



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117500815 A

(43) 申请公布日 2024. 02. 02

(21) 申请号 202280043046.4

(22) 申请日 2022.06.17

(30) 优先权数据

63/212,454 2021.06.18 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.12.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/033935 2022.06.17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/266414 EN 2022.12.22

(71) 申请人 IONIS制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 F·C·坎曼

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 赵昊 张璐

(51) Int.Cl.

C07H 21/04 (2006.01)

权利要求书15页 说明书51页

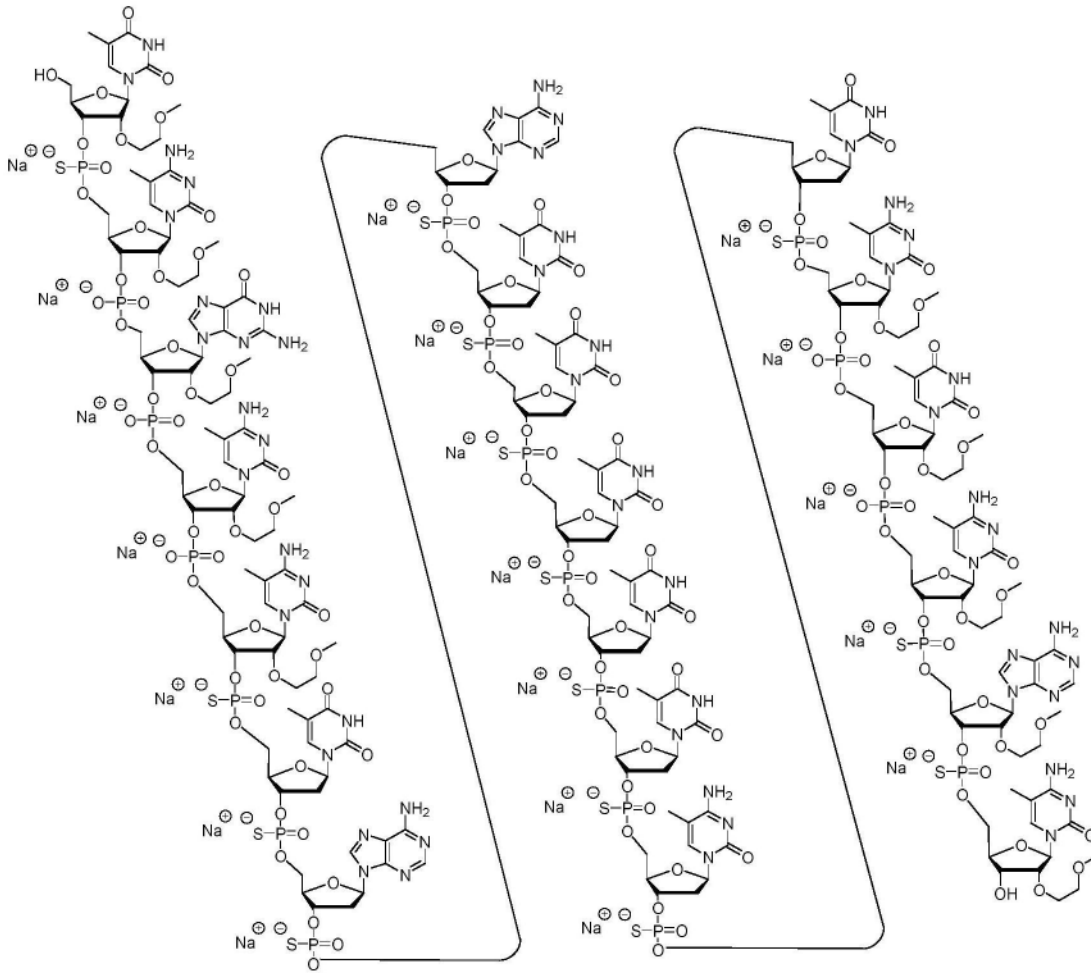
序列表24页

(54) 发明名称

用于降低IFNAR1表达的化合物和方法

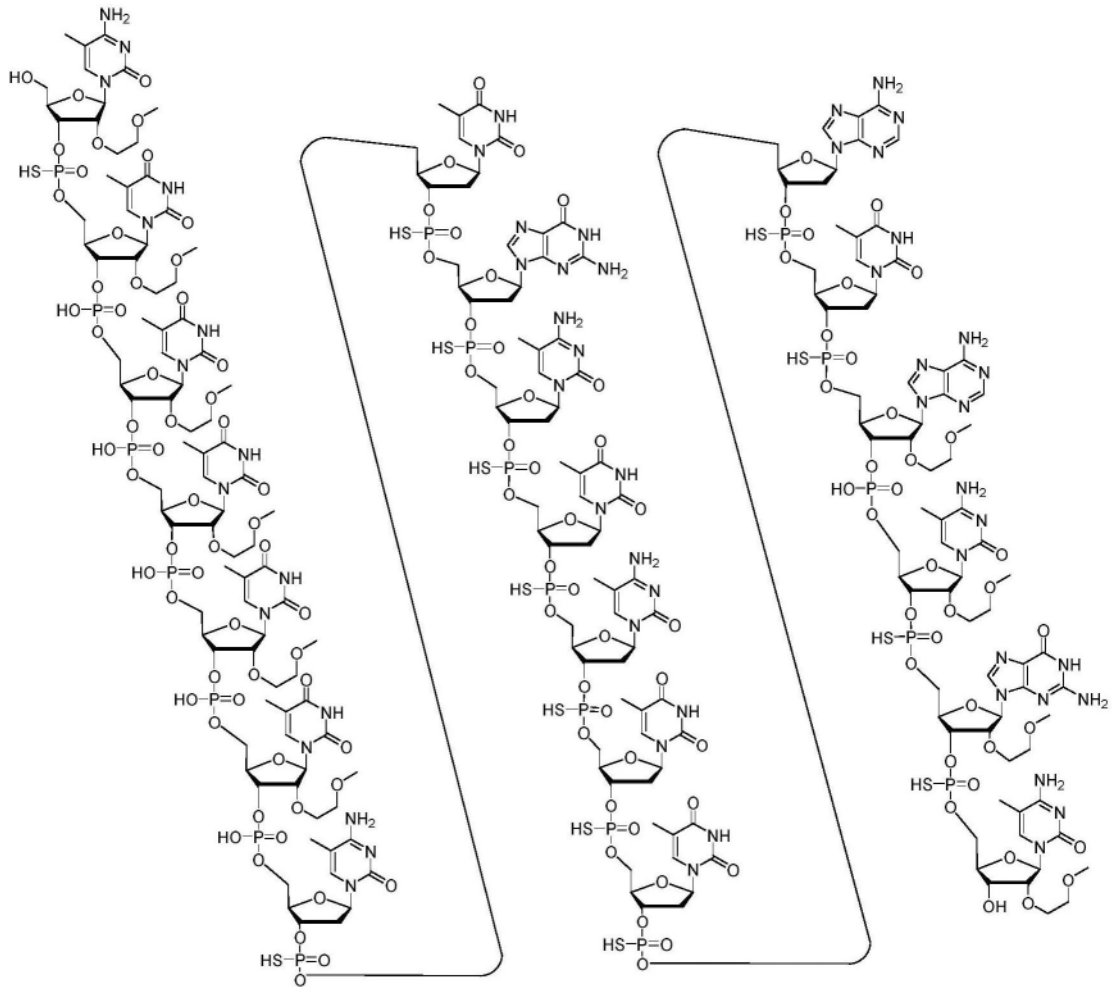
(57) 摘要

提供了用于减少细胞或动物中IFNAR1RNA的量或活性,并且在某些情况下减少细胞或动物中IFNAR1蛋白的量的寡聚化合物、方法和药物组合物。此类寡聚化合物、方法和药物组合物可用于治疗与神经炎症相关的疾病和疾患,包括Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。



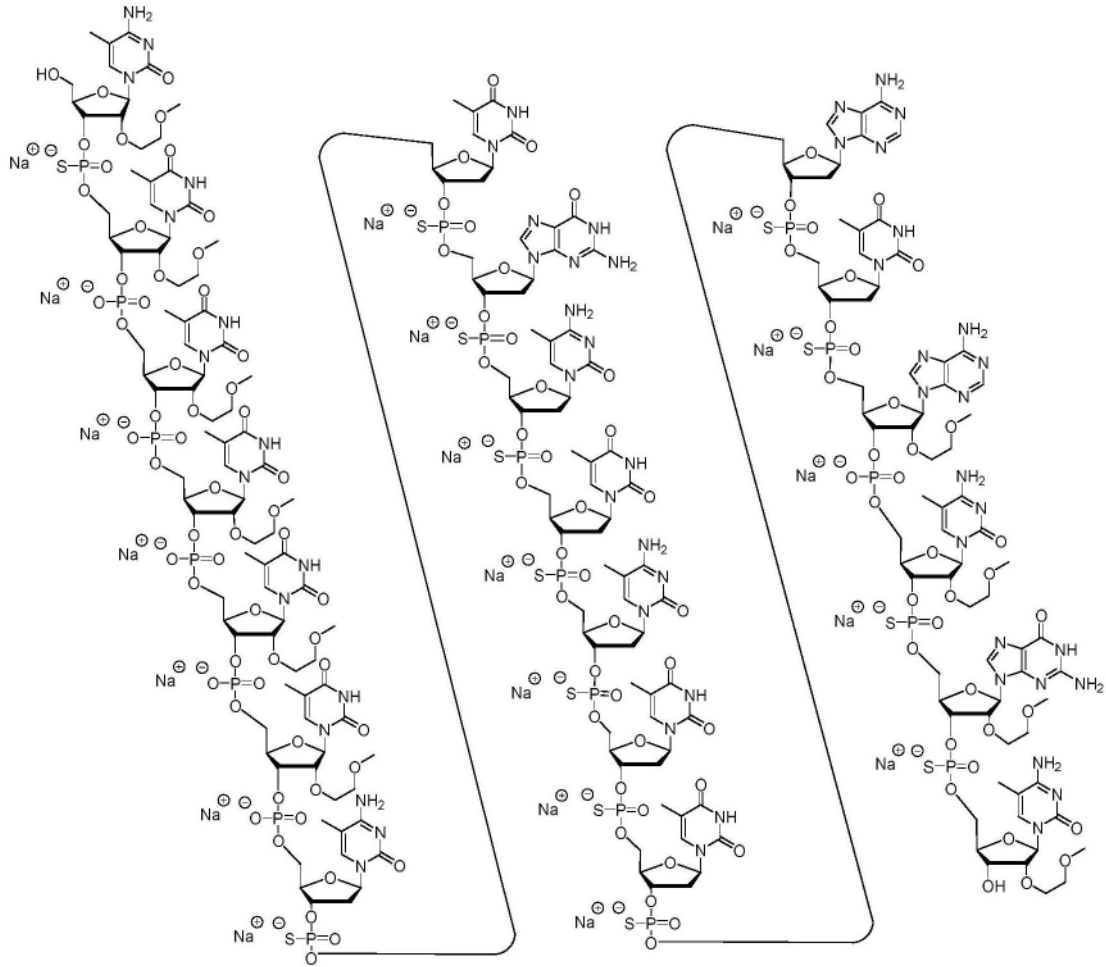
(SEQ ID NO 10).

4. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸：



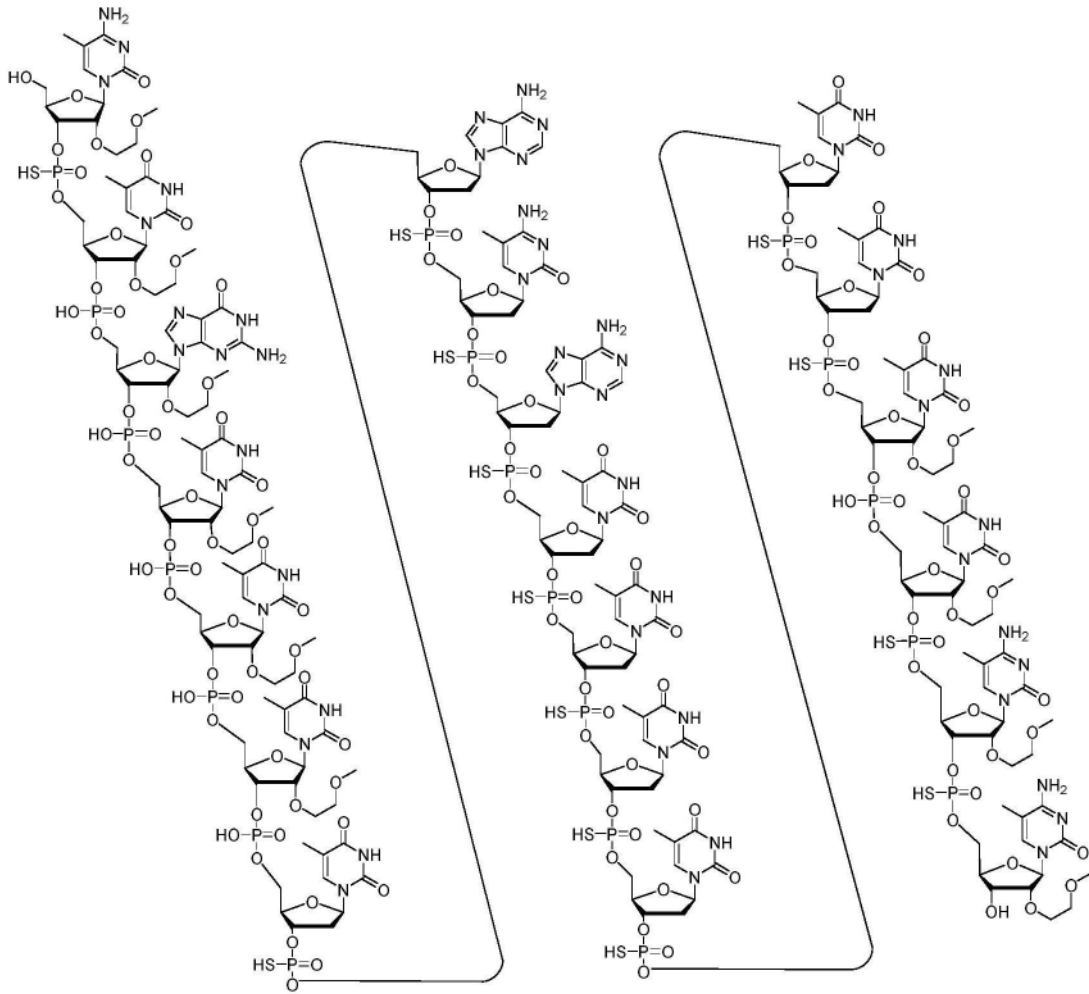
(SEQ ID NO 11),或其盐。

5. 如权利要求4所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。
6. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



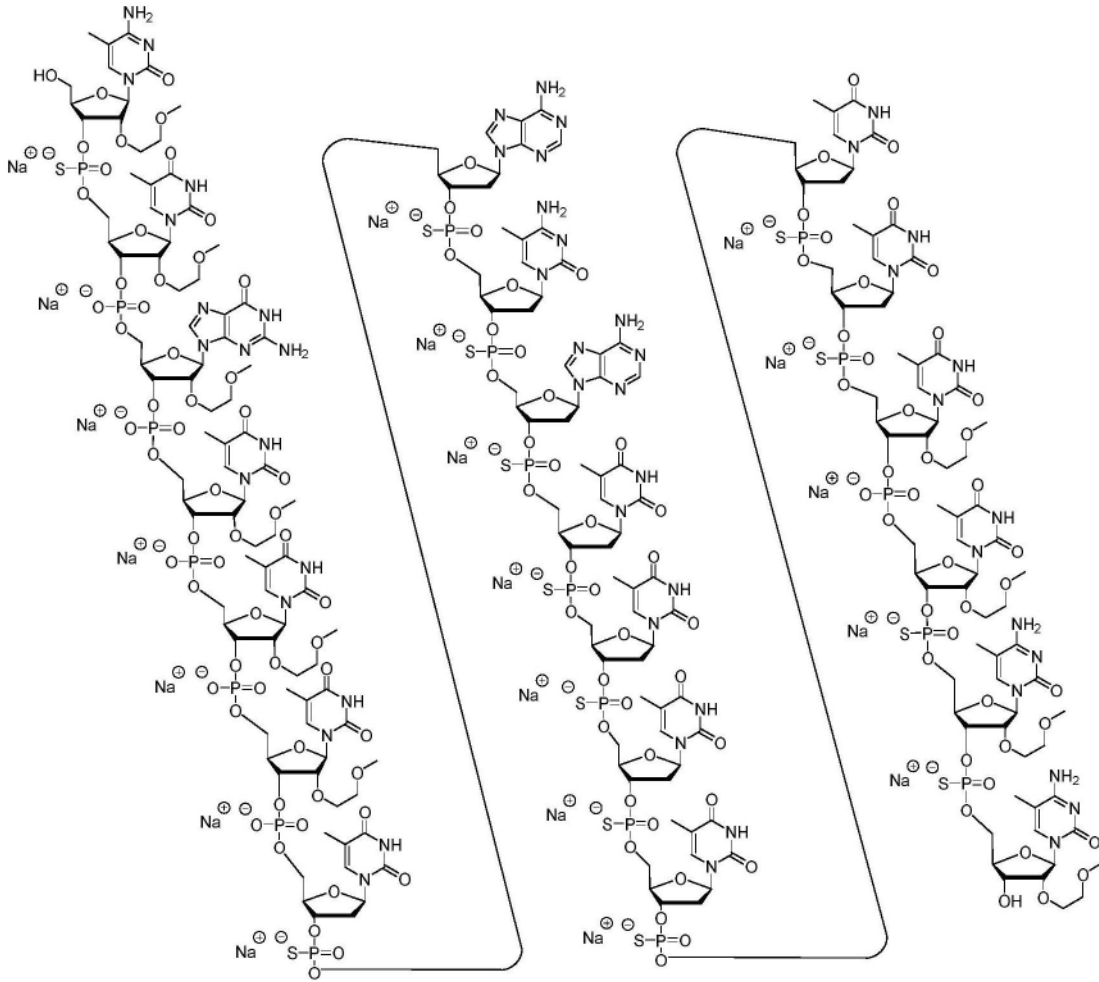
(SEQ ID NO 11).

7. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸：



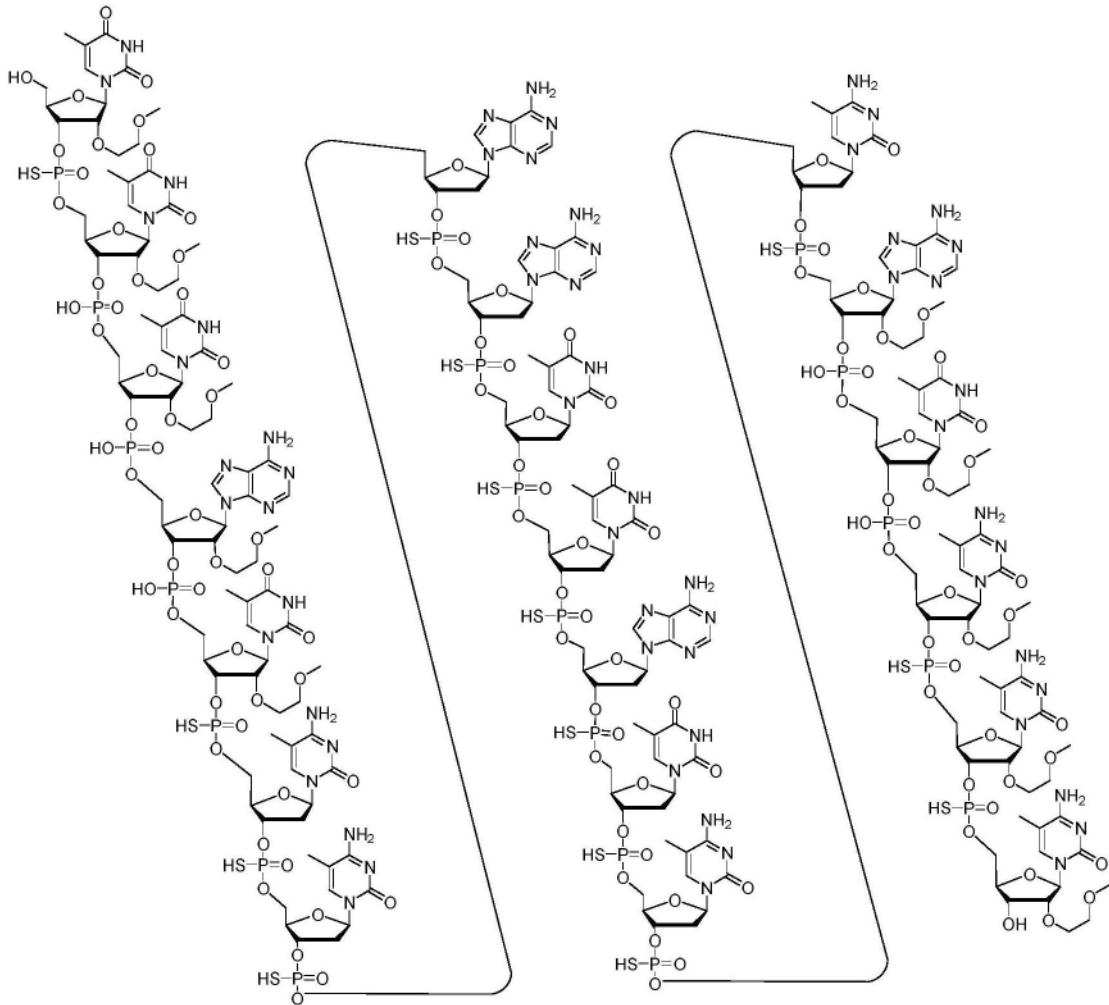
(SEQ ID NO 12),或其盐。

8. 如权利要求7所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。
9. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 12).

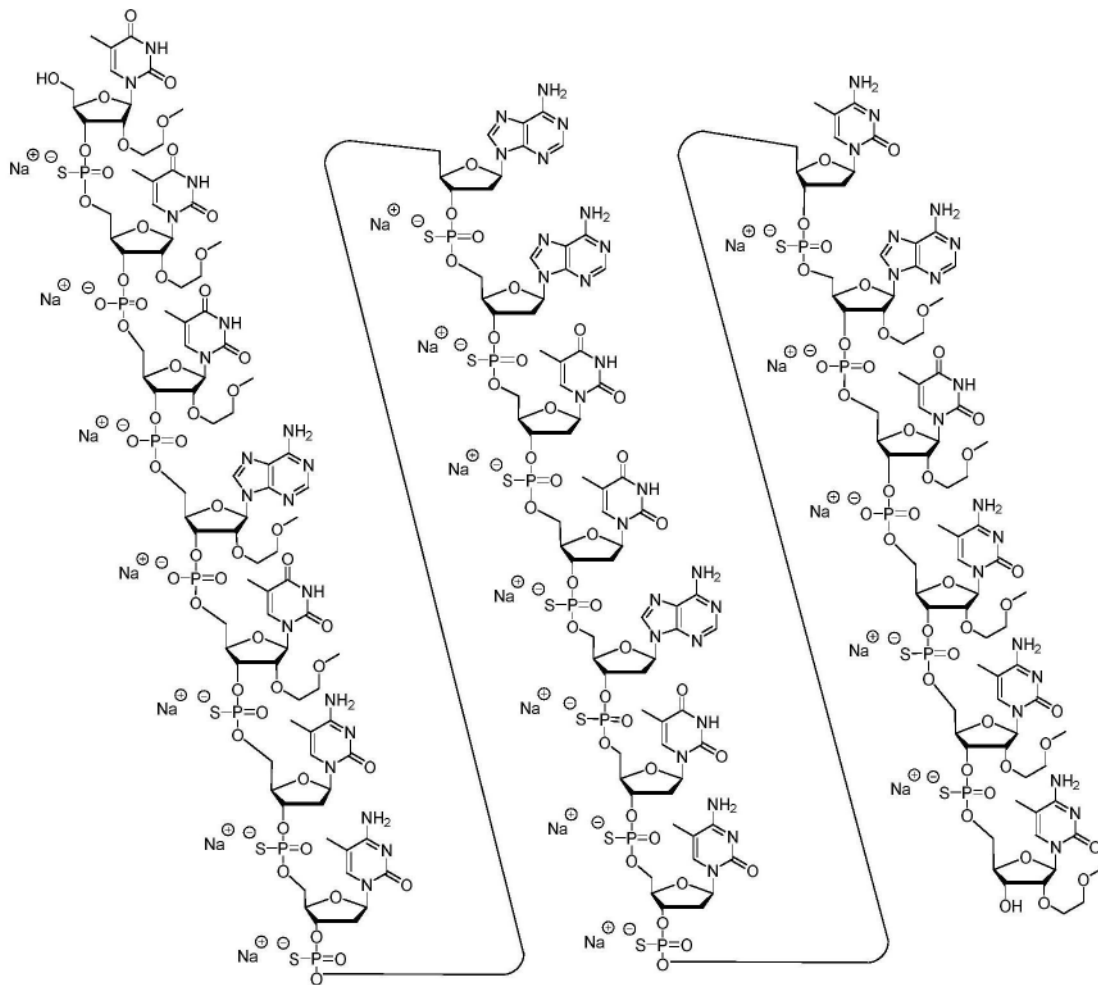
10. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸：



(SEQ ID NO 9),或其盐。

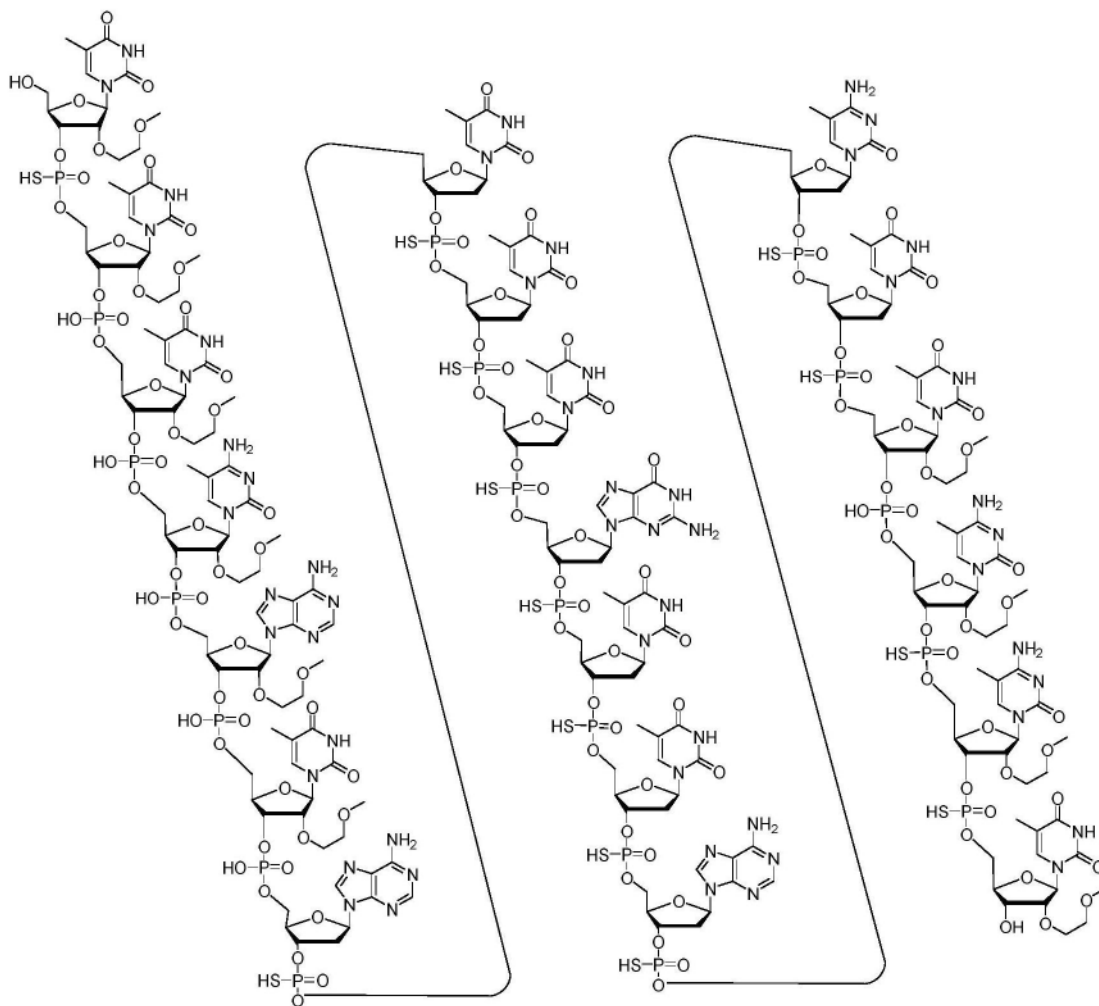
11. 如权利要求10所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

12. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 9).

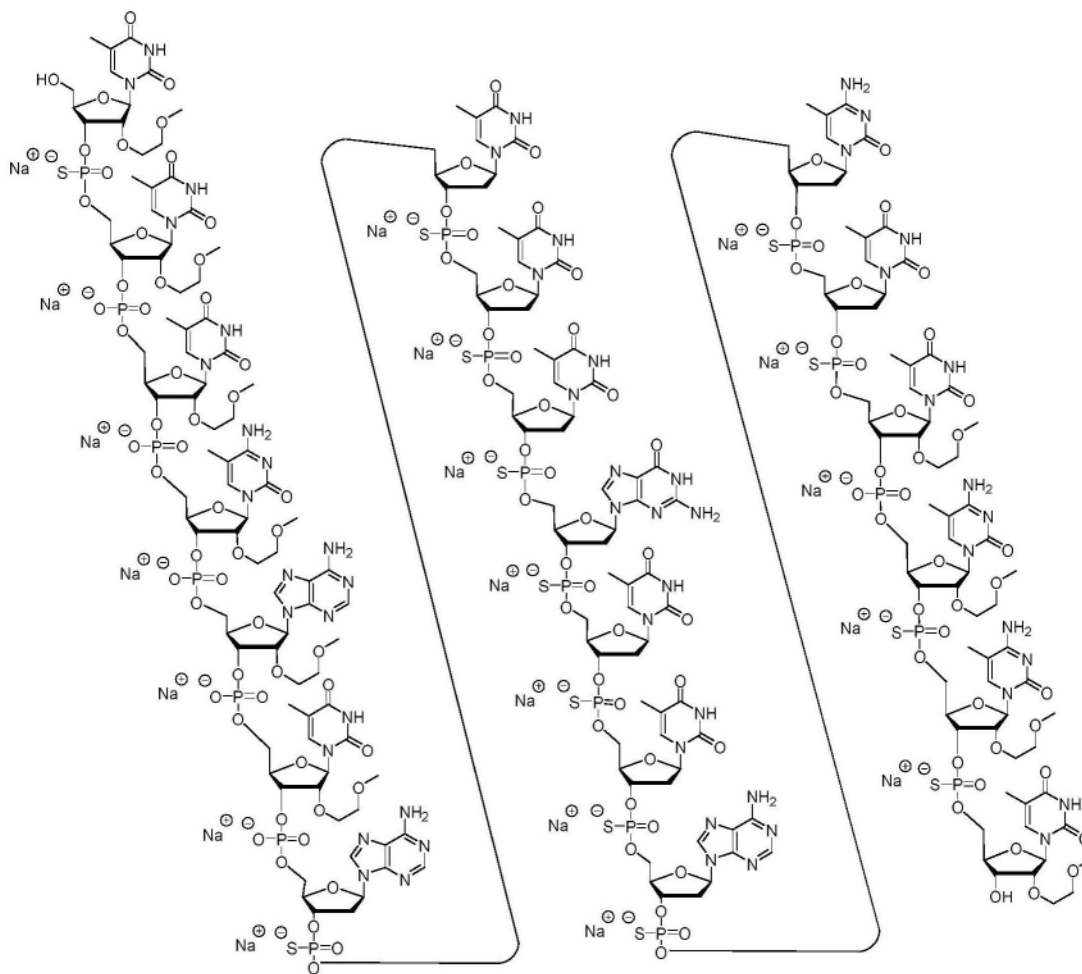
13. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸：



(SEQ ID NO 13),或其盐。

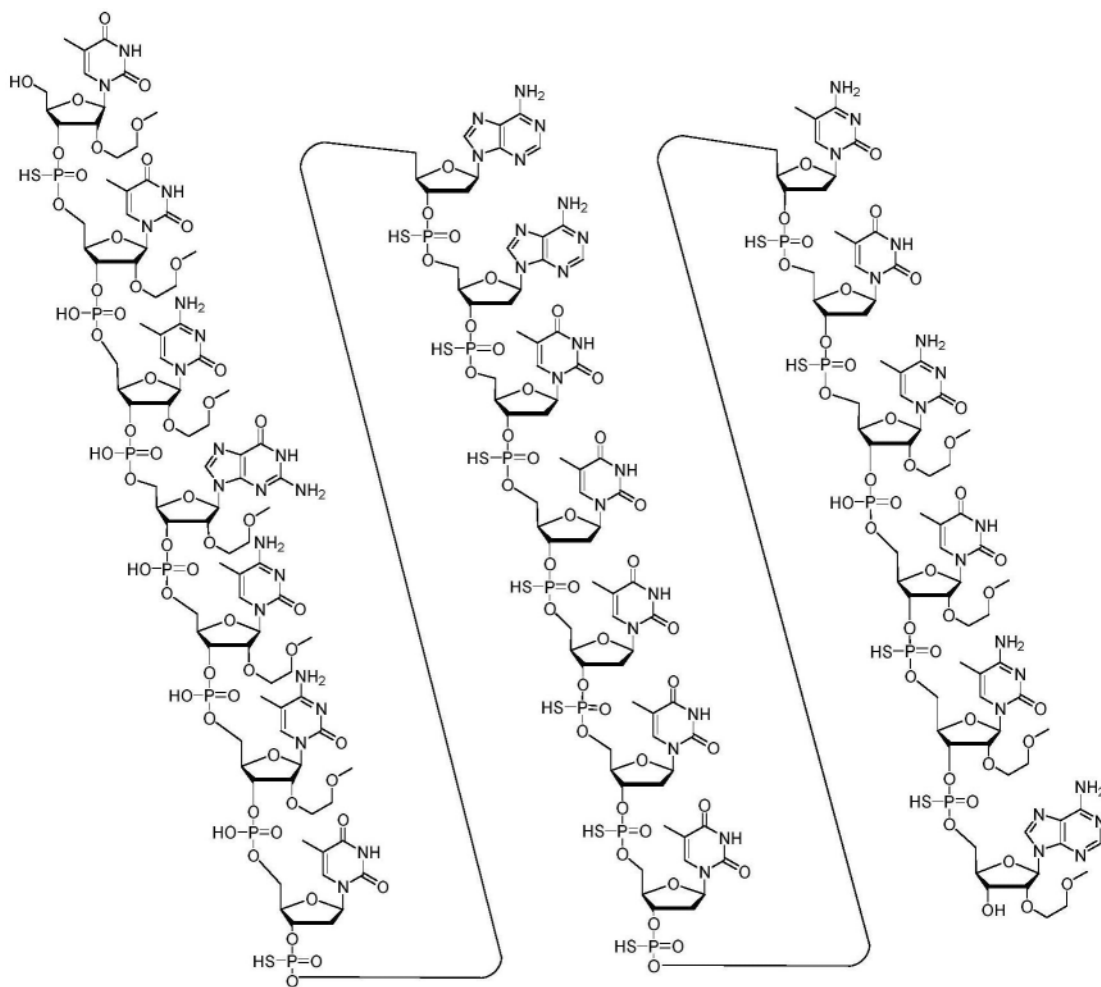
14. 如权利要求13所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

15. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 13).

