gtatttgggtg tcttttggag tgtggattcg	2280
	cactcctccc gcttacagac caccaaattgc ccctatctta tcaacacttc cggaaactac	2340
	tgttggttaga cgacgaggca ggtccctag aagaagaact ccctcgctc gcagacgaag	2400
	gtctcaatcg ccgcgtcgca gaagatctca atctcgga tctcaatgtt agtatccctt	2460
	ggactcataa ggtgggaaac ttactgggc ttattcttc tactgtacct gtctttaatc	2520
	ctgattggaa aactccctcc ttctctcaca ttcatctaca ggaggacatt attaatagat	2580
	gtcaacaata tgtgggccct ctgacagtta atgaaaaag gagattaaaa ttaattatgc	2640
	ctgctaggtt ctatcctaac ctaccaaatt atttgcctt ggacaaaggc attaaaccgt	2700
	attatcctga atatgcagtt aatcattact tcaaaactag gcattattta catactctgt	2760
	ggaaggctgg cattctatat aagagagaaa ctacacgcag cgcctcatit tgtgggtcac	2820
[0003]	catattcttg ggaacaagag ctacagcatg ggaggttggt cttccaaacc tcgacaaggc	2880
	atggggacga atctttctgt tccaatcct ctgggattct ttccgatca ccagttggac	2940
	cctgcgttcg gagccaactc aaacaatcca gattgggact tcaaccccaa caaggatcac	3000
	tggccagagg caaatcaggt aggagcgga gcatttggtc cagggttcac cccaccacac	3060
	ggaggccttt tggggtggag ccctcaggct cagggcataat tgacaacact gccagcagca	3120
	cctcctctg cctccaccaa tcggcagtc ggaagacagc ctactcccat ctctccacct	3180
	ctaagagaca gtcctcctca ggccatgcag tggaa	3215
	<210> 2	
	<211> 3215	
	<212> DNA	
	<213> B 型肝炎病毒	
	<400> 2	
	ttccactgca tggcctgagg atgactgtct cttagagggtg gagagatggg agtaggctgt	60
	cttcctgact gccgattggt ggaggcagga ggagggtctg ctggcagtggt tgtcaatatg	120
	ccctgagcct gagggctcca ccccaaaagg cctccgtgtg gtggggtgaa ccctggacca	180

	aatgctcccg ctcctacctg atttgctctt ggccagtgat ccttggtggg gttgaagtcc	240
	caatctggat tgtttgagtt ggctccgaac gcagggtcca actggtgac gggaagaat	300
	cccagaggat tgggaacaga aagattcgtc cccatgcctt gtcgaggttt ggaagaccaa	360
	cctcccatgc tgtagctctt gtcccaaga atatggtgac ccacaaaatg aggcgctgcg	420
	tgtagtttct ctcttatata gaatgccagc cttccacaga gtatgtaa atgcctagt	480
	tttgaagtaa tgattaactg catattcagg ataatacgg ttaatgcctt tgtccaagg	540
	caaataattg gtaaggtag gatagaacct agcaggcata attaatatta atctccttt	600
	ttcattaact gtcagagggc ccacatattg ttgacatcta ttaataatgt cctcctgtaa	660
	atgaatgtga ggaaaggagg gagttttcca atcaggatta aagacaggta cagtagaaga	720
	ataaagccca gtaaagtctt ccaccttatg agtccaagg atactaacat tgagattccc	780
	gagattgaga tcttctgcga cgcggcgatt gagacctcg tctgcgaggc gagggagttc	840
	ttcttctagg ggacctgcct cgtcgtctaa caacagtagt ttccggaagt gttgataaga	900
	taggggcatt tgggtgcttg taagcgggag gagtgcgaat ccacactcca aaagacacca	960
[0004]	aatactcaag gacagtttct cttccaaaag taaggcagga aatgtgaaac cacaatagtt	1020
	gtctaatttt taggcccata ttaacattga catagctgac tactaattcc ctggatgctg	1080
	ggtcttccaa attacttccc acccagggtg ccagattcat caactaccc caacacagaa	1140
	tagcttgctt gagtgcgtga tggtaggtg aacaatgtt cggagactct aaggcctccc	1200
	gatacagagc agaggcgggtg tcgaggagat ctgaaataga aggaaagaag tcagaaggca	1260
	aaaaagagag taactccaca gaagctccaa attctttata cgggtcaatg tccatgcccc	1320
	aaagccaccc aaggcacagc ttggaggctt gaacagtagg acatgaacat gagatgatta	1380
	ggcagagggg aaaaagtgc atggtgcttg tgaacagacc aatttatgcc tacagctccc	1440
	tagtaciaag acctttaacc taatctctc ccccaactcc tccagttctt taaacaaaca	1500
	gtctttgaag tatgcctcaa ggtcggctgt tgacattgct gagagtccaa gattcctctt	1560
	gtgtaagacc ttgggcaaga cctggtgggc gttcacggtg gtctccatgc tacgtgcaga	1620
	ggtgaagcga agtgcacacg gtccggcaga tgagaaggca cagacgggga gaccgcgtaa	1680
	agagaggtgc gccccgtggt cgcccggaac ggcagatgaa gaaggggacg gtagaggccc	1740

	aaacggcccc gagacgggtc gtccgcggga ttcagcgccg acgggacgta gacaaaggac	1800
	gtcccgcgca ggatccagtt ggcagcacag cctagcagcc atggaaagga ggtgtatttc	1860
	cgagagagga caactgagtt gtcggttccg ataagtttcg ctccagaccg gctgcgagca	1920
	aaacaagctg ctaggagttc cgcagtatgg atcggcagag gagccacaaa ggttccacgc	1980
	atgcgccgat ggcctatggc caagcccaaa cccgtggggg ttgcgtcagc aaacacttgg	2040
	cagagacctg accgttgccg ggcaacgggg taaaggttta gatattgttt acacagaaag	2100
	gccttgtaag ttggcgagaa agtgaaagcc tgcttagatt gtatacatgc atataaaggc	2160
	atcaaggcag gatagccaca ttgtgtaaaa ggggcagcaa agcccaaaag acccacaatt	2220
	ctttgacata ctttccaatc aataggtcta ttacaggca attttcgaaa acattgcttg	2280
	agtttttgta caatatgttc ctgcggtaaa gtaccccaac ttccaattac atatcccatg	2340
	aagttaaggg agtagcccca acgtttggtt ttattaggtt tcaaatgtat acccaaagac	2400
	aaaagaaaat tggtaataga ggtaaaaagg gactcaagat gttgtacaga cttggccccc	2460
[0005]	aataccacat catccatata gctgaaagcc aaacagtggg ggaaagccct acgaaccact	2520
	gaacaaatgg cactagtaaa ctgagccagg agaaacggac tgaggcccac tcccatagga	2580
	atcttgcgaa agcccaggat gatgggatgg gaatacaagt gcagtttccg tccgaaggtt	2640
	ttgtacagca acaagaggga aacatagagg ttccttgagc aggaatcgtg caggttctgc	2700
	atgggcccggt gctggtagtt gatgttcctg gaagtagagg acaaacgggc aacatacctt	2760
	ggtagtccag aagaaccaac aagaagatga ggcatagcag caggatgaag aggaatatga	2820
	taaaacgccg cagacacatc cagcgatagc caggacaagt tggaggacaa gaggttggtg	2880
	agtgattgga ggttggggac tgcgaatttt ggccaggaca cgtgggtgct cccctagaa	2940
	aattgagaga agtccaccac gagtctagac tctgtggtat tgtgaggatt cttgtcaaca	3000
	agaaaaaccc cgctgtaac acgagcaggg gtcctaggaa tcctgatgtt gtgctctcca	3060
	tgttcgggtgc aggggtcccca gtcctcgaga agattgacga tatgggtgag gcagtagtcg	3120
	gaacagggtt tactgttccg gaactggagc caccagcagg aaaatatagg cccctcactc	3180
	tgggatctag cagagcttgg tggaatgttg tggag	3215

<210> 3		
<211> 3215		
<212> DNA		
<213> B 型肝炎病毒		
<220>		
<221> 经修饰_碱基		
<222> (2768).. (2768)		
<223> a, c, t, g, 未知物或其他		
<400> 3		
	ctccaccaca ttccaccaag ctctgctaca ccccagagta aggggcctat actttcctgc	60
	tggtggctcc agttccggaa cagtaaaccg tgttccgact actgcctctc ccatatcgtc	120
	aatcttctcg aggactgggg accctgcacc gaacatggag aacacaacat caggattcct	180
	aggacccctg ctctgtttac aggcgggggtt tttcttgttg acaagaatcc tcacaatacc	240
	acagagtcta gactcgttgt ggacttctct caattttcta gggggagcac ccacgtgtcc	300
	tggccaaaat tcgcagtcce caacctccaa tcactcacca acctcttgtc ctccaatttg	360
[0006]	tcctggctat cgctggatgt gtctgcggcg ttttatcata ttctcttca tcctgtgtct	420
	atgcctcadc ttcttgttgg ttcttctgga ctaccaaggt atgttgcccg tttgtcctct	480
	acttcagga acatcaacta ccagcacggg accatgcaag acctgcacga ttctgtctca	540
	aggcacctct atgtttccct cttgttctg tacaaaacct tcggacggaa actgcacttg	600
	tattcccatc ccatcatcct gggttttcgc aagattccta tgggagtggg cctcagtccg	660
	tttctcctgg ctcagtttac tagtgccatt tgttcagtgg ttcgtagggc tttccccac	720
	tgtttggett tcagttatat ggatgatgtg gtattggggg ccaagtctgt acaacatctt	780
	gagtccectt ttacegetgt taccaatttt cttttgtctt tgggtataca tttgaaccct	840
	aataaaacca aacgttgggg ttactccctt aacttcatgg gatatgtaat tggaagttag	900
	ggtactttac cgcaagacca tattgtacta aaaatcaagc aatgttttcg aaaactgcct	960
	gtaaataagac ctattgattg gaaagtatgt cagagaattg tgggtctttt gggtcttctg	1020
	gcccccttta cacaatgttg ctatcctgcc ttaatgcctt tatatgcatg tatacaatct	1080
	aagcaggctt tcactttctc gccaaacttac aaggcctttc tgtgtaaaca atatctgaac	1140

	ctttaccccg ttgcccggca acggtcaggt ctctgccaag tgtttgc tga cgcaaccccc	1200
	actggatggg gcttggctat tggccatcgc cgc atgcgtg gaacctttgt ggctcctctg	1260
	ccgatecata ctgcggaact cctagcagct tgttttgctc gcagccggtc tggagcgaaa	1320
	ctgatecgaa cggacaactc tgttgttctc tctcggaat acacctcctt tccatggctg	1380
	ctagggtgtg ctgccaactg gatcctgcgc gggacgtcct ttgtttacgt cccgtcggcg	1440
	ctgaatcccg cggacgacce atctcggggc cgtttgggtc tctaccgtcc ctttcttcat	1500
	ctgccgttcc ggccgaccac ggggcgcacc tctctttacg cggctctccc gtctgtgcct	1560
	tctcatctgc cggaccgtgt gcacttcgct tcacctctgc acgtcgc atg gagaccaccg	1620
	tgaacgcca ccaggtcttg cccaaggtct tatataagag gactcttga ctctcagaa	1680
	tgtcaacgac cgaccttag gcatacttca aagactgtt gttaaggac tgggaggagt	1740
	tgggggagga gattaggta atgatctttg tactaggagg ctgtaggcat aaattggtct	1800
	gttcaccagc accatgcaac ttttcacct ctgcctaate atctcatgtt catgtcctac	1860
[0007]	tgttcaagcc tccaagctgt gccttgggtg gctttaggac atggacattg accatataa	1920
	agaatttga gcttctgtgg agttactctc tttttgcct tctgactttt ttccttctat	1980
	tcgagatctc ctgcacaccg cctctgctct gtatcgggag gccttagagt ctccggaaca	2040
	ttgttcacct caccatacag cactcagaca agccattctg tgttgggggtg agttgatgaa	2100
	tctggccacc tgggtgggaa gtaatttga agaccagca tccagggaat tagtagtcag	2160
	ctatgtcaat gttaatatgg gcctaaaaat cagacaacta ctgtggttcc acatttctctg	2220
	tcttactttt ggaagagaaa ctgttcttga gtatttgggtg tcttttggag tgttgattcg	2280
	cactctcct gcttacagac catcaaatgc ccctatctta tcaacacttc cggaaactac	2340
	tgttgttaga cgacgagga ggtcccttag aagaagaact ccctcgcctc gcagacgaag	2400
	gtctcaatcg ccgcgtcgca gaagatctca atctcgggaa cctcaatgtt agtatccctt	2460
	ggactcataa ggtgggaaac tttactgggc tttattcttc tactgtacct gtctttaatc	2520
	ctgagtggca aactccctct tttctcata ttcatttgca ggaggacatt attaatagat	2580
	gtcaacaata tgtgggcct cttacagtta atgaaaaag gagattaaaa ttaattatgc	2640
	ctgctaggtt ctatcctaac cttaccaa atttgccctt ggacaaaggc attaaacat	2700

attatccgga acatgcagtt aatcattact tcaaaactag gcattattta catactctgt	2760
ggaaggcngg cattctatat aagagagaaa ctacacgcag cgcctcattt tgtgggtcac	2820
catattcttg ggaacaagag ctacagcatg ggaggttggc cttccaaacc tcgacaaggc	2880
atggggacaa atctttctgt tccaatcct ctgggattct ttcccgatca ccagttggac	2940
cctgcgttcg gagccaactc aaacaatcca gattgggact tcaaccccaa caaggatcac	3000
tggccagagg caaatcaggt aggagcggga gcattcgggc cagggttcac cccaccacac	3060
ggcggctctt tggggtggag ccctcaggct cagggcacat tgacaacagt gccagtagca	3120
cctcctctg cctccacaa tcggcagtca ggaagacagc ctactcccat ctctccacct	3180
ctaagagaca gtcatcctca ggccatgcag tggaa	3215

<210> 4

<211> 3215

<212> DNA

<213> B 型肝炎病毒

[0008]

<220>

<221> 经修饰_碱基

<222> (448).. (448)

<223> a, c, t, g, 未知物或其他

<400> 4

ttccactgca tggcctgagg atgactgtct cttagagggtg gagagatggg agtaggctgt	60
cttcctgact gccgattggt ggaggcagga ggaggtgcta ctggcactgt tgtcaatgtg	120
ccctgagcct gagggctcca ccccaaaaga ccgccgtgtg gtggggtgaa ccctggccccg	180
aatgctcccg ctctacctg atttgectct ggccagtgat ccttgttggg gttgaagtcc	240
caatctggat tgtttgagtt ggctccgaac gcagggtcca actggtgac gggaaagaat	300
cccagaggat tgggaacaga aagatttgtc cccatgcctt gtcgaggttt ggaagaccaa	360
cctcccatgc tgtagctctt gttcccaaga atatggtgac ccacaaaatg aggcgctgcg	420
tgtagtttct ctcttatata gaatgccngc cttccacaga gtatgtaaat aatgcctagt	480
tttgaagtaa tgattaactg catgttccgg ataatatggt ttaatgcctt tgtccaaggg	540
caaatatttg gtaaggtag gatagaacct agcaggcata attaatttta atctcctttt	600

	ttcattaact gtaagagggc ccacatatgt ttgacatcta ttaataatgt cctcctgcaa	660
	atgaatatga ggaaaagagg gagtttgcca ctcaggatta aagacaggta cagtagaaga	720
	ataaagccca gtaaagtttc ccaccttatg agtccaaggg atactaacat tgagggtccc	780
	gagattgaga tcttctgcga cgcggcgatt gagaccttcg tctgcgaggc gagggagttc	840
	ttcttctagg ggacctgcct cgtcgtctaa caacagtagt ttccggaagt gttgataaga	900
	taggggcatt tgatggtctg taagcaggag gagtgcgaat ccacactcca aaagacacca	960
	aatactcaag aacagtttct cttccaaaag taagacagga aatgtgaaac cacagtagtt	1020
	gtctgatttt taggcccata ttaacattga catagctgac tactaattcc ctggatgctg	1080
	ggtcttccaa attacttccc acccaggtag ccagattcat caactcacc caacacagaa	1140
	tggcttgtct gagtgtctga tggtaggtg aacaatgttc cggagactct aaggcctccc	1200
	gatacagagc agaggcggtag tcgaggagat ctggaataga aggaaaaaag tcagaaggca	1260
	aaaaagagag taactccaca gaagctccaa attctttata tgggtcaatg tccatgtcct	1320
[0009]	aaagccaccc aaggcacagc ttggaggctt gaacagtagg acatgaacat gagatgatta	1380
	ggcagaggtag aaaaagttag atggtgctgg tgaacagacc aatttatgcc tacagcctcc	1440
	tagtaciaaag atcattaacc taatctctc cccaactcc tcccagtcct taaacaaaca	1500
	gtctttgaag tatgcctcaa ggtcggctgt tgacattgct gagagtccaa gagtctctt	1560
	atataagacc ttgggcaaga cctggtgggc gttcacggtag gtctccatgc gacgtgcaga	1620
	ggtgaagcga agtgcacacg gtccggcaga tgagaaggca cagacgggga gaccgcgtaa	1680
	agagaggtag gccccgtggt cggccggaac ggcagatgaa gaaggggacg gtagagaccc	1740
	aaacggcccc gagatgggtc gtccgcggga ttcagcgccg acgggacgta aacaaaggac	1800
	gtcccgcgca ggatccagtt ggcagcacac cctagcagcc atggaaagga ggtgtatttc	1860
	cgagagagaa caacagagtt gtccgttccg atcagtttcg ctccagaccg gctgcgagca	1920
	aaacaagctg ctaggagttc cgcagtatgg atcggcagag gagccacaaa ggttccacgc	1980
	atgcggcgat ggccaatagc caagccccat ccagtggggg ttgcgtcagc aaacacttgg	2040
	cagagacctg accgttgccg ggcaacgggg taaaggttca gatattgttt acacagaaag	2100

	gccttgtaag ttggcgagaa agtgaaagcc tgcttagatt gtatacatgc atataaaggc	2160
	attaaggcag gatagccaca ttgtgtaaaa ggggcagcaa agcccaaaag acccacaatt	2220
	ctctgacata ctttccaatc aataggtcta ttacaggca gttttcgaaa acattgcttg	2280
	atttttagta caatatggtc ttgcggtaaa gtacccaac ttccaattac atatcccatg	2340
	aagttaaggg agtaacccca acgtttgggt ttattagggt tcaaatgtat acccaaagac	2400
	aaaagaaaat tggtaacagc ggtaaaaagg gactcaagat gttgtacaga cttggccccc	2460
	aataccacat catccatata actgaaagcc aaacagtggg ggaaagccct acgaaccact	2520
	gaacaaatgg cactagtaaa ctgagccagg agaaacggac tgaggccac tcccatagga	2580
	atcttgcgaa agcccaggat gatgggatgg gaatacaagt gcagtttccg tccgaaggtt	2640
	ttgtacagca acaagaggga aacatagagg tgccttgagc aggaatcgtg caggtcttgc	2700
	atgggtcccg gctggtagtt gatgttcctg gaagtagagg acaaacgggc aacatacctt	2760
	ggtagtccag aagaaccaac aagaagatga ggcatagcag caggatgaag aggaatatga	2820
	taaaacgccg cagacacatc cagcgatagc caggacaaat tggaggacaa gaggttggtg	2880
[0010]	agtgattgga ggttggggac tgccaatitt ggccaggaca cgtgggtgct cccctagaa	2940
	aattgagaga agtccaccac gagtctagac tctgtggtat tgtgaggatt cttgtcaaca	3000
	agaaaaacc cgcctgtaac acgagcaggg gtcctaggaa tcctgatgtt gtgttctcca	3060
	tgttcgggtc aggggtccca gtcctcgaga agattgacga tatgggagag gcagtagtcg	3120
	gaacagggtt tactgttccg gaactggagc caccagcagg aaagtatagg ccccttactc	3180
	tggggtgtag cagagcttgg tggaatgtgg tgag	3215
	<210> 5 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 5 ucguggugga cuucucuca 19	