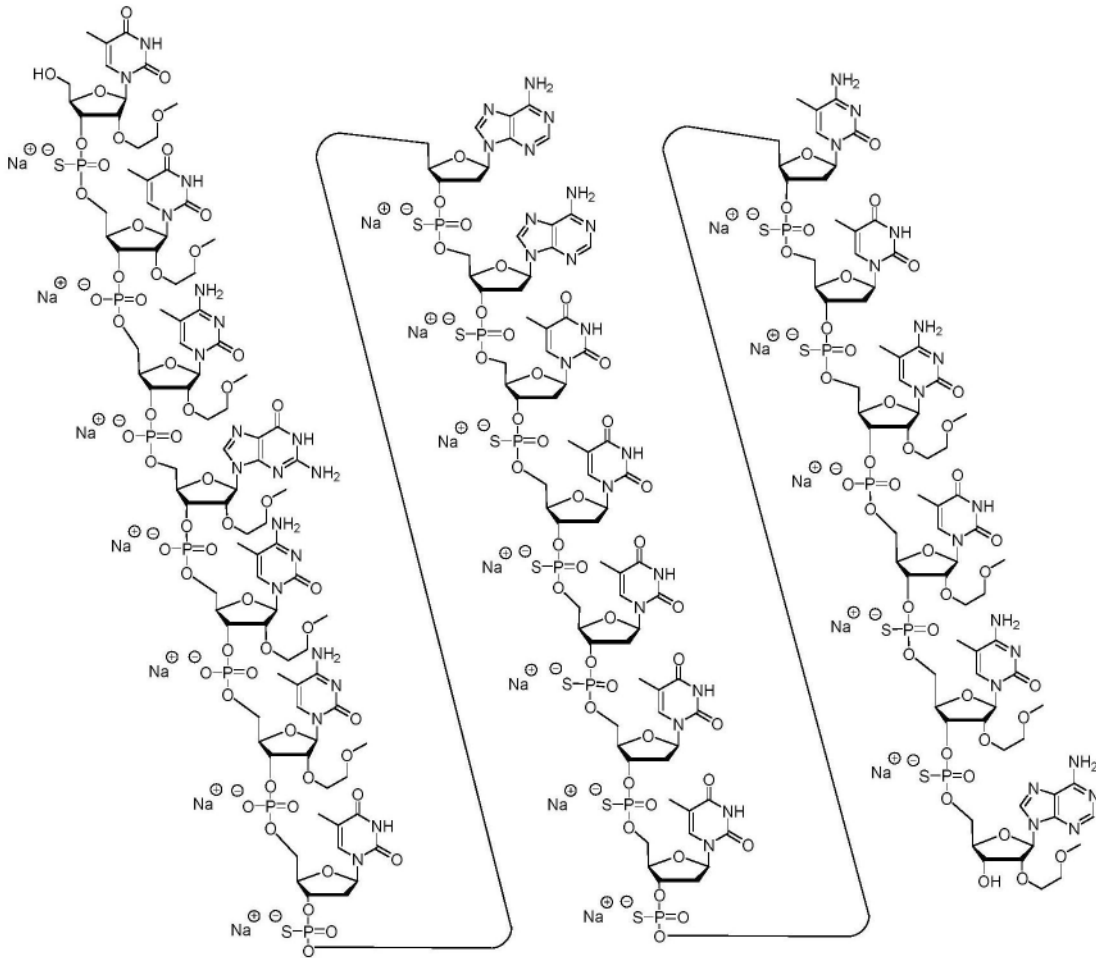
16. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸：



(SEQ ID NO 14),或其盐。

17. 如权利要求16所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

18. 一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 14).

19. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸:



- A=腺嘌呤核碱基,
- ^mC=5-甲基胞嘧啶核碱基,
- G=鸟嘌呤核碱基,
- T=胸腺嘧啶核碱基,
- e=2'-MOE糖部分,
- d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
- s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
- o=磷酸二酯核苷间键联。

20. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸:



- A=腺嘌呤核碱基,
- ^mC=5-甲基胞嘧啶核碱基,
- G=鸟嘌呤核碱基,
- T=胸腺嘧啶核碱基,

e=2'-MOE糖部分,
d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
o=磷酸二酯核苷间键联。

21. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸:

${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{G}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 12), 其中:

A=腺嘌呤核碱基,
 ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,
G=鸟嘌呤核碱基,
T=胸腺嘧啶核碱基,
e=2'-MOE糖部分,
d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
o=磷酸二酯核苷间键联。

22. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: T_{e}

$\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 9), 其中:

A=腺嘌呤核碱基,
 ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,
G=鸟嘌呤核碱基,
T=胸腺嘧啶核碱基,
e=2'-MOE糖部分,
d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
o=磷酸二酯核苷间键联。

23. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: T_{e}

$\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 13), 其中:

A=腺嘌呤核碱基,
 ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,
G=鸟嘌呤核碱基,
T=胸腺嘧啶核碱基,
e=2'-MOE糖部分,
d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
o=磷酸二酯核苷间键联。

24. 一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: T_{e}

$\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}\text{G}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 14), 其中:

A=腺嘌呤核碱基,
 ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,
G=鸟嘌呤核碱基,

T=胸腺嘧啶核碱基,
e=2'-MOE糖部分,
d=2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,
s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
o=磷酸二酯核苷间键联。

25. 如权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸群体或权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物群体,其中所述经修饰的寡核苷酸的所有硫代磷酸酯核苷间键联都是立构无规的。

26. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、或权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体,以及药学上可接受的稀释剂。

27. 如权利要求26所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的稀释剂是人工脑脊髓液或磷酸盐缓冲盐水。

28. 如权利要求27所述的药物组合物,其中所述药物组合物基本上由所述经修饰的寡核苷酸、所述寡聚化合物或所述群体以及人工脑脊髓液或磷酸盐缓冲盐水组成。

29. 一种方法,所述方法包括向受试者施用权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或权利要求26-28中任一项所述的药物组合物。

30. 一种治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的方法,所述方法包括向患有与I型干扰素信号传导相关的疾病的受试者施用治疗有效量的权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或权利要求26-28中任一项所述的药物组合物;从而治疗所述与I型干扰素信号传导相关的疾病。

31. 如权利要求30所述的方法,其中所述与I型干扰素信号传导相关的疾病是Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性疾病、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎或共济失调性毛细血管扩张症。

32. 如权利要求30或权利要求31所述的方法,其中所述疾病与升高的干扰素- α 水平相关。

33. 如权利要求30-32中任一项所述的方法,其中施用所述经修饰的寡核苷酸、所述寡聚化合物、所述经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体或所述药物组合物可减少所述受试者的癫痫发作、肌张力障碍、痉挛、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化或小脑畸形;改善所述受试者的进食、运动发育、语言发育或社交技能发育;或减少所述受试者的脑脊髓液中的干扰素 α 或淋巴细胞增多。

34. 一种降低细胞中IFNAR1表达的方法,所述方法包括使所述细胞与权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或权利要求26-28中任一项所述的药物组合物接触。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述细胞是神经元或神经胶质细胞,任选地其中所

述细胞是星形胶质细胞或小神经胶质细胞。

36. 如权利要求29-33中任一项所述的方法,其中所述受试者是人类。

37. 如权利要求34或权利要求35所述的方法,其中所述细胞是人类细胞。

38. 如权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或权利要求26-28中任一项所述的药物组合物用于治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的用途。

39. 如权利要求1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、权利要求19-24中任一项所述的寡聚化合物、权利要求25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或权利要求26-28中任一项所述的药物组合物在制造用于治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的药物中的用途。

40. 如权利要求38或权利要求39所述的用途,其中所述疾病与升高的干扰素 α 水平相关。

41. 如权利要求38-40中任一项所述的用途,其中所述与I型干扰素信号传导相关的疾病是Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病征、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎或共济失调性毛细血管扩张症。

用于降低IFNAR1表达的化合物和方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请与电子格式的序列表一起提交。所述序列表以命名为BIOL0386WOSEQ_ST25.txt的文件形式提供,所述文件创建于2022年6月13日,大小为64KB。所述序列表的电子格式的信息通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 提供了用于减少细胞或动物中IFNAR1 RNA的量或活性,并且在某些情况下减少细胞或动物中IFNAR1蛋白的量的寡聚化合物、方法和药物组合物。此类寡聚化合物、方法和药物组合物可用于治疗与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,包括Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。

背景技术

[0004] Aicardi-Goutières综合征(AGS)是一种进行性炎症性脑病,伴有多种神经病理学表现,包括癫痫发作、进食困难、肌张力障碍、痉挛、运动发育迟缓、语言发育迟缓和社交技能发育迟缓。AGS患者影像学显示白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底节钙化和小脑畸形;患者的脑脊液中干扰素 α (IFN α)和淋巴细胞增多的水平也升高。AGS与以下十个基因之一的突变相关:TREX1(DNA核酸外切酶)、RNASEH2A、B或C(RNASEH2的亚基)、SAMHD1(dNTP水解酶)、ADAR1(RNA编辑酶)、MDA5(dsRNA传感器)、USP18(I型IFN信号传导的负调节因子)、LSM11和RNU7-1(复制依赖性组蛋白前体mRNA加工复合物的成分)。这些基因中任何一者的突变都会导致抗病毒反应的异常激活和高水平的IFN α (Adang等人,2020,J.Child Neurol.,35,7016;Rodero等人,2016,J.Esp.Med.,213,2527-2538)。

[0005] 干扰素 α 和 β 受体亚基1(IFNAR1)是干扰素 α 受体的两个成分之一,参与I型干扰素信号传导。I型干扰素信号传导在AGS患者中升高,并且被认为是神经病理学的关键介体。I型干扰素信号传导水平升高还与例如以下疾病或疾患相关:与中风、脑损伤、阿尔茨海默病、神经精神系统性红斑狼疮、视神经脊髓炎、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退和共济失调性毛细血管扩张症相关的神经炎症(Wlodarczyk等人,2021,Glia 69,943-953;Santer等人,2009,J.Immunol.182,1192-1201;Zeng等人,2019,Arthritis Res.Ther.21,205.017;Karageorgas等人,2011,J Biomed Biotechnol 2011,273907;Roy等人,2020,J Clin Invest.130,1912-1930;Witcher,2021,J.Neurosci.JN-RM-2469-2420;Blank等人,2016,Immunity 44,901-912;Härtlova等人,2015,Immunity 44,901-912;McDonugh等人,2017,J Neurosci.37,8292-8308)。转基因小鼠中IFN α 的过度表达导致I型干扰素信号传导水平升高,导致神经退行性变化、T细胞浸润、B细胞浸润、小神经胶质细胞活化、反应性星形细胞增多、内皮细胞活化以及丘脑和小脑钙化(Hofer等人,2013,Cytokine&Growth Factor Reviews 24,257-267;Klok等人,2015,

Ann.Clin.Transl.Neurol.,2,774-779)。I型干扰素信号传导诱导数百个基因的表达,包括具有四肽重复序列的干扰素诱导蛋白1 (Ifit1)、具有四肽重复序列的干扰素诱导蛋白3 (Ifit 3) 和干扰素调节因子7 (Irf7) (Li等人,2018,J.Biol.Chem.292,P5845-P5859)。将阿尔茨海默病小鼠模型与IFNAR1敲除小鼠进行杂交,可抑制I型干扰素信号传导,导致神经胶质细胞抗炎反应,并减少神经炎症 (Minter,M.R.等人,2016,Acta Neuropathologica Commun.4:72)。

发明内容

[0006] 本文所述的某些实施方案的寡聚化合物、方法和药物组合物可用于降低或抑制细胞或动物中的IFNAR1表达。在某些实施方案中,可降低细胞或动物中的IFNAR1 RNA或蛋白质水平。在某些实施方案中,受试者患有 **Aicardi-Goutières** 综合征。在某些实施方案中,受试者患有与TREX1、RNASEH2A、RNASEH2B、RNASEH2C、SAMHD1、ADAR1、MDA5、USP18、LSM11或RNU7-1中的突变相关的疾病或病症。

[0007] 还提供了治疗与I型干扰素信号传导升高相关的疾病或病症的方法,在某些实施方案中,所述疾病或病症是AGS、中风、癫痫、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性疾病、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎或共济失调性毛细血管扩张症。

具体实施方式

[0008] 应理解,前述一般说明和以下详细说明都只是示例性和解释性的,而不具有限制性。在本文中,除非另有明确说明,否则单数的使用包括复数。除非另有说明,否则如本文所用,使用“或”意指“和/或”。此外,术语“包括(including)”以及例如“包括(includes和included)”的其他形式的使用不是限制性的。同样,除非另有明确说明,否则例如“要素”或“组分”的术语涵盖构成一个单元的要素和组分以及构成多于一个亚单元的要素和组分。

[0009] 本文所用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为限制所描述的主题。本申请中引用的所有文件或文件部分,包括(但不限于)专利、专利申请、文章、书籍和论文,特此关于本文所论述的文件部分以及全文通过引用明确地并入。

[0010] 定义

[0011] 除非提供具体定义,否则与本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学相关使用的命名法以及它们的程序和技术是本领域中众所周知且常用的那些。在允许的情况下,本公开中通篇提及的所有专利、申请、公开的申请和其他出版物以及其他数据均通过引用整体并入本文。

[0012] 除非另有说明,下列术语具有以下含义:

[0013] 如本文所用,“2'-脱氧核苷”是指包含2'-H(H)脱氧呋喃糖基糖部分的核苷。在某些实施方案中,2'-脱氧核苷是2'-β-D-脱氧核苷并包含2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,其具有如在天然存在的脱氧核糖核酸(DNA)中所发现的β-D核糖基构型。在某些实施方案中,2'-脱氧核苷可包含经修饰的核碱基或者可包含RNA核碱基(尿嘧啶)。

[0014] 如本文所用,“2'-MOE”是指用2'-O(CH₂)₂OCH₃基团代替呋喃糖部分的2'-OH基团。“2'-MOE糖部分”或“2'-O-甲氧基乙基糖部分”是指具有2'-O(CH₂)₂OCH₃基团代替呋喃糖基

糖部分的2'-OH基团的糖部分。除非另有说明,否则2'-MOE糖部分处于 β -D-核糖基构型中。“MOE”是指O-甲氧基乙基。

[0015] 如本文所用,“2'-MOE核苷”是指包含2'-MOE糖部分的核苷。

[0016] 如本文所用,“5-甲基胞嘧啶”是指用连接到5位的甲基修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶是经修饰的核碱基。

[0017] 如本文所用,关于治疗的“改善”是指至少一种症状或标志相对于没有治疗时的相同症状或标志的改进。在某些实施方案中,改善是症状或标志的严重程度或频率的降低或者症状或标志的严重程度或频率的延迟发作或进展减慢。在某些实施方案中,症状或标志是癫痫发作、进食困难、肌张力障碍、痉挛、运动发育迟缓、语言发育迟缓、社交技能发育迟缓、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化和小脑畸形中的一者或多者。在某些实施方案中,标志是受试者脑脊髓液中的IFN α 水平或淋巴细胞增多。

[0018] 如本文所用,“群体”是指具有相同分子式的多个分子。

[0019] 如本文所用,关于群体的“手性富集”是指具有相同分子式的多个分子,其中群体内在特定手性中心处含有特定立体化学构型的分子的数目或百分比大于在所述特定手性中心为如本文所定义的立构无规的情况下群体内在相同特定手性中心处预期含有相同特定立体化学构型的分子的数目或百分比。每个分子内具有多个手性中心的手性富集分子群体可含有一个或多个立构无规手性中心。在某些实施方案中,分子是经修饰的寡核苷酸。在某些实施方案中,分子是包含经修饰的寡核苷酸的寡聚化合物。在某些实施方案中,手性中心位于硫代磷酸酯核苷间键联的磷原子处。在某些实施方案中,手性中心位于甲磺酰氨基磷酸酯核苷间键联的磷原子处。

[0020] 如本文所用,关于核苷间键联的“手性控制”是指在该键联处的手性针对特定立体化学构型而富集。

[0021] 如本文所用,“反义剂”是指反义化合物和任选地一种或多种额外特征,例如有义化合物。虽然没有声明RNA,但我保留它的想法是,如果我们需要依据来区分我们的化合物与siRNA序列。

[0022] 如本文所用,“脑脊髓液”或“CSF”是指填充大脑和脊髓周围空间的液体。“人工脑脊髓液”或“aCSF”是指制备或制造的液体,其具有与脑脊髓液相似的某些特性(例如渗透压、pH值和/或电解质),并且与CSF生物相容。

[0023] 如本文所用,“接合基团”是指直接连接到寡核苷酸的原子团。接合基团包括接合部分和将接合部分连接至寡核苷酸的接合接头。

[0024] 如本文所用,“接合接头”是指单键或包含至少一个将接合部分连接至寡核苷酸的键的原子团。

[0025] 如本文所用,“接合部分”是指与缺乏接合部分的相同分子相比修饰分子的一种或多种特性的共价结合的原子团,包括但不限于药效学、药代动力学、稳定性、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。

[0026] 如本文所用,“脱氧区”是指具有5-12个邻接核苷酸的区域,其中至少70%的核苷包含 β -D-2'-脱氧核糖基糖部分。在某些实施方案中,脱氧区是间隙聚体的间隙。

[0027] 如本文所用,“核苷间键联”是寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键联。如本文所用,“经修饰的核苷间键联”是指除磷酸二酯核苷间键联之外的任何核苷间键联。

[0028] 如本文所用,“连接的核苷”是以邻接序列连接的核苷(即,在连接的核苷之间不存在额外的核苷)。

[0029] 如本文所用,“基序”是指寡核苷酸中未经修饰和/或经修饰的糖部分、核碱基和/或核苷间键联的模式。

[0030] 如本文所用,“经修饰的核苷”是指包含经修饰的核碱基和/或经修饰的糖部分的核苷。

[0031] 如本文所用,“非双环的经修饰糖部分”是指包含修饰(例如取代基)的经修饰的糖部分,其在糖的两个原子之间不会形成桥以致形成第二个环。

[0032] 如本文所用,“核碱基”是指未经修饰的核碱基或经修饰的核碱基。核碱基是杂环部分。如本文所用,“未经修饰的核碱基”是腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、尿嘧啶(U)或鸟嘌呤(G)。如本文所用,“经修饰的核碱基”是除未经修饰的A、T、C、U或G之外的能够与至少一个其他核碱基配对的原子团。“5-甲基胞嘧啶”是经修饰的核碱基。通用碱基是一种经修饰的核碱基,其可与五种未经修饰的核碱基中的任一者配对。

[0033] 如本文所用,“核碱基序列”是指独立于任何糖或核苷间键联修饰的核酸或寡核苷酸中邻接核碱基的顺序。

[0034] 如本文所用,“核苷”是指包含核碱基和糖部分的化合物或化合物的片段。核碱基和糖部分各自独立地未经修饰或经修饰。

[0035] 如本文所用,“寡聚化合物”是指寡核苷酸和任选地一个或多个额外特征,例如接合基团或末端基团。寡聚化合物可与同第一寡聚化合物互补的第二寡聚化合物配对或可未配对。“单链寡聚化合物”是未配对的寡聚化合物。

[0036] 如本文所用,“寡核苷酸”是指经由核苷间键联连接的连接核苷链,其中每个核苷和核苷间键联可以是经修饰的或未经修饰的。除非另有说明,否则寡核苷酸由8-50个连接的核苷组成。如本文所用,“经修饰的寡核苷酸”是指其中至少一个核苷或核苷间键联被修饰的寡核苷酸。如本文所用,“未经修饰的寡核苷酸”是指不包含任何核苷修饰或核苷间修饰的寡核苷酸。

[0037] 如本文所用,“寡核苷酸”是指经由核苷间键联连接的连接核苷链,其中每个核苷和核苷间键联可以是经修饰的或未经修饰的。除非另有说明,否则寡核苷酸由8-50个连接的核苷组成。如本文所用,“经修饰的寡核苷酸”是指其中至少一个核苷或核苷间键联经修饰的寡核苷酸。如本文所用,“未经修饰的寡核苷酸”是指不包含任何核苷修饰或核苷间修饰的寡核苷酸。

[0038] 如本文所用,“药学上可接受的载体或稀释剂”是指适用于施用给动物的任何物质。某些此类载体使得药物组合物能够被配制为例如片剂、丸剂、糖衣药丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆剂、混悬剂和糖锭以供受试者口服摄取。在某些实施方案中,药学上可接受的载体或稀释剂是无菌水、无菌盐水、无菌缓冲溶液或无菌人工脑脊髓液。

[0039] 如本文所用,“药学上可接受的盐”是指化合物的生理学上和药学上可接受的盐。药学上可接受的盐保留了母体化合物所需的生物活性,并且不会对其产生不需要的毒理学作用。

[0040] 如本文所用,“药物组合物”是指适合施用于受试者的物质的混合物。例如,药物组合物可包含寡聚化合物和无菌水溶液。在某些实施方案中,药物组合物在某些细胞系的自

由摄取测定中显示出活性。

[0041] 如本文所用,在具有相同分子式的分子群体的上下文中的“立构无规”或“立构无规手性中心”是指对于特定的绝对立体化学构型在合成期间不受控制或在合成后富集的手性中心。当手性中心的立体化学构型不是为控制立体化学构型而设计的合成方法的结果时,它是无规的。例如,在包含立构无规手性中心的分子群体中,具有立构无规手性中心的(S)构型的分子的数量可以但不一定与具有立构无规手性中心的(R)构型的分子的数量相同。在某些实施方案中,立构无规手性中心不是外消旋的,因为一种绝对构型在合成后占主导地位,例如,由于非手性试剂在邻近糖部分的富集立体化学附近的作用。在某些实施方案中,立构无规手性中心位于立构无规硫代磷酸酯或甲磺酰氨基磷酸酯核苷间键联的磷原子上。

[0042] 如本文所用,“糖部分”是指未经修饰的糖部分或经修饰的糖部分。如本文所用,“未经修饰的糖部分”是指如在RNA中发现的2'-OH(H)核糖基部分(“未经修饰的RNA糖部分”),或如在DNA中发现的2'-H(H)脱氧核糖基糖部分(“未经修饰的DNA糖部分”)。未经修饰的糖部分在1'、3'和4'位置各有一个氢,在3'位置有一个氧,并且在5'位置有两个氢。如本文所用,“经修饰的糖部分”或“经修饰的糖”是指经修饰的呋喃糖部分或糖替代物。

[0043] 如本文所用,“症状或标志”是指表明疾病或病症的存在或程度的任何身体特征或测试结果。在某些实施方案中,症状对受试者或对检查或测试所述受试者的医疗专业人员来说是显而易见的。在某些实施方案中,标志在侵入性诊断测试时是明显的,包括但不限于验尸测试。在某些实施方案中,标志在大脑MRI扫描中是明显的。

[0044] 如本文所用,“靶核酸”和“靶RNA”是指寡聚化合物被设计以影响的核酸。除非另有说明,否则靶RNA是指RNA转录物并且包括前体mRNA和mRNA。

[0045] 如本文所用,“靶区”是指寡聚化合物经设计以与其杂交的靶核酸的一部分。

[0046] 如本文所用,“末端基团”是指共价连接至寡核苷酸末端的化学基团或原子团。

[0047] 如本文所用,“反义活性”是指可归因于反义化合物与其靶核酸的杂交的任何可检测和/或可测量的变化。在某些实施方案中,反义活性是靶核酸或由此种靶核酸编码的蛋白质的量或表达与在不存在反义化合物情形下的靶核酸水平或靶蛋白水平相比降低。

[0048] 如本文所用,“间隙聚体”是指包含位于具有一个或多个核苷的外部区域之间的内部区域的经修饰的寡核苷酸,其中构成内部区域的核苷在化学上不同于构成外部区域的一个或多个核苷,并且其中经修饰的寡核苷酸支持RNase H切割。内部区域可被称为“间隙”并且外部区域可被称为“翼”。在某些实施方案中,内部区域是脱氧区。内部区域或间隙的位置是指内部区域的核苷的顺序并且从内部区域的5'端开始计数。除非另有说明,否则“间隙聚体”是指糖基序。在某些实施方案中,间隙的每个核苷是2'- β -D-脱氧核苷。如本文所用,术语“MOE间隙聚体”表示具有包含2'- β -D-脱氧核苷的间隙和包含2'-MOE核苷的翼的间隙聚体。除非另有说明,否则间隙聚体可包含一个或多个经修饰的核苷间键联和/或经修饰的核碱基,并且此类修饰不一定遵循糖修饰的间隙聚体模式。

[0049] 如本文所用,“杂交”是指寡核苷酸和/或核酸的粘接。虽然不限于特定机制,但最常见的杂交机制涉及互补核碱基之间的氢键结,其可为沃森-克里克(Watson-Crick)、胡斯坦(Hoogsteen)或反向胡斯坦氢键结。在某些实施方案中,互补核酸分子包括但不限于反义化合物和核酸靶标。在某些实施方案中,互补核酸分子包括但不限于寡核苷酸和核酸靶标。

[0050] 如本文所用,“RNAi剂”是指至少部分地通过RISC或Ago2来调节靶核酸和/或由靶核酸编码的蛋白质的反义剂。RNAi剂包括但不限于双链siRNA、单链RNAi(ssRNAi)和microRNA,包括microRNA模拟物。RNAi剂可包含接合基团和/或末端基团。在某些实施方案中, RNAi剂调节靶核酸的量和/或活性。术语RNAi剂不包括通过RNase H起作用的反义剂。

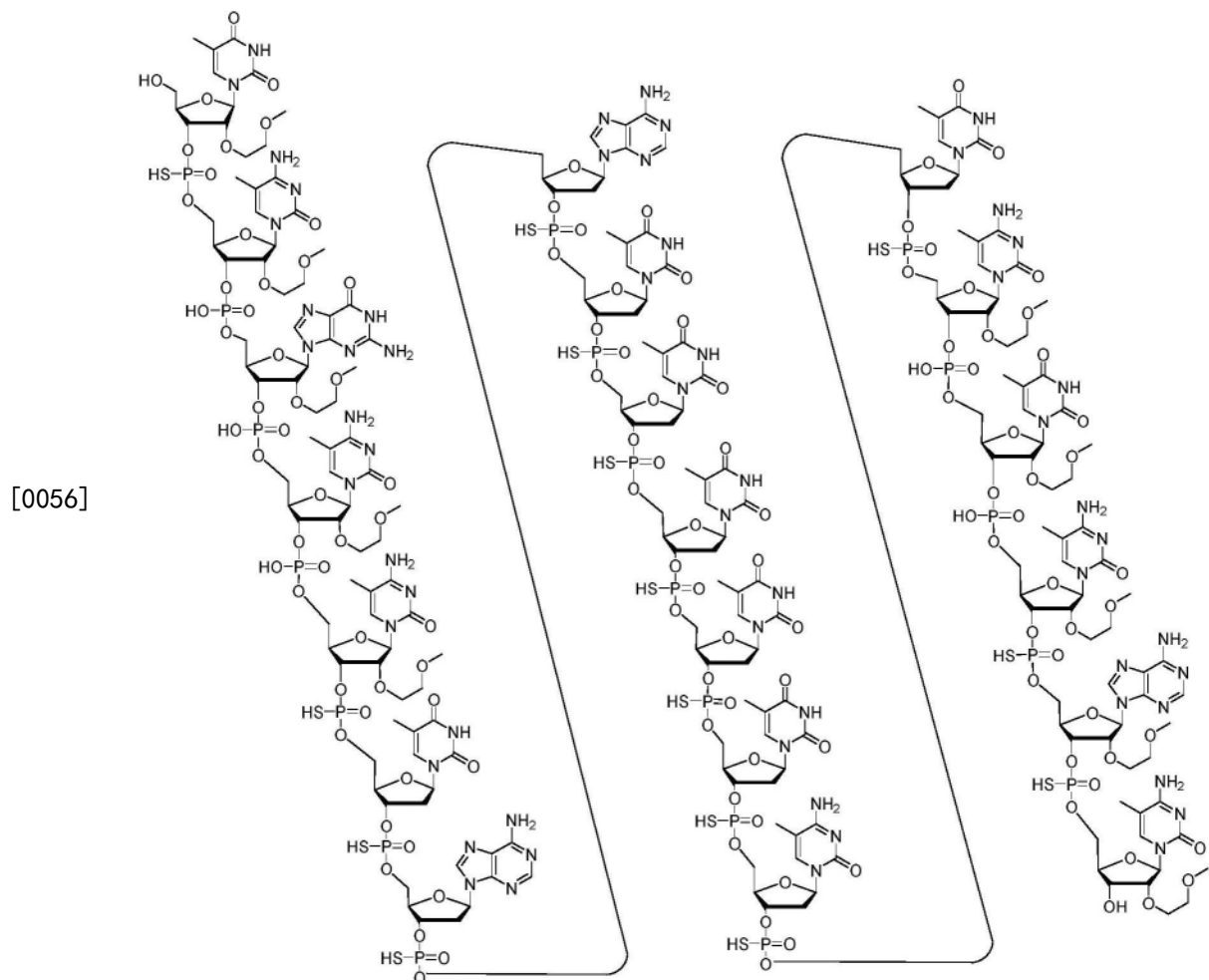
[0051] 如本文所用,“RNase H剂”是指通过RNase H起作用以调节靶核酸和/或由靶核酸编码的蛋白质的反义剂。在某些实施方案中, RNase H剂是单链的。在某些实施方案中, RNase H剂是双链的。RNase H化合物可包含接合基团和/或末端基团。在某些实施方案中, RNase H剂调节靶核酸的量和/或活性。术语RNase H剂不包括主要通过RISC/Ago2起作用的反义剂。

[0052] 如本文所用,“治疗”是指通过施用本文所述的寡聚化合物来改善受试者的疾病或疾患。在某些实施方案中,治疗受试者相对于没有治疗时的相同症状改善了症状。在某些实施方案中,治疗降低症状的严重程度或频率,或延迟症状的发作,减缓症状的进展,或减慢症状的严重程度或频率。

[0053] 如本文所用,“治疗有效量”是指为动物提供治疗益处的医药剂或组合物的量。例如,治疗有效量改善疾病的症状。

[0054] 某些实施方案

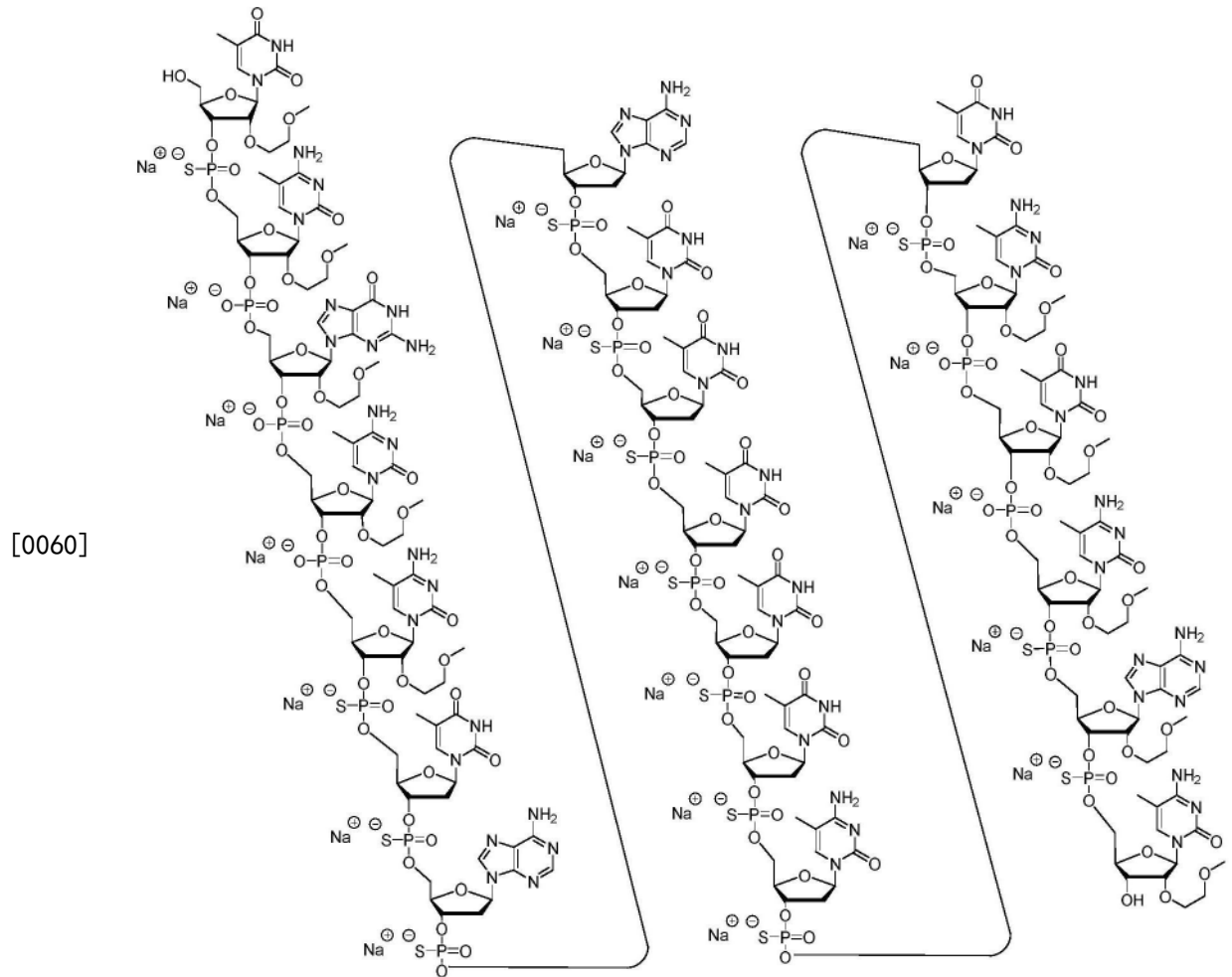
[0055] 实施方案1.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



[0057] (SEQ ID NO 10),或其盐。

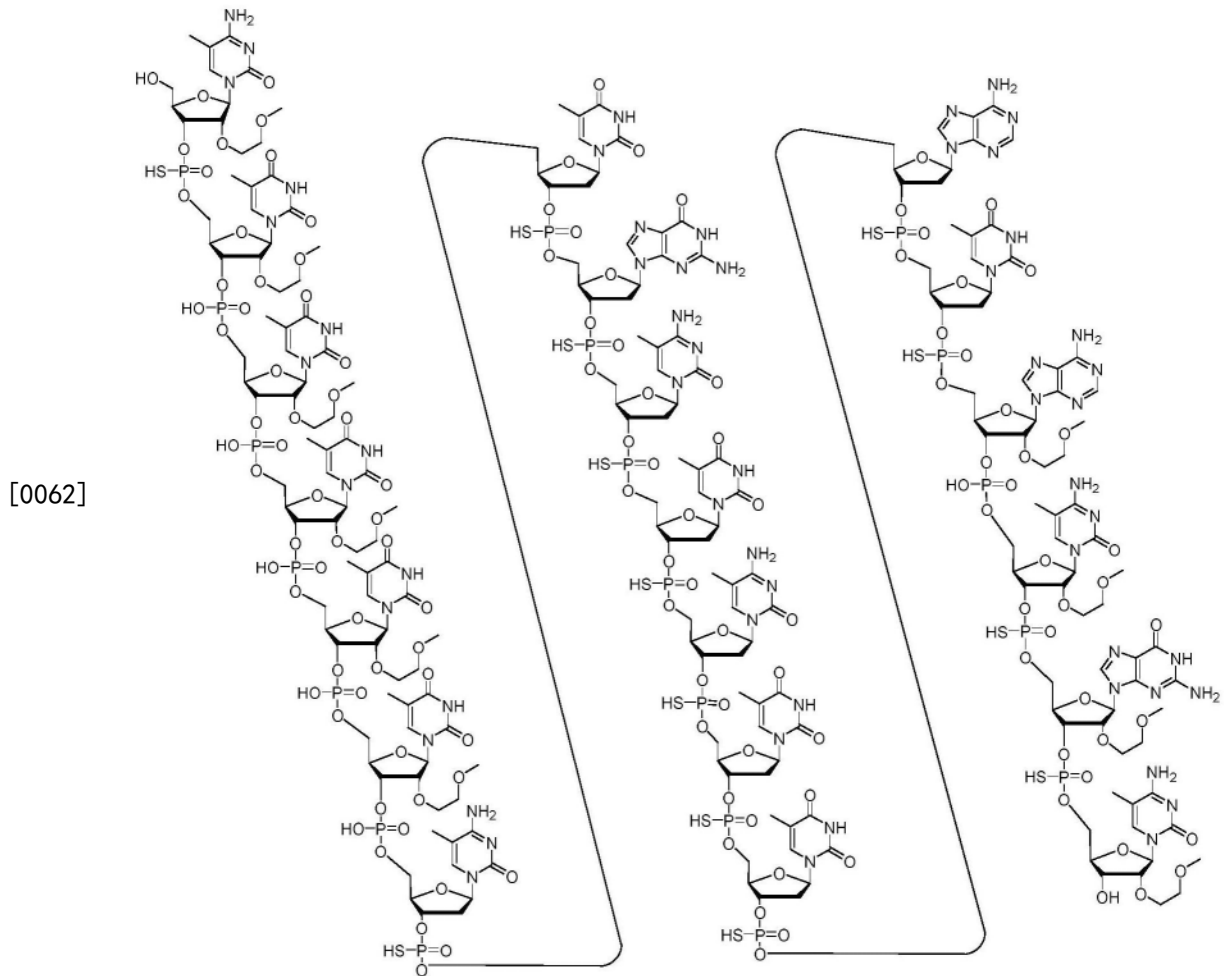
[0058] 实施方案2.如实施方案1所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

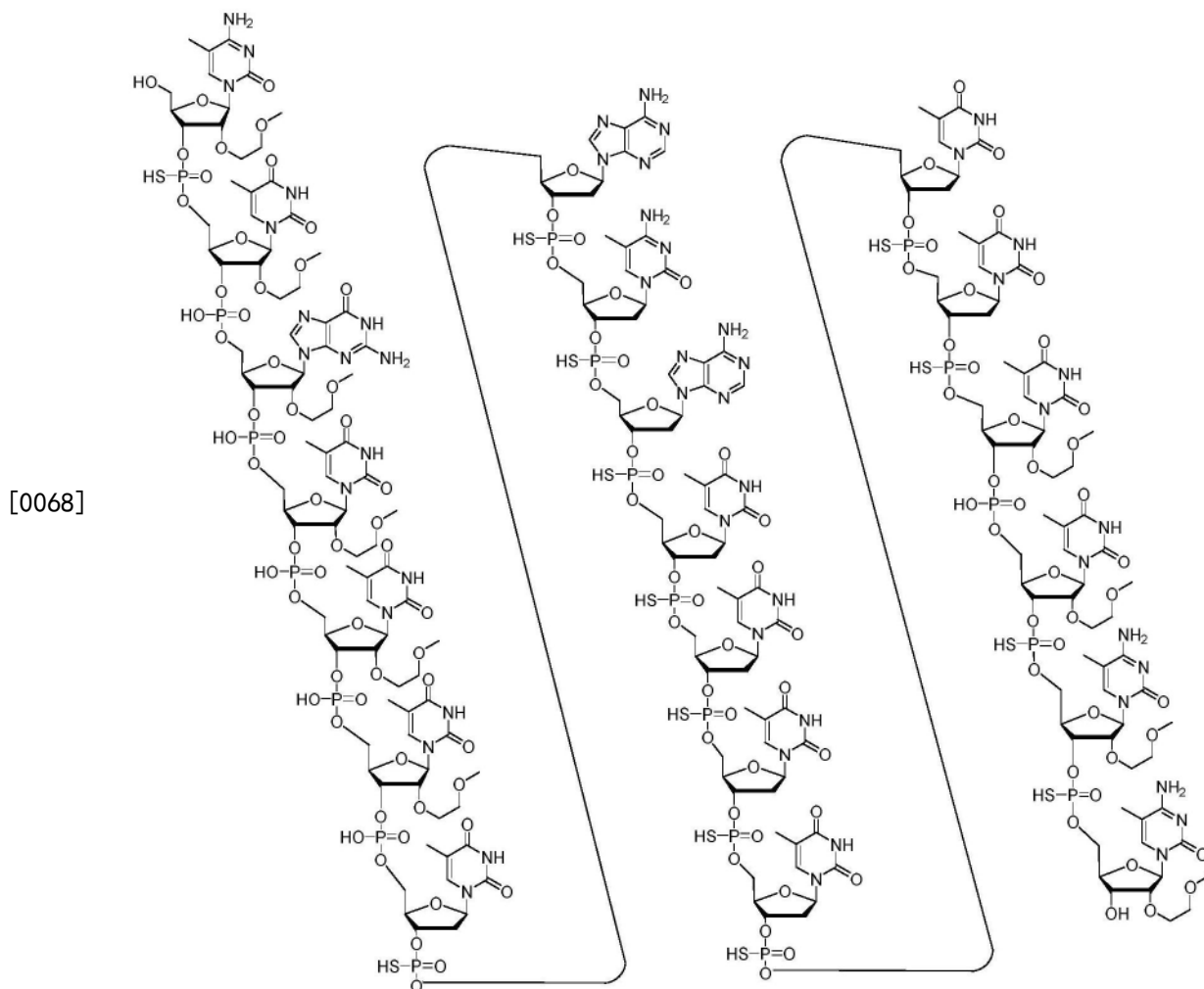
[0059] 实施方案3.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 10).

[0061] 实施方案4.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:

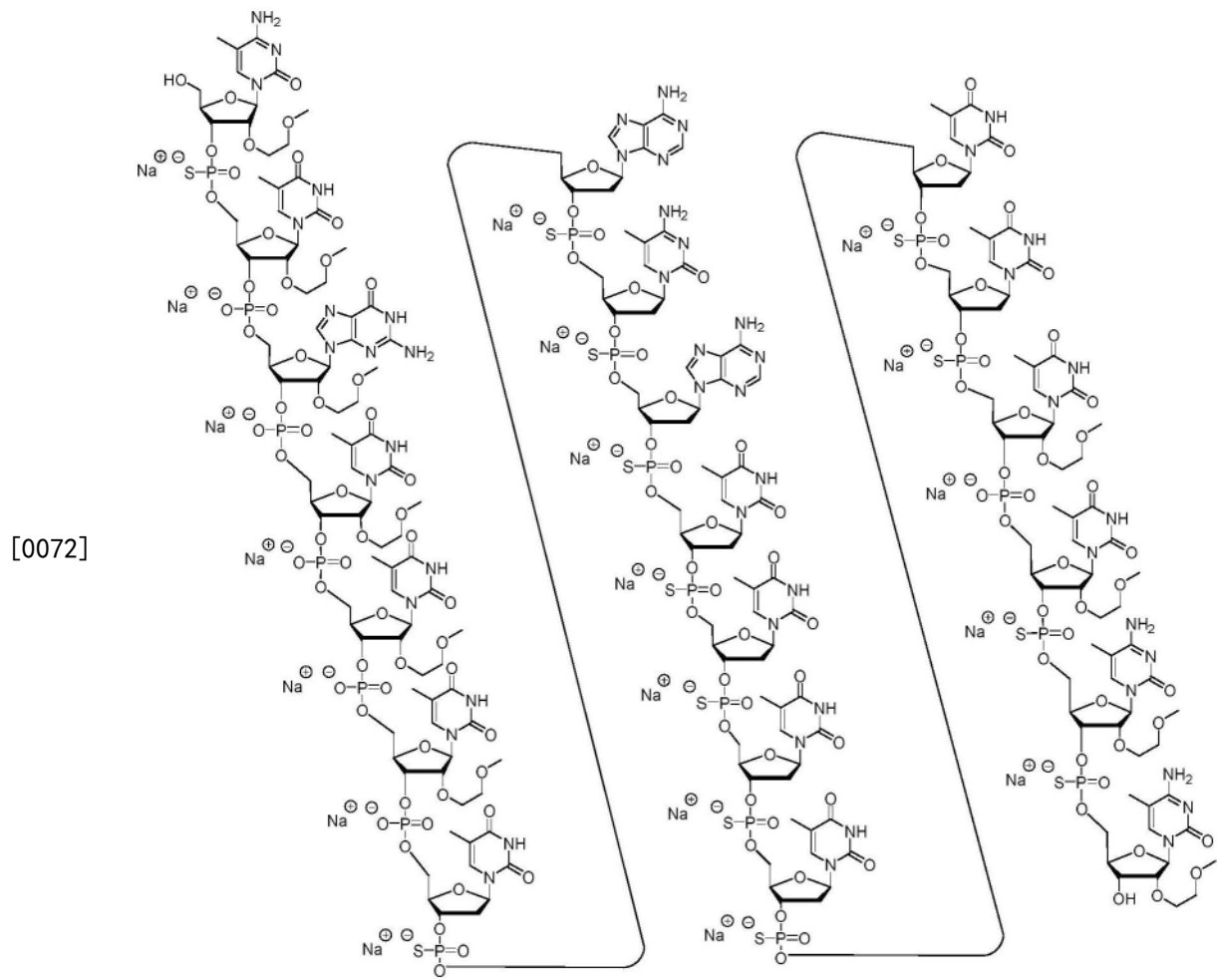




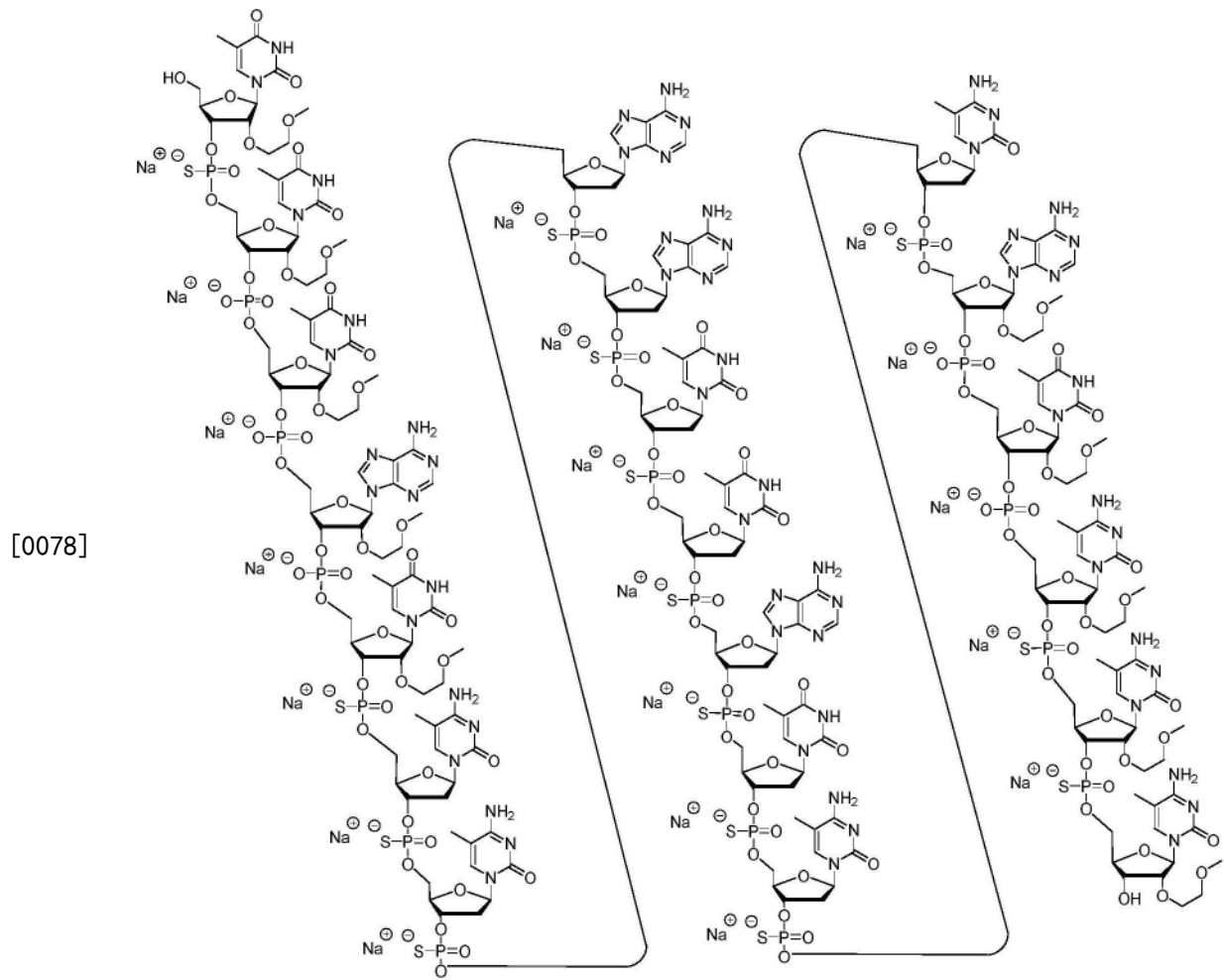
[0069] (SEQ ID NO 12),或其盐。

[0070] 实施方案8.如实施方案7所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

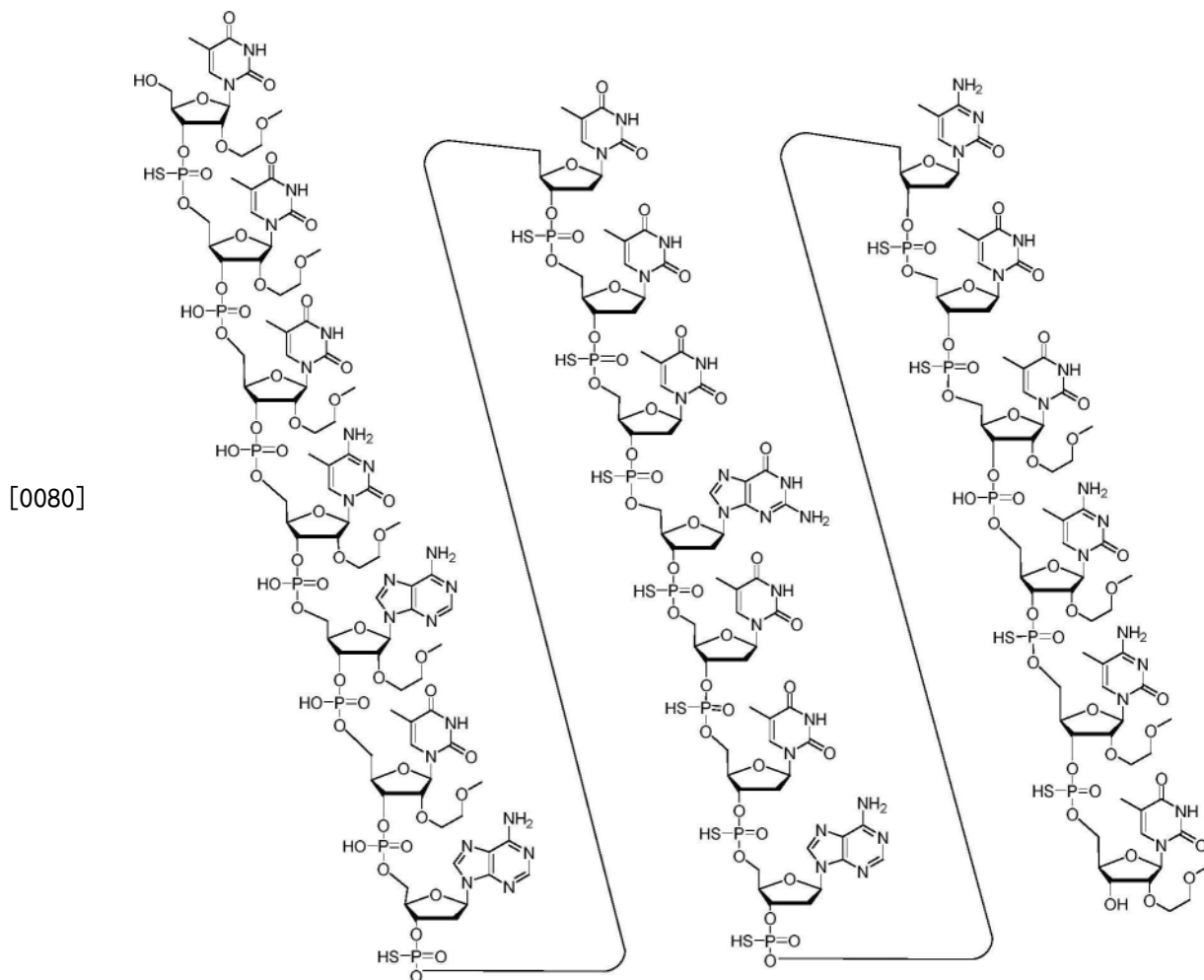
[0071] 实施方案9.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



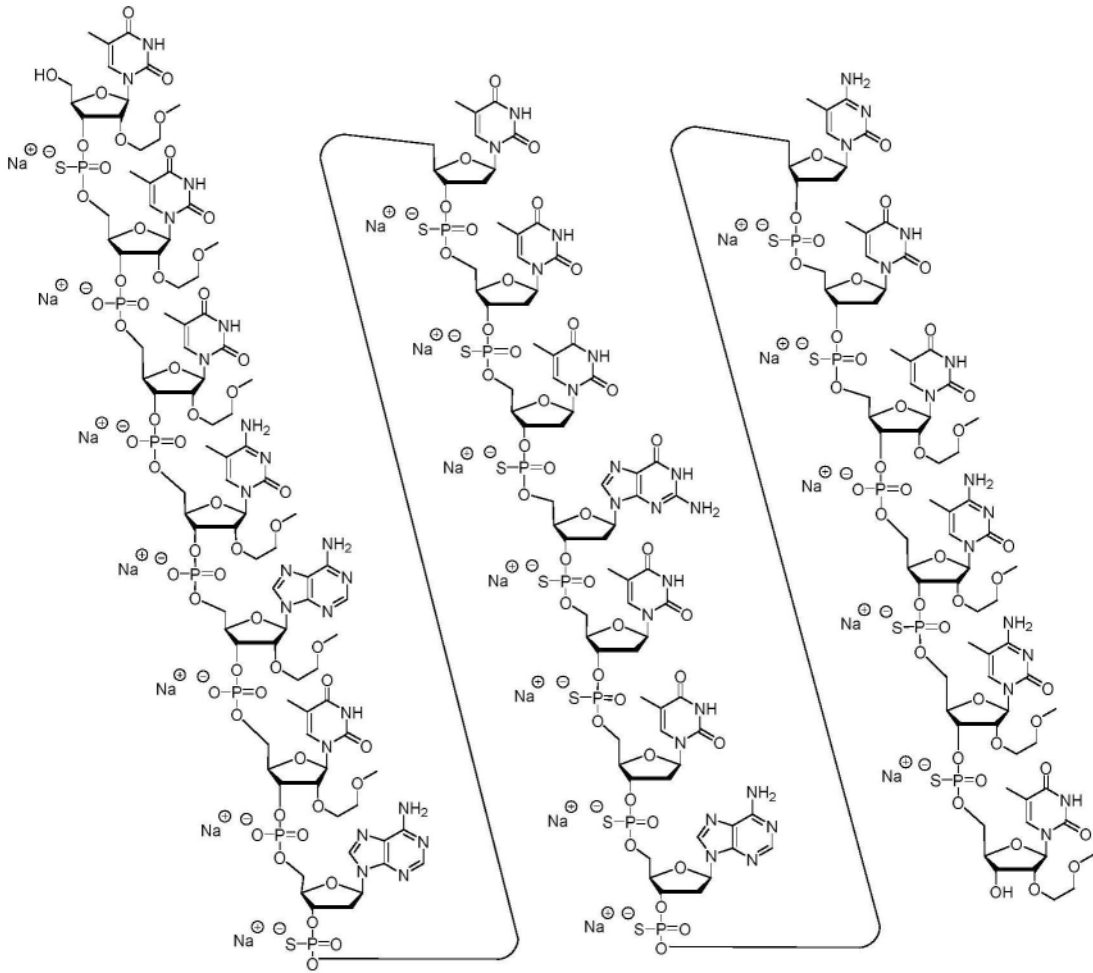
[0073] 实施方案10.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



[0079] 实施方案13.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:

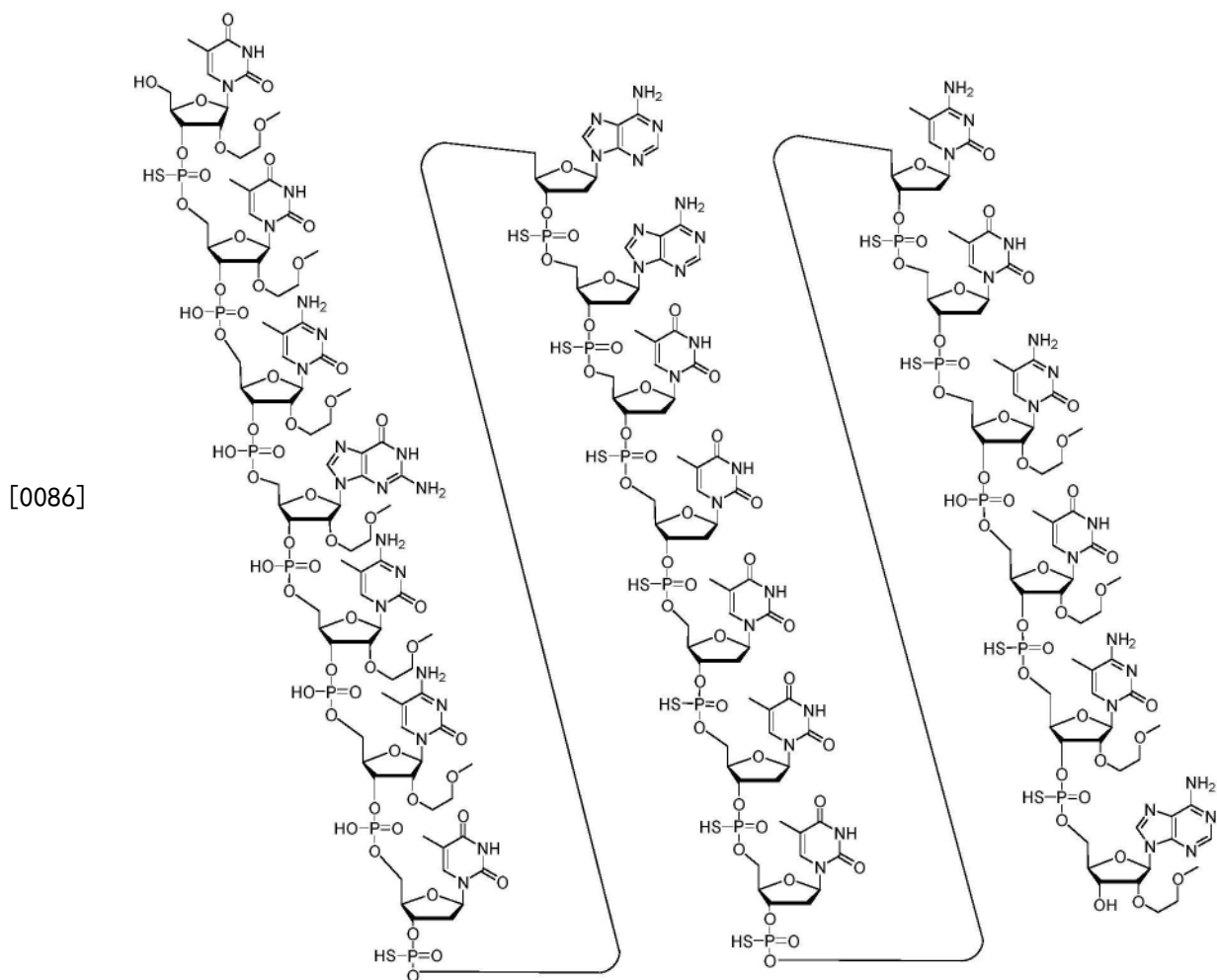


[0084]



(SEQ ID NO 13).

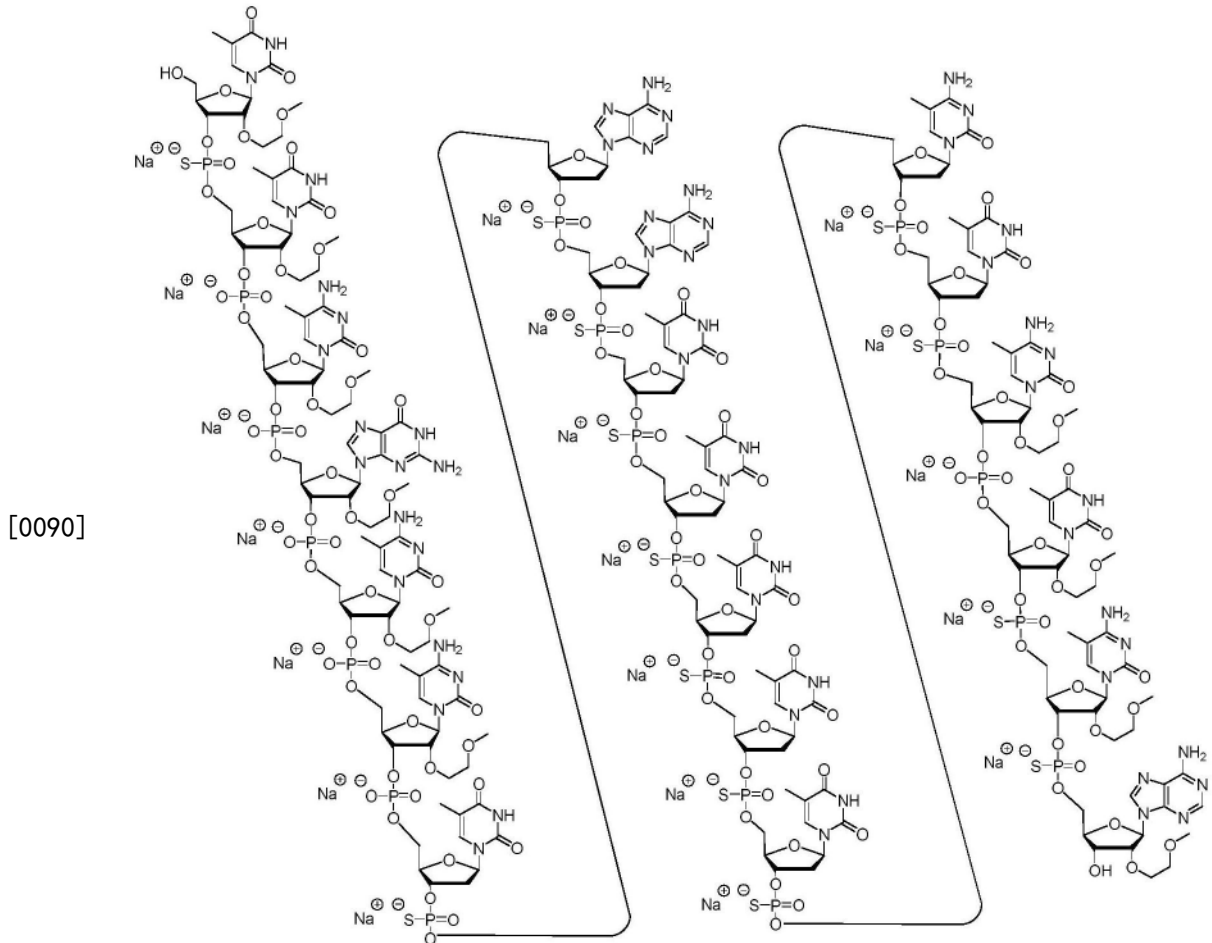
[0085] 实施方案16.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



[0087] (SEQ ID NO 14),或其盐。

[0088] 实施方案17.如实施方案16所述的经修饰的寡核苷酸,所述经修饰的寡核苷酸是钠盐或钾盐。

[0089] 实施方案18.一种根据以下化学结构的经修饰的寡核苷酸:



(SEQ ID NO 14).

[0091] 实施方案19.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: $T_{es}^m C_{eo}^m G_{eo}^m C_{eo}^m C_{es}^m T_{ds}^m A_{ds}^m A_{ds}^m T_{ds}^m T_{ds}^m T_{ds}^m T_{ds}^m C_{ds}^m T_{ds}^m C_{eo}^m T_{eo}^m C_{es}^m A_{es}^m C_e^m$ (SEQ ID NO 10), 其中:

- [0092] A=腺嘌呤核碱基,
- [0093] ^mC=5-甲基胞嘧啶核碱基,
- [0094] G=鸟嘌呤核碱基,
- [0095] T=胸腺嘧啶核碱基,
- [0096] e=2'-MOE糖部分,
- [0097] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,
- [0098] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且
- [0099] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0100] 实施方案20.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: $C_{es}^m T_{eo}^m T_{eo}^m T_{eo}^m T_{eo}^m C_{ds}^m T_{ds}^m G_{ds}^m C_{ds}^m T_{ds}^m C_{ds}^m T_{ds}^m T_{ds}^m A_{ds}^m T_{ds}^m A_{ds}^m C_{eo}^m G_{es}^m C_e^m$ (SEQ ID NO 11), 其中:

- [0101] A=腺嘌呤核碱基,
- [0102] ^mC=5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0103] G=鸟嘌呤核碱基,

[0104] T=胸腺嘧啶核碱基,

[0105] e=2'-MOE糖部分,

[0106] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0107] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0108] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0109] 实施方案21.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: ${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{G}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}\text{s}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 12), 其中:

[0110] A=腺嘌呤核碱基,

[0111] ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0112] G=鸟嘌呤核碱基,

[0113] T=胸腺嘧啶核碱基,

[0114] e=2'-MOE糖部分,

[0115] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0116] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0117] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0118] 实施方案22.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: $\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}\text{s}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 9), 其中:

[0119] A=腺嘌呤核碱基,

[0120] ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0121] G=鸟嘌呤核碱基,

[0122] T=胸腺嘧啶核碱基,

[0123] e=2'-MOE糖部分,

[0124] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0125] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0126] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0127] 实施方案23.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: $\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 13), 其中:

[0128] A=腺嘌呤核碱基,

[0129] ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0130] G=鸟嘌呤核碱基,

[0131] T=胸腺嘧啶核碱基,

[0132] e=2'-MOE糖部分,

[0133] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0134] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0135] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0136] 实施方案24.一种寡聚化合物,所述寡聚化合物包含根据以下化学记法的经修饰的寡核苷酸: $T_{es}T_{eo}{}^mC_{eo}G_{eo}{}^mC_{eo}{}^mC_{eo}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{eo}T_{es}{}^mC_{es}A_e$ (SEQ ID NO 14), 其中:

[0137] A=腺嘌呤核碱基,

[0138] mC =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0139] G=鸟嘌呤核碱基,

[0140] T=胸腺嘧啶核碱基,

[0141] e=2'-MOE糖部分,

[0142] d=2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,

[0143] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0144] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0145] 实施方案25.如实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸群体或如实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物群体,其中所述经修饰的寡核苷酸的所有硫代磷酸酯核苷间键联都是立构无规的。

[0146] 实施方案26.一种药物组合物,所述药物组合物包含实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、或实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体,以及药学上可接受的稀释剂。

[0147] 实施方案27.如实施方案26所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的稀释剂是人工脑脊髓液或磷酸盐缓冲盐水。

[0148] 实施方案28.如实施方案27所述的药物组合物,其中所述药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸、寡聚化合物或群体以及人工脑脊髓液或磷酸盐缓冲盐水组成。

[0149] 实施方案29.一种方法,所述方法包括向受试者施用实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或实施方案26-28中任一项所述的药物组合物。

[0150] 实施方案30.一种治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的方法,所述方法包括向患有与I型干扰素信号传导相关的疾病的受试者施用治疗有效量的实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体,或实施方案26-28中任一项所述的药物组合物;从而治疗所述与I型干扰素信号传导相关的疾病。

[0151] 实施方案31.如实施方案30所述的方法,其中所述与I型干扰素信号传导相关的疾病是Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病征、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎或共济失调性毛细血管扩张症。

[0152] 实施方案32.如实施方案30或实施方案31所述的方法,其中所述疾病与升高的干扰素- α 水平相关。

[0153] 实施方案33.如实施方案30-32中任一项所述的方法,其中施用所述经修饰的寡核苷酸、所述寡聚化合物、所述经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或所述药物组合物可减少所述受试者的癫痫发作、肌张力障碍、痉挛、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化或小脑畸形;改善所述受试者的进食、运动发育、语言发育

或社交技能发育;或减少所述受试者的脑脊髓液中的干扰素 α 或淋巴细胞增多。

[0154] 实施方案34.一种降低细胞中IFNAR1表达的方法,所述方法包括使所述细胞与实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体或实施方案26-28中任一项所述的药物组合物接触。

[0155] 实施方案35.如实施方案34所述的方法,其中所述细胞是神经元或神经胶质细胞,任选地其中所述细胞是星形胶质细胞或小神经胶质细胞。

[0156] 实施方案36.如实施方案29-33中任一项所述的方法,其中所述受试者是人类。

[0157] 实施方案37.如实施方案34或实施方案35所述的方法,其中所述细胞是人类细胞。

[0158] 实施方案38.如实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、如实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、如实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或如实施方案26-28中任一项所述的药物组合物用于治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的用途。