<210> 6
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 6
ugagagaagu ccaccacgau u 21

<210> 7
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

[0011] <400> 7
gugcacuucg cuucaccucu a 21

<210> 8
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 8
uagaggugaa gcgaagugca cuu 23

<210> 9
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 9

cgugguggac uucucucaau u 21

<210> 10

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 10

aaauagagaga aguccaccag cag 23

<210> 11

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

[0012]

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 11

gguggacuuc ucucauuuu a 21

<210> 12

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 12

uaaaaauagag agaaguccac cac 23

<210> 13

<211> 19

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明:
合成寡核苷酸"

<400> 13
ucguggugga cuucucuca 19

<210> 14
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明:
合成寡核苷酸"

<400> 14
ugagagaagu ccaccacgau u 21

[0013]

<210> 15
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明:
合成寡核苷酸"

<400> 15
ucguggugga cuucucuca 19

<210> 16
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明:
合成寡核苷酸"

<400> 16

	ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210> 17	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 17	
	gugcacuucg cuuaccucu a	21
	<210> 18	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0014]	<400> 18	
	uagaggugaa gcgaagugca cuu	23
	<210> 19	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 19	
	gugcacuucg cuuaccucu a	21
	<210> 20	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 20	
	uagaggugaa gcgaagugca cuu	23
	<210> 21	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 21	
	cguggugac uucucucaau u	21
	<210> 22	
	<211> 23	
	<212> RNA	
[0015]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 22	
	aaauagaga aguccaccag cag	23
	<210> 23	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 23	
	cguggugac uucucucaau u	21
	<210> 24	

<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 24
aaauagagaga aguccaccag cag 23

<210> 25
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 25
gguggacuuc ucucauuuu a 21

[0016]

<210> 26
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 26
uaaaauugag agaaguccac cac 23

<210> 27
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 27

	gguggacuuc ucucauuuu a	21
	<210> 28	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 28	
	uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210> 29	
	<211> 1553	
	<212> DNA	
	<213> 智人(Homo sapiens)	
	<400> 29	
	cgaggtccg caccagccgc gcttctgtcc gcctgcaggc cattccagaa agatgaggat	60
[0017]	atttctgtc tttatattca tgacctactg gcatttctg aacgcattta ctgtcacggt	120
	tccaaggac ctatatgttg tagagtatgg tagcaatatg acaattgaat gcaaattccc	180
	agtagaaaa caattagacc tggctgcact aattgtctat tgggaaatgg aggataagaa	240
	cattattcaa tttgtgcatg gagaggaaga cctgaagggt cagcatagta gctacagaca	300
	gagggcccg ctgttgaagg accagctctc cctgggaaat gctgcacttc agatcacaga	360
	tgtgaaattg caggatgcag ggggtgtaccg ctgcatgac agctatgggt gtgccgacta	420
	caagcgaatt actgtgaaag tcaatgcccc atacaacaaa atcaacaaa gaatttttgt	480
	tgtggatcca gtcacctctg aacatgaact gacatgtcag gctgagggt accccaaggc	540
	cgaagtcac tggacaagca gtgaccatca agtcctgagt ggtaagacca ccaccaccaa	600
	ttccaagaga gaggagaagc ttttcaatgt gaccagcaca ctgagaatca acacaacaac	660
	taatgagatt ttctactgca cttttaggag attagatcct gaggaaaacc atacagctga	720
	attggtcac ccagaactac ctctggcaca tcttccaaat gaaaggactc acttggtaat	780
	tctgggagcc atcttattat gccttggtgt agcactgaca ttcattctcc gttaagaaa	840


```

agggagaatg atggatgtga aaaaatgtgg catccaagat acaaactcaa agaagcaaag      900
tgatacacat ttggaggaga cgtaatccag cattggaact tctgatcttc aagcagggat      960
tctcaacctg tggtttaggg gttcatcggg gctgagcgtg acaagaggaa ggaatgggcc      1020
cgtgggatgc aggcaatgtg ggacttaaaa ggcccaagca ctgaaaatgg aacctggcga      1080
aagcagagga ggagaatgaa gaaagatgga gtcaaacagg gagcctggag ggagaccttg      1140
atactttcaa atgcctgagg ggctcatcga cgctgtgac agggagaaag gatacttctg      1200
aacaaggagc ctccaagcaa atcatccatt gctcactcta ggaagacggg ttgagaatcc      1260
ctaatttgag ggtcagtcc tgcagaagtg ccctttgcct ccaactcaatg cctcaatttg      1320
ttttctgcat gactgagagt ctgagtgtg gaacgggaca gtatttatgt atgagttttt      1380
cctattttatt ttgagtctgt gaggtcttct tgtcatgtga gtgtggttgt gaatgatttc      1440
ttttgaagat atattgtagt agatgttaca attttgtgc caaactaaac ttgctgctta      1500
atgatttgct cacatctagt aaaacatgga gtatttgtaa aaaaaaaaaa aaa 1553

```

[0018]

<210> 30
 <211> 1553
 <212> DNA
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 30
tttttttttt tttttacaaa tactccatgt tttactagat gtgagcaaat cattaagcag      60
caagtttagt ttggcgacaa aattgtaaca tctactacaa tatatcttca aaagaaatca      120
ttcacaacca cactcacatg acaagaagac ctacagact caaaataaat aggaaaaact      180
catacataaa tactgtcccg ttccaacact gagactctca gtcatgcaga aaacaaattg      240
aggcattgag tggaggcaaa gggcacttct gcaggaactg accctcaaat tagggattct      300
caaccctgtc tcctaggatg agcaatggat gatttgcttg gaggtcctt gttcagaagt      360
atcctttctc cctgtcacag gcgtcgatga gccctcagg catttgaaag tatcaaggtc      420
tcctccagg ctccctgttt gactccatct ttcttcattc tcctcctctg ctctgccag      480
gttccatttt cagtgtcttg gccttttaag tcccacattg cctgcacccc acgggcccac      540
tccttcctct tgtcacgctc agccccgatg aaccctaaa ccacaggttg agaatccctg      600

```

	cttgaagatc agaagttcca atgctggatt acgtctctc caaatgtgta tcactttgct	660
	tctttgagtt tgtatcttgg atgccacatt tttcacatc catcattctc ccttttctta	720
	aacggaagat gaatgtcagt gtacaccaa ggcataataa gatggctccc agaattacca	780
	agtgaagtcct ttcatttga ggaatgtgcca gaggtagttc tgggatgacc aattcagctg	840
	tatggttttc ctcaggatct aatctcttaa aagtgcagta gaaaatctca ttagttgttg	900
	tgttgattct cagtgtgctg gtcacattga aaagcttctc ctctctcttg gaattgggtg	960
	tgggtgctct accactcagg acttgatggt cactgcttgt ccagatgact tcggccttgg	1020
	ggtagccctc agcctgacat gtcagttcat gttcagaggt gactggatcc acaacaaaa	1080
	ttcttttggt gattttgttg tatggggcat tgactttcac agtaattcgc ttgtagtcgg	1140
	caccaccata gctgatcatg cagcggtaga cccctgcac ctgcaatttc acatctgtga	1200
	tctgaagtgc agcatttccc agggagagct ggtccttcaa cagccgggcc ctctgtctgt	1260
	agctactatg ctgaaccttc aggtcttctc ctccatgcac aaattgaata atgttcttat	1320
[0019]	cctccatttc ccaatagaca attagtgcag ccaggtctaa ttgttttct actgggaatt	1380
	tgcatccaat tgcataatg ctaccatact ctaccacata taggtccttg ggaaccgtga	1440
	cagtaaatgc gttcagcaaa tgccagtagg tcatgaatat aaagacagca aatatactca	1500
	tctttctgga atgccctgca ggcggacaga agcgcggctg gtgcggagcc tcg 1553	
	<210> 31	
	<211> 3653	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠 (Mus musculus)	
	<400> 31	
	gaaatcgtgg tcccaagcc tcatgccagg ctgcacttgc acgtcgcggg ccagtctcct	60
	cgctgcaga tagttcccaa aacatgagga tatttgcctg cattatatc acagcctgct	120
	gtcacttgct acgggcgttt actatcacgg ctccaaagga cttgtacgtg gtggagtatg	180
	gcagcaacgt cacgatggag tgcagattcc ctgtagaacg ggagctggac ctgcttgctg	240
	tagtgggtga ctgggaaaag gaagatgagc aagtgattca gtttgtggca ggagaggagg	300
	accttaagcc tcagcacagc aacttcaggg ggagagcctc gctgccaaag gaccagcttt	360

	tgaagggaat tgctgccctt cagatcacag acgtcaagct gcaggacgca ggcgtttact	420
	gctgcataat cagctacggt ggtgcggact acaagcgaat cacgctgaaa gtcaatgccc	480
	cataccgcaa aatcaaccag agaatttccg tggatccagc cacttctgag catgaactaa	540
	tatgtcaggc cgagggttat ccagaagctg aggtaatctg gacaaacagt gaccaccaac	600
	ccgtgagtgga gaagagaagt gtcaccactt cccggacaga ggggatgctt ctcaatgtga	660
	ccagcagtct gagggccaac gccacagcga atgatgtttt ctactgtacg ttttgagat	720
	cacagccagg gcaaaaccac acagcggagc tgatcatccc agaactgcct gcaacacatc	780
	ctccacagaa caggactcac tgggtgcttc tgggatccat cctgttgctc ctcatgtag	840
	tgtccacggt cctcctcttc ttgagaaaac aagtgagaat gctagatgtg gagaaatgtg	900
	gcgttgaaga tacaagctca aaaaaccgaa atgatacaca attcgaggag acgtaagcag	960
	tgttgaacct tctgatcgtc gattggcagc ttgtggtctg tgaaagaaag ggcccatggg	1020
	acatgagtcc aaagactcaa gatggaacct gagggagaga accaagaaag tgttgggaga	1080
	ggagcctgga acaacggaca ttttttccag ggagacactg ctaagcaagt tgcccatcag	1140
[0020]	tcgtcttggg aaatggattg agggttcctg gcttagcagc tggtecttgc acagtgcct	1200
	tttcctctgc tcagtgcgg gatgagagat ggagtcatga gtgttgaaga ataagtgcct	1260
	tctatttatt ttgagtctgt gtgttctcac tttgggcatg taattatgac tggatgaattc	1320
	tgacgacatg atagatctta agatgtagtc accaaactca actgctgctt agcatcctcc	1380
	gtaactactg atacaagcag ggaacacaga ggtaacctgc ttggtttgac aggtctcttc	1440
	tgtctgactc aaataatctt tatttttcag tctcaaggc tcttcgatag cagttgttct	500
	gtatcagcct tataggtgtc aggtatagca ctcaacatct catctcatta caatagcaac	1560
	cctcatcacc atagcaacag ctaacctctg ttatctcac ttcatagcca ggaagctgag	1620
	cgactaagtc acttgccac agagtatcag ctctcagatt tctgttcttc agccactgtc	1680
	cttcaggat agaatttgct gttaagaaat taatttaaaa actgattatt gagtagcatt	1740
	gtatatcaat cacaacatgc cttgtgcact gtgtggcct ctgagcataa agatgtacgc	1800
	cggagtaccg gtcggacatg tttatgtgtg ttaaatactc agagaaatgt tcattaacaa	1860
	ggagcttgca ttttagagac actggaaagt aactccagtt cattgtctag cattacattt	1920

	acctcatttg ctatccttgc catacagtct ctgtttctcc atgaagtgtc atgaatcttg	1980
	ttgaatagtt cttttatttt ttaaagtgtt ctatttaa atgattgaca tctgaggcga	2040
	tagctcagtt ggtaaaaccc tttcctcaca agtgtgaaac cctgagtcct atccctagaa	2100
	cccacataaa aaacagttgc gtatgtttgt gcatgctttt gatcccagca ctagggaggc	2160
	agaggcaggc agatcctgag ctctcattga ccaccagcc tagcctacat ggtagctcc	2220
	aggcctacag gagctggcag agcctgaaaa acgatgccta gacacacaca cacacacaca	2280
	cacacacaca cacacacaca cacaccatgt actcatagac ctaagtgcac ctcctacac	2340
	atgcacacac atacaattca aacacaaatc aacagggaat tgtctcagaa tggccccaa	2400
	gacaaagaag aagaaaaaca ccaaaccagc tctattccct cagcctatcc tctctactcc	2460
	ttcctagaag caactactat tgtttttgta tataaattta cccaacgaca gttaatatgt	2520
	agaatatata ttaaagtgtc tgtcaatata tattatctct ttctttcttt cttectttct	2580
	ttctttcttt cttectttct ttctttcttt cttectttct ttcttccttc cttecttcct	2640
[0021]	ctcttccttc cttecttcct ttctttcttt cttecttttt ttctgtctat ctgtacctaa	2700
	atgggtgtc actatgcatt ttctgtgtc ttgcacctt ttatttaatg tatggatatt	2760
	tatgtgtctt ccagaatgga tctaaagctc ttgttttcta ggttttctcc cccatcctc	2820
	taggcattct tcacactgtc taggccagac accatgtctg ctgcctgaat ctgtagacac	2880
	catttataaa gcacgtactc accgagtttg tatttggtt gttctgtgtc tgattaaagg	2940
	gagaccatga gtccccaggg tacactgagt taccacagta ccaaggggga gccttgtttg	3000
	tgtctccatg gcagaagcag gcctggagcc attttggtt cttecttgac ttctctcaaa	3060
	cacagacgcc tcacttgctc attacagggt ctcctttggg aatgtcagca ttgtccttg	3120
	actgttggt gccctggaag gagccatta gctctgtgtg agcccttgac agctactgcc	3180
	tctccttacc acaggggcct ctaagatact gttacctaga ggtcttgagg atctgtgttc	3240
	tctgggggga ggaaaggagg aggaaccag aactttctta cagttttcct tgtctgtca	3300
	catgtcaaga ctgaaggaa aggtgtggct acgtagttag atcctgtctc aaaggaaaga	3360
	cgagcatagc cgaacccccg gtggaacccc ctctgttacc tgttcacaca agcttattga	3420

	tgagtctcat gttaatgtct tgtttgtatg aagtttaaga aaatatcggg ttgggcaaca	3480
	cattctatattt attcatttta ttgaaatct taatgccatc tcatggtgtt ggattggtgt	3540
	ggcactttat tcttttgtgt tgtgtataac cataaatttt attttgcatc agattgtcaa	3600
	tgtattgcat taatttaata aatattttta tttattaaaa aaaaaaaaaa aaa	3653
	<210> 32	
	<211> 3653	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠 (Mus musculus)	
	<400> 32	
	tttttttttt tttttttaat aaataaaaat atttattaaa ttaatgcaat acattgacaa	60
	tctgatgcaa aataaaattt atggttatac acaacacaaa agaataaagt gccacaccaa	120
	tccaacacca tgagatggca ttaagatttc aaataaaatg aataaataga atgtgttgcc	180
	caacccgata ttttcttaaa cttcatacaa acaagacatt aacatgagac tcatcaataa	240
	gcttgtgtga acaggttaaca gaggggggtc caccgggggt tcggctatgc tcgtctttcc	300
[0022]	tttgagacag gatctcacta cgtagcccag cctgttcctt cagtcttgac atgtgacaga	360
	acaaggaaaa ctgtaagaaa gtctctgggtt cctcctcctt tectcccccc agagaacaca	420
	gacctcaag acctctaggt aacagtatct tagaggcccc tgtgtaagg agaggcagta	480
	gctgtcaagg gctcacacag agctaattggg ctctctccag ggcagccagc agtcaaggag	540
	caatgctgac attcccaaag gagaacctgt aatgagcaag tgaggcgtct gtgtttgaga	600
	gaagtcaagg aagaaaccaa aatggctcca ggcctgcttc tgccatggag acacaaacaa	660
	ggctccccct tggtaactggg gtaactcagt gtaccctggg gactcatggt ctccctttaa	720
	tcagacacag aacaagccaa atacaaactc ggtgagtacg tgctttataa atggtgtcta	780
	cagattcagg cagcagacat ggtgtctggc ctagacagtg tgagagatgc ctagaaggat	840
	gggggagaaa acctagaaac aaagagcttt agatccattc tggaagcagc ataaatatcc	900
	atacattaaa taaaaagggc gaagagcaca gaaaatgcat agtgagcaac catttaggta	960
	cagatagaca gaaaaaaga aagaaagaaa gaaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaagg	1020
	aaggaaggaa gaaagaaaga aagaaagaaa gaaagaaaga aagaaagaaa gaaagaaagg	1080

	aagaaagaaa gaaagagata atatatattg acagacactt taatatafat tctacatatt	1140
	aactgtcggt gggtaaattt atatacaaaa acaatagtag ttgcttctag gaaggagtag	1200
	agaggatagg ctgagggaaat agagctgggt tgggtgtttt cttcttcttt gtcttgggga	1260
	ccattctgag acaattccct gttgatttgt gtttgaattg tatgtgtgtg catgtgtagg	1320
	agggtgcact taggtctatg agtacatggt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt	1380
	gtgtgtgtgt gtctaggcat cgtttttcag gctctgccag ctctgttagg cctggagcta	1440
	accatgtagg ctaggctggg tggatcaatga gagctcagga tctgectgcc tctgectccc	1500
	tagtgcctggg atcaaaagca tgcacaaaca tacgcaactg ttttttatgt gggttctagg	1560
	gataagactc agggtttcac acttgtgagg aaagggtttt accaactgag ctatgcctc	1620
	agatgtcaat atcatttaaa tagaaacatt taaaaataa aagaactatt caacaagatt	1680
	catgacactt catggagaac aagagactgt atggcaagga tagcaaatga ggtaaattga	1740
	atgctagaca atgaactgga gttactttcc agtgtctcta aaatgcaagc tccttgtaa	1800
[0023]	tgaacatttc tctgagtatt taacacacat aaacatgtcc gaccggtact ccggcgtaca	1860
	tccttatgct cagaggccag cacagtgcac aaggcatgtt gtgattgata tacaattgta	1920
	ctcaataatc agtttttaaa ttaatttctt aacgacaaat tctatcctga aaggacagt	1980
	gctgaagaac agaaatctga gagctgatac tctgtgggca agtgacttag tcgctcagct	2040
	tcctggctat gaagtgagga taacagaggt tagctgttgc tatggtgatg agggttgcta	2100
	ttgtaattgag atgagatgtt gaggctata cctgacacct ataaggctga tacagaacaa	2160
	ctgctatcga agagccttga ggactgaaaa ataaagatta tttagatcag acagcaagag	2220
	cctgtcaaac caagcaggtg acctctgtgt tccctgcttg tatcagtagt tacggaggat	2280
	gctaagcagc agttgagttt ggtgactaca tcttaagatc tatcatgtcg tcagaattca	2340
	ccagtcataa ttacatgccc aaagtgagaa cacacagact caaaataaat agaaggcact	2400
	tattcttcaa cactcatgac tccatctctc atcccggcac tgagcagagg aaaaggtcac	2460
	tgtgcaagga ccagctgcta agccaggaac cctcaatcca ttcccaaga cgactgatgg	2520
	gcaacttgct tagcagtgtc tccctggaaa aaatgtccgt gttccagge tcctctccca	2580
	acactttctt gggtctctcc ctgaggttcc atcttgagtc ttgggactca tgtcccatgg	2640

	gccctttctt tcacagacca caagctgcc aatcgacgac agagggttca aactgctta	2700
	cgtctcctcg aattgtgtat catttcggtt ttttgagctt gtatcttcaa cgccacattt	2760
	ctccacatct agcattctca cttgttttct caagaagagg aggaccgtgg aactacaat	2820
	gaggaacaac aggatggatc ccagaagcac ccagtgagtc ctgttctgtg gaggatgtgt	2880
	tgcaggcagt tctgggatga tcagctccgc tgtgtgggtt tgccttggt gtgatctcca	2940
	aaacgtacag tagaaaacat cattcgctgt ggcgttgacc ctcagactgc tggtcacatt	3000
	gagaagcatc ccctctgtcc gggaagtgtt gacacttctc tcccactca cgggttggtg	3060
	gtcactgttt gtccagatta cctcagcttc tggataacct tggcctgac atattagttc	3120
	atgctcagaa gtggctggat ccacggaaat tctctggtt attttgcggt atggggcatt	3180
	gactttcagc gtgattcgct ttagtccgc accaccgtag ctgattatgc agcagtaaac	3240
	gcctgcgtcc tgcagcttga cgtctgtgat ctgaaggga gcatttccct tcaaaagctg	3300
	gtcctttggc agcgaggctc tccccctgaa gttgctgtgc tgaggcttaa ggtcctcctc	3360
[0024]	tcctgccaca aactgaatca ctgctcacc ttccttttcc cagtacacca ctaacgaag	3420
	caggctccagc tcccgttcta cagggaatct gcactccatc gtgacgttgc tgccatactc	3480
	caccacgtac aagtcctttg gagccgtgat agtaaagcc cgtagcaagt gacagcaggc	3540
	tgtgaatata atgccagcaa atatcctcat gttttgggaa ctatctgcag gcgaggagac	3600
	tggcccgca cgtgcaagtg cagcctggca tgaggcttgg ggaccacgat ttc 3653	
	<210> 33	
	<211> 1080	
	<212> DNA	
	<213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)	
	<400> 33	
	atgaggatat ttgctgtcct tatagtcaca gcctgcagtc acgtgctagc ggcatttacc	60
	atcacagctc caaaggacct gtacgtgggt gagtatggca gcaatgtcac gatggaatgc	120
	agattcccag tagaacagaa attggacctg cttgccttag tgggtgtactg ggaaaaggaa	180
	gacaaggaag ttattcagtt tgtggaggga gaggaggacc tgaagcctca acacagcagc	240
	ttcaggggga gacgttctt gccaaaggac cagcttttga aggggaacgc ggtgcttcag	300

	atcacagatg tcaagctgca ggacgcaggt gtctactgct gcatgatcag ctatggtgga	360
	gcggactaca agcgaatcac attgaaagtc aacgctccat accgcaaaat caaccaaaaga	420
	atttccatgg atccagccac ttctgagcat gaactaatgt gccaggetga gggttaccca	480
	gaagccgaag tgatctggac aacagtgac caccagtccc tgagtgggga aacaactgtc	540
	accacttccc agactgagga gaagcttctc aacgtgacca gcgttctgag ggtcaacgca	600
	acagctaattg atgttttcca ctgtacgttc tggagagtac actcagggga gaaccacacg	660
	gctgaactga tcatcccaga actgcctgta ccacgtctcc cacataacag gacacactgg	720
	gtactcctgg gatccgtcct tttgttctc atcgtggggt tcaccgtctt cttctgcttg	780
	agaaaacaag tgagaatgct agatgtggaa aaatgcggct tcgaagatag aaattcaaag	840
	aaccgaaatg ttcgaggaga cgtaagcagt gttgaaccct ctgagcctcg aggcgggatt	900
	ggcagcttgt ggtctgtgaa agaaagggcc cgtgggacat ggggccaggg actcaaaaat	960
	ggaaccggag aggagaagag aacaaagaaa gtgttggaag aggagcctgg gacgaaagac	1020
[0025]	atttctacag gagacactgc taagcaagtt acccatcagt catctcgggc aataagttga	1080
	<210> 34	
	<211> 1080	
	<212> DNA	
	<213> 褐家鼠(Rattus norvegicus)	
	<400> 34	
	tcaacttatt gcccagatg actgatgggt aacttgctta gcagtgtctc ctgtagaaat	60
	gtctttcgtc ccaggtcct cttccaacac tttctttgtt ctcttctcct ctccggttcc	120
	atttttgagt ccttgaccc atgtcccacg ggcctttct ttcacagacc acaagctgcc	180
	aatccgcct cgaggctcag agggttcaac actgcttacg tctcctcgaa catttcggtt	240
	ctttgaattt ctatcttcga agccgcattt ttccacatct agcattctca cttgttttct	300
	caagcagaag aagacggtga accccacgat gaggaacaaa aggacggatc ccaggagtac	360
	ccagtgtgtc ctgttatgtg ggagacgtgg tacaggcagt tctgggatga tcagttcagc	420
	cgtgtggttc tcccctgagt gtactctcca gaacgtacag tggaaaacat cattagctgt	480
	tgcgttgacc ctgagaacgc tggtcacgtt gagaagcttc tctcagttct gggaagtgg	540

```

gacagttgtt tccccactca gggactgggtg gtcactgttt gtccagatca cttcggcttc      600
tgggtaaccc tcagcctggc acattagttc atgctcagaa gtggctggat ccatggaaat      660
tctttggttg attttgcggt atggagcggt gactttcaat gtgattcgct ttagtccgc      720
tccaccatag ctgatcatgc agcagtagac acctgcgtcc tgcagcttga catctgtgat      780
ctgaagcacc gcgttccctt tcaaaagctg gtcctttggc aagaaggctc tccccctgaa      840
gctgctgtgt tgaggcttca ggtcctcctc tccctccaca aactgaataa cttccttgtc      900
ttccttttcc cagtacacca ctaaggcaag caggccaat ttctgttcta ctgggaatct      960
gcattccatc gtgacattgc tgccatactc caccacgtac aggtcctttg gagctgtgat     1020
ggtaaatagcc gctagcacgt gactgcaggc tgtgactata aggacagcaa atatcctcat     1080

```

<210> 35

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

[0026]

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 35

cguggugguc tucucuaau u 21

<210> 36

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 36

aauugagaga aguccaccag cuu 23

<210> 37

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 37

cguggugguc uucucucaau u 21

<210> 38

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

[0027]

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 38

aauugagaga aguccaccag cuu 23

<210> 39

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 39

gugugcacuu cgcuucaca 19

<210> 40

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 40

ugugaagcga agugcacacu u 21

<210> 41

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 41

gugugcacuu cgcuucaca 19

[0028]

<210> 42

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 42

ugugaagcga agugcacacu u 21

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> 未知物

<220>

<221> 来源

<223> /注="未知物说明：
RFGF 肽"

<400> 43

	Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro	
	1 5	10
	15	
	<210> 44	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 未知物	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="未知物说明: RFGF 类似物肽"	
	<400> 44	
	Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro	
	1 5	10
	<210> 45	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 人类免疫缺陷病毒	
[0029]	<400> 45	
	Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln	
	1 5	10
	<210> 46	
	<211> 16	
	<212> PRT	
	<213> 果蝇属(Drosophila sp.)	
	<400> 46	
	Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys	
	1 5	10
	15	
	<210> 47	
	<211> 1	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 47	

	aguuaauaugg augauguggu a	21
	<210> 48	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 48	
	ggaugugucu gcggcguuuu a	21
	<210> 49	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0030]	<400> 49	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 50	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 50	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 51	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明:

合成寡核苷酸"

<400> 51

acucguggug gacuuctcuc a 21

<210> 52

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<400> 52

[0031]

acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 53

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<400> 53

ucguggugga cuucucuca 19

<210> 54

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

	<400> 54	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 55	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 55	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 56	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0032]	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 56	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 57	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 57	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 58	
	<211> 17	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 58		
	gugguggacu ucucuca	17	
	<210> 59		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 59		
	acucguggug gacuucucuc a	21	
[0033]	<210> 60		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 60		
	ucguggugga cuucucucau u	21	
	<210> 61		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 61		
	acucguggug gacuucucuc a	21	

<210> 62
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 62
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 63
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

[0034] <400> 63
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 64
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 64
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 65
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

	<400> 65 ucguggugga cuucucuca	19
	<210> 66 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 66 acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 67 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0035]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 67 acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 68 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 68 acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 69 <211> 7 <212> RNA <213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 69	
	uauuuuccuag gguacaa	17
	<210> 70	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 70	
	acucguggug gacuucucuc a	21
[0036]	<210> 71	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 71	
	ucguggugga cuucucuca	19
	<210> 72	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 72	
	acucguggug gacuucucuc a	21

<210> 73
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 73
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 74
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

[0037] <400> 74
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 75
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 75
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 76
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：

合成寡核苷酸”

<400> 76

acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 77

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 77

acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 78

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

[0038]

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 78

acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 79

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 79

acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 80

<211> 21

<212> RNA

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 80	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 81	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 81	
	acucguggug gacuucucuc a	21
[0039]	<210> 82	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 82	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 83	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 83	
	acucguggug gacuucucuc a	21

<210> 84
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 84
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 85
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

[0040] <220>
<221> 来源
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 85
acucguggug gacuuctcuc a 21

<210> 86
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 86
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 87
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<220>
<221> 来源
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 87
acucguggug gacuuctcuc a 21

<210> 88
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

[0041]

<400> 88
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 89
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 89
acucguggug gacuucucuc a 21

<210> 90
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> 注="组合的 DNA/RNA 分子说明:

合成寡核苷酸"

<400> 90

acucguggug gacuuctcuc a 21

<210> 91

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<400> 91

acucguggug gacuucucuc a 21

[0042]

<210> 92

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明:

合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明:

合成寡核苷酸"

<400> 92

acucguggug gacuuctcuc a 21

<210> 93

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 93		
	acucguggug gacuucucuc a	21	
	<210> 94		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 94		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	
[0043]	<210> 95		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 95		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	
	<210> 96		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 96		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	

	<210> 97	
	<211> 17	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 97	
	uggacuucuc ucaauuu	17
	<210> 98	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0044]	<400> 98	
	gugguggacu ucucucauu u	21
	<210> 99	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 99	
	gguggacuuc ucucauuuu u	21
	<210> 100	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	

	<400> 100	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 101	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 101	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 102	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0045]	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 102	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 103	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 103	
	gguggacuuc ucucaauuu	19
	<210> 104	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 104		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	
	<210> 105		
	<211> 19		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 105		
	gguggacuuc ucucaauuu 19		
[0046]	<210> 106		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 106		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	
	<210> 07		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 107		
	gugguggacu ucucucaauu u	21	

	<210> 108	
	<211> 17	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 108	
	uggacuucuc ucaauuu	17
	<210> 109	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0047]	<400> 109	
	gugguggacu ucucucauu u	21
	<210> 110	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 110	
	gguggacuuc ucucauuu	19
	<210> 111	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明:	

合成寡核苷酸”

<400> 111

gugguggacu ucucucaauu u 21

<210> 112

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 112

gugguggacu ucucucaauu u 21

<210> 113

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

[0048]

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 113

gugguggacu ucucucaauu u 21

<210> 114

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 114

gugguggacu ucucucaauu u 21

<210> 115

<211> 21

<212> RNA

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 115	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 116	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 116	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
[0049]	<210> 117	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 117	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 118	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 118	
	gugguggacu ucucucaauu u	21

	<210> 119	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 119	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 120	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0050]	<400> 120	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 121	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 121	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 122	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 122

gugguggact tcucucaauu u 21

<210> 123

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 123

gugguggacu ucucucaauu u 21

[0051]

<210> 124

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 124

gugguggacu ucucucaauu u 21

<210> 125

<211> 1

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 125

	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 126	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 126	
	gugguggacu tcucucaauu u	21
	<210> 127	
	<211> 21	
	<212> RNA	
[0052]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 127	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 128	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 128	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 129	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	129	
	gugguggacu ucucucaauu u		21
	<210>	130	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	130	
[0053]	gugguggacu ucucucaauu u		21
	<210>	131	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	131	
	gugguggacu tcucucaauu u		21
	<210>	132	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	132	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	133	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	133	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	134	
	<211>	21	
[0054]	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	134	
		gugguggacu tcucucaauu u	21
	<210>	135	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	135	
	gugguggacu ucucucaauu u		21
	<210>	136	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	136	
	gguggacuuc ucucaauuu		19
	<210>	137	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0055]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	137	
	gugguggacu ucucucaauu u		21
	<210>	138	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	138	
	gugcacuucg cuucaccucu g		21
	<210>	139	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	139	
		guugacaaaa auccucacaa u	21
	<210>	140	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	140	
		uguugacaaa aauccucaca a	21
[0056]	<210>	141	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	141	
		gguggacuuc ucucaaaauu a	21
	<210>	142	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	142	
		ucuuuuggag uguggauucg a	21

	<210>	143	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	143	
	ucuuuuggag	uguggauucg a	21
	<210>	144	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0057]	<400>	144	
	acuguucaag	ccuccaagcu a	21
	<210>	145	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	145	
	ucugccgauc	cauacugcgg a	21
	<210>	146	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	146	
		augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	147	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	147	
		ccccgucugu gccuucucau a	21
	<210>	148	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0058]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	148	
		gccuaaucau cucuuguuca u	21
	<210>	149	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	149	
		ucuagacucg ugguggacuu c	21
	<210>	150	
	<211>	21	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	150	
		cugccgaucc auacugcgga a	21
	<210>	151	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	151	
		uuuuucuugu ugacaaaaa u	21
[0059]	<210>	152	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	152	
		aucuucuugu ugguucuucu a	21
	<210>	153	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	153	
		guuuuucuug uugacaaaaa u	21

	<210>	154	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	154	
		cugccuaaau aucucuuguu a	21
	<210>	155	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0060]	<400>	155	
		uccucacaau accacagagu a	21
	<210>	156	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	156	
		cuuguugaca aaaauccuca a	21
	<210>	157	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	157 gcaacuuuuu caccucugcc u	21
	<210>	158	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	158 gggaacaaga gcuacagcau a	21
	<210>	159	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0061]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	159 cgugguggac uucucucaau u	21
	<210>	160	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	160 cugcugcuau gccucaucuu a	21
	<210>	161	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 161
guuggaugug ucugcggcgu u 21

<210> 162
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 162
uucauccugc ugcuaugccu a 21

[0062]

<210> 163
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 163
uucuuguuga caaaaauccu a 21

<210> 164
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 164

	uauauggaug augugguauu a	21
<210>	165	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
<400>	165	
	uucauccugc ugcuaugccu c	21
<210>	166	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0063]		
<400>	166	
	gugcacuucg cuucaccucu a	21
<210>	167	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
<400>	167	
	uugacaaaaa uccucacaau a	21
<210>	168	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	168	
		aagccuccaa gcugugccuu a	21
	<210>	169	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	169	
		ccucuucauc cugcugcuau a	21
	<210>	170	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0064]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	170	
		ccugcugcua ugccucaucu u	21
	<210>	171	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	171	
		caucuucuug uugguucuuc u	21
	<210>	172	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	172	
		ccgucugugc cuucucaucu a	21
	<210>	173	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	173	
[0065]		ccucaucuuc uuguugguuc u	21
	<210>	174	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	174	
		ccaccaaauug ccccuauuu a	21
	<210>	175	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

[0066]	<400>	175	
	gcuccucugc	cgauccauac	u
			21
	<210>	176	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	176	
	guugacaaaa	auccucacaa	u
			21
	<210>	177	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	177	
	uguugacaaa	aauccucaca	a
			21
	<210>	178	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	178	
	gguggacuuc	ucucauuuu	a
			21
	<210>	179	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	179	
	ucuuuuggag	uguggauucg a	21
	<210>	180	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	180	
	ucuuuuggag	uguggauucg a	21
[0067]	<210>	181	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	181	
	acuguucaag	ccuccaagcu a	21
	<210>	182	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	182	
	ucugccgauc	cauacugcgg a	21

	<210>	183	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	183	
		aguuauaugg augauguggu a	21
	<210>	184	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0068]	<400>	184	
		augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	185	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	185	
		ccccgucugu gccuucucau a	21
	<210>	186	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400> 186	
	gccuaaucau cucuuguuca u	21
	<210> 87	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 187	
	ucuagacucg ugguggacuu c	21
	<210> 188	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0069]	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 188	
	cugccgaucc auacugcgga a	21
	<210> 189	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 189	
	aucuucuugu uggucuucu a	21
	<210> 190	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	190	
	uuucucucaau uuucuagggg a		21
	<210>	191	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	191	
	acucguggug gacuucucuc a		21
[0070]	<210>	192	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	192	
	gugcacuucg cuucaccucu g		21
	<210>	193	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	193	
	guuuuucuug uugacaaaaa u		21

	<210>	194	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	194	
		cugccuaauc aucucuuguu a	21
	<210>	195	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0071]	<400>	195	
		uccucacaau accacagagu a	21
	<210>	196	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	196	
		cuuguugaca aaaauccuca a	21
	<210>	197	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	197	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	198	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	198	
		gcaacuuuuu caccucugcc u	21
	<210>	199	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0072]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	199	
		gggaacaaga gcuacagcau a	21
	<210>	200	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	200	
		ucaucuucuu guugguucuu a	21
	<210>	201	
	<211>	21	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	201	
		cugcugcuau gccucaucuu a	21
	<210>	202	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	202	
		guuggaugug ucugcggcgu u	21
[0073]	<210>	203	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	203	
		uucauccugc ugcuaugccu a	21
	<210>	204	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	204	
		uucuuguuga caaaaauccu a	21

	<210>	205	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	205	
		ggaugugucu gcggcguuuu a	21
	<210>	206	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0074]	<400>	206	
		uauauggaug augugguuu a	21
	<210>	207	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	207	
		uucauccugc ugcuauGCCU c	21
	<210>	208	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	208 gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	209	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	209 uugacaaaaa uccucacaau a	21
	<210>	210	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0075]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	210 ccaaguguuu gcugacgcaa a	21
	<210>	211	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	211 ccaaguguuu gcugacgcaa a	21
	<210>	212	
	<211>	21	

	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	212	
		aagccuccaa gcugugccuu a	21
	<210>	213	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	213	
		ccucuucauc cugcugcuau a	21
[0076]	<210>	214	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	214	
		ccugcugcua ugccucaucu u	21
	<210>	215	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	215	

	caucuucuug uugguucuuc u	21
	<210> 216	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 216	
	ccgucugugc cuucucaucu a	21
	<210> 217	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0077]	<400> 217	
	ccucaucuuc uuguugguuc u	21
	<210> 218	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 218	
	ccaccaaauug ccccuauuu a	21
	<210> 219	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	219	
		gcuccucugc cgauccauac u	21
	<210>	220	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	220	
[0078]		acucguggug tacuucucuc a	21
	<210>	221	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	221	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	222	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<p><400> 222 acucguggug gacuucucuc a</p>	21
	<p><210> 223 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 223 acucguggug gacuucacuc a</p>	21
	<p><210> 224 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
[0079]	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 224 acucguggtg tacuucacuc a</p>	21
	<p><210> 225 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	

	<400>	225	
	acucguggug	tacuucacuc a	21
	<210>	226	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	226	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	227	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0080]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	227	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	228	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	228	
	acucguggtg	gacuuctcuc a	21

	<210>	229	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	229	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	230	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0081]	<400>	230	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	231	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	231	
	acucguggtg	tacuucacuc a	21
	<210>	232	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	232	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	233	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	233	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
[0082]	<210>	234	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	234	
	acucguggtg	gacuucacuc a	21
	<210>	235	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 235	
	acucguggug gacuucacuc a	21
	<210> 236	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 236	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 237	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0083]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 237	
	acucguggtg gacuuctcuc a	21
	<210> 238	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 238	
	acucguggug gacuucucuc a	21

	<210>	239	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	239	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	240	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0084]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	240	
	acucguggtg	tacuucacuc a	21
	<210>	241	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	241	
		acucguggtg gacuuctcuc a	21
	<210>	242	
	<211>	20	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	242	
		acucguggug gacuuccuca	20