[0159] 实施方案39.如实施方案1-18中任一项所述的经修饰的寡核苷酸、如实施方案19-24中任一项所述的寡聚化合物、如实施方案25所述的经修饰的寡核苷酸群体或寡聚化合物群体、或如实施方案26-28中任一项所述的药物组合物在制造用于治疗与I型干扰素信号传导相关的疾病的药物中的用途。

[0160] 实施方案40.如实施方案38或实施方案39所述的用途,其中所述疾病与升高的干扰素 α 水平相关。

[0161] 实施方案41.如实施方案38-40中任一项所述的用途,其中所述与I型干扰素信号传导相关的疾病是Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性疾病、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎或共济失调性毛细血管扩张症。

[0162] 1.1489477号化合物

[0163] 在某些实施方案中,1489477号化合物表征为6-10-4MOE间隙聚体,其序列(从5'至3')为CTTTTCTGCTCTTATACGC(SEQ ID NO 11),其中核苷1-6和17-20(从5'至3')中的每一者是2'-MOE核苷并且核苷7-16中的每一者是2'- β -D-脱氧核苷,其中核苷2至3、3至4、4至5、5至6、6至7和17至18之间的核苷间键联是磷酸二酯核苷间键联,核苷1至2、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、16至17、18至19和19至20之间的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0164] 在某些实施方案中,1489477号化合物由以下化学记法表示: ${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{C}_{\text{d}}$
 $\text{s}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{C}_{\text{eo}}\text{G}_{\text{es}}\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 11),其中:

[0165] A=腺嘌呤核碱基,

[0166] ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0167] G=鸟嘌呤核碱基,

[0168] T=胸腺嘧啶核碱基,

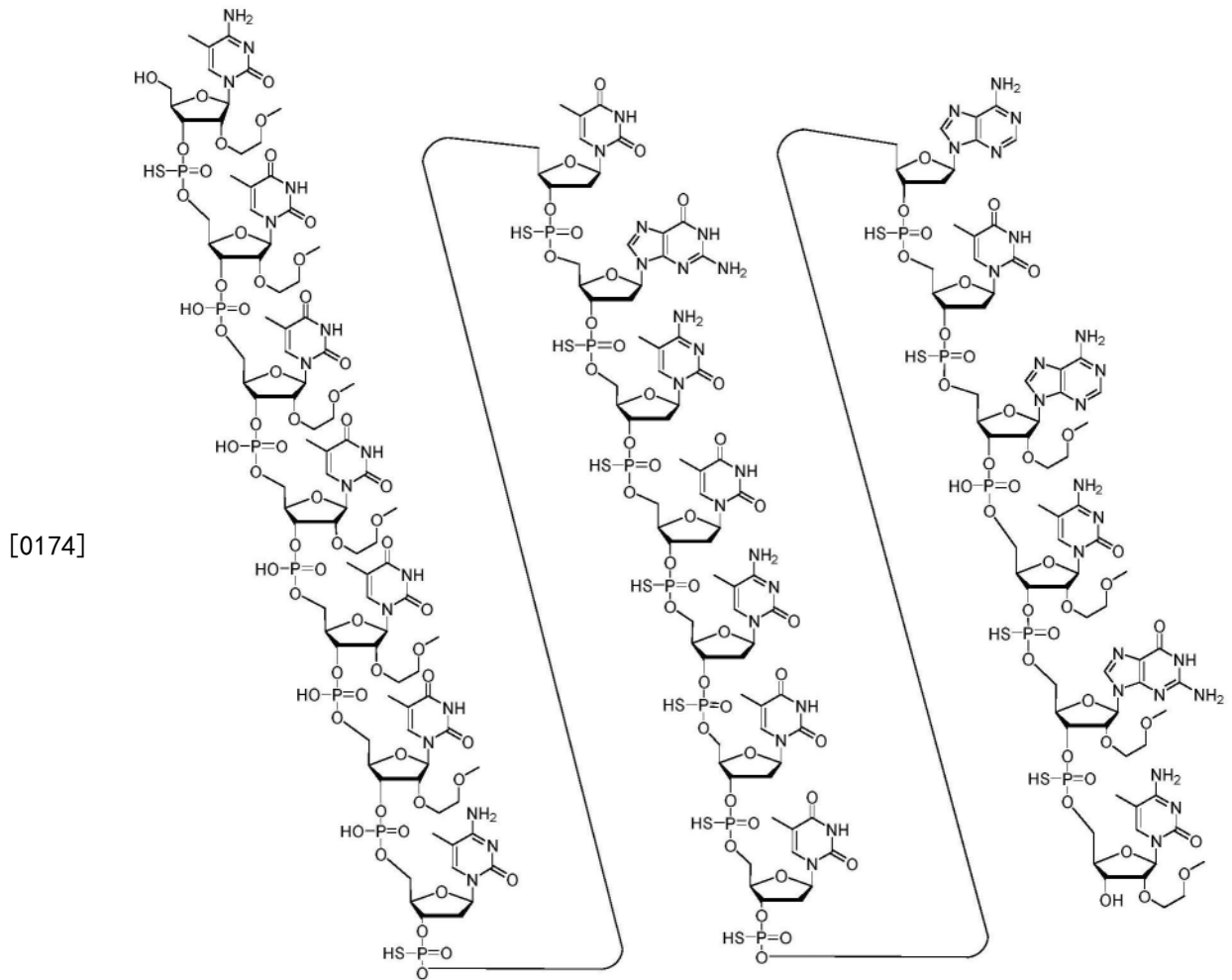
[0169] e=2'-MOE糖部分,

[0170] d=2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,

[0171] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0172] o=磷酸二酯核苷间键联。

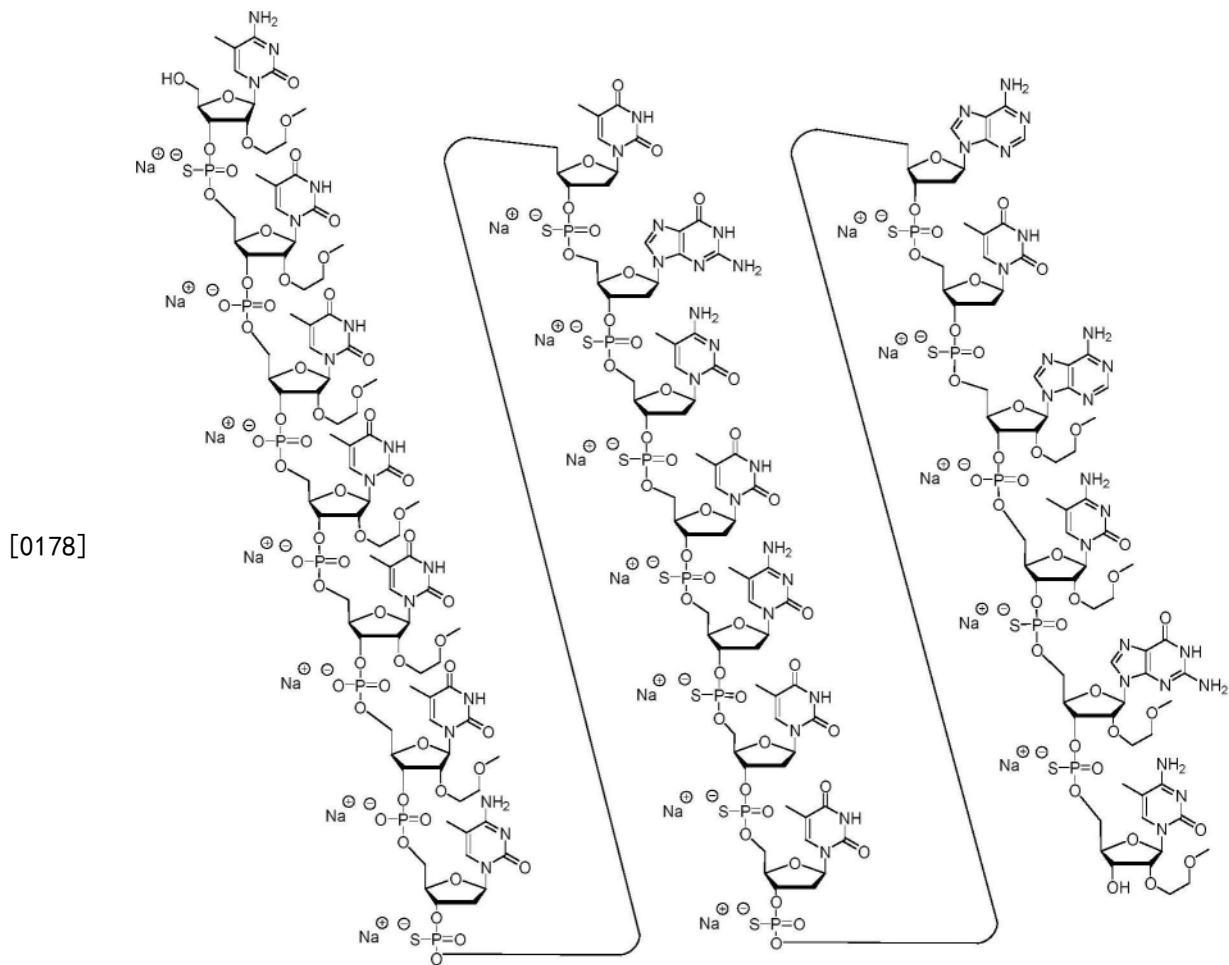
[0173] 在某些实施方案中,1489477号化合物由以下化学结构表示:



[0175] 结构1. 1489477号化合物

[0176] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构1表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0177] 在某些实施方案中,1489477号化合物的钠盐由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 11).

[0179] 结构2. 1489477号化合物的钠盐

[0180] 2.1489494号化合物

[0181] 在某些实施方案中,1489494号化合物表征为6-10-4MOE间隙聚体,其序列(从5'至3')为CTGTTTTACATTTTTTTTCC(SEQ ID NO 12),其中核苷1-6和17-20(从5'至3')中的每一者是2'-MOE核苷并且核苷7-16中的每一者是2'-β-D-脱氧核苷,其中核苷2至3、3至4、4至5、5至6、6至7和17至18之间的核苷间键联是磷酸二酯核苷间键联,核苷1至2、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、16至17、18至19和19至20之间的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0182] 在某些实施方案中,1489494号化合物由以下化学记法表示: ${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{eo}}\text{G}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{d}}$
 $\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$ (SEQ ID NO 12),其中:

[0183] A=腺嘌呤核碱基,

[0184] ${}^m\text{C}$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0185] G=鸟嘌呤核碱基,

[0186] T=胸腺嘧啶核碱基,

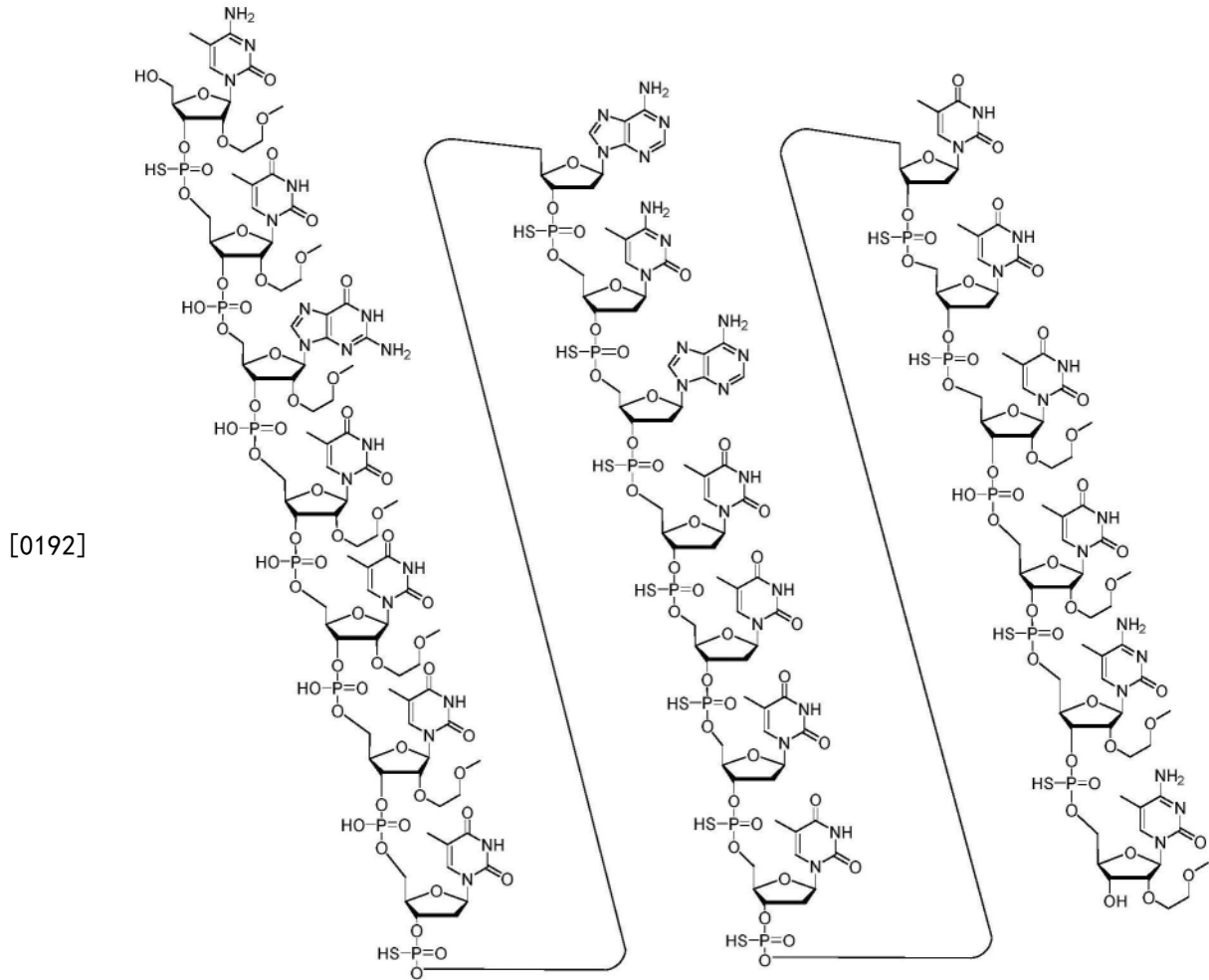
[0187] e=2'-MOE糖部分,

[0188] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0189] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0190] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0191] 在某些实施方案中,1489494号化合物由以下化学结构表示:

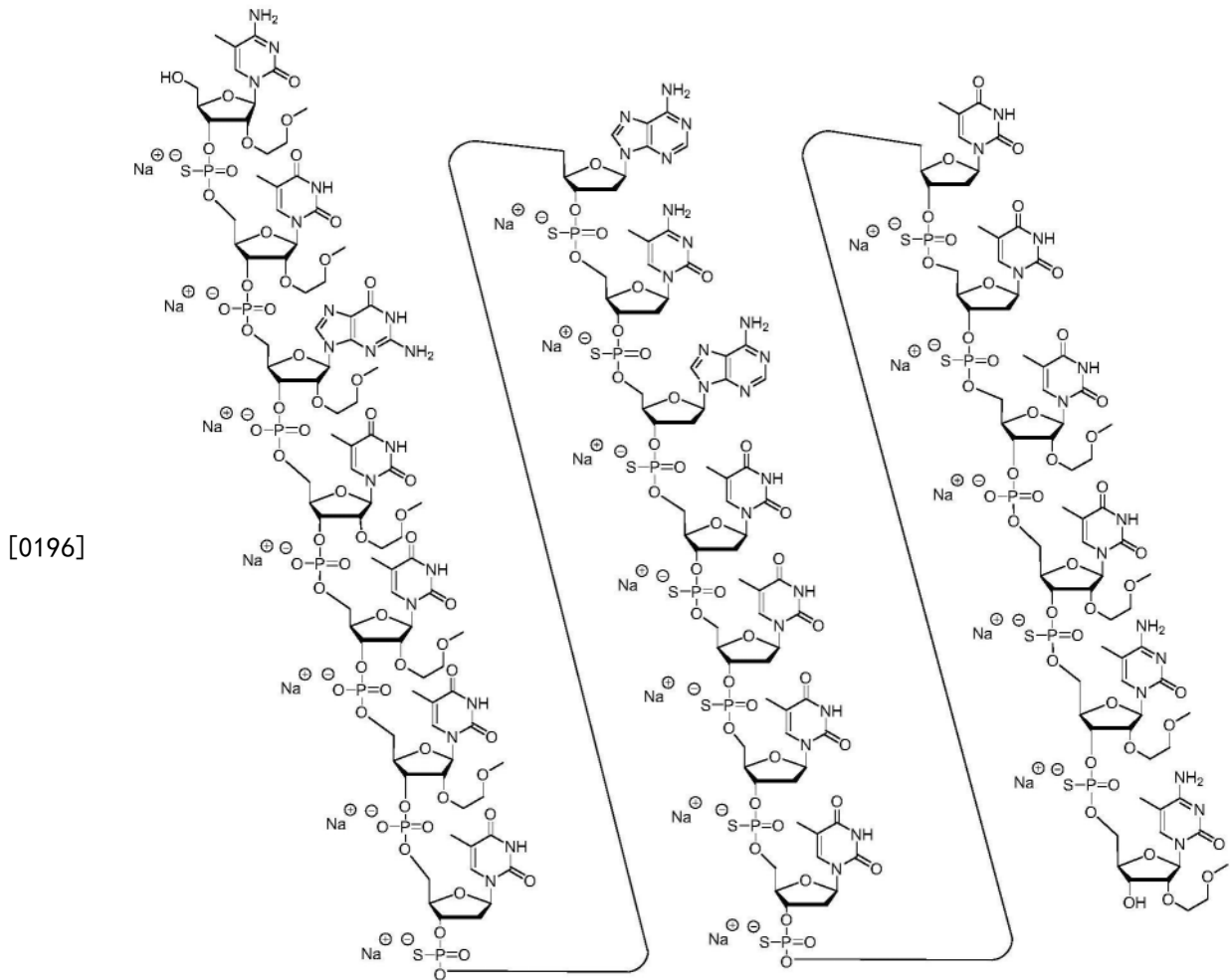


(SEQ ID NO 12).

[0193] 结构3. 1489494号化合物

[0194] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构3表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0195] 在某些实施方案中,1489494号化合物的钠盐由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 12).

[0197] 结构2. 1489494号化合物的钠盐

[0198] 3.1489525号化合物

[0199] 在某些实施方案中,1489525号化合物表征为5-10-5MOE间隙聚体,其序列(从5'至3')为TTTATCCAATTATCCATCCC (SEQ ID NO 9),其中核苷1-5和16-20(从5'至3')中的每一者是2'-MOE核苷并且核苷6-15中的每一者是2'-β-D-脱氧核苷,其中核苷2至3、3至4、4至5、16至17和17至18之间的核苷间键联是磷酸二酯核苷间键联,核苷1至2、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、18至19和19至20之间的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0200] 在某些实施方案中,1489525号化合物由以下化学记法表示: $T_{es}T_{eo}T_{eo}A_{eo}T_{es}{}^mC_{ds}{}^mC_{d}$
 $A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^mC_{es}{}^mC_{es}{}^mC_{e}$ (SEQ ID NO 9),其中:

[0201] A=腺嘌呤核碱基,

[0202] mC =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0203] G=鸟嘌呤核碱基,

[0204] T=胸腺嘧啶核碱基,

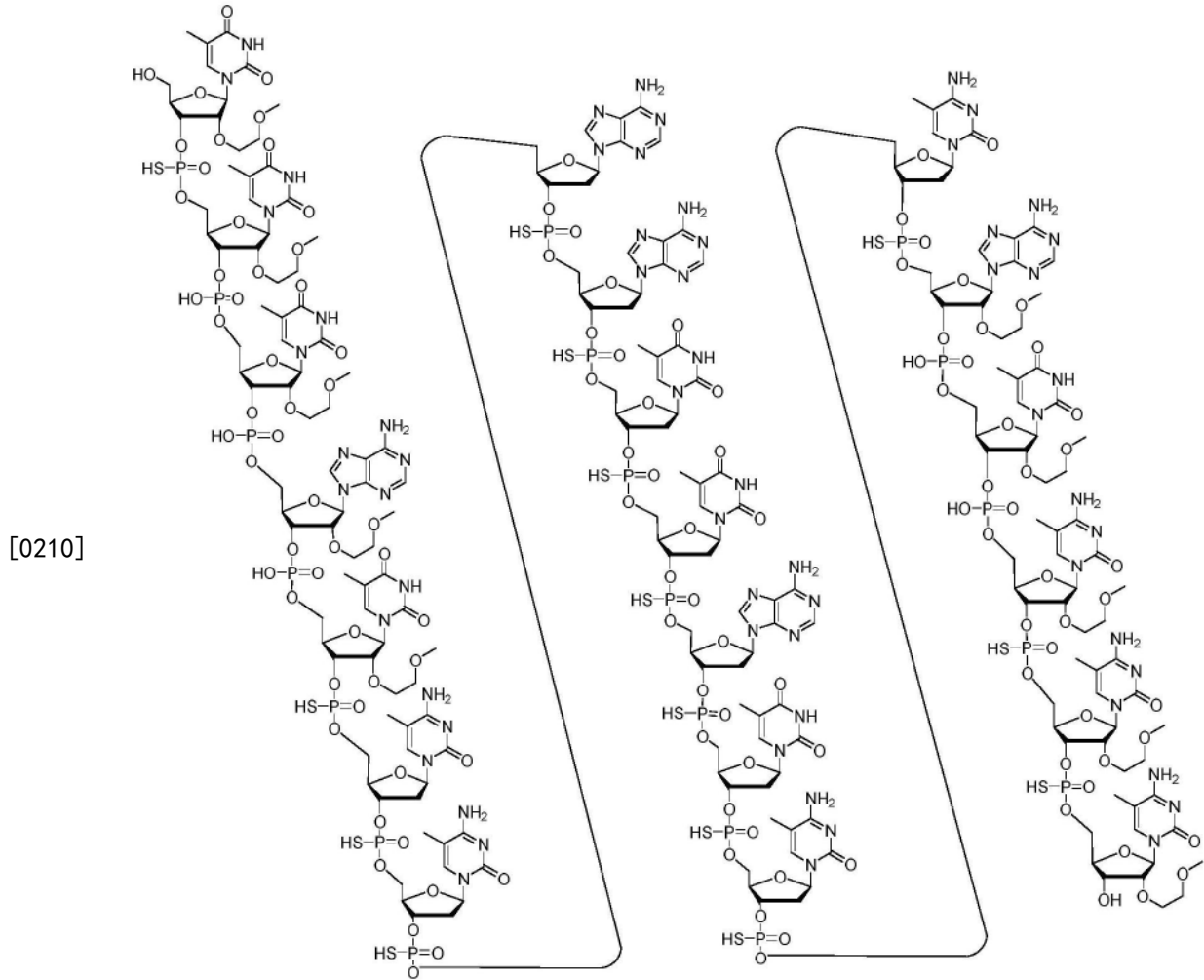
[0205] e=2'-MOE糖部分,

[0206] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0207] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0208] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0209] 在某些实施方案中,1489525号化合物由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 9).

[0211] 结构5. 1489525号化合物

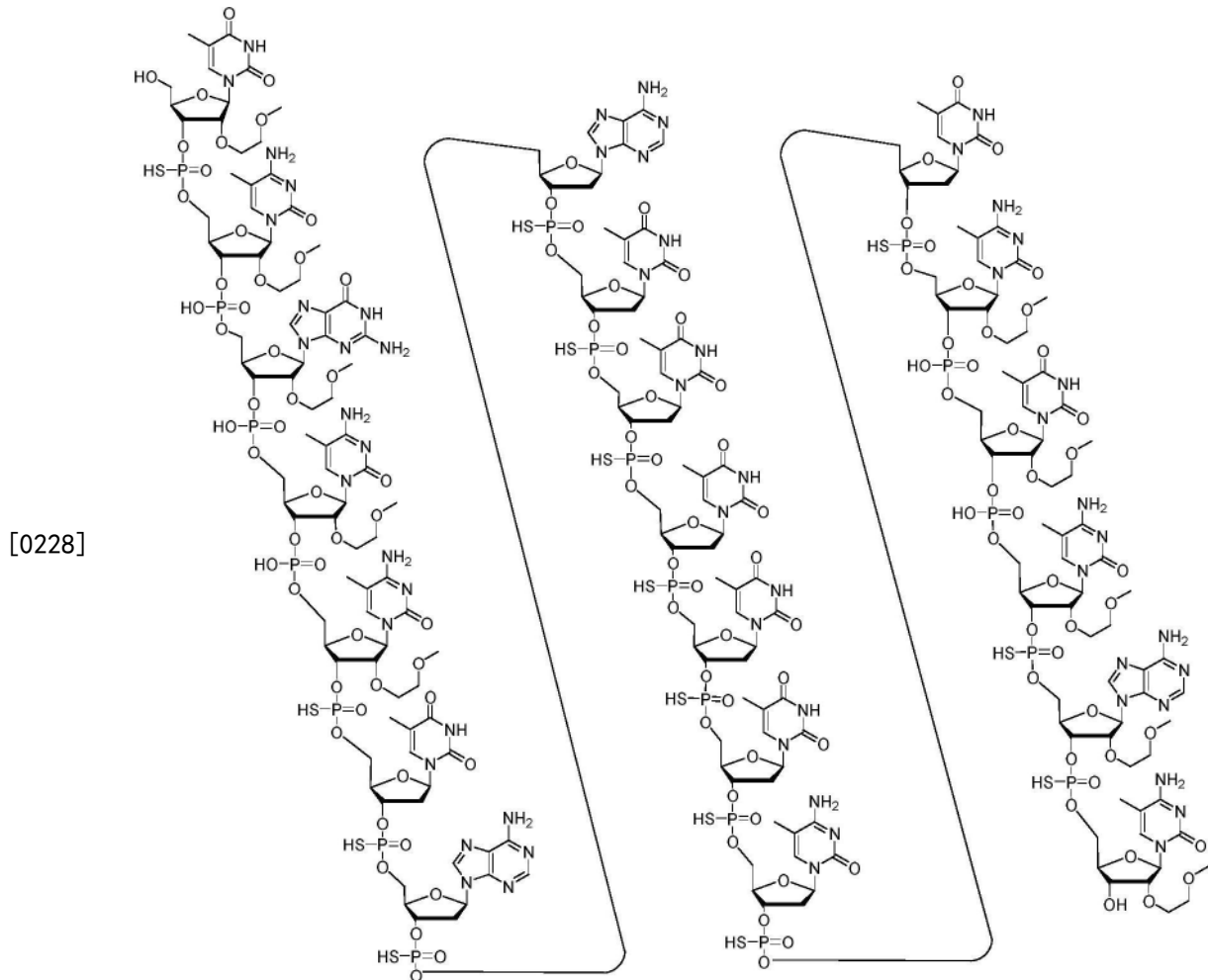
[0212] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构5表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0213] 在某些实施方案中,1489525号化合物的钠盐由以下化学结构表示:

[0225] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0226] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0227] 在某些实施方案中,1492069号化合物由以下化学结构表示:

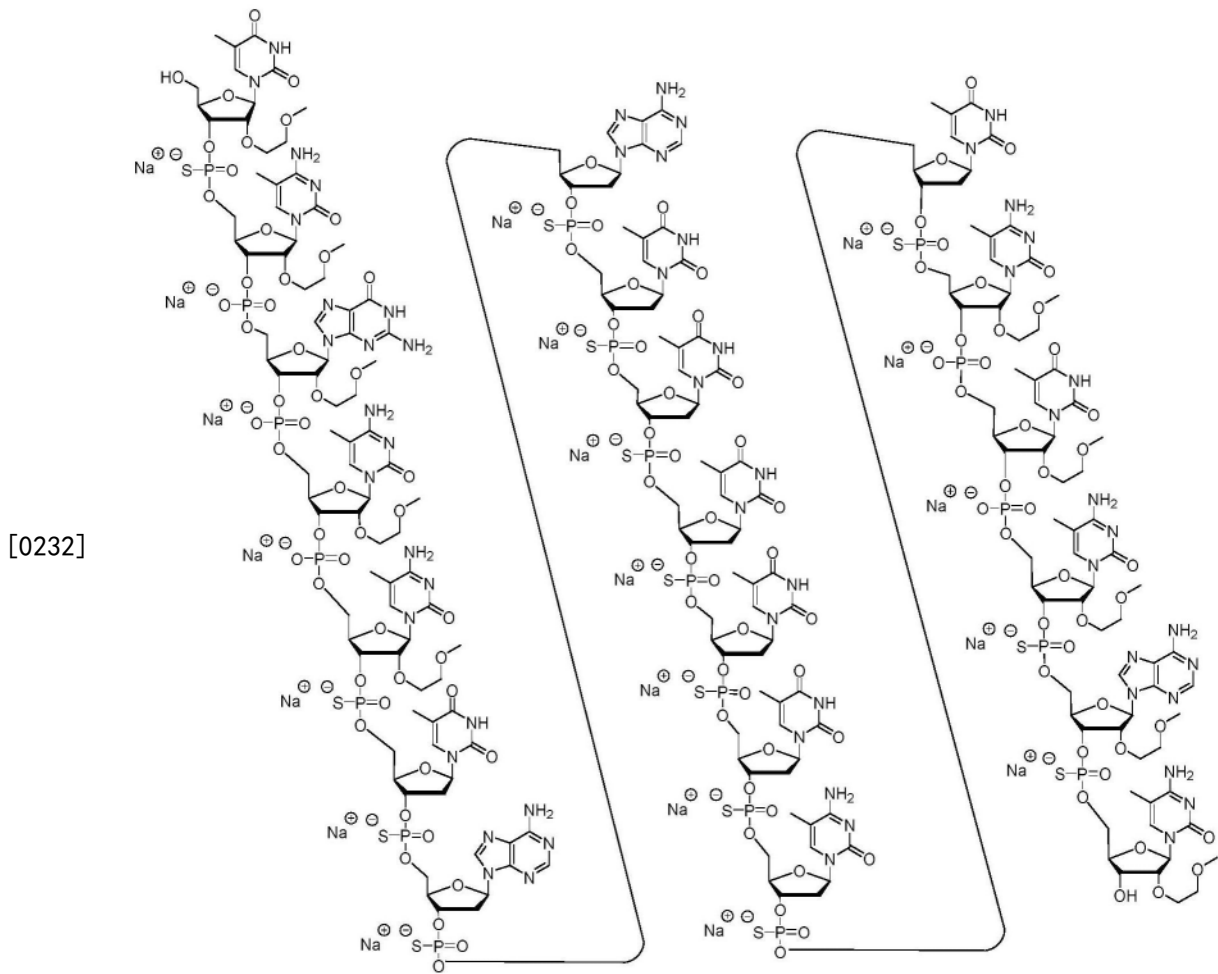


(SEQ ID NO 10).

[0229] 结构7. 1492069号化合物

[0230] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构7表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0231] 在某些实施方案中,1492069号化合物的钠盐由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 10).