	<210>	243	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0085]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	243	
		acucguggug gacuuctcuc a	21
	<210>	244	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	244	
		acucguggug gacuuctcuc a	21
	<210>	245	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	245	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	246	
	<211>	21	
[0086]	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	246	
		acucguggtg gacuucacuc a	21
	<210>	247	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	

	<400>	247	
		acucguggug gacuucacuc a	21
	<210>	248	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	248	
		acucguggtg gacuucacuc a	21
[0087]	<210>	249	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	249	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	250	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	250	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	251	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	251	
	acucguggug	gacuucacuc a	21
	<210>	252	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0088]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	252	
	acucguggtg	tacuucacuc a	21
	<210>	253	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	253	
	acucguggug	gacuucccuc a	21

	<210>	254	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	254	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	255	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0089]	<400>	255	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	256	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	256	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	257	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	257	
		acucguggtg gacuuctcuc a	21
	<210>	258	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0090]	<400>	258	
		acucguggug gacuucgcuc a	21
	<210>	259	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	259	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	260	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	260	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	261	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	261	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	262	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0091]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	262	
		acucguggtg gacuucacuc a	21
	<210>	263	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	263	
		uaccacauca uccauuaaac uga	23

	<210>	264	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	264	
		uaaaacgccg cagacacauc cag	23
	<210>	265	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0092]	<400>	265	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	266	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	266	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	267	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	267 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	268	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	268 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	269	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0093]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	269 ugagagaagu ccaccacgag u	21
	<210>	270	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	270 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	271	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 271
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 272
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 272
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

[0094]

<210> 273
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 273
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 274
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 274

	ugagagaagu ccaccacga	19
<210>	275	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	275	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
<210>	276	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0095]		
<400>	276	
	ugagagaagu ccaccacgau u	21
<210>	277	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	277	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
<210>	278	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	278	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	279	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	279	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	280	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0096]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	280	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	281	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	281	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	282	

	<211> 23		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 282		
	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210> 283		
	<211> 23		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 283		
[0097]	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210> 284		
	<211> 23		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 284		
	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210> 285		
	<211> 19		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"		

[0098]	<400>	285	
	ugagagaagu	ccaccacga	19
	<210>	286	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	286	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	287	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	287	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	288	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	288	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	289	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	289	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	290	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	290	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
[0099]	<210>	291	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	291	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	292	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	292	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23

	<210>	293	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	293	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	294	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0100]	<400>	294	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	295	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	295	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	296	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	296	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	297	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	297	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	298	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0101]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	298	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	299	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	299	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	300	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	300	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	301	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0102]	<400>	301	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	302	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	302	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	303	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 303	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 304	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 304	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 305	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0103]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 305	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 306	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 306	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 307	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	307	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	308	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	308	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
[0104]	<210>	309	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	309	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	310	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	310	
	aaauugagag	aaguccacca	cga 23

	<210>	311	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	311	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	312	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0105]	<400>	312	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	313	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	313	
	aaauugagag aaguccacc		19
	<210>	314	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	314 aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	315	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	315 aaauugagag aaguccaccu u	21
	<210>	316	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0106]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	316 aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	317	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	317 aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	318	
	<211>	23	

	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	318	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	319	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	319	
	aaauugagag	aaguccacca c	21
[0107]	<210>	320	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	320	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	321	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	321	

	aaauugagag aaguccaccu u	21
	<210> 322	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 322	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 323	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0108]	<400> 323	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 324	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 324	
	aaauugagag aaguccacc	19
	<210> 325	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	325	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	326	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	326	
		aaaauugagag aaguccaccu u	21
	<210>	327	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0109]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	327	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	328	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	328	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	329	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	329	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	330	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	330	
[0110]	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	331	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	331	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	332	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	332	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	333	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	333	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	334	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0111]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	334	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	335	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	335	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	336	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	336	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	337	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	337	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
[0112]	<210>	338	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	338	
		aaauugagag aagtcacca cga	23
	<210>	339	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	339	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	340	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	340	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	341	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0113]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	341	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	342	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	342	
	aaauugagag	aagtcacca cga	23

	<210>	343	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	343	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	344	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0114]	<400>	344	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	345	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	345	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	346	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”		
	<400>	346	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	347	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	347	
	aaauugagag aagtccacca cga		23
[0115]	<210>	348	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	348	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	349	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	349	
	aaauugagag aaguccacca cga		23

	<210>	350	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	350	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	351	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0116]	<400>	351	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	352	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	352	
	aaauugagag aaguccacca c		21
	<210>	353	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	353 aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	354	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	354 cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	355	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0117]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	355 auugugagga uuuuugucac caa	23
	<210>	356	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	356 uugugaggau uuuugucaac aag	23
	<210>	357	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 357
uaaaaauugag agaaguccac cac 23

<210> 358
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 358
ucgaauccac acuccaaaag aca 23

[0118]

<210> 359
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 359
ucgaauccac acuccaaaag aca 23

<210> 360
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 360

	uagcuuggag gcuugaacaa gac	23
	<210> 361	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 361	
	uccgcaguan ggauaggcag agg	23
	<210> 362	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0119]	<400> 362	
	uauaaaacgc cgcagacaca ucc	23
	<210> 363	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 363	
	uauagaagg cacagacggg gag	23
	<210> 364	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	364	
		augaacaaga gaugauuagc gag	23
	<210>	365	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	365	
		gaaguccacc acgagucuag acu	23
	<210>	366	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0120]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	366	
		uuccgcagua uggaucggca gag	23
	<210>	367	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	367	
		uauuuuuguc aacaagaaaa acc	23
	<210>	368	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	368	
	uagaagaacc aacaagaaga uga		23
	<210>	369	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	369	
[0121]	auuuuuuguca acaagaaaaa ccc		23
	<210>	370	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	370	
	uaacaagaga ugauuaggca gag		23
	<210>	371	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	371	
		uacucugugg uauugugagg auu	23
	<210>	372	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	372	
		uugaggauuu uugucaaca gaa	23
	<210>	373	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0122]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	373	
		aggcagaggu gaaaaaguug cau	23
	<210>	374	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	374	
		uauugcuguag cucuuguucc caa	23
	<210>	375	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	375	
		aaau gagaga aguccaccag cag	23
	<210>	376	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	376	
		uaagaugagg cauagcagca gga	23
[0123]	<210>	377	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	377	
		aacgccgcag acacaucxaa cga	23
	<210>	378	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	378	
		uaggcauagc agcaggauga aga	23

	<210>	379	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	379	
	uaggauuuuu	gucaacaaga aaa	23
	<210>	380	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0124]	<400>	380	
	uaauaccaca	ucauccauau aac	23
	<210>	381	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	381	
	gaggcauagc	agcaggauga aga	23
	<210>	382	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	382	
	uagaggugaa	gcgaagugca cac	23
	<210>	383	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	383	
	uauugugagg	auuuuuguca aca	23
	<210>	384	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0125]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	384	
	uaaggcacag	cuuggaggcu uga	23
	<210>	385	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	385	
	uauagcagca	ggaugaagag gaa	23
	<210>	386	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	386	
		aagaugaggc auagcagcag gau	23
	<210>	387	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	387	
		agaagaacca acaagaagau gag	23
[0126]	<210>	388	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	388	
		uagaugagaa ggcacagacg ggg	23
	<210>	389	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	389	
		agaaccaaca agaagaugag gca	23

	<210>	390	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	390	
	uaagauaggg	gcuuuuggug	guc
			23
	<210>	391	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0127]	<400>	391	
	aguauggauc	ggcagaggag	cca
			23
	<210>	392	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	392	
	auugugagga	uuuuugucaa	caa
			23
	<210>	393	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 393	
	uugugaggau uuuugucaac aag	23
	<210> 394	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 394	
	uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210> 395	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0128]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 395	
	ucgaauccac acuccaaaag aca	23
	<210> 396	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 396	
	ucgaauccac acuccaaaag aca	23
	<210> 397	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	397	
		uagcuuggag gcuugaacaa gac	23
	<210>	398	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	398	
		uccgcaguau ggauaggcag agg	23
[0129]	<210>	399	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	399	
		uaccacauca uccauauaac uga	23
	<210>	400	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	400	
		uauaaaacgc cgcagacaca ucc	23

	<210>	401	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	401	
		uagagaagg cacagacggg gag	23
	<210>	402	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0130]	<400>	402	
		augaacaaga gaugauuagc gag	23
	<210>	403	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	403	
		gaaguccacc acgagucuag acu	23
	<210>	404	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	404	
		uuccgcagua uggaucggca gag	23
	<210>	405	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	405	
		uagaagaacc aacaagaaga uga	23
	<210>	406	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0131]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	406	
		uccccuagaa aaugagaga agu	23
	<210>	407	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	407	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	408	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 408
cagaggugaa gcgaagugca cac 23

<210> 409
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 409
auuuuuguca acaagaaaaa ccc 23

[0132]

<210> 410
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 410
uaacaagaga ugauuaggca gag 23

<210> 411
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 411

	uacucugugg uauugugagg auu	23
<210>	412	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	412	
	uugaggauuu uugucaacaa gaa	23
<210>	413	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0133]		
<400>	413	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
<210>	414	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	414	
	aggcagaggu gaaaaaguug cau	23
<210>	415	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 415	
	uaugcuguag cucuuguucc caa	23
	<210> 416	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 416	
	uaagaaccaa caagaagaug agg	23
	<210> 417	
	<211> 23	
	<212> RNA	
[0134]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 417	
	uaagaugagg cauagcagca gga	23
	<210> 418	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 418	
	aacgccgcag acacauccaa cga	23
	<210> 419	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	419	
	uaggcauagc agcaggauga aga		23
	<210>	420	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	420	
[0135]	uaggauuuuu gucaacaaga aaa		23
	<210>	421	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	421	
	uaaaacgccg cagacacauc cag		23
	<210>	422	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

[0136]	<400>	422	
	uaauaccaca	ucauccauau	aac
			23
	<210>	423	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	423	
	gaggcrauagc	agcaggauga	aga
			23
	<210>	424	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	424	
	uagaggugaa	gcgaagugca	cac
			23
	<210>	425	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	425	
	uauugugagg	auuuuuguca	aca
			23
	<210>	426	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	426	
	uuugcgucag	caaacacuug gca	23
	<210>	27	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	427	
	uuugcgucag	caaacacuug gca	23
[0137]	<210>	428	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	428	
	uaaggcacag	cuuggaggcu uga	23
	<210>	429	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	429	
	uauagcagca	ggaugaagag gaa	23

	<210>	430	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	430	
	aagaugaggc	auagcagcag gau	23
	<210>	431	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0138]	<400>	431	
	agaagaacca	acaagaagau gag	23
	<210>	432	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	432	
	uagaugagaa	ggcacagacg ggg	23
	<210>	433	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	433	
		agaaccaaca agaaugag gca	23
	<210>	434	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	434	
		uaagauagg gcauuuggug guc	23
	<210>	435	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0139]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	435	
		aguauggauc ggcagaggag cca	23
	<210>	436	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	436	
		ugagagaagu ccaccagag ucu	23
	<210>	437	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	437	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	438	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0140]	<400>	438	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	439	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	439	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	440	
	<211>	23	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	440	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	441	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	441	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
[0141]	<210>	442	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	442	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	443	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	

<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	443	
ugagagaagt ccaccacgag ucu		23
<210>	444	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	444	
ugagagaagt ccaccacgag ucu		23
[0142]		
<210>	445	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	445	
ugagagaagt ccaccacgag ucu		23
<210>	446	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	446	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	447	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	447	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	448	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0143]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	448	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	449	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	

	<p><400> 449 ugagagaagt ccaccacgag ucu</p>	23
	<p><210> 450 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 450 ugagagaagt ccaccacgag ucu</p>	23
[0144]	<p><210> 451 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 451 ugagagaagt ccaccacgag ucu</p>	23
	<p><210> 452 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	

	<400>	452	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	453	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	453	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	454	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0145]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	454	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	455	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	455	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23

	<210>	456	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	456	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	457	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0146]	<220>		
	<221>		
	<223>	/注="人工来源序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	457	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	458	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	458	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23

	<210>	459	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	459	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	460	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0147]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	460	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	461	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	461	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	462	
	<211>	23	

	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	462	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	463	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
[0148]	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	463	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	464	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	464	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	465	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	465	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	466	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0149]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	466	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	467	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	467	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	468	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	468	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	469	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0150]	<400>	469	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	470	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	470	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	471	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	471	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	472	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0151]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	472	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	473	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	473	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	474	
	<211>	23	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	474	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	475	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0152]	<400>	475	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	476	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	476	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	477	
	<211>	23	

	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	477	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	478	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0153]	<400>	478	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	479	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	479	
		aguuaauaugg augauguggu a	21
	<210>	480	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	480	
		ggaugugucu gcggcguuuu a	21
	<210>	481	
	<211>	22	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
[0154]	<400>	481	
		nacucguggu ggacuucucu ca	22
	<210>	482	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	482	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	483	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	483	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	484	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	484	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
[0155]	<210>	485	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	485	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	486	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	486	
	acucguggug	gacuucucuc a	21

	<210>	487	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	487	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	488	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0156]	<400>	488	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	489	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	489	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	490	
	<211>	17	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 490	
	gugguggacu ucucuca	17
	<210> 491	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 491	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 492	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0157]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 经修饰_碱基	
	<222> (1).. (1)	
	<223> 2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>	
	<221> 经修饰_碱基	
	<222> (23).. (23)	
	<223> 2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400> 492	
	nucguggugg acuucucuca uun	23
	<210> 493	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	493	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	494	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	494	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	495	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0158]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	495	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	496	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	496	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	497	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(21)..(21)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	497	
	nucguggugg	acuucucuca n	21
[0159]	<210>	498	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	498	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	499	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	499	
	acucguggug	gacuucucuc a	21

	<210>	500	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	500	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	501	
	<211>	17	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0160]	<400>	501	
	uauuuccuag	gguacaa	17
	<210>	502	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	502	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	503	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221>	经修饰_碱基
	<222>	(1)..(1)
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯
	<220>	
	<221>	经修饰_碱基
	<222>	(21)..(21)
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯
	<400>	503
	nucguggugg	acuucucuca n 21
	<210>	504
	<211>	21
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	来源
[0161]	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”
	<400>	504
	acucguggug	gacuucucuc a 21
	<210>	505
	<211>	21
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	来源
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”
	<400>	505
	acucguggug	gacuucucuc a 21
	<210>	506
	<211>	21
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	506	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	507	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	507	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	508	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0162]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	508	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	509	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	509	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	510	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	510	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	511	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	511	
[0163]	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	512	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	512	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	513	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	513	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	514	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	514	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	515	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0164]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	515	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	516	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	516	
	acucguggug	gacuucucuc a	21

	<210>	517	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	517	
		acucguggug gacuuctcuc a	21
	<210>	518	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0165]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	518	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	519	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	519	
		acucguggug gacuuctcuc a	21

	<210>	520	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	520	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	521	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0166]	<400>	521	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	522	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	522	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	523	
	<211>	21	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	523	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	524	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0167]	<400>	524	
		acucguggug gacuuctcuc a	21
	<210>	525	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	525	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	526	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	526 gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	527	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	527 gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	528	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0168]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	528 gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	529	
	<211>	17	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	529 uggacuucuc ucaauuu	17
	<210>	530	
	<211>	21	

	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	530	
		gugguggacu ucucucauuu u	21
	<210>	531	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0169]	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(23)..(23)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	531	
		ngguggacuu cucucauuu uun	23
	<210>	532	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	532	
		gugguggacu ucucucauuu u	21

	<210>	533	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	533	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	534	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0170]	<400>	534	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	535	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	535	
		gguggacuuc ucucaauuu	19
	<210>	536	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400> 536	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 537	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 经修饰_碱基	
	<222> (1).. (1)	
	<223> 2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>	
	<221> 经修饰_碱基	
	<222> (21).. (21)	
	<223> 2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
[0171]	<400> 537	
	ngguggacuu cucucaauuu n	21
	<210> 538	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 538	
	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 539	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	539 gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	540	
	<211>	17	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	540 uggacuucuc ucaauuu	17
	<210>	541	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0172]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	541 gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	542	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1).. (1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	

	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(21)..(21)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	542	
		ngguggacuu cucucaauuu n	21
	<210>	543	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	543	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
[0173]	<210>	544	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	544	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	545	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	545	
		gugguggacu ucucucaauu u	21

	<210>	546	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	546	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	547	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0174]	<400>	547	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	548	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	548	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	549	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	549	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	550	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	550	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	551	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0175]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	551	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	552	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	552	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	553	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	553	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	554	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0176]	<400>	554	
		gugguggact tcucucaauu u	21
	<210>	555	
	<211>	22	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	555	
		ngugguggac uucucucaau uu	22
	<210>	556	
	<211>	21	

	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	556	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	557	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	557	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
[0177]	<210>	558	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	558	
		gugguggacu tcucucaauu u	21
	<210>	559	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	559	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	560	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	560	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	561	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0178]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	561	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	562	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	562	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	563	

	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	563	
		gugguggacu tcucucaauu u	21
	<210>	564	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0179]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	564	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	565	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	565	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	566	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	566	
		gugguggacu tcucucaauu u	21
	<210>	567	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0180]	<400>	567	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	568	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	568	
		gguggacuuc ucucaauuu	19
	<210>	569	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	569	
	gugguggacu ucucucauu u		21
	<210>	570	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	570	
	gugcacuucg cuucaccucu g		21
	<210>	571	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0181]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	571	
	guugacaaaa auccucacaa u		21
	<210>	572	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	572	
	uguugacaaa aauccucaca a		21
	<210>	573	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	573	
	gguggacuuc	ucucauuuuu a	21
	<210>	574	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	574	
	ucuuuuuggag	uguggauucg a	21
[0182]	<210>	575	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	575	
	ucuuuuuggag	uguggauucg a	21
	<210>	576	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	576	
	acuguucaag	ccuccaagcu a	21

	<210>	577	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	577	
		ucugccgauc cauacugcgg a	21
	<210>	578	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0183]	<400>	578	
		augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	579	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	579	
		ccccgucugu gccuucucau a	21
	<210>	580	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 580	
	gccuaaucau cucuuguuca u	21
	<210> 581	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 581	
	ucuagacucg ugguggacuu c	21
	<210> 582	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0184]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 582	
	cugccgaucc auacugcgga a	21
	<210> 583	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 583	
	uuuuucuugu ugacaaaaau a	21
	<210> 584	
	<211> 21	
	<212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	584	
		aucuucuugu ugguucuucu a	21
	<210>	585	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	585	
		guuuuucuug uugacaaaaa u	21
[0185]	<210>	586	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	586	
		cugccuaauc aucucuuguu a	21
	<210>	587	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	587	
		uccucacaau accacagagu a	21

	<210>	588	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	588	
		cuuguugaca aaaauccuca a	21
	<210>	589	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0186]	<400>	589	
		gcaacuuuuu caccucugcc u	21
	<210>	590	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	590	
		gggaacaaga gcuacagcau a	21
	<210>	591	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	591 cgugguggac uucucucaau u	21
	<210>	592	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	592 cugcugcuau gccucaucuu a	21
	<210>	593	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0187]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	593 guuggaugug ucugcggcgu u	21
	<210>	594	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	594 uucauccugc ugcuaugccu a	21
	<210>	595	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 595
uucuuguuga caaaaauccu a 21

<210> 596
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 596
uauauggaug augugguauu a 21

[0188]

<210> 597
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 597
uucauccugc ugcuaugccu c 21

<210> 598
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 598

	gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210> 599	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 599	
	uugacaaaaa uccucacaau a	21
	<210> 600	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0189]	<400> 600	
	aagccuccaa gcugugccuu a	21
	<210> 601	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 601	
	ccucuucauc cugcugcuau a	21
	<210> 602	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	602	
		ccugcugcua ugccucaucu u	21
	<210>	603	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	603	
		caucuucuug uugguucuuc u	21
	<210>	604	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0190]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	604	
		ccgucugugc cuucucaucu a	21
	<210>	605	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	605	
		ccucaucuuc uuguuguuc u	21
	<210>	606	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	606	
		ccaccaaaug ccccuauuu a	21
	<210>	607	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	607	
[0191]		gcuccucugc cgauccauac u	21
	<210>	608	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	608	
		guugacaaaa auccucacaa u	21
	<210>	609	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	609	
		uguugacaaa aauccucaca a	21
	<210>	610	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	610	
		gguggacuuc ucucauuuu a	21
	<210>	611	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0192]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	611	
		ucuuuuggag uguggauucg a	21
	<210>	612	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	612	
		acuguucaag ccuccaagcu a	21
	<210>	613	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	613	
		ucugccgauc cauacugcg a	21
	<210>	614	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	614	
		aguuauaugg augauguggu a	21
[0193]	<210>	615	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	615	
		augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	616	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	616	
		ccccgucugu gccuucucu a	21

	<210>	617	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	617	
		gccuaaucau cucuuguuca u	21
	<210>	618	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0194]	<400>	618	
		ucuagacucg ugguggacuu c	21
	<210>	619	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	619	
		cugccgaucc auacugcgga a	21
	<210>	620	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<p><400> 620 aucuucuugu uggucuucu a</p>	21
	<p><210> 621 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 621 uucucucaau uuucuagggg a</p>	21
	<p><210> 622 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
[0195]	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 622 acucguggug gacuucucuc a</p>	21
	<p><210> 623 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 623 gugcacuucg cuucaccucu g</p>	21
	<p><210> 624 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>		
	<400>	624	
	guuuuucuug	uugacaaaaa u	21
	<210>	625	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	625	
	cugccuaaau	aucucuuguu a	21
[0196]	<210>	626	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	626	
	uccucacaau	accacagagu a	21
	<210>	627	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	627	
	cuuguugaca	aaaauccuca a	21

	<210>	628	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	628	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	629	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0197]	<400>	629	
		gcaacuuuuu caccucugcc u	21
	<210>	630	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	630	
		gggaacaaga gcuacagcau a	21
	<210>	631	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	631	
		ucaucuucuu guugguucuu a	21
	<210>	632	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	632	
		cugcugcuau gccucaucuu a	21
	<210>	633	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0198]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	633	
		guuggaugug ucugcggcgu u	21
	<210>	634	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	634	
		uucauccugc ugcuaugccu a	21
	<210>	635	
	<211>	21	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	635	
		uucuuguuga caaaaauccu a	21
	<210>	636	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	636	
		ggaugugucu gcg'gcguuuu a	21
[0199]	<210>	637	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	637	
		uauauggaug augugguuu a	21
	<210>	638	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	638	
		uucauccugc ugcuaugccu c	21

	<210>	639	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	639	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	640	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0200]	<400>	640	
		uugacaaaaa uccucacaau a	21
	<210>	641	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	641	
		ccaaguguuu gcugacgcaa a	21
	<210>	642	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	642 ccaaguguuu gcugacgcaa a	21
	<210>	643	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	643 aagccuccaa gcugugccuu a	21
	<210>	644	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0201]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	644 ccucuucauc cugcugcuau a	21
	<210>	645	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	645 ccugcugcua ugccucaucu u	21
	<210>	646	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 646
caucuucuug uugguucuuc u 21

<210> 647
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 647
ccgucugugc cuucucaucu a 21

[0202]

<210> 648
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 648
ccucaucuuc uuguugguuc u 21

<210> 649
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 649

	ccaccaaau g ccccuauuu a	21
<210>	650	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	650	
	gcuccucugc cgauccauac u	21
<210>	651	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0203]		
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	651	
	acucguggug tacuucucuc a	21
<210>	652	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	652	
	acucguggug gacuucucuc a	21
<210>	653	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	653	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	654	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0204]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	654	