[0233] 结构8. 1492069号化合物的钠盐

[0234] 5. 1492082号化合物

[0235] 在某些实施方案中,1492082号化合物表征为6-10-4MOE间隙聚体,其序列(从5'至3')为TTTCATATTTGTTACTTCCT(SEQ ID NO 13),其中核苷1-6和17-20(从5'至3')中的每一者是2'-MOE核苷并且核苷7-16中的每一者是2'-β-D-脱氧核苷,其中核苷2至3、3至4、4至5、5至6、6至7和17至18之间的核苷间键联是磷酸二酯核苷间键联,核苷1至2、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、16至17、18至19和19至20之间的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0236] 在某些实施方案中,1492082号化合物由以下化学记法表示: $T_{es}T_{eo}T_{eo}{}^mC_{eo}A_{eo}T_{eo}A_d$
 $T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{es}{}^mC_{es}T_e$ (SEQ ID NO 13),其中:

[0237] A=腺嘌呤核碱基,

[0238] mC =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0239] G=鸟嘌呤核碱基,

[0240] T=胸腺嘧啶核碱基,

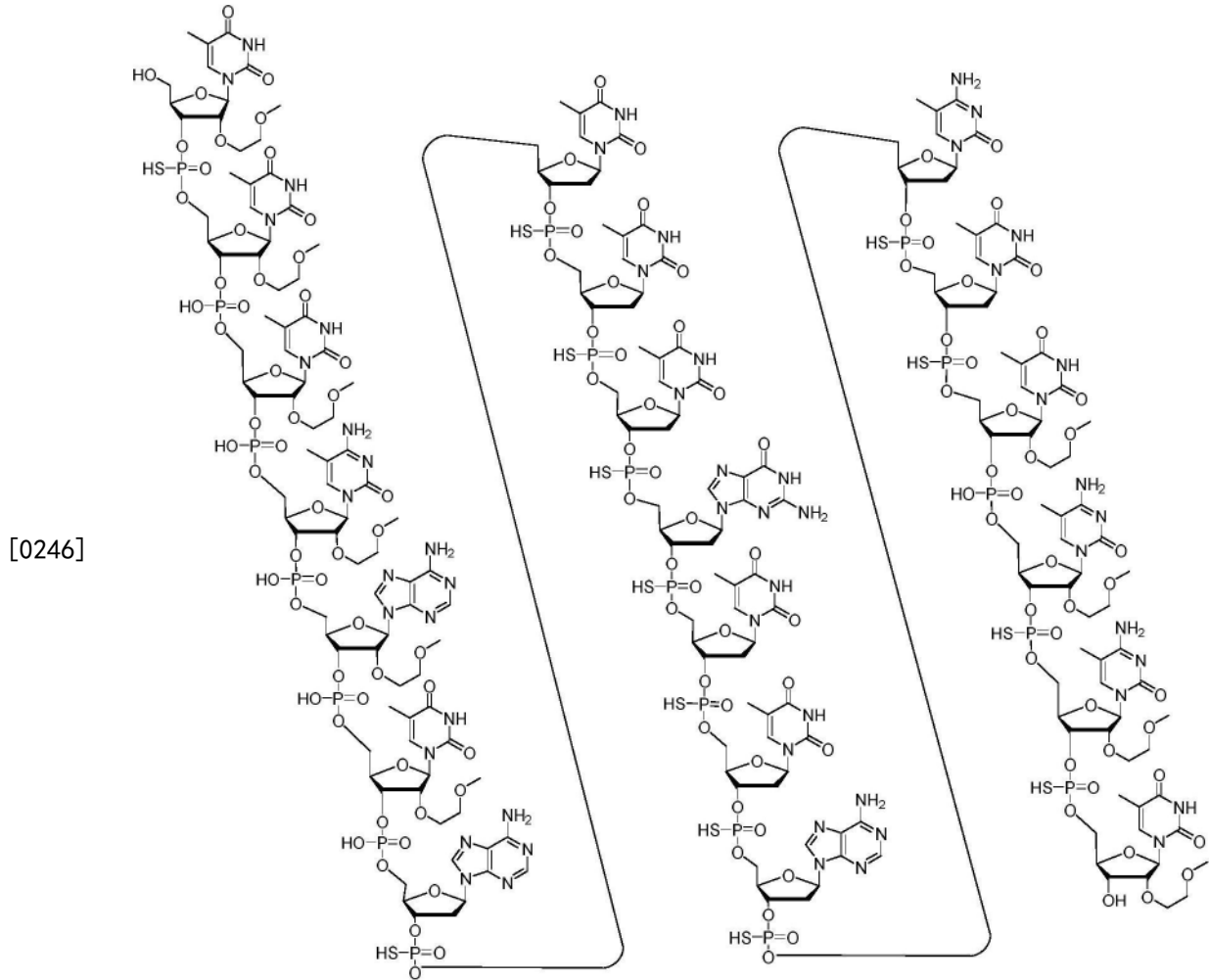
[0241] e=2'-MOE糖部分,

[0242] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0243] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0244] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0245] 在某些实施方案中,1492082号化合物由以下化学结构表示:

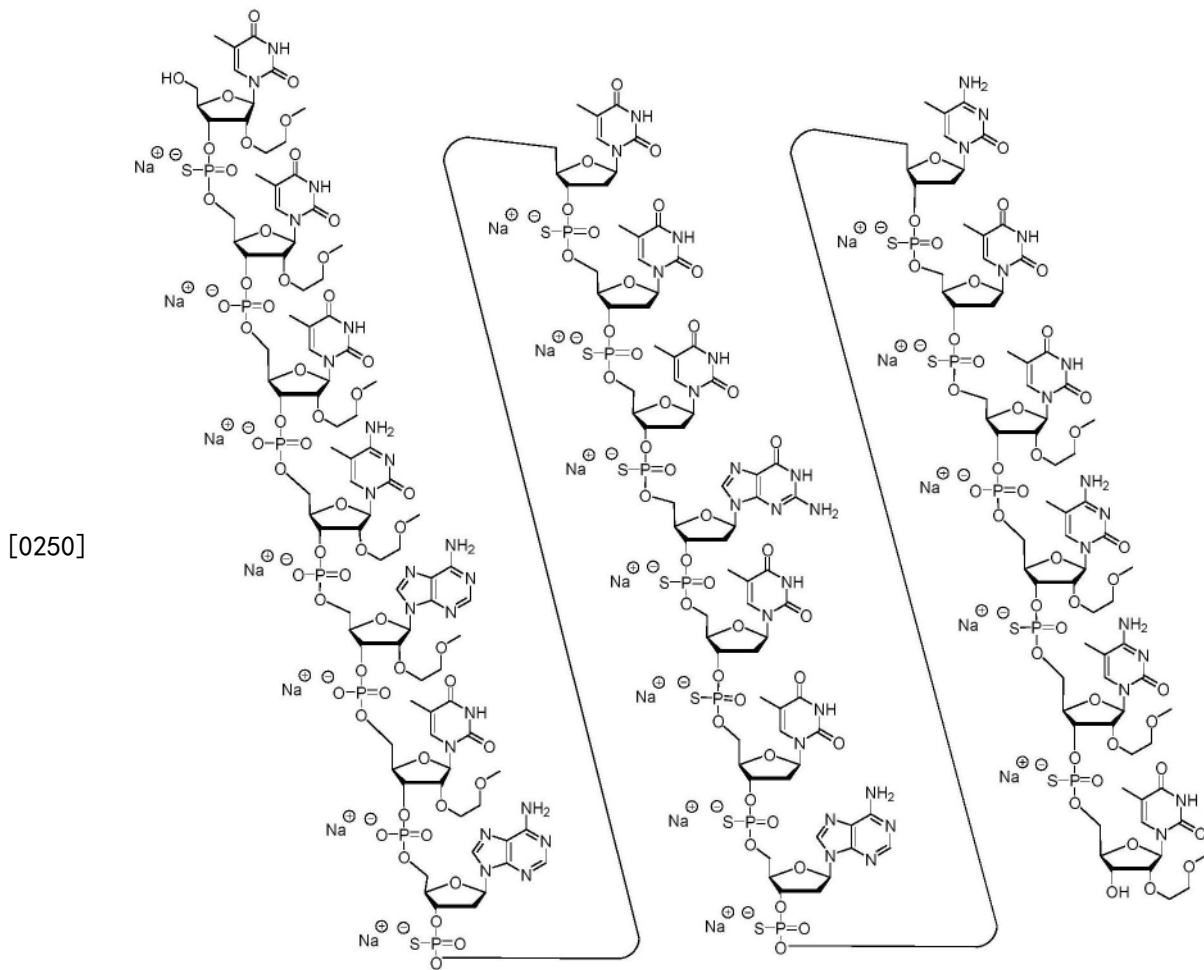


(SEQ ID NO 13).

[0247] 结构9. 1492082号化合物

[0248] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构9表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0249] 在某些实施方案中,1492082号化合物的钠盐由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 13).

[0251] 结构10. 1492082号化合物的钠盐

[0252] 6. 1492131号化合物

[0253] 在某些实施方案中,1492131号化合物表征为6-10-4MOE间隙聚体,其序列(从5'至3')为TTCGCTAATTTTCTCTCA(SEQ ID NO 14),其中核苷1-6和17-20(从5'至3')中的每一者是2'-MOE核苷并且核苷7-16中的每一者是2'-β-D-脱氧核苷,其中核苷2至3、3至4、4至5、5至6、6至7和17至18之间的核苷间键联是磷酸二酯核苷间键联,核苷1至2、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、16至17、18至19和19至20之间的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0254] 在某些实施方案中,1492131号化合物由以下化学记法表示: $T_{es} T_{eo} {}^m C_{eo} G_{eo} {}^m C_{eo} {}^m C_{eo} T_d A_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} {}^m C_{ds} T_{ds} {}^m C_{eo} T_{es} {}^m C_{es} A_e$ (SEQ ID NO 14),其中:

[0255] A=腺嘌呤核碱基,

[0256] ${}^m C$ =5-甲基胞嘧啶核碱基,

[0257] G=鸟嘌呤核碱基,

[0258] T=胸腺嘧啶核碱基,

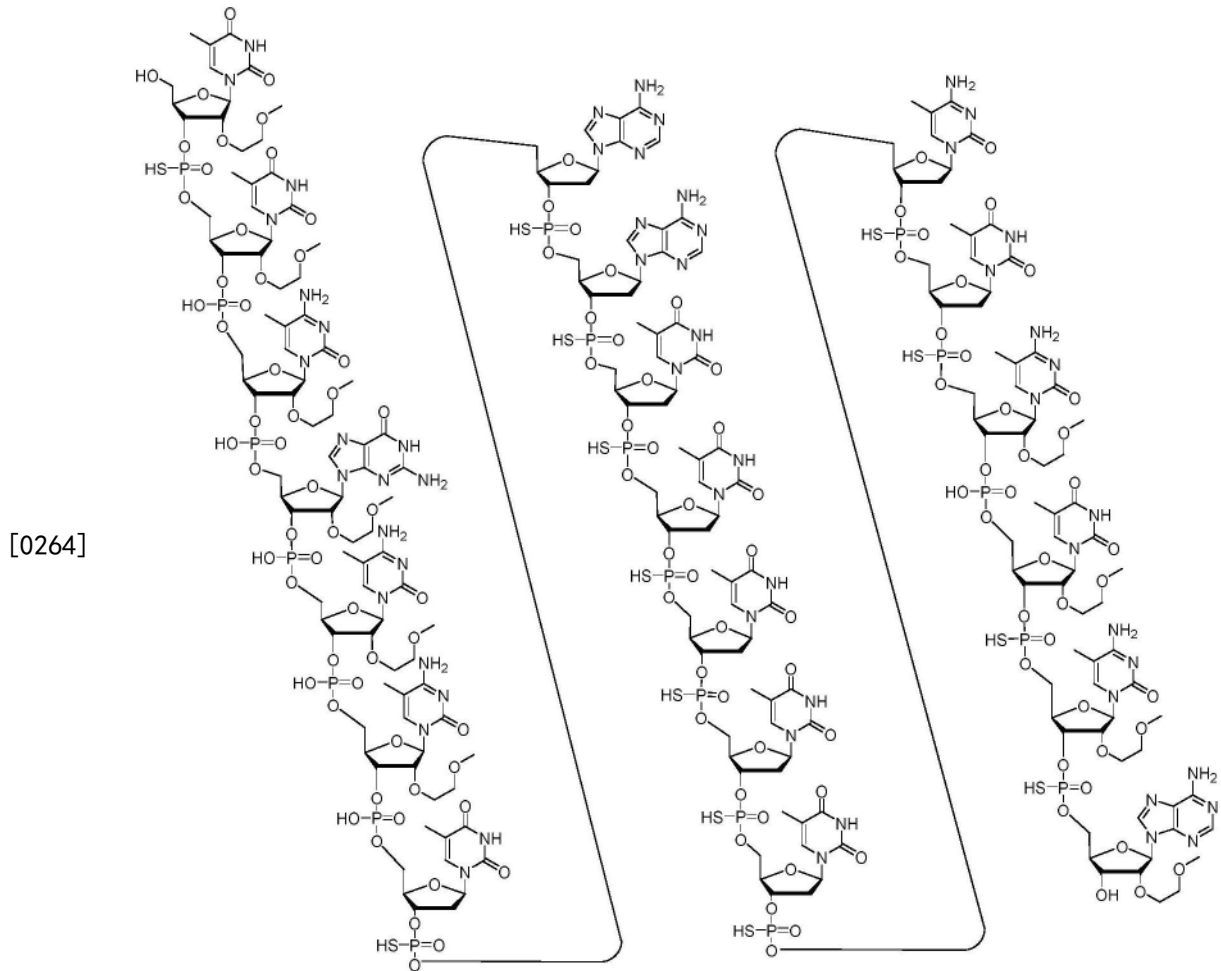
[0259] e=2'-MOE糖部分,

[0260] d=2'-β-D-脱氧核糖基糖部分,

[0261] s=硫代磷酸酯核苷间键联,并且

[0262] o=磷酸二酯核苷间键联。

[0263] 在某些实施方案中,1492131号化合物由以下化学结构表示:

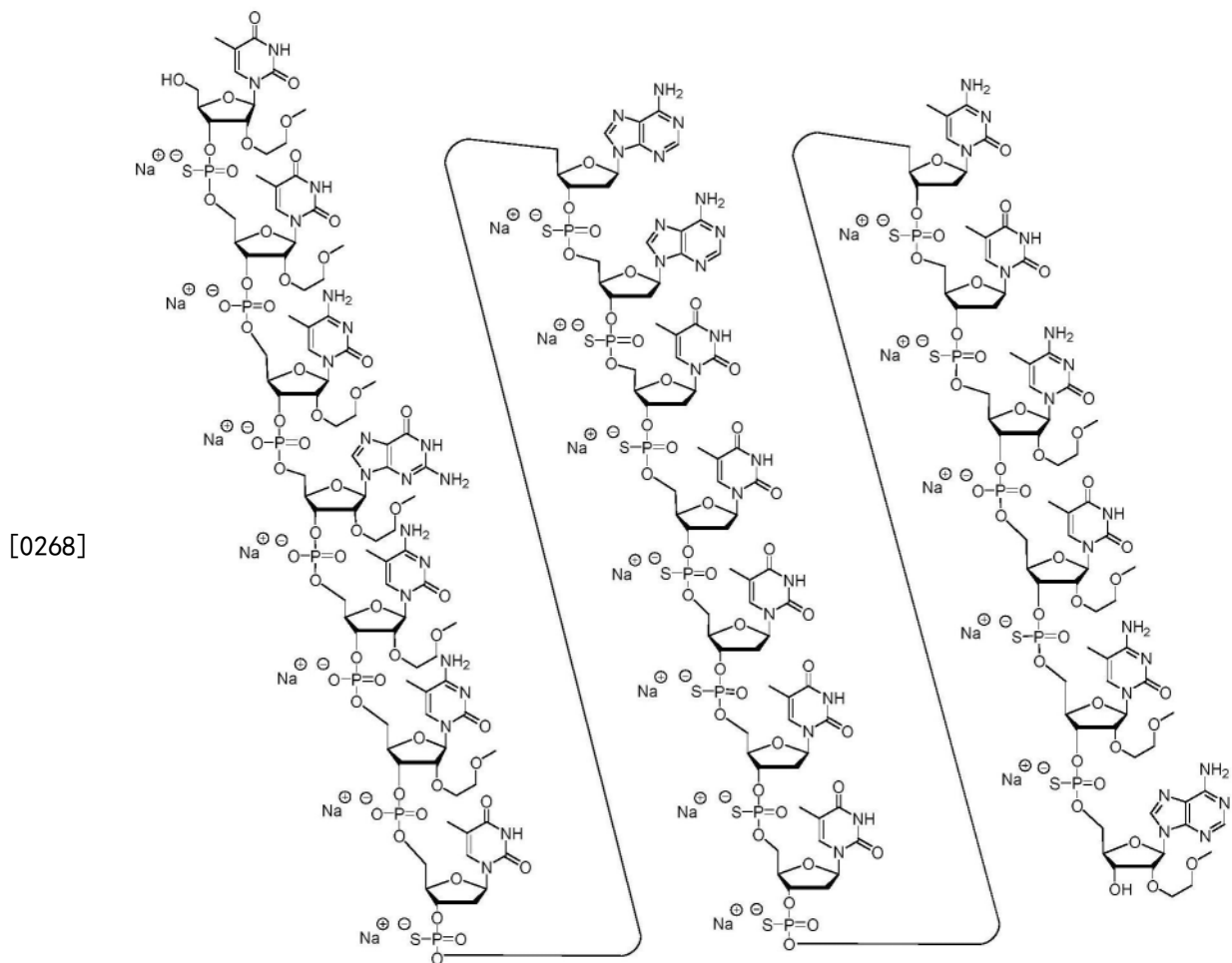


(SEQ ID NO 14).

[0265] 结构11. 1492131号化合物

[0266] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含由结构11表示的经修饰的寡核苷酸的钠盐或钾盐。

[0267] 在某些实施方案中,1492131号化合物的钠盐由以下化学结构表示:



(SEQ ID NO 14).

[0269] 结构12. 1492131号化合物的钠盐。

[0270] I. 某些寡核苷酸

[0271] 在某些实施方案中,本文提供了包含寡核苷酸的寡聚化合物,其由连接的核苷组成。寡核苷酸可以是未经修饰的寡核苷酸(RNA或DNA)或者可以是经修饰的寡核苷酸。经修饰的寡核苷酸包含相对于未经修饰的RNA或DNA的至少一种修饰。也就是说,经修饰的寡核苷酸包含至少一种经修饰的核苷(包含经修饰的糖部分和/或经修饰的核碱基)和/或至少一种经修饰的核苷间键联。

[0272] A. 某些经修饰的核苷

[0273] 经修饰的核苷包含经修饰的糖部分或经修饰的核碱基或经修饰的糖部分和经修饰的核碱基二者。

[0274] 1. 某些糖部分

[0275] 在某些实施方案中,经修饰的糖部分是非双环的经修饰糖部分,其包含具有一个或多个取代基的呋喃糖基环,所述取代基均不桥接所述呋喃糖基环的两个原子以形成双环结构。此类非桥接取代基可位于呋喃糖基的任何位置,包括(但不限于)位于2'位、3'位、4'位和/或5'位的取代基。适于非双环的经修饰糖部分的2'-取代基的实例包括(但不限于): 2'-O(CH₂)₂OCH₃(“MOE”或“O-甲氧基乙基”)。

[0276] 在某些实施方案中,经修饰的呋喃糖基糖部分和并有此类经修饰的呋喃糖基糖部分的核苷进一步由异构构型定义。例如,2'-脱氧呋喃糖基糖部分可呈除天然存在的 β -D-脱氧核糖基构型外的七种异构构型。此类经修饰的糖部分阐述于例如WO 2019/157531中,所述文献通过引用并入本文。2'-经修饰的糖部分相对于2'-脱氧呋喃糖基糖部分在2'位具有另一立构中心;因此,此类糖部分具有总计十六种可能的异构构型。除非另有指定,否则本文所阐述的2'-经修饰的糖部分呈 β -D-核糖基异构构型。

[0277] 2. 某些经修饰的核碱基

[0278] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含未经修饰的核碱基的核苷。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸包含一个或多个包含经修饰的核碱基的核苷。经修饰的核碱基的实例包括5-甲基胞嘧啶。

[0279] 教导某些经修饰的核碱基的制备的公开包括(但不限于)Manoharan等人,US2003/0158403;Manoharan等人,US2003/0175906;Dinh等人,U.S.4,845,205;Spielvogel等人,U.S.5,130,302;Rogers等人,U.S.5,134,066;Bischofberger等人,U.S.5,175,273;Urdea等人,U.S.5,367,066;Benner等人,U.S.5,432,272;Matteucci等人,U.S.5,434,257;Gmeiner等人,U.S.5,457,187;Cook等人,U.S.5,459,255;Froehler等人,U.S.5,484,908;Matteucci等人,U.S.5,502,177;Hawkins等人,U.S.5,525,711;Haralambidis等人,U.S.5,552,540;Cook等人,U.S.5,587,469;Froehler等人,U.S.5,594,121;Switzer等人,U.S.5,596,091;Cook等人,U.S.5,614,617;Froehler等人,U.S.5,645,985;Cook等人,U.S.5,681,941;Cook等人,U.S.5,811,534;Cook等人,U.S.5,750,692;Cook等人,U.S.5,948,903;Cook等人,U.S.5,587,470;Cook等人,U.S.5,457,191;Matteucci等人,U.S.5,763,588;Froehler等人,U.S.5,830,653;Cook等人,U.S.5,808,027;Cook等人,6,166,199;和Matteucci等人,U.S.6,005,096。

[0280] 3. 某些经修饰的核苷间键联

[0281] RNA和DNA的天然存在的核苷间键联是3'至5'磷酸二酯键联。在某些实施方案中,可使用一个或多个经修饰的核苷间键联将经修饰的寡核苷酸的核苷连接在一起。根据存在或不存在磷原子来定义两种主要类别的核苷间连接基团。代表性的含磷核苷间键联包括(但不限于)磷酸酯,其含有磷酸二酯键("P=O")(也称为未经修饰或天然存在的键联);磷酸三酯;甲基磷酸酯;氨基磷酸酯;以及硫代磷酸酯("P=S")和二硫代磷酸酯("HS-P=S")。经修饰的核苷间键联与天然存在的磷酸酯键联相比可用于改变、通常增加寡核苷酸的核酸酶抗性。在某些实施方案中,可将具有手性原子的核苷间键联制备成外消旋混合物或分开的对映异构体。制备含磷和不含磷核苷间键联的方法是本领域技术人员众所周知的。

[0282] 具有手性中心的代表性核苷间键联包括(但不限于)硫代磷酸酯。可将包含具有手性中心的核苷间键联的经修饰的寡核苷酸制备成包含立构无规核苷间键联的经修饰的寡核苷酸的群体,或制备成包含呈特定立体化学构型的含有手性中心的硫代磷酸酯或其他键联的经修饰的寡核苷酸的群体。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的群体包含硫代磷酸酯核苷间键联,其中所有所述硫代磷酸酯核苷间键联都是立构无规的。此类经修饰的寡核苷酸可使用随机选择每个硫代磷酸酯键联的立体化学构型的合成方法来生成。尽管如此,每个个别寡核苷酸分子的每个个别硫代磷酸酯具有确定的立体构型。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的群体富集包含一个或多个呈特定独立选择的立体化学构型的特定

糖部分不同于间隙的核苷的至少一些糖部分。具体而言,每个翼中最靠近间隙的核苷(5'翼的最3'端核苷和3'翼的最5'端核苷)的至少糖部分不同于相邻间隙核苷的糖部分,由此界定翼与间隙之间的边界(即,翼/间隙交界)。在某些实施方案中,间隙内的糖部分彼此相同。在某些实施方案中,间隙包括一个或多个核苷,所述核苷所具有的糖部分不同于间隙的一个或多个其他核苷的糖部分。在某些实施方案中,两个翼的糖基序彼此相同(对称间隙聚体)。在某些实施方案中,5'翼的糖基序不同于3'翼的糖基序(不对称间隙聚体)。

[0291] 在某些实施方案中,间隙聚体的翼包含1-6个核苷。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的每个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的至少一个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的至少两个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的至少三个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的至少四个核苷包含经修饰的糖部分。

[0292] 在某些实施方案中,间隙聚体的间隙包含7-12个核苷。在某些实施方案中,间隙聚体的间隙的每个核苷包含2'- β -D-脱氧核糖基糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的间隙的至少一个核苷包含经修饰的糖部分。

[0293] 在某些实施方案中,间隙聚体是脱氧间隙聚体。在某些实施方案中,在每个翼/间隙交界的间隙侧的核苷包含2'-脱氧核糖基糖部分,并且在每个翼/间隙交界的翼侧的核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙的每个核苷包含2'- β -D-脱氧核糖基糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的每个翼的每个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的翼的至少一个核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,间隙的一个核苷包含经修饰的糖部分并且间隙的每个其余核苷包含2'-脱氧核糖基糖部分。在某些实施方案中,间隙聚体的间隙的至少一个核苷包含2'-OMe糖部分。

[0294] 在本文中,间隙聚体的三个区域的长度(核苷数目)可使用记法[5'翼中的核苷数目]-[间隙中的核苷数目]-[3'翼中的核苷数目]来提供。因此,3-10-3间隙聚体由每个翼中的3个连接的核苷和间隙中的10个连接的核苷组成。如果此命名法之后接着是特定修饰,则所述修饰是每个翼的每个糖部分中的修饰并且间隙核苷包含2'- β -D-脱氧核糖基糖部分。因此,5-10-5MOE间隙聚体由5'翼中的5个连接的2'-MOE核苷、间隙中的10个连接的2'- β -D-脱氧核苷和3'翼中的5个连接的2'-MOE核苷组成。6-10-4MOE间隙聚体由5'翼中的6个连接的2'-MOE核苷、间隙中的10个连接的2'- β -D-脱氧核苷和3'翼中的4个连接的2'-MOE核苷组成。3-10-3cEt间隙聚体由5'翼中的3个连接的cEt核苷、间隙中的10个连接的2'- β -D-脱氧核苷和3'翼中的3个连接的cEt核苷组成。

[0295] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸是5-10-5MOE间隙聚体。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸是6-10-4MOE间隙聚体。

[0296] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸具有选自以下的糖基序(5'至3'):
eeeeeddddddddeeeee;其中每个“d”表示2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,并且每个“e”表示2'-MOE糖部分。

[0297] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸具有选自以下的糖基序(5'至3'):
eeeeeddddddddeeeee;其中每个“d”表示2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,并且每个“e”表示2'-MOE糖部分。

[0298] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸具有选自以下的糖基序(5'至3'):

kkkdddddskkk;其中每个“d”表示2’-β-D-脱氧核糖基糖部分,并且每个“k”表示cEt修饰的糖部分。

[0299] 2. 某些核碱基基序

[0300] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含以所定义的模式或基序沿寡核苷酸或其区域排列的经修饰和/或未经修饰的核碱基。在某些实施方案中,每个核碱基均经修饰。在某些实施方案中,核碱基均不经修饰。在某些实施方案中,每个嘌呤或每个嘧啶均经修饰。在某些实施方案中,每个胞嘧啶均经修饰。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸中的一些或所有胞嘧啶核碱基是5-甲基胞嘧啶。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的所有胞嘧啶核碱基都是5-甲基胞嘧啶并且所有其他核碱基都是未经修饰的核碱基。

[0301] 在某些实施方案中,具有间隙聚体基序的寡核苷酸包含含有经修饰的核碱基的核苷。在某些此类实施方案中,一个包含经修饰的核碱基的核苷位于具有间隙聚体基序的寡核苷酸的中央间隙中。在某些此类实施方案中,所述核苷的糖部分是2’-脱氧核糖基糖部分。

[0302] 3. 某些核苷间键联基序

[0303] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含以所定义的模式或基序沿寡核苷酸或其区域排列的经修饰和/或未经修饰的核苷间键联。在某些实施方案中,每个核苷间连接基团是磷酸二酯核苷间键联(P=O)。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷间连接基团是硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的每个核苷间键联独立地选自硫代磷酸酯核苷间键联和磷酸二酯核苷间键联。在某些实施方案中,每个硫代磷酸酯核苷间键联独立地选自立构无规硫代磷酸酯、(Sp)硫代磷酸酯和(Rp)硫代磷酸酯。

[0304] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的糖基序是间隙聚体并且间隙内的核苷间键联全部均经修饰。在某些此类实施方案中,翼中的一些或所有核苷间键联是未经修饰的磷酸二酯核苷间键联。在某些实施方案中,末端核苷间键联经修饰。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的糖基序是间隙聚体,并且核苷间键联基序在至少一个翼中包含至少一个磷酸二酯核苷间键联,其中所述至少一个磷酸二酯键联不是末端核苷间键联,并且其余核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。在某些此类实施方案中,所有硫代磷酸酯键联都是立构无规的。在某些实施方案中,翼中的所有硫代磷酸酯键联都是(Sp)硫代磷酸酯,并且间隙包含至少一个Sp,Sp,Rp基序。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸的群体富集包含此类核苷间键联基序的经修饰的寡核苷酸。

[0305] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸具有以下核苷间键联基序(5’至3’):sooossssssssooss硫代磷酸酯核苷间键联,其中每个“s”表示硫代磷酸酯核苷间键联并且每个“o”表示磷酸二酯核苷间键联。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸具有以下核苷间键联基序(5’至3’):soooooossssssssooss,其中每个“s”表示硫代磷酸酯核苷间键联并且每个“o”表示磷酸二酯核苷间键联。

[0306] II. 某些寡聚化合物

[0307] 在某些实施方案中,本文提供了寡聚化合物,其由寡核苷酸(经修饰或未经修饰)和任选地一个或多个接合基团和/或末端基团组成。接合基团由一个或多个接合部分和将接合部分连接至寡核苷酸的接合接头组成。接合基团可连接至寡核苷酸的任一端或两端和/或连接在任何内部位置。在某些实施方案中,接合基团连接至经修饰的寡核苷酸的核苷

的2'位。在某些实施方案中,连接至寡核苷酸的任一端或两端的接合基团是末端基团。在某些此类实施方案中,接合基团或末端基团连接在寡核苷酸的3'端和/或5'端。在某些此类实施方案中,接合基团(或末端基团)连接在寡核苷酸的3'端。在某些实施方案中,接合基团连接在寡核苷酸的3'端附近。在某些实施方案中,接合基团(或末端基团)连接在寡核苷酸的5'端。在某些实施方案中,接合基团连接在寡核苷酸的5'端附近。

[0308] 末端基团的实例包括(但不限于)接合基团、封端基团、磷酸酯部分、保护基团、经修饰或未经修饰的核苷和两个或更多个独立地经修饰或未经修饰的核苷。

[0309] A. 某些接合基团

[0310] 在某些实施方案中,寡核苷酸共价连接至一个或多个接合基团。在某些实施方案中,接合基团改变所连接的寡核苷酸的一种或多种特性,包括(但不限于)药效学、药代动力学、稳定性、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。

[0311] 在某些实施方案中,一个或多个碳水化合物部分与经修饰的寡核苷酸的接合可优化经修饰的寡核苷酸的一种或多种特性。在某些实施方案中,碳水化合物部分连接至经修饰寡核苷酸的经修饰亚基。例如,经修饰的寡核苷酸的一个或多个核糖核苷酸亚基的核糖可被另一部分置换,例如连接有碳水化合物配体的非碳水化合物(优选环状)载体。其中亚基的核糖被如此置换的核糖核苷酸亚基在本文中称为核糖置换修饰亚基(RRMS),其是经修饰的糖部分。环状载体可以是碳环系统,即一个或多个环原子可以是杂原子,例如氮、氧、硫。环状载体可以是单环系统,或者可含有两个或更多个环,例如稠环。环状载体可以是完全饱和的环系统,或者它可含有一个或多个双键。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸是间隙聚体。

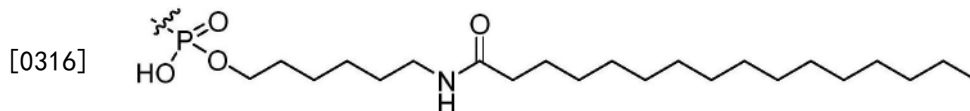
[0312] 在某些实施方案中,接合基团赋予所连接的寡核苷酸新的特性,例如使得能够检测寡核苷酸的荧光团或报告基团。某些接合基团和接合部分先前已予以阐述,例如:胆固醇部分(Letsinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86,6553-6556);胆酸(Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1994,4,1053-1060);硫醚,例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660,306-309;Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1993,3,2765-2770);硫胆固醇(Oberhauser等人,Nucl.Acids Res.,1992,20,533-538);脂族链,例如十二烷-二醇或十一烷基残基(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,例如二-十六烷基-外消旋-甘油或1,2-二-0-十六烷基-外消旋-甘油-3-H-磷酸三乙基铵(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654;Shea等人,Nucl.Acids Res.,1990,18,3777-3783);聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,Nucleosides&Nucleotides,1995,14,969-973);或金刚烷乙酸、棕榈基部分(Mishra等人,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264,229-237);十八烷基胺或己氨基-羰基-羟胆固醇部分(Crooke等人,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277,923-937);生育酚基团(Nishina等人,Molecular Therapy Nucleic Acids,2015,4,e220;和Nishina等人,Molecular Therapy,2008,16,734-740);或GalNAc簇(例如W02014/179620)。

[0313] 在某些实施方案中,接合基团可包含选自以下任一者的接合部分:C22烷基、C20烷基、C16烷基、C10烷基、C21烷基、C19烷基、C18烷基、C17烷基、C15烷基、C14烷基、C13烷基、C12烷基、C11烷基、C9烷基、C8烷基、C7烷基、C6烷基、C5烷基、C22烯基、C20烯基、C16烯基、

C10烯基、C21烯基、C19烯基、C18烯基、C17烯基、C15烯基、C14烯基、C13烯基、C12烯基、C11烯基、C9烯基、C8烯基、C7烯基、C6烯基或C5烯基。

[0314] 在某些实施方案中,接合基团可包含选自以下任一者的接合部分:C22烷基、C20烷基、C16烷基、C10烷基、C21烷基、C19烷基、C18烷基、C17烷基、C15烷基、C14烷基、C13烷基、C12烷基、C11烷基、C9烷基、C8烷基、C7烷基、C6烷基或C5烷基,其中烷基链具有一个或多个不饱和键。

[0315] 在某些实施方案中,接合基团是具有以下结构的脂质:



[0317] 1. 接合部分

[0318] 接合部分包括(但不限于)嵌插物、报告分子、聚胺、聚酰胺、肽、碳水化合物(例如GalNAc)、维生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、胆固醇、硫胆固醇、胆酸部分、叶酸盐、脂质、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、葱醌、金刚烷、吡啶、荧光素、罗丹明、香豆素、荧光团和染料。

[0319] 在某些实施方案中,接合部分包含活性原料药,例如阿司匹林(aspirin)、华法林(warfarin)、苯丁吡唑酮(phenylbutazone)、布洛芬(ibuprofen)、舒洛芬(suprofen)、芬布芬(fen-bufen)、酮洛芬(ketoprofen)、(S)-(+)-普拉洛芬(pranoprofen)、卡洛芬(carprofen)、丹磺酰肌氨酸(dansylsarcosine)、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德(fingolimod)、氟芬那酸(flufenamic acid)、亚叶酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮杂卓、吡啶美辛(indo-methicin)、巴比妥酸盐(barbiturate)、头孢菌素(cephalosporin)、磺胺药、抗糖尿病药、抗菌剂或抗生素。

[0320] 2. 接合接头

[0321] 接合部分经由接合接头连接至寡核苷酸。在某些寡聚化合物中,接合接头是单一化学键(即,接合部分经由单键直接连接至寡核苷酸)。在某些实施方案中,接合接头包含例如烃基链的链结构或例如乙二醇、核苷或氨基酸单元的重复单元的寡聚物。

[0322] 在某些实施方案中,接合接头包含吡咯烷。

[0323] 在某些实施方案中,接合接头包含一个或多个选自以下的基团:烷基、氨基、氧代基、酰胺、二硫化物、聚乙二醇、醚、硫醚和羟基氨基。在某些此类实施方案中,接合接头包含一个或多个选自以下的基团:烷基、氨基、氧代基、酰胺和醚基。在某些实施方案中,接合接头包含一个或多个选自烷基和酰胺基团的基团。在某些实施方案中,接合接头包含一个或多个选自烷基和醚基的基团。在某些实施方案中,接合接头包含至少一个磷部分。在某些实施方案中,接合接头包含至少一个磷酸基。在某些实施方案中,接合接头包括至少一个中性连接基团。

[0324] 在某些实施方案中,接合接头(包括上文所阐述的接合接头)是双官能连接部分,例如本领域中已知可用于将接合部分连接至化合物的那些双官能连接部分,例如本文所提供的寡核苷酸。一般而言,双官能连接部分包含至少两个官能团。选择一个官能团以与化合物上的特定位点反应,并且选择另一个官能团与接合部分反应。双官能连接部分中所用官能团的实例包括(但不限于)用于与亲核基团反应的亲电子试剂和用于与亲电子基团反应的亲核试剂。在某些实施方案中,双官能连接部分包含一个或多个选自以下的基团:氨基、

羟基、羧酸、硫醇、烷基、烯基和炔基。

[0325] 接合接头的实例包括(但不限于)吡咯烷、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺基酯(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。其他接合接头包括(但不限于)被取代或未被取代的 C_1 - C_{10} 烷基、被取代或未被取代的 C_2 - C_{10} 烯基或被取代或未被取代的 C_2 - C_{10} 炔基,其中优选取代基的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。

[0326] 在某些实施方案中,接合接头包含1-10个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含2-5个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含恰好3个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含TCA基序。在某些实施方案中,此类接头核苷是经修饰的核苷。在某些实施方案中,此类接头核苷包含经修饰的糖部分。在某些实施方案中,接头核苷未经修饰。在某些实施方案中,接头核苷包含选自以下的任选地被保护的杂环碱基:嘌呤、被取代的嘌呤、嘧啶或被取代的嘧啶。在某些实施方案中,可裂解部分是选自以下的核苷:尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基-5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤、6-N-苯甲酰基腺嘌呤、鸟嘌呤和2-N-异丁酰基鸟嘌呤。通常期望接头核苷在寡聚化合物到达靶组织后从寡聚化合物裂解。因此,接头核苷通常经由可裂解键彼此连接和连接至寡聚化合物的其余部分。在某些实施方案中,此类可裂解键是磷酸二酯键。

[0327] 在本文中,接头核苷不视为寡核苷酸的一部分。因此,在寡聚化合物包含由指定数目或范围的连接核苷组成和/或与参照核酸具有指定互补性百分比的寡核苷酸并且寡聚化合物也包含含有接合接头(包含接头核苷)的接合基团的实施方案中,那些接头核苷不计入寡核苷酸的长度并且不用于确定寡核苷酸对于参照核酸的互补性百分比。例如,寡聚化合物可包含(1)经修饰的寡核苷酸,其由8-30个核苷组成和(2)接合基团,其包含1-10个与经修饰的寡核苷酸的核苷邻接的接头核苷。在这种寡聚化合物中,邻接的连接核苷总数大于30。或者,寡聚化合物可包含由8-30个核苷组成的经修饰的寡核苷酸并且无接合基团。在这种寡聚化合物中,邻接的连接核苷总数不超过30。除非另有指示,否则接合接头包含不超过10个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含不超过5个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含不超过3个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含不超过2个接头核苷。在某些实施方案中,接合接头包含不超过1个接头核苷。