		acucguggug gacuucacuc a	21
	<210>	655	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	655	
		acucguggtg tacuucacuc a	21

	<210>	656	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	656	
		acucguggug tacuucacuc a	21
	<210>	657	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0205]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	657	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	658	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	658	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	659	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	659	
	acucguggtg gacuuctcuc a		21
	<210>	660	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0206]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	660	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	661	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	661	
	acucguggug gacuucucuc a		21

	<210>	662	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	662	
		acucguggtg tacuucacuc a	21
	<210>	663	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0207]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	663	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	664	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	664	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	665	
	<211>	21	

	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	665	
		acucguggtg gacuucacuc a	21
	<210>	666	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
[0208]	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	666	
		acucguggug gacuucacuc a	21
	<210>	667	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	667	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	668	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	668	
		acucguggtg gacuuctcuc a	21
[0209]	<210>	669	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	669	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	670	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	

	<p><400> 670 acucguggug gacuuctcuc a</p>	21
	<p><210> 671 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 671 acucguggtg tacuucacuc a</p>	21
[0210]	<p><210> 672 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"</p>	
	<p><400> 672 acucguggtg gacuuctcuc a</p>	21
	<p><210> 673 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列说明：</p>	

		合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(17)..(17)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯 (无碱基 2'-OMe 呋喃糖)	
	<400>	673	
		acucguggug gacuucncuc a	21
	<210>	674	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0211]	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	674	
		acucguggug gacuuctcuc a	21
	<210>	675	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	

	<400>	675	
	acucguggug	gacuuctcuc a	21
	<210>	676	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	676	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
[0212]	<210>	677	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	677	
	acucguggtg	gacuucacuc a	21
	<210>	678	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

<400> 678

acucguggug gacuucacuc a

21

<210> 679

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

[0213]

<400> 679

acucguggtg gacuucacuc a

21

<210> 680

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 680

acucguggug gacuucucuc a

21

<210> 681

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1).. (1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯 (无碱基 2'-OMe 呋喃糖)	
	<400>	681	
		nacucguggu ggacuuctcu ca	22
	<210>	682	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0214]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	682	
		acucguggug gacuucacuc a	21
	<210>	683	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	683	
	acucguggtg tacuucacuc a		21
	<210>	684	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	684	
	acucguggug gacuuccuc a		21
[0215]	<210>	685	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	685	
	acucguggug gacuucucuc a		21
	<210>	686	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	686	
	acucguggug gacuucucuc a		21

	<210>	687	
	<211>	22	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯 (无碱基 2'-OMe 呋喃糖)	
	<400>	687	
		nacucguggu ggacuuctcu ca	22
[0216]			
	<210>	688	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	688	
		acucguggtg gacuuctcuc a	21
	<210>	689	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	689	
		acucguggug gacuucgcuc a	21
	<210>	690	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0217]	<400>	690	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	691	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	691	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	692	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

<400> 692

acucguggug gacuucucuc a

21

<210> 693

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

[0218]

<400> 693

acucguggtg gacuucacuc a

21

<210> 694

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<400> 694

uaccacauca uccauauaac uga

23

<210> 695

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	695 uaaaacgccg cagacacauc cag	23
	<210>	696	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	696 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	697	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0219]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	697 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	698	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	698 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	699	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 699
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 700
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 700
ugagagaagu ccaccacgag u 21

[0220]

<210> 701
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 701
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 702
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 702

	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 703	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 703	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 704	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0221]	<400> 704	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210> 705	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 705	
	ugagagaagu ccaccacga	19
	<210> 706	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	706	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	707	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	707	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	708	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0222]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	708	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	709	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	709	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	710	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	710	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210>	711	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	711	
[0223]	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210>	712	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	712	
	ugagagaagu ccaccacgau u		21
	<210>	713	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	713	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	714	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	714	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	715	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0224]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	715	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	716	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	716	
		ugagagaagu ccaccacga	19
	<210>	717	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	717	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	718	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	718	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
[0225]	<210>	719	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	719	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	720	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	720	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23

	<210>	721	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	721	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	722	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0226]	<400>	722	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	723	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	723	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	724	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	724	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	725	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	725	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	726	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0227]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	726	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	727	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	727	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	728	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	728	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	729	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	729	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
[0228]	<210>	730	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	730	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	731	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	731	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	732	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	732	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	733	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0229]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	733	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	734	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	734	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23

	<210>	735	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	735	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	736	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0230]	<400>	736	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	737	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	737	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	738	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	738 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
<210>	739	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	739 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
[0231]		
<210>	740	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	740 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
<210>	741	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	741	

	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 742	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 742	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 743	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0232]	 	
	<400> 743	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 744	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 744	
	aaauugagag aaguccacc	19
	<210> 745	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	745	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	746	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	746	
		aaaauugagag aaguccaccu u	21
	<210>	747	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0233]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	747	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	748	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	748	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	749	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	749	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	750	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	750	
[0234]	aaauugagag aaguccacca c		21
	<210>	751	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	751	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	752	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	752	
	aaauugagag	aaguccaccu u	21
	<210>	753	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	753	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	754	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0235]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	754	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	755	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	755	
	aaauugagag	aaguccacc	19
	<210>	756	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	756	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	757	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	757	
	aaauugagag	aaguccaccu u	21
[0236]	<210>	758	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	758	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	759	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	759	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23

	<210>	760	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	760	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	761	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0237]	<400>	761	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	762	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	762	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	763	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	763	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	764	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	764	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	765	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0238]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	765	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	766	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	766	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	767	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	767	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	768	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	768	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
[0239]	<210>	769	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	769	
	aaauugagag	aagtcacca cga	23
	<210>	770	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”		
	<400>	770	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	771	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	771	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	772	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0240]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	772	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	773	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	773	
	aaauugagag aagtcacca cga		23

	<210>	774	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	774	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	775	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0241]	<400>	775	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	776	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	776	
	aaauugagag aaguccacca cga		23
	<210>	777	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	777	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	778	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	778	
		aaauugagag aagtccacca cga	23
[0242]	<210>	779	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	779	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	780	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	780	

	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 781	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 781	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 782	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0243]	<400> 782	
	aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 783	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 783	
	aaauugagag aaguccacca c	21
	<210> 784	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	784	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	785	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	785	
		cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	786	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0244]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	786	
		auugugagga uuuuugucac caa	23
	<210>	787	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	787	
		uugugaggau uuuugucaac aag	23
	<210>	788	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	788	
	uaaaauugag	agaaguccac cac	23
	<210>	789	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	789	
[0245]	ucgaauccac	acuccaaaag aca	23
	<210>	790	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	790	
	ucgaauccac	acuccaaaag aca	23
	<210>	791	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	791	
		uagcuuggag gcuugaacaa gac	23
	<210>	792	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	792	
		uccgcaguau ggaucggcag agg	23
	<210>	793	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0246]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	793	
		uauaaaaacgc cgcagacaca ucc	23
	<210>	794	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	794	
		uauagagaagg cacagacggg gag	23
	<210>	795	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	795	
		augaacaaga gaugauuagc gag	23
	<210>	796	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	796	
		gaaguccacc acgagucuag acu	23
[0247]	<210>	797	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	797	
		uuccgcagua uggaucggca gag	23
	<210>	798	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	798	
		uauuuuuguc aacaagaaaa acc	23

	<210>	799	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	799	
	uagaagaacc aacaagaaga uga		23
	<210>	800	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0248]	<400>	800	
	auuuuuguca acaagaaaaa ccc		23
	<210>	801	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	801	
	uaacaagaga ugauuaggca gag		23
	<210>	802	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

[0249]	<400>	802	
	uacucugugg	uauugugagg	auu
			23
	<210>	803	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	803	
	uugaggauuu	uugucaacaa	gaa
			23
	<210>	804	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	804	
	aggcagaggu	gaaaaaguug	cau
			23
	<210>	805	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	805	
	uauugcuguag	cucuuguucc	caa
			23
	<210>	806	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	806	
		aaauugagaga aguccaccag cag	23
	<210>	807	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	807	
		uaaugaugagg cauagcagca gga	23
[0250]	<210>	808	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	808	
		aacgccgcag acacauccaa cga	23
	<210>	809	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	809	
		uaggcauagc agcaggauga aga	23

	<210>	810	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	810	
	uaggauuuuu gucaacaaga aaa		23
	<210>	811	
	<211>	3	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0251]	<400>	811	
	uaauaccaca ucauccauau aac		23
	<210>	812	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	812	
	gaggcauagc agcaggauga aga		23
	<210>	813	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 813	
	uagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210> 814	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 814	
	uauugugagg auuuuuguca aca	23
	<210> 815	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0252]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 815	
	uaaggcacag cuuggaggcu uga	23
	<210> 816	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 816	
	uauagcagca ggaugaagag gaa	23
	<210> 817	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	817	
	aagaugaggc	auagcagcag gau	23
	<210>	818	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	818	
	agaagaacca	acaagaagau gag	23
[0253]	<210>	819	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	819	
	uagaugagaa	ggcacagacg ggg	23
	<210>	820	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	820	
	agaaccaaca	agaaugag gca	23

	<210>	821	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	821	
	uaagauaggg	gcuuuggug	guc
			23
	<210>	822	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0254]	<400>	822	
	aguauggauc	ggcagaggag	cca
			23
	<210>	823	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	823	
	auugugagga	uuuuugucaa	caa
			23
	<210>	824	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	824 uugugaggau uuuugucaac aag	23
	<210>	825	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	825 uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210>	826	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0255]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	826 ucgaauccac acuccaaaag aca	23
	<210>	827	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	827 uagcuuggag gcuugaacaa gac	23
	<210>	828	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 828
uccgcaguau ggaucggcag agg 23

<210> 829
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 829
uaccacauca uccauauaac uga 23

[0256]

<210> 830
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 830
uauaaaacgc cgcagacaca ucc 23

<210> 831
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 831

	uau <u>g</u> agaagg cacagacggg gag	23
	<210> 832	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 832	
	au <u>g</u> aacaaga gaugauuagc gag	23
	<210> 833	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0257]	<400> 833	
	ga <u>g</u> uccacc acgagucuag acu	23
	<210> 834	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 834	
	uu <u>c</u> gcagua uggaucggca gag	23
	<210> 835	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	835	
		uagaagaacc aacaagaaga uga	23
	<210>	836	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	836	
		uccccuagaa aauugagaga agu	23
	<210>	837	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0258]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	837	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	838	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	838	
		cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	839	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	839	
		auuuuuguca acaagaaaaa ccc	23
	<210>	840	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	840	
[0259]		uaacaagaga ugauuaggca gag	23
	<210>	841	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	841	
		uacucugugg uauugugagg auu	23
	<210>	842	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	842	
	uugaggauuu	uugucaacaa gaa	23
	<210>	843	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	843	
	aaauugagag	aaguccacca cga	23
	<210>	844	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0260]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	844	
	aggcagaggu	gaaaaaguug cau	23
	<210>	845	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	845	
	uauugcuguag	cucuuguucc caa	23
	<210>	846	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	846	
		uaagaaccaa caagaagaug agg	23
	<210>	847	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	847	
		uaagaugagg cauagcagca gga	23
[0261]	<210>	848	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	848	
		aacgccgag acacauccaa cga	23
	<210>	849	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	849	
		uaggcauagc agcaggauga aga	23

	<210>	850	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	850	
	uaggauuuuu gucaacaaga aaa		23
	<210>	851	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0262]	<400>	851	
	uaaaacgccg cagacacauc cag		23
	<210>	852	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	852	
	uaauaccaca ucauccauau aac		23
	<210>	853	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

[0263]	<400>	853	
	gaggcauagc agcaggauga aga		23
	<210>	854	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	854	
	uagaggugaa gcgaagugca cac		23
	<210>	855	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	855	
	uauugugagg auuuuuguca aca		23
	<210>	856	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	856	
	uuugcgucag caaacacuug gca		23
	<210>	857	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	857	
	uuugcgucag	caaacacuug gca	23
	<210>	858	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	858	
	uaaggcacag	cuuggaggcu uga	23
[0264]	<210>	859	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	859	
	uauagcagca	ggaugaagag gaa	23
	<210>	860	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	860	
	aagaugaggc	auagcagcag gau	23

	<210>	861	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	861	
		agaagaacca acaagaagau gag	23
	<210>	862	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0265]	<400>	862	
		uagaugagaa ggcacagacg ggg	23
	<210>	863	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	863	
		agaaccaaca agaaugag gca	23
	<210>	864	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	864	
		uaagauaggg gcauuuggug guc	23
	<210>	865	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	865	
		aguauggauc ggcagaggag cca	23
	<210>	866	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0266]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	866	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	867	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	867	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23

	<210>	868	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	868	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	869	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0267]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	869	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	870	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	870	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	871	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	871	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
[0268]	<210>	872	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	872	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	873	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	873	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	874	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0269]	<400>	874	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	875	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	875	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	876	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	876	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	877	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	877	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
[0270]	<210>	878	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	878	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	879	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

<220>
<221> 来源
<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

<400> 879
ugagagaagt ccaccacgag ucu 23

<210> 880
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<220>
<221> 来源
<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

[0271]

<400> 880
ugagagaagt ccaccacgag ucu 23

<210> 881
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注=“人工序列说明：
合成寡核苷酸”

<220>
<221> 来源
<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸”

<400> 881
ugagagaagt ccaccacgag ucu 23

<210> 882
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 882
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 883
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 883
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

[0272]

<210> 884
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<220>
<221> 来源
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明：
合成寡核苷酸"

<400> 884
ugagagaagu ccaccacgag ucu 23

<210> 885
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	885	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	886	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0273]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	886	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	887	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	887	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23

	<210>	888	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	888	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	889	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0274]	<400>	889	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	890	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	890	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	891	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	891	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	892	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0275]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	892	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	893	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	893	
	ugagagaagu	ccaccacgag	ucu 23
	<210>	894	
	<211>	23	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	894	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	895	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0276]	<400>	895	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	896	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	896	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	897	
	<211>	23	

	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	897	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	898	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
[0277]	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	898	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	899	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	899	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	900	

	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	900	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	901	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0278]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	901	
		ugagagaagt ccaccacgag ucu	23
	<210>	902	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	902	
	ugagagaagt	ccaccacgag ucu	23
	<210>	903	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	903	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
[0279]	<210>	904	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	904	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
	<210>	905	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	905	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu
			23
	<210>	906	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	906	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu
			23
[0280]	<210>	907	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	907	
	ugagagaagt	ccaccacgag	ucu
			23
	<210>	908	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	908 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	909	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	909 ucguggugga cuucucuca	19
[0281]	<210>	910	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	910 ucguggugga cuucucuca	19
	<210>	911	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	911	

	ucguggugga cuucucuca	19
	<210> 912	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 912	
	acucguggug gacuucucuc a	21
	<210> 913	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0282]	<400> 913	
	ucguggugga cuucucuca	19
	<210> 914	
	<211> 19	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 914	
	ucguggugga cuucucuca	19
	<210> 915	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	915	
		ucguggugga cuucucucau u	21
	<210>	916	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	916	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	917	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
[0283]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	917	
		ucguggugga cuucucuca	19
	<210>	918	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	918	
		acucguggug gacuucucuc a	21
	<210>	919	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	919	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	920	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	920	
[0284]		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	921	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	921	
		gcacuucgcu ucaccucua	19
	<210>	922	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	922	
		gugcacuucg cuuaccucu g	21
	<210>	923	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	923	
		augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	924	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0285]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	924	
		gugcacuucg cuuaccucu g	21
	<210>	925	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	925	
		gcacuucgcu ucaccucua	19
	<210>	926	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	926	
	gguggacuuc	ucucaauuu	19
	<210>	927	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	927	
	cgugguggac	uucucucaau u	21
[0286]	<210>	928	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	928	
	gugguggacu	ucucucaauu u	21
	<210>	929	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	929	
	cgugguggac	uucucucaau u	21

	<210>	930	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	930	
	gguggacuuc	ucucaauuu	19
	<210>	931	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0287]	<400>	931	
	gugguggacu	ucucucauu u	21
	<210>	932	
	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	932	
	uggugguctu	cucuaaaau	19
	<210>	933	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	933	
		gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210>	934	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
[0288]	<400>	934	
		cguggugguc tucucuaaaau u	21
	<210>	935	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	935	
		gguggacuuc ucucauuuuu a	21
	<210>	936	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	936	
	gguggacuuc	ucucaauuuu a	21
	<210>	937	
	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	937	
	uggacuactc	ucaauuuua	19
[0289]	<210>	938	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	938	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	939	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	939	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21

	<210>	940	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	940	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	941	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0290]	<400>	941	
		ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	942	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	942	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	943	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	943 ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	944	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	944 ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	945	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0291]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	945 ugagagaagu ccaccacgag ucu	23
	<210>	946	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	946 ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	947	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 947
ugagagaagu ccaccacgag uuu 23

<210> 948
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 948
uagaggugaa gcgaagugca cuu 23

[0292]

<210> 949
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 949
uagaggugaa gcgaagugca cac 23

<210> 950
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 950

	uagaggugaa gcgaagugca c	21
	<210> 951	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 951	
	cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210> 952	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0293]	<400> 952	
	uauaaaacgc cgcagacaca ucc	23
	<210> 953	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 953	
	cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210> 954	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	954	
		uagaggugaa gcgaagugcu u	21
	<210>	955	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	955	
		aaauugagag aaguccacca c	21
	<210>	956	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0294]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	956	
		aaauugagaga aguccaccag cag	23
	<210>	957	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	957	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	958	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	958	
		aauugagaga aguccaccag cag	23
	<210>	959	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	959	
[0295]		aaauugagag aaguccacca c	21
	<210>	960	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	960	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	961	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	961	
		aaauugagaga aguccaccau u	21
	<210>	962	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	962	
		aaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	963	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0296]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	963	
		aaauugagaga aguccaccag cuu	23
	<210>	964	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	964	
		uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210>	965	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	965	
	uaaaauugag	agaaguccac cac	23
	<210>	966	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	966	
	uaaaauugag	agaaguccau u	21
[0297]	<210>	967	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	967	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	968	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	968	
	ucguggugga	cuucucuca	19

	<210>	969	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(21)..(21)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	969	
	nucguggugg	acuucucuca n	21
[0298]	<210>	970	
	<211>	22	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	970	
	nacucguggu	ggacuucucu ca	22
	<210>	971	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	971	
		ucguggugga cuucucuca	19
	<210>	972	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	972	
		ucguggugga cuucucuca	19
	<210>	973	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0299]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<220>		
	<221>	经修饰_碱基	
	<222>	(23)..(23)	
	<223>	2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯	
	<400>	973	
		nucguggugg acuucucuca uun	23
	<210>	974	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	974	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	975	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	975	
	ucguggugga	cuucucuca	19
[0300]	<210>	976	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	976	
	acucguggug	gacuucucuc a	21
	<210>	977	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	977	
	gugcacuucg	cuucaccucu a	21

	<210>	978	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	978	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	979	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0301]	<400>	979	
		gcacuucgcu ucaccucua	19
	<210>	980	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	980	
		gugcacuucg cuucaccucu g	21
	<210>	981	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”		
	<400>	981 augugucugc ggcguuuuau a	21
	<210>	982	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	982 gugcacuucg cuucaccucu g	21
	<210>	983	
	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0302]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	983 gcacuucgcu ucaccucua	19
	<210>	984	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	984 gguggacuuc ucucauuu	19

	<210>	985	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	985	
	cgugguggac	uucucucaau u	21
	<210>	986	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0303]	<400>	986	
	gugguggacu	ucucucaauu u	21
	<210>	987	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	987	
	cgugguggac	uucucucaau u	21
	<210>	988	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400> 988		19
	gguggacuuc	ucucaauuu	
	<210>	989	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	989	21
	gugguggacu	ucucucaauu u	
	<210>	990	
	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0304]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	990	19
	uggugguctu	cucuaauuu	
	<210>	991	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	991	

	gugguggacu ucucucaauu u	21
	<210> 992	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 992	
	cguggugguc tucucuaaaa u	21
	<210> 993	
	<211> 21	
	<212> RNA	
[0305]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 993	
	gguggacuuc ucucaaaaaa a	21
	<210> 994	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 994	
	gguggacuuc ucucaaaaaa a	21
	<210> 995	

	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	995	
		uggacuactc ucaaauuua	19
	<210>	996	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0306]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	996	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	997	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	997	
		ugagagaagu ccaccacgau u	21
	<210>	998	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	998	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	999	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	999	
	ugagagaagu	ccaccacgag ucu	23
[0307]	<210>	1000	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1000	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	1001	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1001	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21

	<210>	1002	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1002	
	ugagagaagu ccaccacgau u		21
	<210>	1003	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0308]	<400>	1003	
	ugagagaagu ccaccacgag ucu		23
	<210>	1004	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1004	
	ugagagaagu ccaccacgau u		21
	<210>	1005	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1005	
	ugagagaagu	ccaccacgag uuu	23
	<210>	1006	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1006	
	uagaggugaa	gcgaagugca cuu	23
	<210>	1007	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0309]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1007	
	uagaggugaa	gcgaagugca cac	23
	<210>	1008	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1008	
	uagaggugaa	gcgaagugca c	21
	<210>	1009	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1009	
		cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	1010	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1010	
		uauaaaacgc cgcacacaca ucc	23
[0310]	<210>	1011	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1011	
		cagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	1012	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 1012 uagaggugaa gcgaagugcu u	21
	<210> 1013 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1013 aaaauugagag aaguccacca c	21
	<210> 1014 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0311]	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1014 aaauugagaga aguccaccag cag	23
	<210> 1015 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1015 aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210> 1016 <211> 23 <212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1016	
		aaauugagaga aguccaccag cag	23
	<210>	1017	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1017	
		aaaauugagag aaguccacca c	21
[0312]	<210>	1018	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1018	
		aaaauugagag aaguccacca cga	23
	<210>	1019	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1019 aaauagagaga aguccaccau u	21
	<210>	1020	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1020 aaaauagagag aaguccacca cga	23
	<210>	1021	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
[0313]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1021 aaauagagaga aguccaccag cuu	23
	<210>	1022	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1022	

	uaaaauugag agaaguccac cac	23
<210>	1023	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1023	
	uaaaauugag agaaguccac cac	23
<210>	1024	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0314]		
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1024	
	uaaaauugag agaaguccau u	21
<210>	1025	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1025	
	ucguggugga cuucucuca	19
<210>	1026	

	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1026	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	1027	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1027	
[0315]	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	1028	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1028	
	gugcacuucg	cuucaccucu a	21
	<210>	1029	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1029	
	gugcacuucg cuucaccucu a		21
	<210>	1030	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1030	
	gugcacuucg cuucaccucu a		21
	<210>	1031	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0316]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1031	
	cgugguggac uucucucaau u		21
	<210>	1032	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1032	
	cguggugguc tucucuaaaau u		21

	<210>	1033	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1033	
	gguggacuuc	ucucaaaaa a	21
	<210>	1034	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0317]	<400>	1034	
	gguggacuuc	ucucaaaaa a	21
	<210>	1035	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1035	
	gguggacuuc	ucucaaaaa a	21
	<210>	1036	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1036	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	1037	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1037	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	1038	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0318]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1038	
	ugagagaagu	ccaccacgau u	21
	<210>	1039	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1039	
	uagaggugaa	gcgaagugca cuu	23
	<210>	1040	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1040	
	uagaggugaa	gcgaagugca cuu	23
	<210>	1041	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1041	
	uagaggugaa	gcgaagugca cuu	23
[0319]	<210>	1042	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1042	
	aaugagaga	aguccaccag cag	23
	<210>	1043	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1043	
	aaugagaga	aguccaccag cuu	23

	<210>	1044	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1044	
	uaaaauugag	agaaguccac cac	23
	<210>	1045	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0320]	<400>	1045	
	uaaaauugag	agaaguccac cac	23
	<210>	1046	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1046	
	uaaaauugag	agaaguccac cac	23
	<210>	1047	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	1047	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	1048	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1048	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	1049	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0321]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1049	
	ucguggugga	cuucucuca	19
	<210>	1050	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1050	
	gugcacuucg	cuucaccucu a	21
	<210>	1051	
	<211>	21	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1051	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	1052	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1052	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
[0322]	<210>	1053	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1053	
		cgugguggac uucucucaau u	21
	<210>	1054	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1054 cguggugguc tucucuaaa u	21
	<210>	1055	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1055 gguggacuuc ucucuaaa u a	21
	<210>	1056	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0323]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1056 gguggacuuc ucucuaaa u a	21
	<210>	1057	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1057 gguggacuuc ucucuaaa u a	21
	<210>	1058	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1058
ugagagaagu ccaccacgau u 21

<210> 1059
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1059
ugagagaagu ccaccacgau u 21

[0324]

<210> 1060
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1060
ugagagaagu ccaccacgau u 21

<210> 1061
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1061

	uagaggugaa gcgaagugca cuu	23
<210>	1062	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1062	
	uagaggugaa gcgaagugca cuu	23
<210>	1063	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0325]		
<400>	1063	
	uagaggugaa gcgaagugca cuu	23
<210>	1064	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1064	
	aaugagaga aguccaccag cag	23
<210>	1065	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1065	
		aauugagaga aguccaccag cuu	23
	<210>	1066	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1066	
[0326]		uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210>	1067	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1067	
		uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210>	1068	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1068	
		uaaaauugag agaaguccac cac	23
	<210>	1069	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1069	
		ugugcacuuc gcuucaccuc u	21
	<210>	1070	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0327]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1070	
		ugcacuucgc uucaccucug a	21
	<210>	1071	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1071	
		gugugcacuu cguucaccu a	21