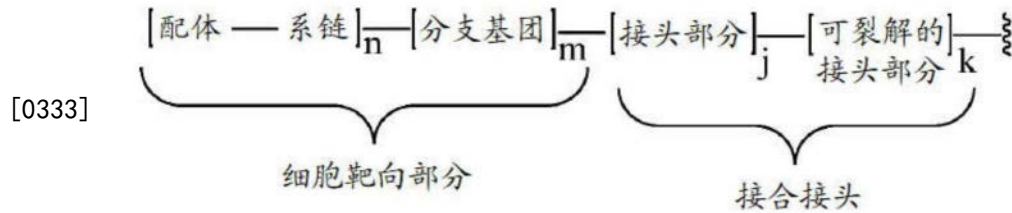
[0328] 在某些实施方案中,期望接合基团从寡核苷酸裂解。例如,在某些情况中,包含特定接合部分的寡聚化合物更佳由特定细胞类型摄取,但一旦寡聚化合物已被摄取,则期望裂解接合基团以释放未接合的寡核苷酸或母体寡核苷酸。因此,某些接合接头可包含一个或多个可裂解部分。在某些实施方案中,可裂解部分是可裂解键。在某些实施方案中,可裂解部分是包含至少一个可裂解键的原子团。在某些实施方案中,可裂解部分包含具有一个、两个、三个、四个或四个以上可裂解键的原子团。在某些实施方案中,可裂解部分在细胞或亚细胞区室(例如溶酶体)内部选择性裂解。在某些实施方案中,可裂解部分由内源性酶(例如核酸酶)选择性裂解。

[0329] 在某些实施方案中,可裂解键选自:酰胺、酯、醚、磷酸二酯的一个或两个酯、磷酸酯、氨基甲酸酯或二硫化物。在某些实施方案中,可裂解键是磷酸二酯的一个或两个酯。在某些实施方案中,可裂解部分包含磷酸酯或磷酸二酯。在某些实施方案中,可裂解部分是寡核苷酸与接合部分或接合基团之间的磷酸酯键联。

[0330] 在某些实施方案中,可裂解部分包含一个或多个接头核苷或由其组成。在某些此类实施方案中,所述一个或多个接头核苷经由可裂解键彼此连接和/或连接至寡聚化合物的其余部分。在某些实施方案中,此类可裂解键是未经修饰的磷酸二酯键。在某些实施方案中,可裂解部分是2'-脱氧核苷,所述2'-脱氧核苷通过磷酸酯核苷间键连接至寡核苷酸的3'或5'末端核苷并且通过磷酸酯或硫代磷酸酯键共价连接至接合接头或接合部分的其余部分。在某些此类实施方案中,可裂解部分是2'-脱氧腺苷。

[0331] 3. 细胞靶向部分

[0332] 在某些实施方案中,接合基团包含细胞靶向部分。在某些实施方案中,接合基团具有以下通式:



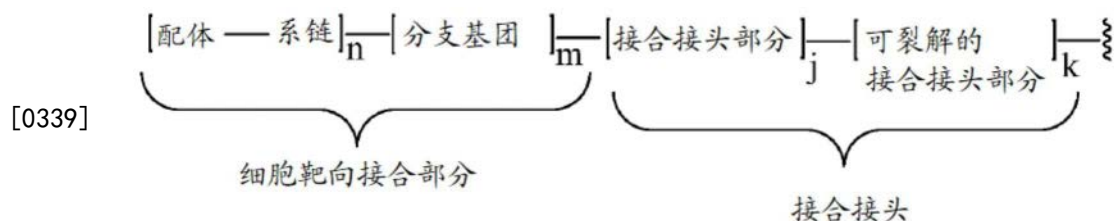
[0334] 其中n是1至约3,当n是1时m是0,当n是2或大于2时m是1,j是1或0,并且k是1或0。

[0335] 在某些实施方案中,n是1,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是1,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是1,j是1并且k是1。在某些实施方案中,n是2,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是2,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是2,j是1并且k是1。在某些实施方案中,n是3,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是3,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是3,j是1并且k是1。

[0336] 在某些实施方案中,接合基团包含具有至少一个栓系配体的细胞靶向部分。在某些实施方案中,细胞靶向部分包含两个共价连接至分支基团的栓系配体。

[0337] 在某些实施方案中,细胞靶向部分的每个配体对靶细胞上的至少一种类型的受体具有亲和力。在某些实施方案中,每个配体对哺乳动物肝脏细胞表面上的至少一种类型的受体具有亲和力。在某些实施方案中,每个配体对肝去唾液酸糖蛋白受体(ASGP-R)具有亲和力。在某些实施方案中,每个配体是碳水化合物。

[0338] 在某些实施方案中,接合基团包含细胞靶向接合部分。在某些实施方案中,接合基团具有以下通式:



[0340] 其中n是1至约3,当n是1时m是0,当n是2或大于2时m是1,j是1或0,并且k是1或0。

[0341] 在某些实施方案中,n是1,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是1,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是1,j是1并且k是1。在某些实施方案中,n是2,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是2,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是2,j是1并且k是1。在某些实施方案中,n是3,j是1并且k是0。在某些实施方案中,n是3,j是0并且k是1。在某些实施方案中,n是3,j是1并且k是1。

[0342] 在某些实施方案中,接合基团包含具有至少一个栓系配体的细胞靶向部分。在某些实施方案中,细胞靶向部分包含两个共价连接至分支基团的栓系配体。在某些实施方案中,细胞靶向部分包含三个共价连接至分支基团的栓系配体。

[0343] III. 某些末端基团

[0344] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含一个或多个末端基团。在某些此类实施方案中,寡聚化合物包含稳定化的5'-磷酸酯。稳定化的5'-磷酸酯包括(但不限于)5'-磷酸酯,包括(但不限于)5'-乙烯基磷酸酯。在某些实施方案中,末端基团包含一个或多个无碱基糖部分和/或反向核苷。在某些实施方案中,末端基团包含一个或多个2'连接的核苷或糖部分。在某些此类实施方案中,2'连接的基团是无碱基糖部分。

[0345] IV. 反义活性

[0346] 在某些实施方案中,寡聚化合物和寡聚双链体能够与靶核酸杂交,从而产生至少一种反义活性;此类寡聚化合物和寡聚双链体是反义化合物。在某些实施方案中,当反义化合物在标准细胞测定中使靶核酸的量或活性降低或抑制25%或更多时,其具有反义活性。在某些实施方案中,反义化合物选择性地影响一种或多种靶核酸。此类反义化合物包含如下核碱基序列:其与一种或多种靶核酸杂交,从而产生一种或多种期望的反义活性,并且不与一种或多种非靶核酸杂交或不以导致产生显著不期望的反义活性的方式与一种或多种非靶核酸杂交。

[0347] 在某些反义活性中,反义化合物与靶核酸的杂交使得裂解靶核酸的蛋白质募集。例如,某些反义化合物导致RNase H介导的靶核酸裂解。RNase H是细胞核酸内切酶,其裂解RNA:DNA双链体的RNA链。这种RNA:DNA双链体中的DNA无需是未经修饰的DNA。在某些实施方案中,本文阐述了充分“DNA样”以引发RNase H活性的反义化合物。在某些实施方案中,容许间隙聚体的间隙中存在一个或多个非DNA样核苷。

[0348] 在某些反义活性中,反义化合物或反义化合物的一部分加载至RNA诱导的沉默复合物(RISC)中,最终导致靶核酸裂解。例如,某些反义化合物使得靶核酸由亚古尔蛋白(Argonaute)裂解。加载至RISC中的反义化合物是RNAi化合物。RNAi化合物可为双链的(siRNA或dsRNAi)或单链的(ssRNA)。

[0349] 在某些实施方案中,反义化合物与靶核酸的杂交不会使裂解所述靶核酸的蛋白质募集。在某些实施方案中,反义化合物与靶核酸的杂交导致靶核酸的剪接改变。在某些实施方案中,反义化合物与靶核酸的杂交导致抑制靶核酸与蛋白质或其他核酸之间的结合相互作用。在某些实施方案中,反义化合物与靶核酸的杂交导致靶核酸的翻译改变。

[0350] 可直接或间接地观察反义活性。在某些实施方案中,观察或检测反义活性涉及观察或检测靶核酸或由所述靶核酸编码的蛋白质的量的变化、核酸或蛋白质的剪接变体的比率的变化和/或细胞或动物的表型变化。

[0351] V. 某些靶核酸

[0352] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含含有与靶核酸互补的区域的寡核苷酸或由其组成。在某些实施方案中,靶核酸是内源性RNA分子。在某些实施方案中,靶核酸编码蛋白质。在某些此类实施方案中,靶核酸选自:成熟mRNA和前体mRNA,包括内含子、外显子和非翻译区。在某些实施方案中,靶RNA是成熟mRNA。在某些实施方案中,靶核酸是前体mRNA。在某些实施方案中,靶区完全位于内含子内。在某些实施方案中,靶区跨内含子/外显子交界。在

某些实施方案中,靶区至少50%位于内含子内。

[0353] A. IFNAR1

[0354] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含含有与靶核酸互补的区域的寡核苷酸或由其组成,其中靶核酸是IFNAR1核酸。在某些实施方案中,IFNAR1核酸具有以SEQ ID NO:1 (GENBANK登录号NC_000021.9,从33321001至33363000截短)或SEQ ID NO:2 (GENBANK登录号NM_000629.2)所示的序列。在某些实施方案中,使细胞与同SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2互补的寡聚化合物接触减少了IFNAR1 RNA的量,并且在某些实施方案中减少了IFNAR1蛋白的量。在某些实施方案中,寡聚化合物由经修饰的寡核苷酸组成。在某些实施方案中,寡聚化合物由经修饰的寡核苷酸和接合基团组成。

[0355] B. 某些组织中的某些靶核酸

[0356] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含寡核苷酸或由寡核苷酸组成,所述寡核苷酸包含与靶核酸互补的区域,其中所述靶核酸在药理学相关组织中表达。在某些实施方案中,药理学相关组织是脑和脊髓。在某些实施方案中,靶核酸在药理学相关细胞中表达。在某些实施方案中,药理学相关细胞是神经元或神经胶质细胞。在某些实施方案中,药理学相关细胞是星形胶质细胞或小神经胶质细胞。在某些实施方案中,药理学相关细胞是血管平滑肌细胞、血管内皮细胞或周细胞。

[0357] VI. 某些方法和用途

[0358] 本文提供的某些实施方案涉及抑制IFNAR1表达的方法,所述方法可用于治疗受试者中与神经炎症相关的疾病,例如,与I型干扰素信号传导升高或与I型干扰素过度表达相关的疾病,其通过施用寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者包含具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列的经修饰的寡核苷酸。

[0359] 可用本文提供的寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸、寡聚双链体和方法治疗的疾病的实例包括与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,例如,与升高的I型干扰素信号传导或与I型干扰素的过度表达相关的疾病,其选自 **Aicardi-Goutières** 综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。在某些实施方案中,方法包括向受试者施用寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列。在某些实施方案中,受试者患有与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,其选自 **Aicardi-Goutières** 综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。在某些实施方案中,治疗受试者中选自 **Aicardi-Goutières** 综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症的与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列,从而治疗所述受试者。在某些实施方案中,施用治疗有效量的寡聚化合物或经修饰的寡核苷酸改善了与神经炎症相关的疾病或疾患的症状或标志。在某些实施方案中,所述症状或标志选自癫痫发

作、进食困难、肌张力障碍、痉挛、运动发育迟缓、语言发育迟缓、社交技能发育迟缓、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化和小脑畸形。在某些实施方案中,施用治疗有效量的寡聚化合物或经修饰的寡核苷酸减少了受试者的脑脊髓液中的I型IFN信号传导或淋巴细胞增多。

[0360] 在某些实施方案中,在患有与神经炎症相关的疾病(例如,与升高的I型干扰素信号传导或与I型干扰素的过度表达相关的疾病)的受试者中抑制IFNAR1核酸(例如RNA)表达的方法包括向所述受试者施用寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列,从而抑制所述受试者中IFNAR1核酸的表达。在某些实施方案中,施用寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体抑制IFNAR1在脑或脊髓中的表达。在某些实施方案中,所述受试者患有与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,其选自Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。在某些实施方案中,抑制细胞中IFNAR1核酸表达的方法包括使所述细胞与寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体接触,其中任一者具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列,从而抑制IFNAR1核酸在细胞中的表达。在某些实施方案中,所述细胞是神经胶质细胞,例如星形胶质细胞或小神经胶质细胞。在某些实施方案中,所述细胞在患有与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患的受试者中,所述疾病或疾患选自Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。

[0361] 某些实施方案涉及一种寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列,用于治疗与神经炎症相关的疾病,例如,与I型干扰素信号传导升高或IFN α 过度表达相关的疾病。在某些实施方案中,所述疾病是与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,其选自Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。在某些实施方案中,寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体用于改善选自Aicardi-Goutières综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症的与神经炎症相关的疾病或疾患的症状或标志。在某些实施方案中,所述症状或标志选自癫痫发作、进食困难、肌张力障碍、痉挛、运动发育迟缓、语言发育迟缓、社交技能发育迟缓、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化和小脑畸形。在某些实施方案中,寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体用于减少受试者的脑脊髓液中的I型IFN信号传导或淋巴细胞增多。

[0362] 某些实施方案涉及一种寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体,其中任一者包含具有与IFNAR1核酸互补的核碱基序列的经修饰的寡核苷酸,用于制造或制备用于治疗与神经炎症相关的疾病(例如,与I型干扰素信号传导升高或与IFN α 过度表达相关的疾

病)的药物。在某些实施方案中,所述疾病是与神经炎症相关的神经系统疾病或疾患,其选自 **Aicardi-Goutières** 综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症。在某些实施方案中,寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体用于制造或制备用于改善与 **Aicardi-Goutières** 综合征、中风、神经精神系统性红斑狼疮、创伤性脑损伤后的神经炎症、神经自身免疫性病症、阿尔茨海默病、术后谵妄和认知衰退、颅脑辐射引起的认知衰退、病毒感染引起的认知衰退、视神经脊髓炎和共济失调性毛细血管扩张症相关的症状或标志的药物。在某些实施方案中,所述症状或标志选自癫痫发作、进食困难、肌张力障碍、痉挛、运动发育迟缓、语言发育迟缓、社交技能发育迟缓、白质异常、T细胞浸润、B细胞浸润、纹状体坏死、脑萎缩、基底神经节钙化和小脑畸形。在某些实施方案中,寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体用于制造或制备用于减少受试者的脑脊髓液中的I型IFN信号传导或淋巴细胞增多的药物。

[0363] 在本文所阐述的任何方法或用途中,寡聚化合物、经修饰的寡核苷酸或寡聚双链体可以是本文所阐述的任何一种。

[0364] VII. 某些药物组合物

[0365] 在某些实施方案中,本文阐述了包含一种或多种寡聚化合物的药物组合物。在某些实施方案中,所述一种或多种寡聚化合物各自由经修饰的寡核苷酸组成。在某些实施方案中,药物组合物包含药学上可接受的稀释剂或载体。在某些实施方案中,药物组合物包含无菌盐水溶液和一种或多种寡聚化合物,或由其组成。在某些实施方案中,无菌盐水是药物级盐水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和无菌水,或由其组成。在某些实施方案中,无菌水是药物级水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和磷酸盐缓冲盐水(PBS),或由其组成。在某些实施方案中,无菌PBS是药物级PBS。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和人工脑脊髓液,或由其组成。在某些实施方案中,人工脑脊髓液是药物级人工脑脊髓液。

[0366] 在某些实施方案中,药物组合物包含经修饰的寡核苷酸和PBS。在某些实施方案中,药物组合物由经修饰的寡核苷酸和PBS组成。在某些实施方案中,药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸和PBS组成。在某些实施方案中,PBS是药物级的。

[0367] 在某些实施方案中,药物组合物包含经修饰的寡核苷酸和人工脑脊髓液。在某些实施方案中,药物组合物由经修饰的寡核苷酸和人工脑脊髓液组成。在某些实施方案中,药物组合物基本上由经修饰的寡核苷酸和人工脑脊髓液组成。在某些实施方案中,人工脑脊髓液是药物级的。

[0368] 在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种寡聚化合物和一种或多种赋形剂。在某些实施方案中,赋形剂选自水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、淀粉酶、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。

[0369] 在某些实施方案中,寡聚化合物可与药学上可接受的活性和/或惰性物质混合以供制备药物组合物或制剂。用于配制药组合物的组合物和方法取决于多种标准,包括(但不限于)施用途径、疾病程度或待施用的剂量。

[0370] 在某些实施方案中,包含寡聚化合物的药物组合物涵盖所述寡聚化合物的任何药

学上可接受的盐、所述寡聚化合物的酯或此类酯的盐。在某些实施方案中,包含含有一种或多种寡核苷酸的寡聚化合物的药物组合物在施用于动物(包括人类)时能够提供(直接或间接地)生物活性代谢物或其残余物。因此,例如,本公开也涉及寡聚化合物的药学上可接受的盐、前药、此类前药的药学上可接受的盐和其他生物等效形式。适宜的药学上可接受的盐包括(但不限于)钠盐和钾盐。在某些实施方案中,前药包含一个或多个连接至寡核苷酸的接合基团,其中所述接合基团由体内的内源性核酸酶裂解。

[0371] 在多种方法中已将脂质部分用于核酸疗法中。在某些此类方法中,将核酸(例如寡聚化合物)引入至由阳离子脂质和中性脂质的混合物制得的预形成的脂质体或脂质复合物(lipoplex)中。在某些方法中,在不存在中性脂质的情形下形成具有单阳离子脂质或聚阳离子脂质的DNA复合物。在某些实施方案中,选择脂质部分以增加医药剂至特定细胞或组织的分布。在某些实施方案中,选择脂质部分以增加医药剂至脂肪组织的分布。在某些实施方案中,选择脂质部分以增加医药剂至肌肉组织的分布。

[0372] 在某些实施方案中,药物组合物包含递送系统。递送系统的实例包括(但不限于)脂质体和乳液。某些递送系统可用于制备某些药物组合物,包括那些包含疏水性化合物的药物组合物。在某些实施方案中,使用某些有机溶剂,例如二甲亚砜。

[0373] 在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种组织特异性递送分子,所述递送分子经设计以将一种或多种本发明的医药剂递送至特定组织或细胞类型。例如,在某些实施方案中,药物组合物包括包覆有组织特异性抗体的脂质体。

[0374] 在某些实施方案中,药物组合物包含共溶剂体系。某些此类共溶剂体系包含例如苯醇、非极性表面活性剂、水可混溶性有机聚合物和水相。在某些实施方案中,此类共溶剂体系用于疏水性化合物。这种共溶剂体系的非限制性实例是VPD共溶剂体系,其是包含3% w/v苯醇、8% w/v非极性表面活性剂聚山梨醇酯80TM和65% w/v聚乙二醇300的无水乙醇溶液。此类共溶剂体系的比例可相当大地改变,而不显著地改变其溶解性和毒性特征。此外,共溶剂组分的属性(identity)可改变:例如,可使用其他表面活性剂代替聚山梨醇酯80TM;聚乙二醇的分率大小可改变;其他生物相容性聚合物可代替聚乙二醇,例如聚乙烯吡咯烷酮;并且可用其他糖或多糖取代右旋糖。

[0375] 在某些实施方案中,药物组合物经制备用于口服施用。在某些实施方案中,药物组合物经制备用于经颊施用。在某些实施方案中,药物组合物经制备用于通过注射施用(例如静脉内、皮下、肌内、鞘内(IT)、脑室内(ICV)等)。在某些此类实施方案中,药物组合物包含载体并在水溶液中配制,所述水溶液是例如水或生理学相容性缓冲液,例如汉克氏溶液(Hanks's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水缓冲液。在某些实施方案中,包括其他成分(例如帮助溶解或充当防腐剂的成分)。在某些实施方案中,使用适当液体载体、悬浮剂等来制备可注射悬浮液。某些注射用药物组合物是以单位剂型(例如于安瓿中或于多剂量容器中)呈现。某些注射用药物组合物是于油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液,并且可含有例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。适用于注射用药物组合物中的某些溶剂包括(但不限于)亲脂性溶剂和脂肪油(例如芝麻油)、合成脂肪酸酯(例如油酸乙酯或甘油三酯)和脂质体。

[0376] 在某些条件下,本文所公开的某些化合物充当酸。尽管此类化合物可以质子化(游离酸)形式、或电离和与阳离子缔合(盐)形式来绘制或描述,但此类化合物的水溶液以此类

形式平衡存在。例如,水溶液中寡核苷酸的磷酸酯键联以游离酸、阴离子和盐形式平衡存在。除非另有指示,否则本文所阐述的化合物意在包括所有此类形式。此外,某些寡核苷酸具有若干此类键联,其各自处于平衡状态。因此,溶液中的寡核苷酸以一系列形式存在于多个位置,全部处于平衡状态。术语“寡核苷酸”意在包括所有此类形式。所绘制的结构必然绘示单一形式。然而,除非另有指示,否则此类附图同样意在包括对应形式。在本文中,绘示化合物的游离酸的结构继之以术语“或其盐”明确地包括可为完全或部分质子化/去质子化/与阳离子缔合的所有此类形式。在某些情况下,鉴定出一种或多种特定阳离子。

[0377] 在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在含钠水溶液中。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在含钾水溶液中。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在PBS中。在某些实施方案中,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在水中。在某些此类实施方案中,利用NaOH和/或HCl调整溶液的pH以实现期望pH。

[0378] 在本文中,对某些具体剂量进行阐述。剂量可呈剂量单位形式。为清晰起见,经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物的剂量(或剂量单位)(以毫克计)指示所述经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物的游离酸形式的质量。如上文所阐述,在水溶液中,游离酸与阴离子和盐形式处于平衡状态。然而,出于计算剂量的目的,假定经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物以无溶剂、无乙酸钠、无水的游离酸形式存在。例如,如果经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物在包含钠的溶液(例如盐水)中,则所述经修饰的寡核苷酸或寡聚化合物可部分或完全去质子化并与Na⁺离子缔合。然而,质子的质量仍然计入剂量的重量,而Na⁺离子的质量不计入剂量的重量。因此,例如,剂量或剂量单位为10mg的1492069号化合物等于重量为10mg的完全质子化分子的数量。这相当于10.59mg的无溶剂、无乙酸钠、无水钠化的1492069号化合物。当寡聚化合物包含接合基团时,在计算此类寡聚化合物的剂量时包括接合基团的质量。如果接合基团也具有酸,则出于计算剂量的目的,同样假定接合基团完全质子化。

[0379] 非限制性公开内容和通过引用并入

[0380] 本文所列示的每个文献和专利公开都是通过引用整体并入。

[0381] 虽然已根据某些实施方案具体地阐述本文所阐述的某些化合物、组合物和方法,但以下实施例仅用于阐释本文所阐述的化合物并且不旨在限制所述化合物。本申请中所列举的每个参考文献、GenBank登录号、ENSEMBL标识符等都是通过引用整体并入本文。

[0382] 尽管伴随此申请的序列表根据需要将每个序列鉴定为“RNA”或“DNA”,但实际上,那些序列可用任何化学修饰组合加以修饰。本领域技术人员将容易地了解,在某些情况下,例如“RNA”或“DNA”的描述经修饰的寡核苷酸的名称是任意的。例如,可将包含含有2'-OH糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的寡核苷酸描述为具有经修饰的糖(2'-OH代替DNA的一个2'-H)的DNA或描述为具有经修饰的碱基(胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶)代替RNA的尿嘧啶)的RNA。因此,本文所提供的核酸序列(包括(但不限于)序列表中的那些核酸序列)旨在涵盖含有天然或经修饰的RNA和/或DNA的任何组合的核酸,包括(但不限于)具有经修饰的核碱基的此类核酸。作为另一实例但无限制性,具有核碱基序列“ATCGATCG”的寡聚化合物涵盖具有此核碱基序列的任何寡聚化合物,无论是经修饰或未经修饰的,包括(但不限于)包含RNA碱基的此类化合物,例如具有序列“AUCGAUCG”的那些化合物;和具有一些DNA碱基和一些RNA碱基的那些化合物,例如“AUCGATCG”;和具有其他经修饰的核碱基的寡聚化合物,例如“AT^mCGAUCG”,其中^mC指示在5位包含甲基的胞嘧啶碱基。

[0383] 本文所阐述的某些化合物(例如经修饰的寡核苷酸)具有一个或多个非对称中心,并且由此产生对映异构体、非对映异构体和其他立体异构构型,所述构型可就绝对立体化学而言定义为(R)或(S)、 α 或 β (例如对于糖变旋异构体)或者(D)或(L)(例如对于氨基酸等)。本文所提供的绘制或描述为具有某些立体异构构型的化合物仅包括所指示的化合物。除非另有指定,否则本文所提供的以未定义的立体化学绘制或描述的化合物包括所有此类可能的异构体,包括其立构无规形式和光学纯形式。同样,除非另有指示,否则还包括本文化合物的互变异构形式。除非另有指示,否则本文所阐述的化合物意在包括相应的盐形式。

[0384] 本文所阐述的化合物包括一个或多个原子被指示元素的非放射性同位素或放射性同位素代替的变化形式。例如,包含氢原子的本文化合物涵盖针对每个 ^1H 氢原子的所有可能的氘取代。本文化合物所涵盖的同位素取代包括(但不限于): ^2H 或 ^3H 代替 ^1H , ^{13}C 或 ^{14}C 代替 ^{12}C , ^{15}N 代替 ^{14}N , ^{17}O 或 ^{18}O 代替 ^{16}O 以及 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{35}S 或 ^{36}S 代替 ^{32}S 。在某些实施方案中,非放射性同位素取代可赋予寡聚化合物新的性质,所述新的性质对于用作治疗或研究工具是有益的。在某些实施方案中,放射性同位素取代可使化合物适于研究或诊断目的,例如成像。

[0385] 实施例

[0386] 以下实施例阐释本公开的某些实施方案并且不具有限制性。此外,在提供具体实施方案的情形下,本发明人考虑了那些具体实施方案的通用应用。例如,具有特定基序的寡核苷酸的公开内容为具有相同或相似基序的其他寡核苷酸提供了合理的支持。并且,例如,当特定的高亲和力修饰出现在特定位置时,在相同位置的其他高亲和力修饰被认为是合适的,除非另有说明。

[0387] 实施例1:与人类IFNAR1核酸互补的经修饰的寡核苷酸的设计

[0388] 如下表所述,设计了与人类IFNAR1核酸互补的经修饰的寡核苷酸。“起始位点”指示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最5'端核苷。“终止位点”指示靶核酸序列中与经修饰的寡核苷酸互补的最3'端核苷。下表中列出的每个经修饰的寡核苷酸与SEQ ID NO 1(GENBANK登录号NC_000021.9,从33321001至33363000截短)、SEQ ID NO 2(GENBANK登录号NM_000629.2)或与两者100%互补。“N/A”指示经修饰的寡核苷酸不是与所述特定靶核酸序列100%互补。

[0389] 下表中的经修饰的寡核苷酸是5-10-5MOE间隙聚体。所述间隙聚体的长度为20个核苷,其中所述间隙聚体的糖基序为(从5'至3'):eeeeeddddddddeeeee;其中每个“d”表示2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,并且每个“e”表示2'-MOE糖部分。所述间隙聚体具有以下核苷间键联基序(从5'至3'):sooossssssssooss;其中每个“s”表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个“o”表示磷酸二酯核苷间键联。每个胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。

[0390] 表1

[0391] 与人类IFNAR1互补的具有混合PO/PS核苷间键联的5-10-5MOE间隙聚体

化合物编号	序列(5'至3')	SEQ ID NO 1 起始位点	SEQ ID NO 1 终止位点	SEQ ID NO 2 起始位点	SEQ ID NO 2 终止位点	SEQ ID NO
[0392] 1489525	TTTATCCAATTATCCATCCC	20003	20022	352	371	9
1492069	TCGCCTAATTTTCTCTCAC	22455	22474	N/A	N/A	10
1492037	TTTGCATATGTATAATCCCA	24314	24333	889	908	15

[0393] 下表中的经修饰的寡核苷酸是6-10-4MOE间隙聚体。所述间隙聚体的长度为20个核苷,其中所述间隙聚体的糖基序为(从5'至3'):eeeeeddddddddeeee;其中每个“d”表示2'- β -D-脱氧核糖基糖部分,并且每个“e”表示2'-MOE糖部分。所述间隙聚体具有以下核苷间键联基序(从5'至3'):soooooosssssssssoss;其中每个“s”表示硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个“o”表示磷酸二酯核苷间键联。每个胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。

[0394] 表2

[0395] 与人类IFNAR1互补的具有混合PO/PS核苷间键联的6-10-4MOE间隙聚体

化合物编号	序列(5'至3')	SEQ ID NO 1 起始位点	SEQ ID NO 1 终止位点	SEQ ID NO 2 起始位点	SEQ ID NO 2 终止位点	SEQ ID NO
[0396] 1489477	CTTTTCTGCTCTTATACGC	20104	20123	453	472	11
1489494	CTGTTTTACATTTTTTCC	20591	20610	N/A	N/A	12
1492082	TTTCATATTTGTTACTTCCT	29981	30000	N/A	N/A	13
1492131	TTCGCCTAATTTTCTCTCA	22456	22475	N/A	N/A	14

[0397] 实施例2:转基因小鼠中与人类IFNAR1互补的经修饰的寡核苷酸的活性

[0398] 上述经修饰的寡核苷酸在人类IFNAR1转基因小鼠模型中进行了测试。产生了表达人类IFNAR1转录本的转基因小鼠。

[0399] 将来自fosmid ABCS-41091_400N2的人类IFNAR1基因的外显子1-6和约4.9kB的上游序列亚克隆到BAC,CTD-2289N21,其含有人类IFNAR1基因的外显子7-11和156kB的下游序列,以产生完整的IFNAR1转基因。用Not1消化工程化BAC以去除BAC骨架。将含有完整人类IFNAR1基因的纯化BAC片段通过原核注射引入C57BL/6小鼠的受精卵中,以产生三个创始品系。品系17505用于本文所阐述的实验中。

[0400] 治疗

[0401] 将转基因小鼠分成每组2只小鼠的组。每只小鼠接受300 μ g经修饰寡核苷酸的单次ICV推注。一组2-4只小鼠接受PBS作为阴性对照。

[0402] RNA分析

[0403] 治疗两周后,处死小鼠,并从皮层脑组织和脊髓中提取RNA用于RT-PCR分析,以使用人类引物探针组RTS44352(正向序列CTTTCAAGTTCAGTGGCTCCA,本文中指定为SEQ ID NO 6;反向序列CGTTTTGAGGAAAGACACTG,本文中指定为SEQ ID NO 7;探针序列AGTTTTGACATTTT CACAGTCAGGTATTTGTTCC,本文中指定为SEQ ID NO 8)测量IFNAR1 RNA的量。结果呈现为相

对于PBS对照的人类IFNAR1百分比,针对18S核糖体RNA归一化。使用小鼠18S引物探针组PPS54360(正向序列GGAAGTGGCCATGATTAAGA,本文中指定为SEQ ID NO:3;反向序列ACCTCCGACTTTCGTTCTTG,本文中指定为SEQ ID NO:4;探针序列AAGACGGACCAGAGCGAAAGCAT,本文中指定为SEQ ID NO:5)扩增18S核糖体RNA。

[0404] 表3

[0405] 用300 μ g经修饰寡核苷酸治疗的转基因小鼠(n=2)中人类IFNAR1
[0406] RNA的减少

化合物 ID	IFNAR1 RNA (对照%)	
	脊髓	皮层
PBS	100	100
1489494	18	8
1489525	32	25
1492069	23	24
1492131	20	28

[0407] ‡指示可用样品少于2个

[0408] 表4

[0409] 用300 μ g经修饰寡核苷酸治疗的转基因小鼠(n=2)中人类IFNAR1
[0410] RNA的减少

化合物 ID	IFNAR1 RNA (对照%)	
	脊髓	皮层
PBS	100	100
1489477	32	27
1492082	19	10
1492069	20	18

[0411] 实施例3:转基因小鼠中与人类IFNAR1 RNA互补的经修饰的寡核苷酸的效力

[0412] 上述经修饰的寡核苷酸在人类IFNAR1转基因小鼠(上文所阐述)中进行了测试。

[0413] 治疗

[0414] 将人类IFNAR1转基因小鼠分成每组4只小鼠的组。每只小鼠接受下表所示剂量的经修饰寡核苷酸的单次ICV推注。一组4只小鼠接受PBS作为阴性对照。

[0415] RNA分析

[0416] 治疗两周后,处死小鼠,并从脊髓、皮层和小脑中提取RNA以用于使用引物探针组RTS44352(上文所阐述)对IFNAR1的RNA表达进行定量实时RTPCR分析。结果呈现为相对于PBS对照的人类IFNAR1 RNA百分比,针对18S PCR(上文所阐述)进行调整。

[0417] 使用GraphPad Prism 7软件(GraphPad Software, San Diego, CA)计算每个经修饰寡核苷酸的半数最大有效剂量(ED₅₀)。ED₅₀值是使用自定义方程从剂量和个体动物IFNAR1 RNA水平计算的:激动剂与反应-可变斜率(四个参数)Y=底部+(顶部-底部)/(1+(10^{log}ED50/X)^{Hi11斜率}),具有以下约束条件:底部>0,顶部=100。

[0418] 如下表所示,与PBS对照相比,用经修饰的寡核苷酸治疗导致IFNAR1 RNA剂量响应性减少。

[0421] 表5

[0422] 转基因小鼠中人类IFNAR1 RNA的减少

化合物 ID	剂量 (µg)	脊髓		皮层		小脑	
		IFNAR1 RNA (对照%)	ED ₅₀ (µg)	IFNAR1 RNA (对照%)	ED ₅₀ (µg)	IFNAR1 RNA (对照%)	ED ₅₀ (µg)
PBS	N/A	100	N/A	100	N/A	100	N/A
1489494	10	100	79	85	92	81	105
	30	73		83		75	
	100	49		50		51	
	300	22		15		31	
	700	13		6		19	
1489525	10	77	319	79	31	78	215
	30	60		32		51	
	100	75		63		71	
	300	50		24		46	
	700	43		21		37	
1492037	10	118	114	85	88	81	133
	30	73		39		64	
	100	60		37		61	
	300	37		24		43	
	700	26		16		29	
1492069	10	96	104	84	47	74	129
	30	80		69		75	
	100	60		34		48	
	300	28		20		43	
	700	23‡		12		29	
1492082	10	98	177	75	50	76	142
	30	53		46		55	
	100	71		46		66	
	300	41		15		39	
	700	29		14		33	
1492131	10	114	83	77	32	77	105
	30	92		63		68	
	100	57		24		48	
	300	39		21		40	
	700	27		13		23	