	<210>	1072	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1072	
		cgugugcacu ucguucacc u	21
	<210>	1073	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1073	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
[0328]	<210>	1074	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1074	
		ccgugugcac uucguucac a	21
	<210>	1075	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1075	
		cacuucgeuu caccucugca a	21

	<210>	1076	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1076	
		acuucgcuuc accucugcac a	21
	<210>	1077	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0329]	<400>	1077	
		ggcuguaggc auaaaauuggu a	21
	<210>	1078	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1078	
		uucgcuucac cucugcacgu a	21
	<210>	1079	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1079	
	ucgcuucacc	ucugcacguc a	21
	<210>	1080	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1080	
	cuucgcuuca	ccucgcacg u	21
	<210>	1081	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0330]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1081	
	ccccgucugu	gccuucucau a	21
	<210>	1082	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1082	
	ccgucugugc	cuucucaucu a	21
	<210>	1083	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1083	
		ccagcaccau gcaacuuuuu a	21
	<210>	1084	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1084	
		caccagcacc augcaacuuu u	21
[0331]	<210>	1085	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1085	
		caccaugcaa cuuuuucacc u	21
	<210>	1086	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1086	
		caaugucaac gaccgaccuu a	21

	<210>	1087	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1087	
		cgcuuaccu cugcacgucg a	21
	<210>	1088	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0332]	<400>	1088	
		accuugaggc auacucaaa g	21
	<210>	1089	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1089	
		ccgaccuuga ggcauacuuc a	21
	<210>	1090	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明:	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 1090	
	gaccuugagg cauacuucaa a	21
	<210> 1091	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1091	
	accgaccuug aggcauacuu a	21
	<210> 1092	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0333]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1092	
	ucgcauggag accaccguga a	21
	<210> 1093	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1093	
	uuacauaaga ggacucuugg a	21
	<210> 1094	
	<211> 21	
	<212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1094	
	ucuuacauaa	gaggacucuu a	21
	<210>	1095	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1095	
	acuucaaaga	cuguuuguuu a	21
[0334]	<210>	1096	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1096	
	uacuucaaag	acuguuuguu u	21
	<210>	1097	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1097	
	auacuucaaa	gacuguuugu u	21

	<210>	1098	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1098	
		uuguuuuaag acugggagga a	21
	<210>	1099	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0335]	<400>	1099	
		gcuaucuca aagacuguuu a	21
	<210>	1100	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1100	
		caaagacugu uuguuuuaag a	21
	<210>	1101	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1101 agacuguuug uuuaaagacu a	21
	<210>	1102	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1102 guuuguuuuaa agacugggag a	21
	<210>	1103	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0336]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1103 gggggaggag auuagauuaa a	21
	<210>	1104	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1104 ggggaggaga uuagauuaa g	21
	<210>	1105	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1105
guugggggag gagauuagau u 21

<210> 1106
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1106
uugggggag agauuagauu a 21

[0337]

<210> 1107
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1107
gggaggagau uagauuaag a 21

<210> 1108
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1108

	uuagauuaaa ggucuuugua a	21
	<210> 1109	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1109	
	uagauuaaag gucuuuguac u	21
	<210> 1110	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0338]	<400> 1110	
	auuagauuaa aggucuuugu a	21
	<210> 1111	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1111	
	gaggagauua gauuaaaggu a	21
	<210> 1112	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1112	
		ggacucuugg acucucugca a	21
	<210>	1113	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1113	
		acucuuggac ucucugcaau a	21
	<210>	1114	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0339]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1114	
		agauuaaagg ucuuuguacu a	21
	<210>	1115	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1115	
		agaggugaag cgaagugcac acg	23
	<210>	1116	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1116	
		ucagagguga agcgaagugc aca	23
	<210>	1117	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1117	
[0340]		uaggugaagc gaagugcaca cgg	23
	<210>	1118	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1118	
		aggugaagcg aagugcacac ggu	23
	<210>	1119	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1119	
		uagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210>	1120	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1120	
		ugugaagcga agugcacacg guc	23
	<210>	1121	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0341]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1121	
		uugcagaggu gaagcgaagu gca	23
	<210>	1122	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1122	
		ugugcagagg ugaagcgaag ugc	23
	<210>	1123	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1123	
	uaccaauuuu	ugccuacagc cuc	23
	<210>	1124	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1124	
	uacgugcaga	ggugaagcga agu	23
[0342]	<210>	1125	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1125	
	ugacgugcag	aggugaagcg aag	23
	<210>	1126	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1126	
	acgugcagag	gugaagcgaa gug	23

	<210>	1127	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1127	
	uau gagaagg cacagacggg gag		23
	<210>	1128	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0343]	<400>	1128	
	uagaugagaa ggcacagacg ggg		23
	<210>	1129	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1129	
	uaaaaaguug cauggugcug gug		23
	<210>	1130	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1130	
	aaaaguugca	uggugcuggu gcg	23
	<210>	1131	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1131	
	aggugaaaaa	guugcauggu gcu	23
	<210>	1132	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0344]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1132	
	uaaggucggu	cguugacauu gca	23
	<210>	1133	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1133	
	ucgacgugca	gaggugaagc gaa	23
	<210>	1134	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1134	
		cuuugaagua ugccucaagg ucg	23
	<210>	1135	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1135	
		ugaaguaugc cucaaggucg guc	23
[0345]	<210>	1136	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1136	
		uuugaaguau gccucaaggu cgg	23
	<210>	1137	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1137	
		uaaguaugcc ucaaggucgg ucg	23

	<210>	1138	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1138	
		uucacggugg ucuccaugcg acg	23
	<210>	1139	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0346]	<400>	1139	
		uccaagaguc cucuuaugua aga	23
	<210>	1140	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1140	
		uaagaguccu cuuauaag acc	23
	<210>	1141	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 1141 uaaacaaca gucuuugaag uau	23
	<210> 1142 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1142 aaacaaacag ucuuugaagu aug	23
	<210> 1143 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0347]	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1143 aacaacagu cuuugaagua ugc	23
	<210> 1144 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1144 uuccuccag ucuuuuaaca aac	23
	<210> 1145 <211> 23 <212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1145	
		uaaacagucu uugaaguaug ccu	23
	<210>	1146	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1146	
		ucuuuaaaca aacagucuuu gaa	23
[0348]	<210>	1147	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1147	
		uagucuuuaa acaaacaguc uuu	23
	<210>	1148	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1148	
		ucucccaguc uuuaaacaaa cag	23

	<210>	1149	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1149	
	uuuaaucuaa	ucuccucucc caa	23
	<210>	1150	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0349]	<400>	1150	
	cuuuaaucua	aucuccucucc cca	23
	<210>	1151	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1151	
	aaucuaaucu	ccucccccaa cuc	23
	<210>	1152	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1152 uaaucuaauc uccuccccca acu	23
	<210>	1153	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1153 ucuuuaaucu aaucuccucc ccc	23
	<210>	1154	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0350]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1154 uuacaaagac cuuuuaucua auc	23
	<210>	1155	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1155 aguacaaaga cccuuuauc uau	23
	<210>	1156	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1156
uacaaagacc uuuaaucuaa ucu 23

<210> 1157
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1157
uaccuuuaau cuaaucuccu ccc 23

[0351]

<210> 1158
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1158
uugcagagag uccaagaguc cuc 23

<210> 1159
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1159

	uauugcagag aguccaagag ucc	23
<210>	1160	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1160	
	uaguacaaag accuuuaaau uaa	23
<210>	1161	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0352]		
<400>	1161	
	ugugcacuuc gcuucaccuc u	21
<210>	1162	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
<400>	1162	
	ugcacuucgc uucaccucug a	21
<210>	1163	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1163	
		gugugcacuu cgcuucaccu a	21
	<210>	1164	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1164	
		cgugugcacu ucgcuuacc u	21
	<210>	1165	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
[0353]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1165	
		gugcacuucg cuucaccucu a	21
	<210>	1166	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1166	
		ccgugugcac uucgcuuac a	21
	<210>	1167	

	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1167	
		cacuucgcuu caccucugca a	21
	<210>	1168	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1168	
[0354]		acuucgcuuc accucugcac a	21
	<210>	1169	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1169	
		ggcuguaggc auaaaauuggu a	21
	<210>	1170	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1170	
		uucgcuucac cucugcacgu a	21
	<210>	1171	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1171	
		ucgcuucacc ucugcacguc a	21
	<210>	1172	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0355]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1172	
		cuucgcuuca ccucgcacg u	21
	<210>	1173	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1173	
		ccccgucugu gccuucucau a	21
	<210>	1174	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1174	
		ccgucugugc cuucucaucu a	21
	<210>	1175	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1175	
		ccagcacc au gcaacuuuuu a	21
[0356]	<210>	1176	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1176	
		caccagcacc augcaacuuu u	21
	<210>	1177	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1177	
		caccaugcaa cuuuuucacc u	21

	<210>	1178	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1178	
	caaugucaac	gaccgaccuu a	21
	<210>	1179	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0357]	<400>	1179	
	cgcuuaccu	cugcacgucg a	21
	<210>	1180	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1180	
	accuugaggc	auacuucaaa g	21
	<210>	1181	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1181	
		ccgaccuuga ggcauacuuc a	21
	<210>	1182	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1182	
		gaccuugagg cauacucaa a	21
	<210>	1183	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0358]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1183	
		accgaccuug aggcauacuu a	21
	<210>	1184	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1184	
		ucgcauggag accaccguga a	21
	<210>	1185	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1185	
	uuacauaaga	ggacucuugg a	21
	<210>	1186	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1186	
	ucuuacauaa	gaggacucuu a	21
[0359]	<210>	1187	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1187	
	acuucaaaga	cuguuuguuu a	21
	<210>	1188	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1188	
	uacuucaaag	acuguuuguu u	21

	<210>	1189	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1189	
	auacuucaaa gacuguuugu u		21
	<210>	1190	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0360]	<400>	1190	
	uuguuuuaag acugggagga a		21
	<210>	1191	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1191	
	gcuaucuca aagacuguuu a		21
	<210>	1192	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

	合成寡核苷酸”	
	<400> 1192 caaagacugu uuguuuuaag a	21
	<210> 1193 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1193 agacuguuug uuuaaagacu a	21
	<210> 1194 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0361]	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1194 guuuguuuuaa agacugggag a	21
	<210> 1195 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400> 1195 gggggaggag auuagauuaa a	21
	<210> 1196 <211> 21 <212> RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1196	
		ggggaggaga uuagauuaaa g	21
	<210>	1197	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1197	
		guugggggag gagauuagau u	21
[0362]	<210>	1198	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1198	
		uugggggagg agauuagauu a	21
	<210>	1199	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1199	
		gggaggagau uagauuaag a	21

	<210>	1200	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1200	
		uuagauuaaa ggucuuugua a	21
	<210>	1201	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0363]	<400>	1201	
		uagauuaaag gucuuuguac u	21
	<210>	1202	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1202	
		auuagauuaa aggucuuugu a	21
	<210>	1203	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1203 gaggagauua gauuaaaggu a	21
	<210>	1204	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1204 ggacucuugg acucucugca a	21
	<210>	1205	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0364]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1205 acucuuggac ucucugcaau a	21
	<210>	1206	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1206 agauuaaagg ucuuuguacu a	21
	<210>	1207	
	<211>	23	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1207
agaggugaag cgaagugcac acg 23

<210> 1208
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1208
ucagagguga agcgaagugc aca 23

[0365]

<210> 1209
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1209
uaggugaagc gaagugcaca cgg 23

<210> 1210
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1210

	aggugaagcg aagugcacac ggu	23
	<210> 1211	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1211	
	uagaggugaa gcgaagugca cac	23
	<210> 1212	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0366]	<400> 1212	
	ugugaagcga agugcacacg guc	23
	<210> 1213	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1213	
	uugcagaggu gaagcgaagu gca	23
	<210> 1214	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1214	
		ugugcagagg ugaagcgaag ugc	23
	<210>	1215	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1215	
		uaccaauuuu ugccuacagc cuc	23
	<210>	1216	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0367]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1216	
		uacgugcaga ggugaagcga agu	23
	<210>	1217	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1217	
		ugacgugcag aggugaagcg aag	23
	<210>	1218	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1218	
		acgugcagag gugaagcgaa gug	23
	<210>	1219	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1219	
[0368]		uagagaagg cacagacggg gag	23
	<210>	1220	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1220	
		uagaugagaa ggcacagacg ggg	23
	<210>	1221	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

[0369]	<400>	1221	
	uaaaaaguug	cauggugcug	gug
			23
	<210>	1222	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1222	
	aaaaguugca	uggugcuggu	gcg
			23
	<210>	1223	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1223	
	aggugaaaaa	guugcauggu	gcu
			23
	<210>	1224	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1224	
	uaaggucggg	cguugacauu	gca
			23
	<210>	1225	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1225	
	ucgacgugca	gaggugaagc gaa	23
	<210>	1226	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1226	
	cuuugaagua	ugccucaagg ucg	23
[0370]	<210>	1227	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1227	
	ugaaguaugc	cucaaggucg guc	23
	<210>	1228	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1228	
	uuugaaguau	gccucaaggu cgg	23

	<210>	1229	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1229	
	uaaguaugcc	ucaaggucgg ucg	23
	<210>	1230	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0371]	<400>	1230	
	uucacggugg	ucuccaugcg acg	23
	<210>	1231	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1231	
	uccaagaguc	cucuuaugua aga	23
	<210>	1232	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1232	
	uaagaguccu	cuaauguaag acc	23
	<210>	1233	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1233	
	uaaacaacaa	gucuuugaag uau	23
	<210>	1234	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0372]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1234	
	aaacaacacag	ucuuugaagu aug	23
	<210>	1235	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1235	
	aacaacacagu	cuuugaagua ugc	23
	<210>	1236	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1236	
	uuccucccag	ucuuuaaaca aac	23
	<210>	1237	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1237	
	uaaacagucu	uugaaguaug ccu	23
[0373]	<210>	1238	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1238	
	ucuuuaaaca	aacagucuuu gaa	23
	<210>	1239	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1239	
	uagucuuuaa	acaaacaguc uuu	23

	<210>	1240	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1240	
	ucucccaguc uuuaacaaa cag		23
	<210>	1241	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0374]	<400>	1241	
	uuuaaucuaa ucuccucucc caa		23
	<210>	1242	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1242	
	cuuuaaucua aucuccucucc cca		23
	<210>	1243	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明：	

合成寡核苷酸”

	<400>	1243	
		aaucuaaucu ccucccccaa cuc	23
	<210>	1244	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1244	
		uaaucuaauc uccuccccca acu	23
	<210>	1245	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0375]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1245	
		ucuuuaaucu aaucuccucc ccc	23
	<210>	1246	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注=“人工序列说明： 合成寡核苷酸”	
	<400>	1246	
		uuacaaagac cuuuaaucua auc	23
	<210>	1247	
	<211>	23	
	<212>	RNA	

	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1247	
		aguacaaaga ccuuuaaucu aau	23
	<210>	1248	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1248	
		uacaaagacc uuuaaucuaa ucu	23
[0376]	<210>	1249	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1249	
		uaccuuuaau cuaaucuccu ccc	23
	<210>	1250	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1250	
		uugcagagag uccaagaguc cuc	23

	<210>	1251	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1251	
		uauugcagag aguccaagag ucc	23
	<210>	1252	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0377]	<400>	1252	
		uaguacaaag accuuuaauc uaa	23
	<210>	1253	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1253	
		gucugugccu ucucaucua	19
	<210>	1254	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	

	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1254 gucugugccu ucucaucua	19
	<210>	1255	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1255 gugugcacuu cgcuucaca	19
	<210>	1256	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
[0378]	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1256 gugugcacuu cgcuucaca	19
	<210>	1257	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1257 ugugcacuuc gcuucaccuc u	21
	<210>	1258	
	<211>	21	

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1258
ugugcacuuc gcuucaccuc u 21

<210> 1259
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1259
caccagcacc augcaacuuu u 21

[0379]

<210> 1260
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1260
caccagcacc augcaacuuu u 21

<210> 1261
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1261

	caccaugcaa cuuuuucacc u	21
	<210> 1262	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1262	
	caccaugcaa cuuuuucacc u	21
	<210> 1263	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
[0380]	<400> 1263	
	uagaugagaa ggcacagacu u	21
	<210> 1264	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 1264	
	uagaugagaa ggcacagacu u	21
	<210> 1265	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1265	
		ugugaagcga agugcacacu u	21
	<210>	1266	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1266	
		ugugaagcga agugcacacu u	21
	<210>	1267	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
[0381]	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1267	
		agaggugaag cgaagugcac auu	23
	<210>	1268	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1268	
		agaggugaag cgaagugcac auu	23
	<210>	1269	

	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1269	
	aaaaguugca	uggugcuggu guu	23
	<210>	1270	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1270	
[0382]	aaaaguugca	uggugcuggu guu	23
	<210>	1271	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1271	
	aggugaaaaa	guugcauggu guu	23
	<210>	1272	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1272	
	aggugaaaaa	guugcauggu guu	23
	<210>	1273	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1273	
	gucugugccu	ucucaucua	19
	<210>	1274	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0383]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1274	
	gucugugccu	ucucaucua	19
	<210>	1275	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1275	
	gugugcacuu	cgcuucaca	19
	<210>	1276	
	<211>	19	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1276	
		gugugcacuu cgcuuca	19
	<210>	1277	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1277	
		ugugcacuuc gcuucaccuc u	21
[0384]	<210>	1278	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1278	
		ugugcacuuc gcuucaccuc u	21
	<210>	1279	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明: 合成寡核苷酸"	
	<400>	1279	
		caccagcacc augcaacuuu u	21

	<210>	1280	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1280	
	caccagcacc	augcaacuuu u	21
	<210>	1281	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
[0385]	<400>	1281	
	caccaugcaa	cuuuuucacc u	21
	<210>	1282	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1282	
	caccaugcaa	cuuuuucacc u	21
	<210>	1283	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	

	<400>	1283	
	uagaugagaa	ggcacagacu u	21
	<210>	1284	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1284	
	uagaugagaa	ggcacagacu u	21
	<210>	1285	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0386]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1285	
	ugugaagcga	agugcacacu u	21
	<210>	1286	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1286	
	ugugaagcga	agugcacacu u	21
	<210>	1287	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1287	
	agaggugaag	cgaagugcac auu	23
	<210>	1288	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1288	
	agaggugaag	cgaagugcac auu	23
[0387]	<210>	1289	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1289	
	aaaaguugca	uggugcuggu guu	23
	<210>	1290	
	<211>	23	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列说明： 合成寡核苷酸"	
	<400>	1290	
	aaaaguugca	uggugcuggu guu	23

<210> 1291
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1291
aggugaaaaa guugcauggu guu 23

[0388]

<210> 1292
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列说明：
合成寡核苷酸"

<400> 1292
aggugaaaaa guugcauggu guu 23

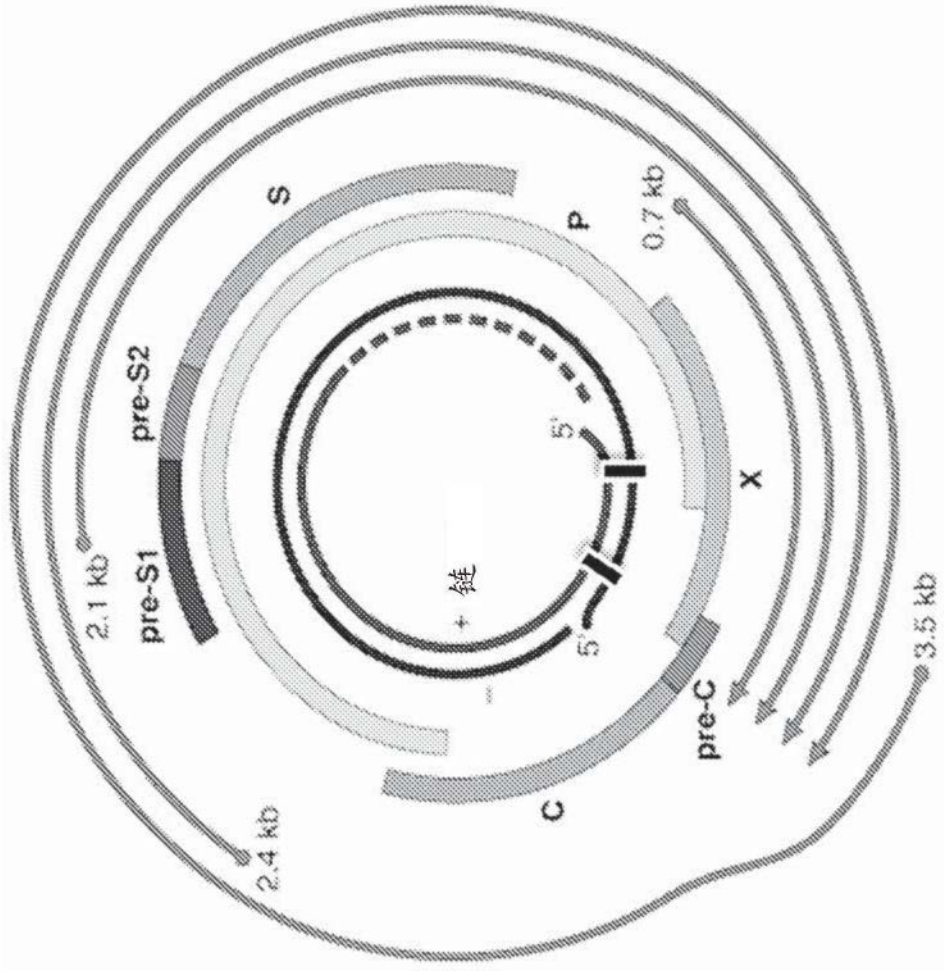


图1

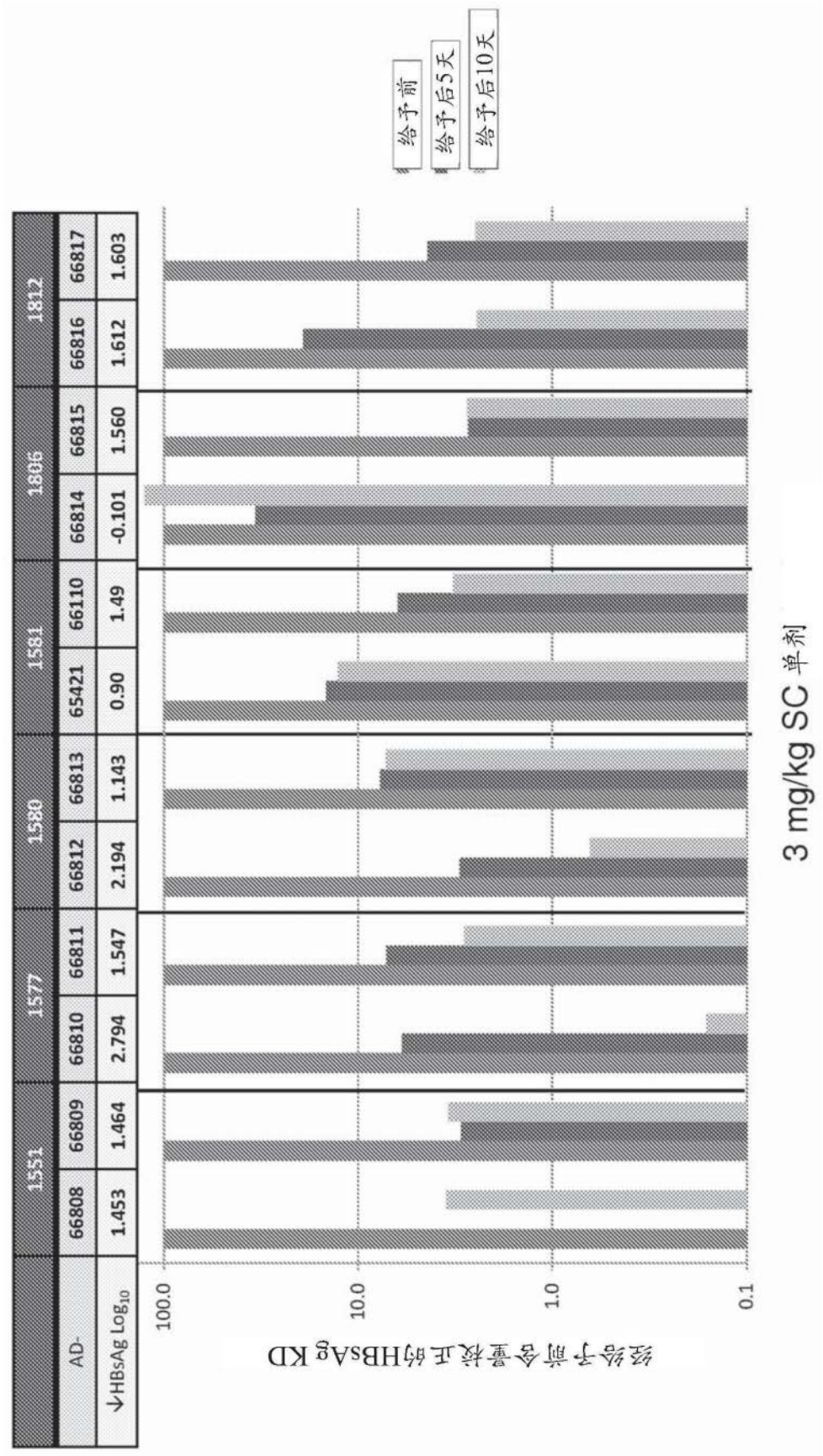


图2

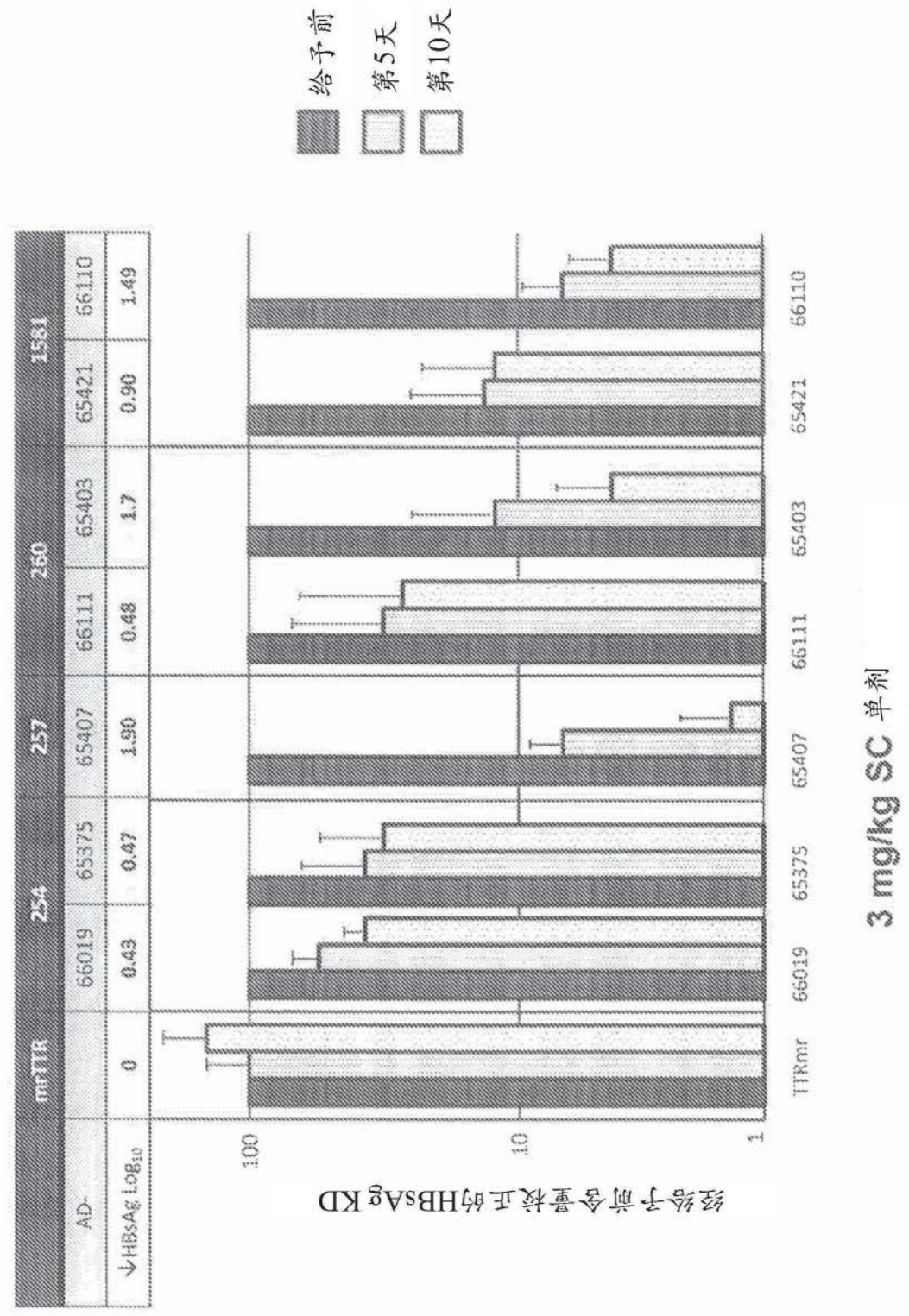


图3

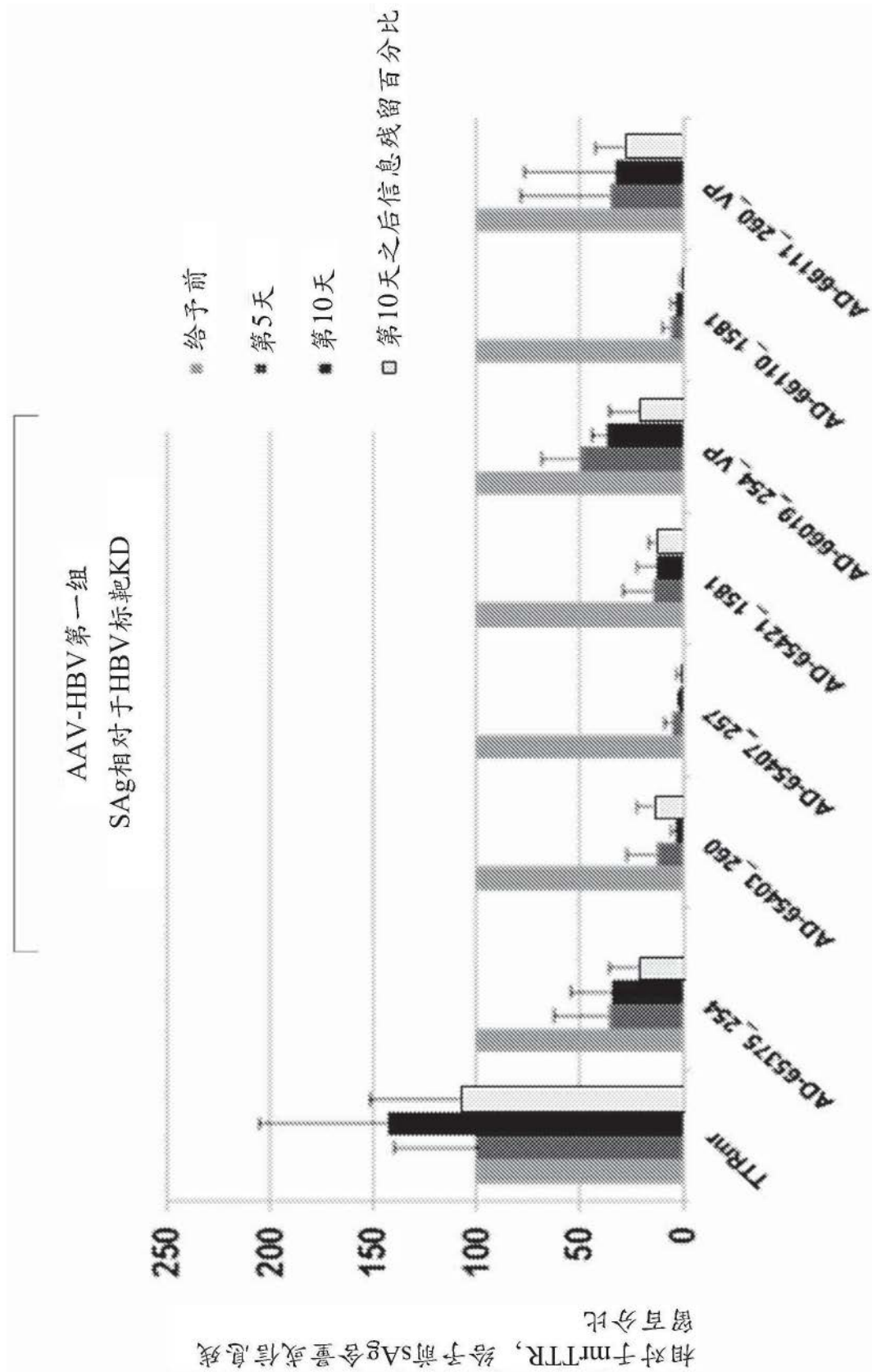


图4

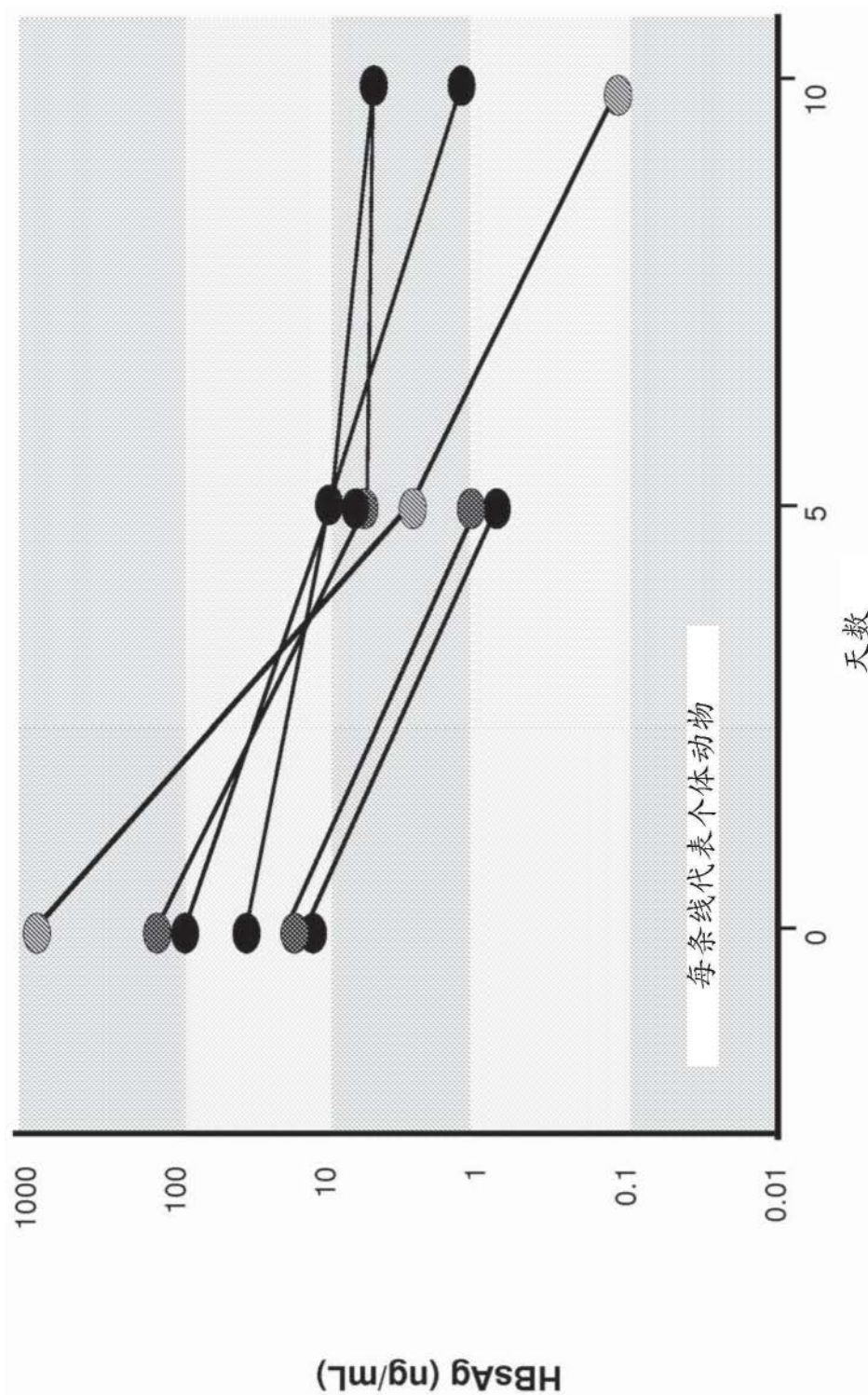


图5

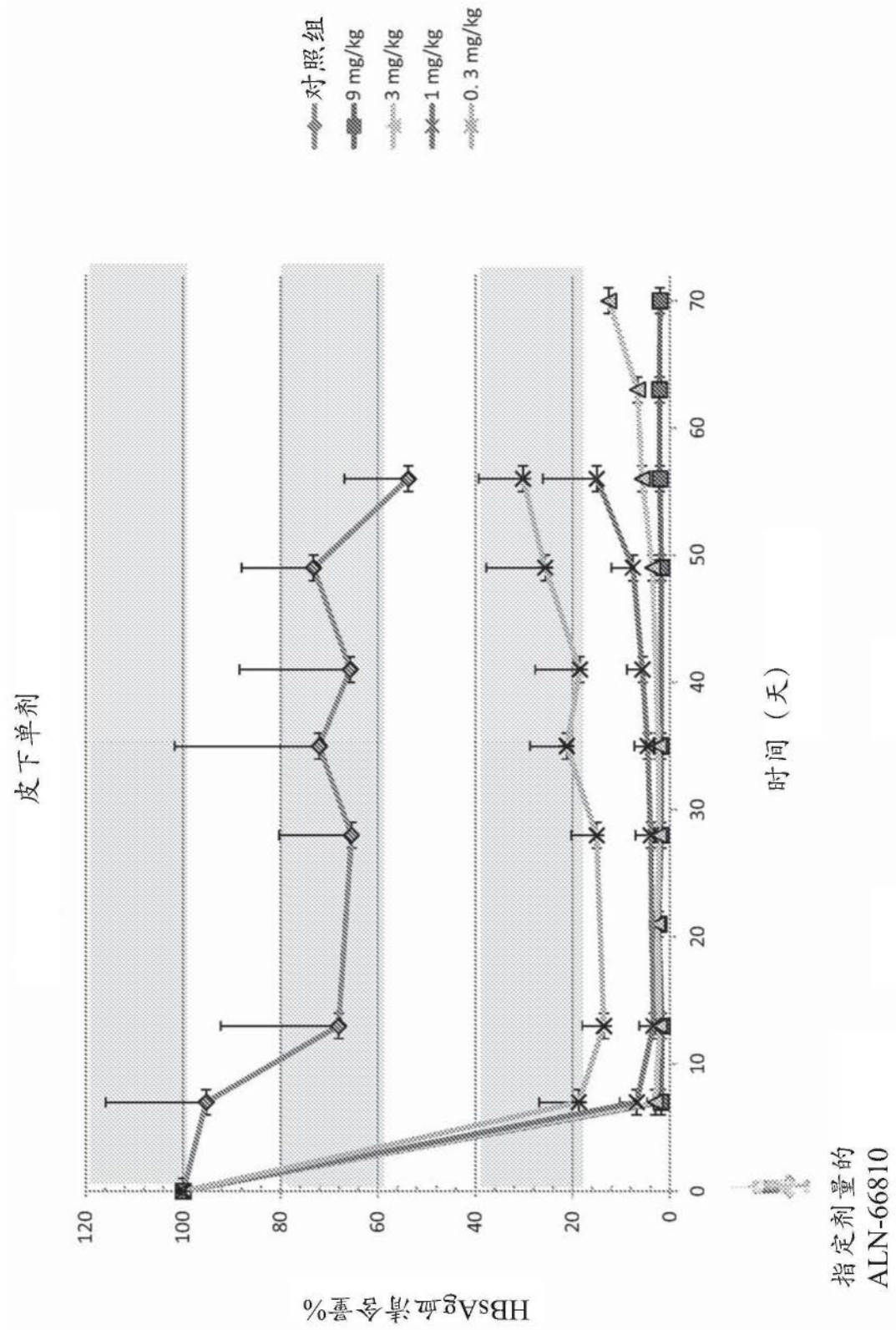


图6A

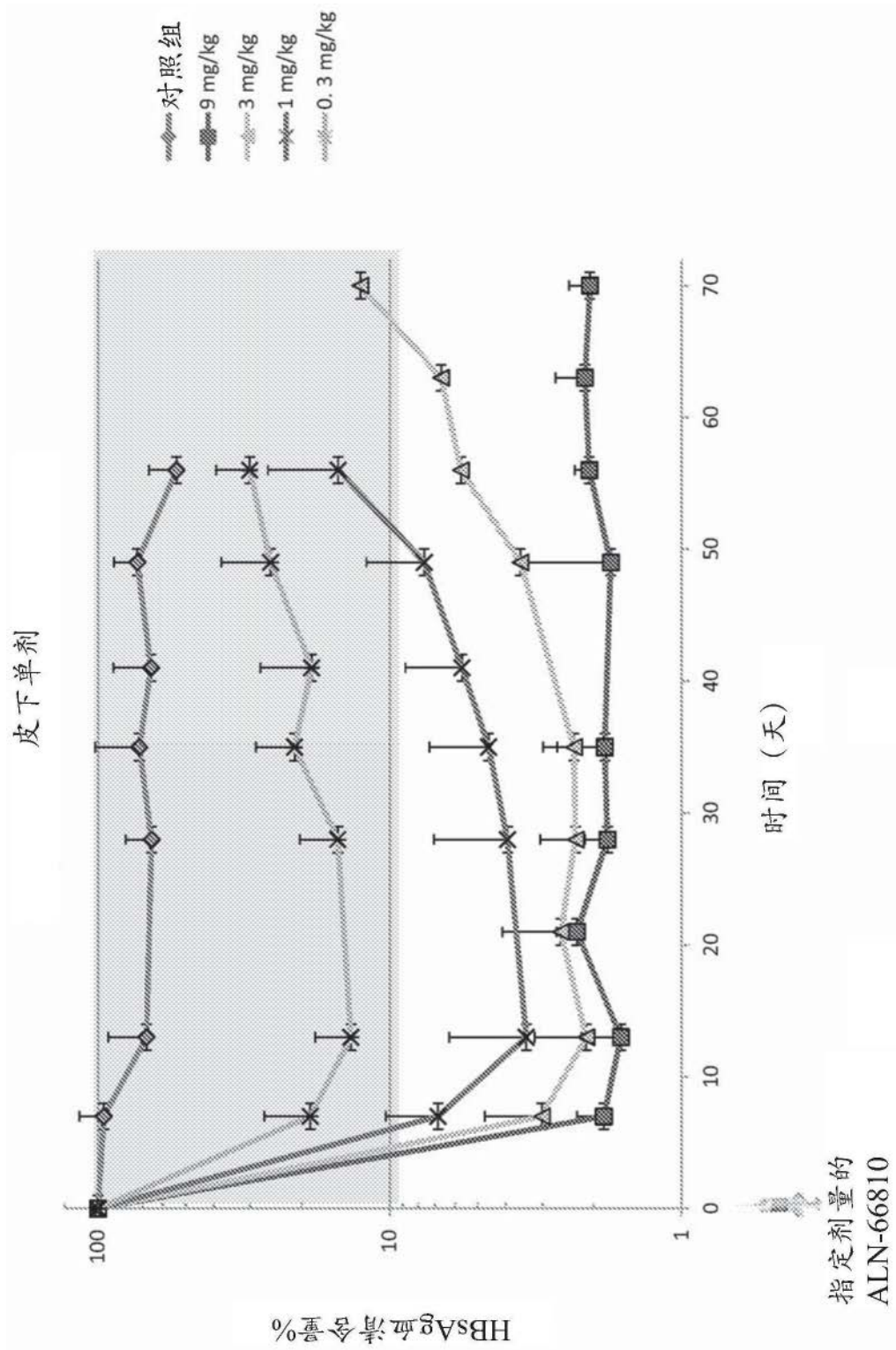


图6B

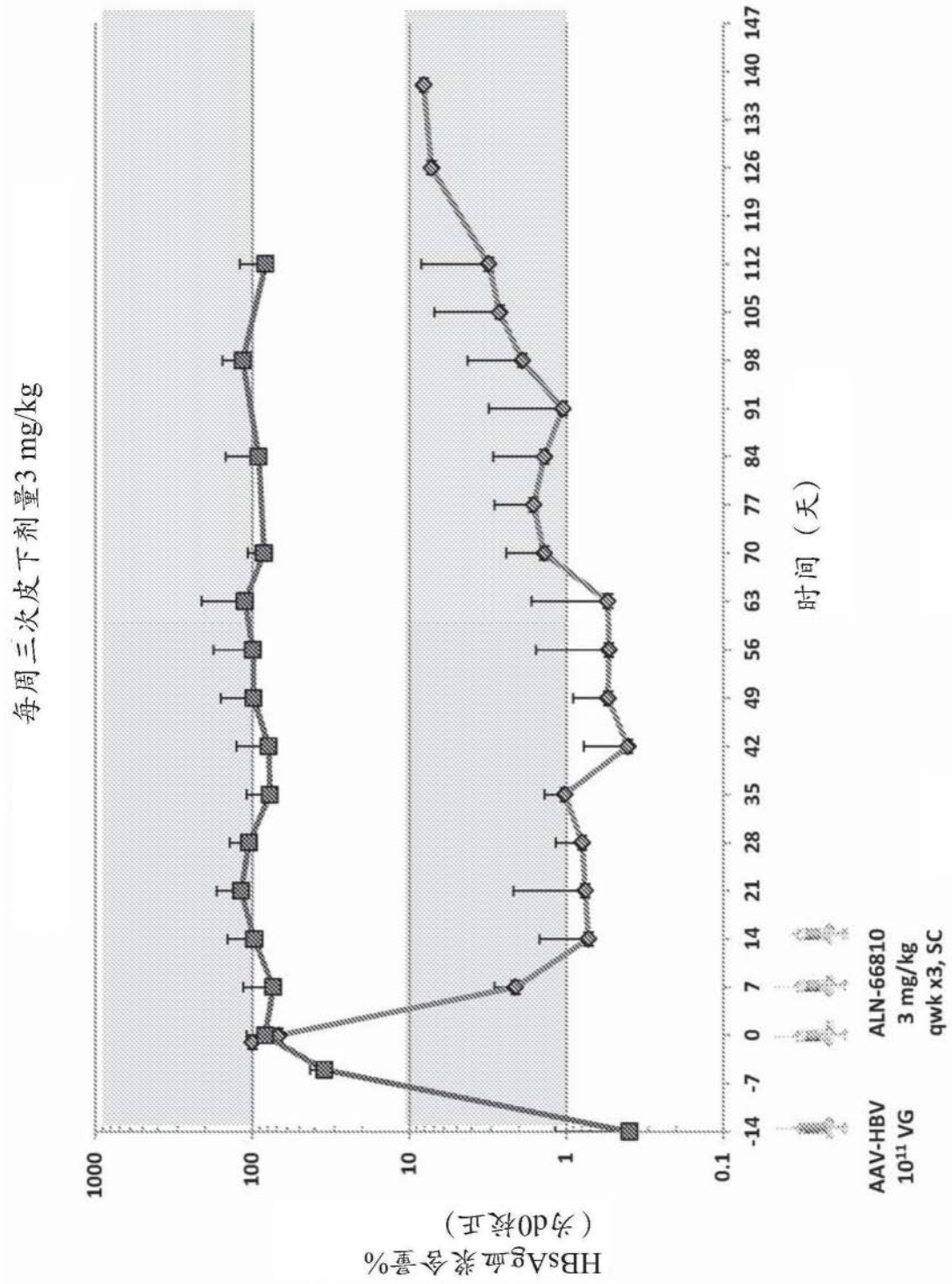


图7