[0423]

[0424] ‡指示可用样品少于4个表6转基因小鼠中人类IFNAR1 RNA的减少

[0425]	化合物 ID	剂量 (μg)	脊髓		皮层		小脑	
			IFNAR1 RNA (对 照%)	ED ₅₀ (μg)	IFNAR1 RNA (对 照%)	ED ₅₀ (μg)	IFNAR1 RNA (对 照%)	ED ₅₀ (μg)
	PBS	N/A	100	N/A	100	N/A	100	N/A
[0426]	1489477	10	86	91.9	100 \ddagger	245	98	480
		30	77		96		88	
		100	54		72		74	
		300	29		51		62	
		700	24		28		41	

[0427] \ddagger 指示可用样品少于4个。

序列表

- <110> IONIS制药公司(Ionis Pharmaceuticals, Inc.)
 <120> 用于降低IFNAR1表达的化合物和方法
 <130> BIOL0386W0
 <150> 63/212,454
 <151> 2021-06-18
 <160> 15
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 42000
 <212> DNA
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 1

tttcaagata cataaattat acctctaaga tgtttttaa ataggcatat ttcccctggg	60
cgtggtgact cacgcctgca atcccagcac tccgggaagc aaaggtgagc ggatcacttc	120
aggtcaggag ttccagacca gcctgggtaa cacagcggaa atcccatctc cactaaaaat	180
acaaaaacta gccgggcgca atagcgaca gctgtaatct cagctactca ggaggctgaa	240
gcaggagaat cgcttgaacc cggaaggcgg aggttgtggt gagccgagat cgcgccactg	300
cactccagcc cgggtgacag agcaagactc cgattcgaac aatgcaatgg aatatataca	360
tatatgtata tatggaacat atatacatat gtggaacaaa tacatatatg gaacatacat	420
atgtggaaca aatacatata tggaacatac atatgtgga ccaatacata tatggaacat	480
acatatgtgg aaccaataca tatatgcaac atacatatgt ggaaccaata catatatgca	540
acatatatat gtggaaccaa tacatatatg caacatatat atgtggaacc aatacatata	600
tgcaacatat atatgtgga ccaatacata tatgcaacat atatatgtgg aaccaataca	660
tatatgcaac atatatatgt ggaaccaata catatatgca acatatatat gtggaaccaa	720
tacatatatg caacatatat atgtggaacc aatacatata tgcaacatat atatgtgga	780
ccaatacata tatagaacat atatatgtgg aaccaatata tatggaacat acgtatgtgg	840
aacatacata tgtggaacat acgtatgtgg accatacata tgtggaacat acgtatgtgg	900
accatacata tgtggaacat acgtatgtgg accatacata tgtgaaacat acgtatgtcg	960
accatacgta tgggtcccat atacatatgg gacacatacg tatggaatat atatatggga	1020
cacatacgta tggaatatat acgtatatat acatatggga cacatacgta tggaatatac	1080
atatggaata tacatatatg ggacacataa gtatggaata tatacgtagt gaatatacac	1140
gcatggaata tatacgtagt gaatatatat gtatggaata tacacgtctg gaatatatat	1200
gtatggaata ttcacgtatg gaatatatat ctggaatata tatatatgga atatatatct	1260
ggaatataata tatggaatat atatctggaa tatatatata tggaatatat atctggaata	1320
tatatatatg gaatatatat ctggaatata tatatggaat atatatctgg aatatatata	1380
tatggaatat atatctggaa tatatatata tggaatatat atatggaata tatatatatg	1440
gaatatatat ggaatataata tatatggaat atatatatgc aatatacata tatggaatat	1500

atatatgcaa	tatacatata	tggaatacat	atatgcaata	tatatatgga	atatatatat	1560
ggaatatata	tatggaatat	atatataata	tatatacggg	atatatatat	acggaatata	1620
tatataatat	atatacggaa	tatatatata	cggaaatat	atataatata	tatacggaa	1680
atatatatac	ggaatatata	tataatatat	atataatata	tatacggaa	atatatatac	1740
ggaatatata	tataatatat	gtatggaata	tatatatac	gaaatatat	ataatatatg	1800
tatggaatat	atatatacgg	aatatatata	taatatatgt	atggaatata	tatatacggg	1860
atagatatat	aatatatgta	tggaatatat	atatacggaa	tatatatata	atatatatat	1920
atggcatata	tacatggaat	atatatatat	ggaatatata	catggaatat	atatatatgg	1980
aatatataca	tggaatatat	atatatggaa	tatatacatg	gaaatatat	atatggaata	2040
tatacatgga	atatatatat	atggaatata	tacatggaat	atatatatat	ggcatatata	2100
catggaatat	atatatatgg	catatataca	tgccatata	atatatggca	tatatatata	2160
tgccatata	atatggcata	tatatatatg	gcatatata	atggcatata	tatatatggc	2220
atatatatat	ggcatatata	tatatggcat	atatatatgg	catatata	tatggcatat	2280
atatatggca	tatatatata	tgccatata	atatggcata	tatatatggc	atatatatat	2340
ggcatatata	tatggcatat	atatatggct	atagagatgg	catatata	tgccatata	2400
agatggcata	tagagatggc	atatagagat	ggcatataga	gatggcatat	agagatggca	2460
tatagagatg	gcatatagag	atggcatata	gagatggaat	atagagatgg	aatatatatg	2520
gcatatagag	atggaatata	tatggcatat	agagatggaa	tatatatggc	atatagagat	2580
ggcatataga	gatggaatat	agagatggaa	tatagagatg	gaaatagat	ggaatataga	2640
gatggaatag	atatggaata	tagagatgga	atagagatgg	aatatagaga	tggaatatag	2700
agatgggata	tagagatggg	atatagagat	gggatataga	gatgggat	agagatggga	2760
tatagagatg	ggatatagtg	atggaatata	gagatgggat	atagagatgg	aatagatatg	2820
gaaatagag	atggaataga	tatggaatat	agagatggaa	tagatatgga	atatagagat	2880
ggaatataga	gatgggat	agagatggga	tatagagatg	gaaatagag	atgggatata	2940
gagatggaat	atagagatgg	gatatagaga	tggaatatag	tgatgggata	tagagatgga	3000
atatatagat	ggaatataga	gatggaatat	atagatggaa	tacatatata	ttccattgca	3060
ttgttcttta	caaacattca	ttaattatg	taattgctaa	ttaattgctt	ggttggtata	3120
acaacgaagt	atgtgattcc	ttattttatc	tcatcattta	aattttattt	cgcatatttt	3180
cacaatgcac	tgatctatt	actgaggaat	ttaattaaat	aatcattcga	accatgggct	3240
cgaattgttt	actgataaag	cccagcagcc	aaaacagcct	agcgactgct	gtttggagcc	3300
cctcggccca	gggcccgtgg	ctgttctctc	caagggacca	tctcggccct	cagccaagtc	3360
gcccggaaaa	cgagcgtctg	accgcctctg	ccccgtctc	gctctgcaca	cagcaacggt	3420
ctggctgctc	agccaacttc	tcttccagc	ctcatctggt	tcccaggccg	ctggggactc	3480
ccaacgccac	tgccaagac	tctagggtca	gcaagcggcc	cgggcggaga	agggcgagga	3540
cgaagagcgc	cgggccgcga	ccaggagccc	accgcgccc	tccgactgca	gacatgggga	3600
agagacgcgg	gaactccaaa	gtcgtgggt	ctgcgcaggt	gtgtgccg	atcctgtgaa	3660
ggtcaaggcc	tctgtgagg	gggagtcgtc	ctggaatgcg	atggtgaagt	gctccagacc	3720
ggccataggc	cggaaagagt	gaggaagaag	agaatgcagg	aggcctgcga	tttctaaggc	3780
gcgcgcgcac	aggggtgctg	caattaggat	ggggcaatgg	gagcttgag	aaggggtgct	3840

agctaggagg	aaaggcgcgt	gcgtggagga	acggcgcgtg	cgcgaggagg	cggtgtgtgt	3900
gtcagaagag	gcggcgcgtg	cgtagagggg	cggtgagagc	taagaggggc	agcgcgtgtg	3960
cagaggggcg	gtgtgactta	ggacggggcg	atggcggctg	agaggagctg	cgctgtgcgcg	4020
aacatgtaac	tgggtgggatc	tgcggcggct	cccagatgat	ggtcgtcctc	ctgggcgcga	4080
cgaccctagt	gctcgtcgcc	gtggcgccat	gggtgttgtc	cgcagccgca	ggtgagaggc	4140
ggggaggaga	gtcttggcgc	agggcgggag	gtagggcacg	cagctgggct	acgggggcgg	4200
cgatgctgtt	gggggcgaca	gacgcccagt	ctgggaaacc	ttcgggtccac	tttcccgcg	4260
caaagattaa	acccgacctg	ggctcgcaaa	tcaaccagga	gaaagtgggtg	ttctgggtcc	4320
tctcttgccg	cttgccctgtg	gccgtgtacg	ggtcctcggg	agcggccggg	tcccaccccc	4380
gtgaaatggc	ggtgccagag	ctttgtgtcg	agtttgattc	tttccgggaa	agtaccgagg	4440
ctccgctggg	ctgtttgata	ataaacaana	catttcccga	aatgcatttc	ctcaatctgg	4500
tgaataggcg	cccagtccca	cgggggagtg	agctaagtgt	ggccaggatt	tctctgcctt	4560
caggattcat	acaggccaat	aaaaaatgac	agtcggagtg	actgaagcat	aattgtcagt	4620
tctcgagggt	tactaagcct	gcttcagggc	gcacccggga	aaaacgtgag	ccacaacac	4680
gtctgtgact	ggttttccag	aggttttcag	gaggtggggc	aggaaggcag	taaggcaaat	4740
agttctgtga	gaatttagtt	agtgcccaag	aaatctgtat	tttaagatac	catgagtgtc	4800
ttgaagagaa	aaagagagta	aagggagtca	gttatgcaga	tgctctggg	tagatggagt	4860
cttgactttg	ttttgcacct	gagaagataa	gcttgtaatt	gacatggtca	gtgtggaagg	4920
cctgaactag	tttttcagat	taactttgga	atgccatttg	ttgagaggag	aggtccattc	4980
acattgttgg	ggggcttaga	attttatttt	tggtttactt	aactacctac	ttttttccca	5040
aagaaataat	catgttcaaa	actcaatgaa	atgttatctc	aatgagattg	taatgttgc	5100
cagtctttca	gaagtcataa	aaatagtc	actttttaa	ctagtaaatg	caattctagg	5160
accaagact	aagaaaactg	tccaaaatat	gggaagacat	ttttatttat	actttttttt	5220
tttttttttt	gagacagcct	gttgcccagg	ctgggtgtgca	gagcgtgat	ctcagctcac	5280
tgcaacctct	gcctcccagg	ttcaggcgat	tctcctgctt	cagcctcttg	agtagctgga	5340
attacaggtg	cacgccacca	catccggcta	ttttttgtat	ttctagtaga	gatggggttt	5400
tgccatgttg	gccaggctgg	tctcgaactc	ctgacctcaa	acaatccact	tcagcctccc	5460
aaagtgtg	gattacaggt	gtgagccacc	acggccgatc	tatttatggt	ttagacttta	5520
gttttaggaa	ctagacttag	gtttagacc	tgaagttaca	gttggcatcc	ccttgtttat	5580
gggagaccag	caaagaattg	acttatgaat	gatctgtcag	gtagccctt	cgcatgagc	5640
tgagtctttt	tatccttctt	tggggatttg	gctgaagcat	aatgctagta	acagccattc	5700
gtttggaaga	gggtgttgca	gtcacttggc	ctctgggctt	aactaacttc	ccttttgcgt	5760
aagaaagtgtg	ggagaggtcc	tgagattttt	ttttttcttt	tacaaaaata	ataaaagaaa	5820
aatacaaagg	cagggcgtca	ccaggetaat	ttgctgaaat	tcttcatact	tacttgggat	5880
gcatggggga	atggcaacta	ttacaagggt	gatagagagt	gagaggtaat	tttgtagtga	5940
ggaggggtac	ccaaagagaa	tcagggetag	catcccagtg	caggagtcca	ggtggtctgt	6000
gagcctgcaa	gtgagttcaa	aatactttac	ctgttggctt	aggaaacat	atacctgtgt	6060
ggtacatgat	atcctatttc	tcaaactttt	ccacaataat	gtagtatact	tttcttagga	6120
tgtgggtact	agggtcctgg	tgcatcccat	agtaatttct	ttgaagtctt	ttgtttatga	6180

aaaacttgca	ttaaactcat	gtttggtttg	atgtgaaaa	agctttccca	gaattttcat	6240
ataaaattga	cattccagga	gggtgtgcat	taagaaatta	atttaaaatt	aggtagcg	6300
acaggtggca	agatataatt	tataggcatt	tatcatttct	taagctctta	gctgtgtgcc	6360
aggcagtaat	ctaagtgttt	taaaggtata	aactcattaa	gctttcagag	cagtgtagat	6420
actgttatgc	ttagttaaca	gacaaggaaa	ctgagcaacg	gagagatcaa	gtaacttgcc	6480
tgaggctgta	taggccagtc	cgtggaggag	tgggaagtca	aatcctgagt	ctggactaat	6540
agccttgggg	cttaaccaga	ctagactggt	ttcccaaagg	ccaacaatt	taaattcctg	6600
attgtccact	tgtatgttaa	gggcctaatt	atcagtatct	ttcagttaac	tgtgagccca	6660
aaaatatctg	agaccggtct	gaaatcaact	tagaaagttt	attttgccaa	ggttaaggat	6720
gcattcatga	cacagcctca	agaggtcctg	gccacatgtg	ccaagggtgg	tcaagggtcca	6780
gcttgctttt	atacatttta	gggagacata	tcaatcagta	catctaagat	gtacatttga	6840
ttggttcgat	ctggaaaggc	aggacaactc	aaagcaaggc	ttccaggtea	taggtagatt	6900
taaagatttt	ctgattggtg	attggttgaa	atcaatggaa	aggaatgtct	gggatgtcct	6960
aaggggttgt	ggagacaaaa	attttatcat	gcagatcaag	cttgtccaac	ccacagccca	7020
ctggccgcgt	gcagcccatg	atggctttga	atgcagtcca	acacaaattc	gtaaactttc	7080
ttaaaacatg	aggggttttt	gttttgtttg	ttttcttct	gtttttttgt	ttgtttgttt	7140
ttagctcatc	agatattggt	agtgtatttt	gtgtgtggcc	caagacagtt	gttcttcag	7200
tgtggcccac	ggaagcaaaa	agagtggaca	cccttgatgc	agatgaggcc	tgcagatagc	7260
aggcttcaga	gagaatagat	tgtaactggt	tcttgtgaaa	cttaacgtct	gtgttggtgt	7320
taatggtggt	tagctttttc	tgaattccag	aagagaggag	ggtataatga	ggcatatcca	7380
aacctcactt	cgcatcatgg	cctgaagtag	tttttcaggt	tagctttgga	atgcccttgg	7440
tcaggagaag	gggtccattc	tgatggttgg	gggacttaga	attttatatt	tggtttacgt	7500
aactatctac	tttttcccca	aaaaaatca	tgttgaaaac	tcaagacctt	aagtttacag	7560
ctcaagctga	tctgaaagt	tatctcagtg	agattgtaat	gttgctcagt	ctttcagaag	7620
ttgtataaat	gtacctttta	gcctagtaaa	tgcaattcta	ggactctaga	ttaagaaaac	7680
tatccaaaat	atgggaagac	atttacttac	atatttgtac	agatatctat	atttggattt	7740
atgtcagact	taaagatata	gtaaaccatt	ttggtcgtga	aatgaatgt	gaaaggttga	7800
aagcaaccaa	aattataaat	gcattatata	tatattagat	taaatgtcca	tttatacatt	7860
tacatgtggg	gtaattaatt	gttaatatac	taatataaaa	cattttaata	tactagtaaa	7920
ttaatatatt	gtatgttaat	gttacataac	aatttatgaa	aaaattatta	aaaggagatt	7980
gccaataata	atagagcaaa	atctgtgaaa	actaaaatcc	tgtttaataa	ctttattttc	8040
aagcccctgt	ccatttatca	gtcagttatt	tgttggctct	ccaaatgcca	acatgcctgt	8100
aacttcaggg	tctccttctt	ttagcagtaa	aggatTTTTT	ttctccctga	ggaaatcact	8160
agctgtacc	tataacattt	tctattcttg	tctcaaggcc	caaattact	agaattataa	8220
tattctgcac	aagatattgt	aaatactaca	aatgcatca	gatcttttgt	taaactctgt	8280
aaaccagtt	gctacccttt	ggctgcatag	aatctataaa	ttctaacaaa	tggatgagaa	8340
ccaagttaag	aattctagag	tgggataagg	ggatgtgatg	tattctattc	agggatgaag	8400
ttttagagac	tccaagtatg	aaacagaaaa	ttgaggatgg	ggagacctga	tgggtaccac	8460
attaagttta	aaaaaaaaaa	aagtgttttc	tcagctgtct	ccccttttga	cccatacta	8520

taagatctaa	ctggaaagag	caagaagctg	tctcagttaa	gaaagttcta	tacaagaacc	8580
cctgtggtag	aacaagtcta	caacaagata	acatgattgc	ccaaggcag	aagtaaaaga	8640
aatattgtag	gaaccataaa	tgaatttaa	agctgatctt	ttaaaaaata	tataacttat	8700
caaagtgaga	gatcagtcct	ttatgatatt	taaggagttc	ctgtgaatgc	accattatgc	8760
tggatactct	gaaaaaatgc	aatcaagta	tgaagcgata	taaattctgc	ccttaaggaa	8820
cttgcaatct	agttggagat	ttatgtttaa	cacaaagaag	cagtttttac	aaatacttct	8880
tttgaggatt	ctgggaagat	ggcagagtag	aaagcaccag	gaatctgtct	cctcacctag	8940
acaagaattg	tactggcaga	atctgatgta	actattttgg	aactctggag	tctattgcag	9000
gcttgcaact	tccaggggac	agacttagat	ggtaaattgc	agttaatttt	ggtctatttg	9060
agctcttagt	acagtagcag	ctacccatct	tccacctctc	aacccttagc	agacagctgt	9120
gcacgttatt	agagcaatct	gcacacaact	tacaggaatc	aggtgggcaa	aaagaaacac	9180
accatccaga	tatctgggat	ctgtgctctt	gattggteat	tgctccttct	cgtcacaaaa	9240
gcgcaaagag	atgggcggtt	gttgttgta	caccttactc	attgttacia	ccccctcccc	9300
actcaactcc	ctgccccatg	gatttaaagg	gctagaaatc	tccctctgct	tcatttttct	9360
ctttcacttt	tgggagccgg	atattaaaga	ctaggacatt	taaaaacaac	tgcatttatg	9420
gggaaaatta	gaaagtcact	gtacatacct	agggaaaggc	tcaggagaga	ccttaagttt	9480
atagctcaag	ctgatccttg	gcacaggatt	aacaacaatt	acacagcaat	taaacaaagc	9540
aaacacacac	acacacaatg	tagtctggga	gagtgatggt	agcaagatgg	ccaactagaa	9600
gccccctctg	ctcatcccct	cataagacag	ccagaacaac	aaataaacia	ctacatttta	9660
gcaaacttaa	ctaagagtgc	tagagtgcac	caaagaagta	acagaaatcc	tagtgagcag	9720
agaaaagtgg	gatggccaca	tggagaatgg	gaggaaatgc	caggattcct	aggatcatct	9780
gggaacgagg	aggaacttct	tcctatggca	aggagataaa	caagaagatc	ccagctacac	9840
catgggcacc	aacagatctc	accactgggg	ttccttagag	tccagacagc	aactaagcca	9900
agctgaggaa	gctgcctaga	gtctgcacag	ctgtgttccc	tccagagaag	gagccaacac	9960
tgtgctccac	ctgctgtggc	ccacacagct	actgtgccac	tccaccttgg	aactggaact	10020
acttctggag	tgtgtcttgc	ttcggggact	tgtagccatg	gcttcctttc	atctgaacca	10080
cgccaggctg	gtggctcaac	atcccctaagc	taaactttaa	gcagctgtta	cacccttccc	10140
tgtggagtca	agcagaggtg	gaactactcc	acctactcct	acccactgc	ccttgggcta	10200
gagctgaagc	agtatcctat	ttcctgggaa	cactactcct	tggccacca	gagcagtcac	10260
gcacccctgt	gcctaagctg	aagtggata	cggcattcca	gggaaacagg	gcctgaacca	10320
cccagagcag	tcacactccc	cgggcctcag	ctgaaggagc	acatcactcc	ctgcagaatc	10380
agtgccctgg	ccaaaccgag	cagctatgca	tcccagggtc	gagctgatgt	agtatcctat	10440
gtctcaggga	aacagagcag	tggetgagct	gagacacct	gttctacagg	ccaataact	10500
gtagtaccac	gcttccctgg	agetggacta	gtctcttaga	gcctgagctg	ctgagacact	10560
ctgaggagtg	gagtcacac	tgtgetgttc	cctaccccc	attcccagcc	cagacaacag	10620
ctatgcttca	ccattttgta	gtacttgetg	ctgetgtctac	acttggcctc	acagtctggg	10680
gtactgctta	tccctageta	ttccaagatt	tagagtcacg	acttcatggt	gcctcatccc	10740
ttgggacctg	tgttgccact	gagccctatt	agctcatatt	cccaaattaa	aaccataccc	10800
tgctccccag	gccccaaacct	ccagagaacc	ccttctttat	agtcaggcca	gtgctatgcc	10860

ctgaccccca	taggggtaga	atcaaagcta	caaccattc	tctgggccta	agctgccagg	10920
aagcacctcc	aggtcacaaa	tcctggctct	gtgagcaact	acgtccaagc	cctgccacag	10980
agagcaaacc	cacctcagca	accaagtgtc	tcagtaggtt	tgtgagatcc	tgagcctagg	11040
acctttgccc	agtagccact	ctgaatacct	tcatctggaa	tcaagagctg	ctgcagctgc	11100
atatatatag	cccctgtcag	acctgacacc	aagaggtggt	gccttggctg	agtctcccca	11160
ttgtggggaa	gacaagaata	ggaggatcct	aaaagccttc	aacctgaga	acattaacaa	11220
cctacactac	cactgccaca	aacttctgca	gcctaggccc	ctgaggcacc	catttactac	11280
tgacattgaa	cacaggtaaa	gcagctgctt	taccatacca	ctgcatctgt	caggaaacag	11340
tcaccacacc	cttcgaaacc	agcatactga	aacceactg	ctaataaaag	actttatctt	11400
tgaaagccac	tgtctgtaaa	gtttggaaga	ggtaattatc	ctatcaacac	aaagacacaa	11460
aaacatgaaa	aagcaaggaa	atatgacacc	accaaaggaa	agtaagaact	ctctaattgt	11520
ggcccaatga	aaagaagatc	aacaaattgc	tggaaaagga	attcaaacta	atgatcttaa	11580
ggaaaactca	caagatacaa	gaaaatacag	atagttcaat	gaatcaggaa	aacaattcac	11640
aatacaaaaa	attcaacaaa	aaaattaaaa	catgatgaaa	aacaacaaa	caaatcctac	11700
agttgaagaa	ttcaatgaat	tacatttaaa	aaatacaata	aagagcttca	ataacagact	11760
tggtaaagca	gaagaaagaa	tctctgaact	tgaagatata	ccatttgata	ttacttaatt	11820
gtagaaaaaa	caagtgaaac	cctacaagac	ttatgggaca	tcattaaagg	aacaaacgtt	11880
catactatgt	aagttacaga	aagaggagaa	aaggtaagag	gcatatacaa	actatttaat	11940
gaaataatag	ctgaaaactt	cccaagtctg	gagagagata	cagacatcca	gatccagaaa	12000
gctcaatgat	tcccaaatag	atttaacca	aaaagttct	ctccaaagca	cattattatc	12060
tgttgtcaaa	agtcaaagac	agagaaagaa	ttctaaaaat	agcaagagaa	aggcatcaag	12120
tcacatttaa	gaaaatcccc	attcagctaa	cagcagattt	cttcacagaa	accttacagt	12180
gcagaagagg	atgggatgat	atactcaaac	agccaagaat	gctatgccca	gcaaaaactat	12240
ccttcaggaa	tgaggagaa	atacagtttt	tcccagacaa	gcaaaaactg	agggaattca	12300
tcaactgctag	accagcctta	tgagaaatgc	tccagggagt	cctacatctg	gaagtgaaaa	12360
gagagcagtc	agtatcttga	aaacatggaa	aagtataaaa	ctctctgata	gagcagatac	12420
acaaaggaga	aagagaaaag	aattaaacct	tatcaaacca	tcaaaccaca	atgataaata	12480
ataagagagg	aagaaagggg	caaaggatat	tattagaaaa	ctttaacaaa	atgacaaatg	12540
taagggtca	aatatcaata	ataatcttaa	atgtaaattg	attaaattcc	atacttaaag	12600
agactggcgg	aatatttttt	ttttctttt	ttttttttt	tgagacggag	tctcgctctg	12660
ttgcccaggc	tggagtgcag	tggcgcgatc	tcggctcact	gcaagctccg	cctcccgggt	12720
tcacgccatt	ctcctgcctc	agcctcctga	gtagctggga	ctacaggcgc	ccgctaccac	12780
gcccggctaa	ttttttgtat	tttttagtaga	gacggggttt	caccgtgtta	gccaggatgg	12840
tctcgatctc	ctgacctcgt	gatccaccgg	cctcggcctc	ccaaagtgcg	gaatattttt	12900
taaatagactc	aattatatgc	tttctataag	aaaccactt	cacctataaa	gacacatata	12960
aactgaaatt	gaagggatgg	aaaaagttaa	tccaagcaaa	tggaaaccaa	aagctgtcag	13020
gaattgctat	acttatgtca	gattaaacag	acattaagtc	aaaaactgta	aaaacagaca	13080
aagaaggtta	ttatataatg	ataaaggac	caattcagca	agaggatata	acaattctaa	13140
acatacatgt	acccaacacc	agagcaccca	gatataataa	gtaaataatta	ctatacgtaa	13200

agggaaagat	agactccaat	atgatagtag	ttggggactt	cagcacccca	ctctcagctt	13260
cggacagatc	agcaaaactcc	aagtacagtg	aactcaaaga	gaccacacca	agaaacagtc	13320
aaacttttga	aagccaaaga	cagagaagtg	acttgtcata	cacaagggat	ctttgataac	13380
atgatcagca	gatttctcac	ctgatacttt	ggagaccagt	gtattcaaag	tgctaaaaaa	13440
aacaaaacca	aaaaactcaa	aaccctgtat	atggcaaaat	tgcccttcaa	aagcataagg	13500
aaattaagat	gttcttagat	agacaaaagc	taaggggagt	cattaccgct	agaactgccc	13560
tgcgagaaat	gcttaaggaa	gtcctgaaag	gtgaaatgaa	agggcactag	acagagggga	13620
cagtgcagat	tcaggcaggt	gcaatggctt	ctgggggaaga	cccagccagt	ggggctattg	13680
ccagcatcca	gtcagctgcc	accttcctg	accccagtgt	caagtgatgc	gcagggtgat	13740
ccaggtgtgt	gaggggcagc	tggatgtcca	gactgagggc	actggtgcca	tcagtggtta	13800
tcctaccact	caattcatga	cccaggtggt	gatccagggt	gatatacca	gttatgatgc	13860
agttaacaca	gaggggaaaag	ctgctgagat	acactatact	ttcccacccc	tgcagtggga	13920
gatggggcag	ggggtaccac	atcagggagt	acagctgctg	ttgttactac	ccagggtcca	13980
gaggcactgc	ttgggcaggt	gactcttctt	ggcactggtc	aattatttgt	gatgatgtca	14040
ccacaaggag	tactgcaggg	aggaagccag	cacttgattg	cccctaggac	tcaaccttat	14100
ttatttggac	gtaacacat	tgtaagtcaa	gaagcatctc	tatctatcta	tgaacataca	14160
atgtgaaatc	aaattgaggc	cataaaacag	ttgaacctca	tcataagagt	gactcatcgg	14220
tgtcacttct	aagaccaaga	aaaattctat	ttttatgcag	agaccatttg	ttttttaatt	14280
aaaagacaac	tctatttcaa	agaggaaaaa	aatcaactc	tttttccagc	tctctcagat	14340
gcagaaatgt	aattatcagc	atccctgtgc	tgggagcaat	cattagtttt	tttagatttt	14400
taaaatatac	ttcattatgt	ttcactgtat	tcattcttta	atcagggatg	tgagggatag	14460
aataacattt	agaatatctg	tacagtttgt	atataatggt	cttatttctt	gttgctttta	14520
taggtggaaa	aaatctaaaa	tctcctcaa	aagtagaggt	cgacatcata	gatgacaact	14580
ttatcctgag	gtggaacagg	agcgatgagt	ctgtcgggaa	tgtgactttt	tcattcgatt	14640
atcaaaagta	tgtgactcta	cttactgatt	tgtcagaatg	acctgaataa	tttttacaag	14700
tttaacaaca	ccataatttt	tagatttggg	aagtgtttgg	tttttctatt	tttttagaat	14760
gttacgccta	ttttacataa	tatttttaac	tttgtttctg	tagagactta	gtcaaataca	14820
tctttgggtg	ttgaagcaaa	aaattgggga	tgagggtggt	agacagcgtc	tctaaccat	14880
agccattcct	tctttcttct	gggtgtcca	gcttcttttt	tttttttttt	taattattat	14940
actttaagtt	ttaggttaca	tgtgcacaat	gtgcaggtta	gttacgtatg	tatacatgtg	15000
ccatgctggt	gcgctgcacc	cactaactcg	tcacttagca	ttaggtatat	ctcccaatgc	15060
tatccctccc	ccctccccc	atcccacaac	aggecccaga	gtgtgatggt	ccccttctg	15120
tgtccatgtg	ttctcattgt	tcagttcca	cctatgagtg	agaatatgcg	gtgtttggtt	15180
ttttgttctt	gcgatagttt	actgagaatg	atgatttcca	atttcatcca	tgtccctaca	15240
aaggacatga	actcatcatt	ttttatggct	gcatagtatt	ccatggtgta	tatgtgccac	15300
attttcttaa	tccagtctat	cattgttggg	catttgggtt	ggttccaagt	ctttgctatt	15360
gtgaataatg	ccgcaataaa	catacgtgtg	catgtgtctt	tatagcagca	tgatttatag	15420
tcctttgggt	atatacccag	taatgggatg	gctgggtcaa	atggtatttc	tagttctaga	15480
tcctgagga	atcgccacac	tgacttccac	aatggttgaa	ctagtttaca	gtcccaccaa	15540

cagtgtaaaa	gtgttcctat	ttctccacat	cctctccage	tccagcttct	ttcaatataa	15600
gttggggctct	gagctagggt	atatcttgaa	gatatggcat	tgtactccaa	aaggtccatc	15660
gaagaccttg	gaataggcca	ccaggtttcc	tgtgatcagg	ctttcctatt	atctccatga	15720
tatactatat	tttaatttta	ggtacacttt	tttttttttt	ttttttttga	ggtggagtct	15780
tgctgtgtta	accaggctgg	agtgcaagtgg	cacaatcttg	gctcactgca	acctccactt	15840
cccggtttca	agcgattctc	ctgccttagc	ctctcgagta	gctgggattg	caagcacatg	15900
ccaccatggt	tgactaattt	ttttattttt	agtagagatg	gggtttcgcc	atgttggcca	15960
ggctgatctc	aaacttctta	cctcagggtg	tctgctcacc	tcagcctccc	aaagtgctag	16020
gattacaggc	gtgagccact	gcctggcct	agatacactt	tgtaaataa	ttgttaactg	16080
ggcatggtgg	catgtgtctg	taatcccacc	tacttgggaa	gctgaggcag	agaatcgct	16140
tgaaccagg	agacagaggt	tgctgtgagc	caagtttga	ccactgtact	ccagcctggg	16200
agacagcaag	actccatctc	aaaaataaat	aaataataa	aataaaataa	aaatcgatat	16260
attggacctt	gcatttctaa	agactcagtt	tttctggagt	gttgatgtct	cttcttagt	16320
actttctact	taattattca	agaggagagg	caggcagaag	gaggaatata	gaagggaaca	16380
cagatcagga	agtacagtac	tttgccttcc	gattatgtgt	tggggcccca	cctgccaacc	16440
atgttcccct	gtccaagaaa	aagcaggcaa	tgaagaaata	aggcattagg	ccctccggaa	16500
ccaggagccc	accacttcag	ccacagctgt	gacactattc	tcgagttgta	actaaaactg	16560
gcatatgaat	ctcacagctt	cagtaattgt	gtagcatat	ataaacaat	acacactgta	16620
tatatgcata	tatacactat	atatatacat	actgtatata	tacattacac	tatatataat	16680
acatactgta	tacatacata	tacacacatt	gtgtatacat	acataacac	acattgtgta	16740
tacatacata	tacacactat	atatacatat	acacactgta	tatgtatatg	tatatacaca	16800
cacaaattca	tatatgactt	ttctcagaat	tgatcattta	aaatttttta	tctctagaga	16860
ttttcattaa	attgaacttt	gagtttggtt	accagttttg	ttttttccct	tagtttggaa	16920
tttcttatg	aacaactatt	ttaggtagag	aaggaattat	ttcagatacc	cttatttaat	16980
gttacttgta	taaagaaact	atttgcaaaa	tatgcatcca	acaagagctt	aatatccaag	17040
gaactcaaac	aatcaacaac	aaaacccaaa	tccatcaaaa	gtaggcaaaa	agataggaat	17100
agatatTTTT	caaaagaaaa	catacagtg	ccaacaagta	tgtgaaaaaa	tggtcaacat	17160
cactctaatac	atcagagaaa	tgcaaacgaa	acctgccatg	agatattgtc	tccccgcagt	17220
cagaatggct	gttattaaaa	agttaaaaaa	ggctgggcat	ggtggctcac	acctgtaatc	17280
ccagcacttt	gggaggccaa	ggcaggtgga	tcacctgaag	tcaggagttc	gagaccagcc	17340
tgaccaacat	ggtgaaacce	catctctact	aaaaatacaa	aaacttcagc	cggatgtggt	17400
ggtgcgtgct	gtaatcccac	ctacttggga	ggctgaggca	ggagaatcgc	ttgaaccag	17460
gaggcacagg	ttgcagtgag	ctgaaatcgt	gccctgcac	tccagcctgg	gtgacagcaa	17520
gacttcatct	caaaaaaaaa	aaaaaaccca	acaatattg	aatatatttc	atgccaaaca	17580
ctcttctgac	tgcttagact	gcctcagtga	acaggagagg	caaagatggc	atgaagttat	17640
attatgaaac	ggatttcatg	aagtaaatat	tacattagtt	acatattcat	atttcatatt	17700
ctgttctgag	ctaattattg	catatgataa	tagttttttt	gttgttggtt	tttttttttt	17760
gagacggagt	cttgctctgt	tgcccaggct	ggagtgcaat	ggcgcaatct	cggctcaccg	17820
caacctccgc	ctcccgggtt	caagcaattc	tctgtctca	gcctcccag	tgctgggat	17880

tacaggcatg	cacccccacg	cccggcta	at	tttgtat	ttt	tagtagagac	aggatttctc	17940	
catgttgatc	gggctgatct	cgaactcctg	atctcaagtg	atccaccccc	ctcggcctcc			18000	
caaagtgctg	ggattacagg	tgtgagccac	cgagcccggc	caataatgat	ttttttaaga			18060	
aaatataaaa	gtagcttctg	ctgcaatatac	ttgattagat	gtaaaacagt	tttaaatggag			18120	
catgcttcag	catctcctga	agtaggaaag	acagatgtaa	acagtgaggt	tgggttgaaa			18180	
ttatattaag	ttttaaattt	ttgataaggt	tttctgttta	taatgagagt	ttctggattt			18240	
ttagaaatag	attctgatgt	ggaacctttt	caagaatggt	taaggtattt	ttaatgccag			18300	
ctctaatactc	aggcctcaga	tatgtaaaag	tggaagtga	aactggccaa	gaatgaagta			18360	
tttcatatgc	tagtgtatat	ttttggtaat	ttcttaaaaa	tgtttccatt	ttgaaaaaca			18420	
aggtagactt	gtatttggtt	cagcaacaaa	attattttgg	tattatctct	ggttttcta			18480	
atctaaatcg	tctttaaaat	ggcatctgtg	atattattaa	aaataaataa	atcagcta			18540	
gaattaggct	tgacaaaaat	gccttcccag	aagatagttt	ctctgctact	tatggtcaat			18600	
gggcttaaca	taggtaaaag	ttctcaaatc	tgctaaattg	gccgggcatg	gtggctcacg			18660	
cctgtaatcc	cagcactttg	ggaggctgag	gtgggcagat	cacctgaggt	gaggagtta			18720	
agatcagtct	agccaacatg	gcaaaacccc	atctctacta	aaaaaaaaaa	tacaaaaatt			18780	
agccagacgt	ggtggcacac	gcctgtaatc	acagctagtt	gagaggctga	ggcaggagaa			18840	
ttgcttgaac	ctaggaagtg	gaggttgacg	tgggccgaga	ttgcaccact	gcactccagc			18900	
ctgggcaaca	gagtaagact	ctgtctcaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	gaaatctgct			18960	
aagttcgttt	ctatccctca	ctttccctgc	aagctcttct	tcccctttct	gggcaacatg			19020	
tccttttctg	ctttaggcac	tccatgccc	ctttat	tttt	catgtttgcc	ccttttttga		19080	
aaggaagaat	ctaatacac	ttcagctttc	tgattggcca	gttccacttc	caaaaattta			19140	
tttgtttatg	taaacatttt	cagttttgtg	gtttctgatg	atgtaataga	agaaattacg			19200	
gagacaggca	agcagaagg	atggtttgct	tttggagagg	gcagaggaaa	ccttgaacc			19260	
atactgattc	tgaggctttt	cttagggaag	gtaagtctat	tcataggagg	aggtcagaag			19320	
ggaatcatca	aatccaattc	cccagtttct	at	ttta	at	tttt	attag	agacagggtc	19380
ttgctcgggt	gctgaggctg	gagtgcagtg	atatgatcat	agcctactgc	agcctgcagc			19440	
cttgaacccc	tatgctcaaa	tgaccctctc	acctcagcct	accagtagc	taggactgtg			19500	
ggcatgtgcc	accatgccct	gctttgcctt	ttttttttt	tatttctcat	agagacagg			19560	
tttgcctatg	tgaccaggct	ccaaactttc	aataaggaag	ataagatcca	gaaacacaaa			19620	
atagtttacc	aaaagtcaca	cagctat	ttt	taacagagcc	aacatactaa	atccactttt		19680	
accttatggg	tcatttattt	ctctgcttcc	tgaagcaacc	accacaaaa	ttatataaag			19740	
aactgtat	ttt	taaaattcag	tttcataagt	aataacttgg	cttataatgca	ttgaaaaaga		19800	
gtggaagggt	gtatgctaaa	atgttaatag	gacattagct	caagtagaag	aaataactct			19860	
taaaccacaaa	atagaaataa	ctcttaaca	agagttatta	agagttaaga	aataactctt			19920	
ataccagtaa	atagaaagta	tttgacactt	acatttatac	at	ttgctcac	tcattcattt		19980	
gtttttttta	ctttaagaa	ctgggatgga	taattggata	aaattgtctg	ggtgtcagaa			20040	
tattactagt	accaaatgca	acttttcttc	actcaagctg	aatgtttatg	aagaaattaa			20100	
attgcgtata	agagcagaaa	aagaaaacac	ttcttcatgg	tatgaggttg	actcatttac			20160	
accatttcgc	aaaggtaaga	aaaagttgct	agctgaatta	tattctttag	taaatattac			20220	

cagagcagtt	cactttccaa	gccattcatt	tgcatgatgc	aaaatctaac	atcttttaaa	20280
aagaacaaaa	attcccttaa	acctatatct	tettctgct	atggctccat	ttgtcctact	20340
ttccctgtag	tagtggttct	caaagagtga	tcctcaaggc	cctttcaggg	ggctgtaaag	20400
acaaagctat	atztatgaca	aatctaagac	ttagttgcct	ttttaatfff	tgttctttct	20460
tgtattcaca	gtggagtttt	ccagaggagg	ctgtttgatg	tgtgatgtgg	tgatatggtc	20520
actgatttaa	catagaattc	aatgtgaaat	tcactgcct	tctttattaa	tccaaacatt	20580
caaaagattt	ggaaaaaaaa	tgtaaacag	caccactctg	aagtttctat	gttccttttg	20640
gcaaatgttt	gttaccataa	aataggttta	tcattgttat	ttctttcttt	ttttttttga	20700
gacagagttt	tgttcttggt	gccagggctg	gagtgcaatg	gcacaatcac	ggctcactac	20760
agcctctgcc	tcctgggttc	aagtgactct	cccgcctcag	cctcccagat	acctgggatt	20820
accagcatgc	atcaccatgc	ctggccaatt	ttgtatffff	agtagagaca	gggtttctcc	20880
atgttggtea	ggctgacctc	aaactcccaa	cctcaggtga	tctgcccacc	tcaacctccc	20940
aaagtgtg	gattacagge	gtgagccacc	atgcccagtc	cattgttatt	tcttaatgga	21000
ttaattagtt	aaaatggatt	gaaaacttta	ccagttttaa	tgtttaatat	gctaataata	21060
aaatatacag	cccacataaa	taatggctgt	ttgggattct	cgataattcc	tttaagaatg	21120
taaaggagct	gagtgtagtg	gcccacacct	gtaattccaa	cactttggga	ggctgaggtg	21180
ggaggatcac	ttgaggccag	aagttcaaga	ccaacctagg	caacatagtg	agaccccatc	21240
tctacaaaaa	atatataaaa	attagccagg	catggtggtg	cacacctgta	gtcccagcta	21300
ttcaggaagc	tgaagagga	ggatcacttg	agcctgggag	atcaaggttg	cagtgtgctg	21360
tgtttgtgcc	actgcactcc	agcctgagca	acagagctag	accatatctc	aaaaaaaaagt	21420
ggggatcctg	agaccaaaag	gtttgagaac	cactgcctctg	taccaagaat	gatctgtact	21480
ccctttctat	actaatcttc	caattccctg	tcagccctct	ccattcaaat	tctgttcctc	21540
ctcacttaaa	accactcttt	ttggccaggc	gcggtggctc	acgcctgtaa	tcccagcact	21600
ttgggaggcc	aaggcgggca	gatcacgagg	tcaggagatc	gagaccatcc	tggttaacac	21660
ggtgaaacc	tgctcttact	aaaaatacaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaacta	gccgggcatg	21720
gtggcgggag	cctgtagtcc	cagctactcg	ggaggctgag	gcaggagaat	gacatgaacc	21780
cgggaggcgg	agcttgca	gagccgagat	cgtgccactg	cactccagcc	tggtgcacag	21840
agcgagactc	cgctcaaaa	aaaaaaaaata	aataaaccac	tcttctcaag	gtcacagcag	21900
cctccacaat	gccaagcaaa	ttcccagtc	tcttctggct	tcactcctct	gtagcataga	21960
tgtggtcac	actcagtttt	tcctttactg	gatctctggg	acactgctct	ttcctggttc	22020
tcctcctgct	cattgatcgc	ttcatcttcc	caacttttca	gtgttagact	gctgctgggc	22080
tcagtcatg	aacctcttct	ctttctgtat	cactccactg	gtgatcttac	agctttctat	22140
cctatctgta	tgctcttaac	tcccagaagt	ggcaggcaca	tattaagtgc	tcagaattat	22200
ttgttgaatg	aaggttttgg	cattgtatta	ataaagttcc	atagtaattg	ttttgatttt	22260
tttgcagctc	agattggtec	tccagaagta	catttagaag	ctgaagataa	ggcaatagtg	22320
atacacatct	ctcctggaac	aaaagatagt	gttatgtggg	ccttgatgg	tttaagcttt	22380
acatatagct	tagttatctg	gaaaaactct	tcaggtgtag	aagtaagcat	tatttttacc	22440
tctgtttaat	cgatgtgaga	gaaaaattag	gcgaattaat	cctaaaattt	gactttatac	22500
ttttttaaag	aaccaactta	tatttgtgtt	ataggaaagg	attgaaaata	tttattccag	22560

acataaaatt	tataaaactct	caccagagac	tacttattgt	ctaaaagtta	aagcagcact	22620
acttacgtca	tgghaaaattg	gtgtctatag	tccagtacat	tgtataaaga	ccacaggtaa	22680
ggaagatggt	ttgtttttaga	ttcaataaat	atataaacag	attgtcaatt	ttggcatctt	22740
ccccatattg	ctgaagttta	catgataggt	caatatatgt	taaaaacatt	gtaacattta	22800
cataagcaaa	ataaatgtta	cttgggattt	ttgtctcaa	tagtaatgaa	aattaattct	22860
acttaaaaagt	tcaggctggg	cgtagtggcc	cacgcctgta	atcccagcac	tttgagaggc	22920
tgaggtagct	ggatcacttg	aagccagaag	ttcagaaca	gcctcgccaa	catgggaaaa	22980
ccccgtgtct	actaaaaata	attagctggg	cgtggtagct	cacgcctgta	gtggtagcta	23040
cttgggaggc	tgaggcacia	gaatcccttg	aacctgggag	gtggaagttg	cagttagcca	23100
agatcgcgcc	actgcactcc	agtcgggagc	aagggggaca	aagagtaagg	ctccgtctta	23160
gaaaaaaaaa	aaagttcaaa	tattttgtaa	tgacaaaact	tttcatttgt	tcagaatcca	23220
catgaagcag	gaggtagctg	aactatgagt	tctgcaagtg	ggaagaaaag	gtggggaagt	23280
agttgctagt	agacaagtta	ttgttcaaga	aagcatacct	ttgtaagtgg	aatgttaaaa	23340
tatgaaagta	tcttgataca	tttagtaaca	tctttccaat	aattaaggtc	aagggcagga	23400
gctgggattt	gtttatttta	attgtaaatt	tcatatgctt	ttttttttaa	tcaaacatta	23460
cggaagggtt	taaagtgaag	tcttcttctc	ccttcttctc	ccaattcca	ttcactagag	23520
ataagcattg	cttagcagtt	tgtgtatata	ctttcacaac	ttttttcagg	atztatgtaa	23580
gcatatacac	agaccacacag	tttcttgggt	tttgtttttt	aaaattacaa	aataaaatct	23640
tactagaagt	atztatcagc	ttgcttactt	aaccagtggt	gttggggata	ttctatatca	23700
ctcaatacag	atctattacg	ttcttcattt	gatcttagcc	atctattgca	ttctttcttt	23760
tttacttatt	tatttattta	tttatttatt	tatttattta	tttttgagac	agagtctcac	23820
tctcttgccc	agaatggagt	gcagtggctc	aatctcggct	caccgcaacc	tctgcctccc	23880
agcttcaagc	gattctcctg	cctcagcctc	ccgagtagct	gggattacag	gcgtgtgcca	23940
tcatgcctgg	ctaatttttg	tatttttagt	agaaatgggg	tttcaccatg	ttggccaggc	24000
gcgtctcgaa	ctcctgacct	caggtgatcc	atccacctca	gcctcccaaa	gttctgggat	24060
tacaggtgtg	agccactgcg	cccggcctgt	agtctttcaa	atggctgcat	agtattacat	24120
agtgtgaata	caaaccatat	ttaactatta	ccttataatg	ataaaatgcg	agcctttatc	24180
ttcttgccag	ttatctcact	tgagtaaaaa	tgtgtgcttt	tttttatctg	ttctttggct	24240
tctagttgaa	aatgaactac	ctccaccaga	aatatagaa	gtcagtgctc	aaaatcagaa	24300
ctatgttctt	aaatgggatt	atacatatgc	aaacatgacc	tttcaagttc	agtggctcca	24360
gtaagttcca	ttccataaat	ttccttttgc	ccagtttgtt	ttgattatgc	ttcttttcgc	24420
tctgcatcag	tcaccaggtc	cttgcacaca	gaatgaccga	ctgggagggtg	ggtacgatat	24480
attgghaaacg	tgagaaaatct	catttctaac	cccagttctg	ccagtaacta	actggatgac	24540
attgagctaa	tcgcttaacc	tccatgggccc	tcaatttctt	cacttgtaaa	atagatggat	24600
tctaataatct	ggggttctta	ctggettaag	aaaaaaaaaga	aagtgttaact	agttgcatgt	24660
gttatttccc	caatctggaa	gactcgacag	ttgacctga	tctttttcta	agaactcact	24720
tcttccatga	gtccttaaaa	tgatctcagt	ccactcactt	gttcaattca	aaaaattagc	24780
cttctatatt	tctttattac	tttagtgggt	ttgacaaaat	ttttagtag	atacttcggt	24840
ggghaaagaaa	gttghaaaga	actatgttct	atgtggttga	gcagaggcta	gctaaacatg	24900

gatgaagtcc	aggcgctgca	taaataaaag	agaactggcc	tggtgcagtg	gcgcatgcct	24960
atcgccccag	ctactcagtg	ggctgaggca	ggaggattac	ttgaggccag	gaattgaggc	25020
tgcaagtgtg	tatgatcaca	cctgctagta	gccgctgcac	tgcaacctgg	gcaacatagt	25080
gagacccccca	tctctaagca	ttaaaatfff	taaaaagctg	ataaaagaga	actgcatgta	25140
gtttatattg	attggaaaat	tgtaggagat	gaatagagaa	aagagaagag	gaaaattaag	25200
tagaaggaaa	aatgggttat	ggggagaaaa	gagatggaaa	gaaagatata	cattggtggc	25260
agaggagtag	agagagcaaa	ggcaagtata	gctaagacag	gaaaggaaaa	gtcagaagaa	25320
actggaaaaga	aacagaaaaa	atgagggaga	agggaagtgt	aagtaccgct	atgatcaatt	25380
tctatctfff	agtgttaatt	ttgaaccaag	ggtgactggt	agaatgcaaa	tgcatfctatg	25440
tgcatatgtg	ccccacaatg	catatataac	ctcacaacc	aatcaggaaa	ctgttcagta	25500
gtctfffgtg	tataacctcac	tttcagaagt	gaataataa	tagggctacc	aaatagataa	25560
tgagaggat	ttctgatagc	tgatctctaa	gctctfff	ggtacttacc	atattgtaca	25620
aagcactgaa	gaaatggaaa	gagtcagcag	aatcaaactg	ggttcaaaaa	ttgaaagcag	25680
ttagccaaca	ttgcaaagt	ttgtgtggtt	taggactaaa	gagtggtata	caaattataa	25740
gggttgacaga	aattgaaaat	gtaaaggtga	ataggggcta	aagagaccaa	agaagccata	25800
aggaaagaga	taaggatga	acaaggcctt	gattgttaat	tcagatfff	tttaagtaga	25860
caactattag	atgttagfff	tctgtgtctg	taactaatta	ccacagactt	agcaacttaa	25920
acagctgfff	attgtctcaa	agfffctgtg	agtcaggagt	ccaagcgtgg	cttagctggc	25980
tctctgcta	agcagtcaag	gagtcagtca	ttcatacaag	acttgggggc	cgctcccaag	26040
ctcacatgft	gttggcagaa	ttatfffcta	gagctcatgg	tggtcactt	cttagaggcc	26100
atcaggaagg	gagagtctga	cctctagatc	ctffffff	ttfffctgag	acggagtctc	26160
actctgtcac	ccagactgga	gtgcagtgac	atgatctcag	ctcactgcaa	cctccgcgtc	26220
ctgggttcaa	gtgattcttc	tgctcagcc	tccaagtag	ctgggactac	aggtgtgcac	26280
caccacacc	agctaatfff	tgtagfff	gtagaaacgg	ggtffcaccg	tattggccag	26340
gctggtctcg	aactcctgac	ttcaggtgat	ccaccgcct	cagcctccca	aagttctggg	26400
attataggcg	tgaggcaccg	cgctcagcca	ttfffctgt	atfffctagta	gagacggagt	26460
ttctccatgt	ttgccaggct	gttcgcaaac	tctggcccc	aagtgatctg	cccacctcag	26520
cctcccaaaag	tgctgggatt	agaggcatga	gccaccatgc	ctggcctaga	tctctfff	26580
aggggttcat	ctgattaggt	cagggccacc	cagaatagtc	tctcatttga	ttcaactgat	26640
ttgggacctt	aattacatct	gtgaaatacc	ttctctctg	ccacttaatg	taacctaat	26700
atgagaggag	ggcctccatc	gtatftacag	gtctgcccc	tgctcaagag	gaggggatta	26760
tacaggatgt	gtacaccagg	gggcaggaat	ctggggggcc	atctcagaat	ttgctctct	26820
ccagtgggga	ggatgtcctt	ctagagtagc	agaacatftg	gacaccaggt	ggcaatggga	26880
agaaaactga	ataagtagaa	tgggacaaga	ttagggtcaa	cctcaggctg	tctgttaggc	26940
ttftggggat	ttgtgttgg	ggtgatagtt	aacctgagct	ctggatftga	ggaaggtgca	27000
tgccgcgaca	tggtatgtgg	gagagtggac	taaggagaca	ctaaagagag	ataaggaaac	27060
cagtcaggag	gctattagag	ttctgggctt	gaactgagat	gctfttagct	gttggfttct	27120
gggcaagtta	cttaacctct	ttagtctcgt	acttatactt	gctcttataa	ccccgcagtg	27180
tgtctctatt	ttagcactta	atcagtgctc	attggtatgc	tgccgcctgt	ttagcagctg	27240

gctttccaga	aagaaaaagt	cctatthttgt	agtgtttgct	gatttttatg	atataaatat	27300
tcccaccatg	gccactttca	agccaccagc	ctgatgtccc	tgaatatgga	gttgggaaca	27360
tatgcacagt	agcacaccac	tatcatatag	ctacaataga	taaagatagc	cccaagagct	27420
tagaaaaata	aatgtagtaa	aataattagg	acaagatgaa	tttattttatt	acctctgtct	27480
ttaaaacaat	tttttatttg	caaatttata	taacttaatt	tttagtaatg	gtttttcttt	27540
aaaaaccagt	ttgtatttta	ggaggccgag	gtaggtggat	cacctgaggt	caggagtcca	27600
agaccagcct	ggccaacatg	acgaaacccc	atctctacta	aaaatacaaa	aattaggcag	27660
gcctgggtggc	gtgcacctgt	aatcccagct	actcaggggg	acagaggcag	gagaattgct	27720
tgaaccagg	aggcagaggt	tgcagtgagc	caagatccta	ccactccact	ccagcctggg	27780
tgacagagcg	agactcggtc	tcaaaaaaaaa	agccaaaaaaaa	aataaaccag	cttgcagcat	27840
tcctggaaat	tctaactaac	agatgttctt	gcataattgat	atgagccacc	tccagcagag	27900
cacaacatga	ccacagtctg	gaacagtctt	tggttttctt	ttatgttaga	tgcatatctc	27960
ttccattggt	tgtgagtttc	ctgagtgtgg	atactattta	tttctgtaac	cttagcccct	28020
aacatagtgt	ctggcaattg	taaatactta	ataaatatct	aatgaattta	aaaaatattt	28080
gtcttaaaag	cgccttttta	aaaaggaatc	ctggaaacca	tttgtataaa	tggaacacaa	28140
tacctgactg	tgaaaatgtc	aaaactacc	agtgtgtctt	tcctcaaac	gttttccaaa	28200
aaggaattta	ccttctccgc	gtacaagcat	ctgatggaaa	taacacatct	ttttggtctg	28260
aagagataaa	gtttgatact	gaaatacaag	gtaaggcagt	agtttttact	ggagattgta	28320
attctctggt	gcaagttttt	aaaattgttt	ttctaattga	acattatttc	tttacaattt	28380
ttttctagct	ttcctacttc	ctccagtctt	taacattaga	tccttagtg	attcattcca	28440
tatctatata	ggtgctccaa	aacagtctgg	aaacacgcct	gtgatccagg	attatccact	28500
gatttatgaa	attatthttt	gggaaaacac	ttcaaatgct	gaggtaaaaa	gactgtatag	28560
tataatthttg	taacttagag	ttataattat	gatttgggta	aataaagctt	gaatgtaaaa	28620
tttgggggaa	attthttaa	tttatgtggg	ctggatgcag	tggcctgtaa	tcccagcact	28680
tcaggaggcc	aaggcgagag	gatcacttga	gcctaagggt	ttgagaccag	cctgggcaac	28740
ataggagac	cctgtctcaa	taaaaatttt	aaaaaattag	cctgggtgtg	tgcgctgcac	28800
ctatattccc	agctacttgg	ggtgggaggg	tcacttgaac	ctgggaggtc	aaggctgcag	28860
tgagccatga	tcgtgccact	gcactccagc	ctgggtgaca	gagtgactga	cagcttgtct	28920
ttaaaaaaaa	aaaatgtgat	taactcagat	attaacaaaa	tgaagattat	gagcattttt	28980
catgtthttgc	actgtagagt	tatgggtgag	ctgcatctgg	gccccagttt	gctthttaa	29040
tacagattcc	tgagcctatt	gttactgaat	cattatctct	ggggatggaa	ctcaggaatt	29100
tgcatthttta	acatgattcc	catgtattca	tctaaacctg	ggattctcag	cactattgac	29160
gtttgggctg	gatagttcct	tgggaggggg	ctgtccagtg	cagtcagga	tgcttggcaa	29220
cattctgggt	tctgcctact	agatgccagt	agtgttctt	cctagttgtg	acaacaaaa	29280
acatcttcag	atattgtcaa	atgtcccctg	gtggctctc	caaggggaca	aaaattggtt	29340
cttatgggac	aaaagaattt	atgtagtaca	gttgtthttt	ttctccaaa	accattggaa	29400
agcattcttc	caaagttcag	ctttgcccc	caaaatctta	ttccttagta	tttaatttta	29460
tgatggggga	aggattagga	aaaaattgcc	caaaaagttg	tttagttggg	gaggtaatga	29520
aaaaagggtt	gacaaacact	ggtctaaacc	ctaaaattca	gataccactg	acaagataa	29580

tatataccgt	cagataatat	acgtgtttcc	cagatcactt	ccccctcgtg	gacttgtagt	29640
caagaatcga	cctttaaacc	tcctgtccag	tcaggctggt	aaattcttta	acttcacctc	29700
atthttctatt	ggaaatctaa	gcaaattcca	ttgatttggc	tgcttccctt	tttaattgtc	29760
tgacaaccct	gtaaccatag	cttaatgtag	cccattgaga	attatggtcg	gttttcagat	29820
gtctgtagat	cagacaaacc	taaatttcta	tctcactgct	aaactgtgta	accttacgta	29880
cgcaggggtgc	tttacctctt	ggagactttg	cttctcttc	tctgaagtgg	tggtaatcat	29940
aacaactaaa	tttttcaaaa	ggatgtttat	aaggtttaaa	aggaagtaac	aaatatgaaa	30000
atacctagca	cattgctgga	caagtagtag	agattcaata	aattgtagtt	gccatcttaa	30060
cctatactgg	ataatatatc	aataattggt	actatagaaa	ctcttattga	atacttatat	30120
gtaaggtagt	atgctaagta	ttgtacatga	attgtctcag	tcattcttca	aaacaaccct	30180
gccgattat	gtgattggtt	acattgctgt	ttggcaaata	cttgggacgg	tgacttcttc	30240
cctgcaccac	cagaccgtag	atgctggagc	ccaagtagat	gtgctgagaa	cagaggcctt	30300
aagtgtgctt	gcagggtttg	gcttgctctt	tgcactgctc	ctatttgcca	ggaataaaat	30360
gtattccaca	tagtctctgg	tccaaggagg	attagaggct	gctggagctg	acctaaacct	30420
catgcacagc	ctccgtggga	gctgcccagc	cagtctgtag	acttgtgagt	gagaaactac	30480
ataatcgttt	tgtgagccac	tgaacgttaa	ggcagttttg	ttatctatat	ttttttatth	30540
tattttatth	tattttttth	ttttttgaga	caggttctca	ttctttttcc	caggctggag	30600
tgcactcatg	tgatgtcagc	tactgcagc	ctcacttcc	tgggcttaag	tgatcctccc	30660
acctcagctt	cccaagtagc	tgggactaca	ggcacatgcc	accatgccta	gctaattttt	30720
tgtatttttg	ctaaagatgg	agtttcacca	cgttgcccag	gcttttttgg	tggtggtggt	30780
ggtggttggt	ttggaaatag	ggatttctc	agcctcccaa	gtaacagaga	ctacaggctc	30840
acaccacat	gcctggccaa	ttttttgaa	atttcttgta	cagacagagt	ctagctatgt	30900
tgcccaggct	cgtcttgaac	tcctgggctc	cagtgatcct	cctgcttggc	ctcccaaagt	30960
gctgggatta	caggtgtgac	ccaccggctt	gtagacatt	attctggcga	tagctgactg	31020
atacagatag	cagcaataac	tgtcccgatt	ttatagatca	gggaatcagg	tagagagaaa	31080
ttaaataatg	cttgcaagac	cacacagctg	taagtgatac	tcttaataag	gcagtttgag	31140
gcaaaaacct	ctactcttaa	ccattctgtc	actaatcaga	ggtaatacaa	tggcaattac	31200
cccagacttg	gcatgtactt	gtaaataaat	tagaattctc	ttaggaatag	atcatatgct	31260
tttttggcag	cagcattttt	aactttctga	tttggttata	gtggtgtatc	taaaacaaat	31320
ttatatttct	cacacatata	ctctgtaatc	ccagcacttt	gggaggccaa	ggtgggtgga	31380
tcacttgagg	ccaggagttc	aagaccagcc	tgaacaacat	ggtgaaacct	catctctacc	31440
aaaaagaaaa	aaaaattagg	cgtggtggca	tctgcatctg	taatcccaac	tactcaggag	31500
ggtgaggcag	gagaatcgct	tgaaccagg	aggcagagat	tgcatgtgac	ccagattgca	31560
ccactgcact	ctagcctggg	tgacagagcg	agactgtctc	acaaaaaaaa	caaaacaaaa	31620
caaaacaaaa	caaaaaatac	ataccaacta	cgtgggagag	gccaatgtta	gactgaacat	31680
aaaaaattga	gaaagcacat	attccctgat	ttcttgagg	gactaaattt	tatcagtgat	31740
ttaattatat	tttctagaga	aaaattatcg	agaaaaaac	tgatgttaca	gttcttaatt	31800
tgaaccact	gactgtatat	tgtgtgaaag	ccagagcaca	caccatggat	gaaaagctga	31860
ataaaagcag	tgthtttagt	gacgctgtat	gtgagaaaac	aaaaccaggt	cagaatcttt	31920

tattgtcttt	tttaaaaatg	tagctagaca	taataaaagt	aattctatac	tgtacattga	31980
aaattgtaaa	acattttctc	tttactgcaa	aaaatatata	gaaagaatgt	tttcttcatg	32040
aactacatga	atcaaaaagta	gacttttttag	aaaatatttg	taacgcttaa	ctctcaagtc	32100
gggtgtgttg	gatgctttat	atttcatcca	gtatccctat	aattaatttc	cttaatgtat	32160
ttctcttttaa	catttaataa	aactatttta	aattttttaga	atataatcct	taacataatt	32220
atcatgtaga	aatcacttag	ttcaattgtg	agttttttaa	tgtgggaatt	ggttttagtct	32280
catttttctat	tttacagttt	ctagtgttga	ccggtagagg	cttagtcaca	gaatatctat	32340
taaattttgc	tagttgtatg	gtgtaaaagt	gctgaaggat	acttgcattg	ttggcctgta	32400
tgtcaatatt	gtattttctc	ctgaggatct	cttactttag	ttcccacgcc	aatcttttaa	32460
tgtaaatgtc	attgcctatg	gttgctgtgg	actcagtgtc	gccagaaata	tttttaagag	32520
tattattttaa	tagattttat	atttcttttc	atatggctag	tctttcacac	agctgtcagc	32580
actgttaagg	catttgtatg	tcaaaatata	tgctaaatat	cacgtatatac	tttttaggaa	32640
atacctctaa	aatttggett	atagttggaa	tttgatttgc	attattttgct	ctcccgtttg	32700
tcatttatgc	tgcgaaagtc	ttcttgagat	gcatacaata	tgtcttcttt	ccatcactta	32760
aaccttcttc	cagtatagat	gaggtatggt	acttttttta	tttttttgtc	aacagctagg	32820
taatgaacag	aaaatgtgtt	tgatttcaac	aggatatatg	taggttttct	tgatatccag	32880
aaaataatag	agactgattt	gggtatcttc	ttcaaagctt	tagtcaatta	acttttaaaaa	32940
cagtaatttc	atgtaataac	atagcatgag	atagtaatga	ttgtccttaa	tttcatattt	33000
ttctggcaat	tcctagattc	actgtggcat	ttgttttacc	gtttaaagcc	tgtgattctt	33060
ggccaagcgt	gggtggctcac	gcctgtaatc	ccagcacttt	gggaggctga	ggcgggtggg	33120
tcacttgagg	tcaggagttc	gagaccagcc	tggtcaacat	ggagaaacc	tgtctctact	33180
aaaaatataa	aattagccgg	gcgtgggtggc	acatgcctgt	aatcccagct	actcgggagg	33240
ctgaggcagg	gggatcgctt	gaacctggga	ggtggaggtt	gcagtgagcc	gaggtcatgc	33300
cactgcactc	cagcctgggt	gacagagcaa	gactctgtct	ctaaataagt	aaataaagtc	33360
tgtaatgtga	ttcttctcag	tacagacagt	cccaaactta	cgctgtttca	atgtgtgatg	33420
cgtttgtcag	aacgtaattc	cattgtaagt	taggagcatc	tgtatatatac	cagaagacta	33480
aaatatttcta	tcagcgtaga	aagtatattc	tatggatgaa	atcatacaaa	atgaaataac	33540
taaaaacatg	agactttttt	tatgacacac	atcacagttt	tttgtttggc	acttctatga	33600
agctagcata	ttaaatgaaa	gcaactgaatg	gtgaaggcct	aaacatagaa	tctgttctctg	33660
ggaaaccatg	tgtctatcta	gggtgggtttt	tgtgaatttg	agcaagtcac	taagggcagg	33720
taagcaagta	cccttggtctg	taaaccacc	catagaggtg	ttaggagcaa	aggagttaaa	33780
ccataagaac	cttaccactc	taaaaatgct	ccgtaaatat	taacaatttt	actattatac	33840
ccctgagttt	ttaaatgtca	ttctgtgtga	ctgtaatatt	catagctatt	atttaaaata	33900
gacttaaaaa	ctagttacaa	tagccaataa	tttctcaatt	gtgcttcttc	tggatatata	33960
tgtgttggat	acaaacattt	ttattatttc	aaaaaaaaaa	agtcattgatc	ccagagtccg	34020
cccgtcctg	tcctttccc	tgttcttccc	cgcctacccc	gatggcacag	tgtaccttctc	34080
ttaggtactc	ttcaaagact	caccacagaa	ggtactaaga	tatgagtgc	ctcactaatg	34140
atgcttttaa	acattataag	gcaattagta	tgttcttagg	cgacttttta	atatgcatgc	34200
cagaagatag	gttttctcag	taatggatgt	aagaaactaa	agctattaca	actagaaaag	34260

gaatTTTTat	tattttaaAt	aattgatttc	tactctttcc	ctttttttaa	attagtattt	34320
ctctgaacag	ccattgaaga	atcttctgct	ttcaacttct	gaggaacaaa	tcgaaaaatg	34380
tttcataatt	gaaaatataa	gcacaattgc	tacagtagaa	gaaactaatc	aaactgatga	34440
agatcataaa	aaatacagtt	cccaaactag	ccaagattca	ggaaattatt	ctaatgaaga	34500
tgaaagcgaa	agtaaaacaa	gtgaagaact	acagcaggac	tttgtatgac	cagaaatgaa	34560
ctgtgtcaag	tataaggttt	ttcagcagga	gttactactg	gagcctgagg	tcctcacctt	34620
cctctcagta	actacagaga	ggacgtttcc	ctgtttaggg	aaagaaaaaa	catcttcaga	34680
tcataggfcc	taaaaatacg	ggcaagctct	taactattta	aaaatgaaat	tacaggcccc	34740
ggcacggtgg	ctcacacctg	taatcccagc	actttgggag	gctgaggcag	gcagatcatg	34800
aggtcaagag	atcgagacca	gcctggccaa	cgtggtgaaa	ccccatctct	actaaaaata	34860
caaaaattag	ccgggtgtgg	tggcgcgcgc	ctgtttgtctt	agctactcag	gaggctgagg	34920
caggagaatc	gcttgaaaac	aggaggtgga	ggttgcagtg	agccgagatc	acgccactgc	34980
actccagcct	ggtgacagcg	tgagactctt	taaaaaaga	aattaaaaga	gttgagacaa	35040
acgtttccta	cattcttttc	catgtgtaaa	atcatgaaaa	agcctgtcac	cggacttgca	35100
ttggatgaga	tgagtcagac	caaaacagtg	gccaccgcgc	ttctctctgt	gagcctaagt	35160
gcagccgtgc	tagctgcgca	ccgtggctaa	ggatgacgtc	tgtgttctctg	tccatcactg	35220
atgctgctgg	ctactgcatg	tgccacacct	gtctgttcgc	cattcctaac	attctgtttc	35280
attcttcctc	gggagatatt	tcaaacattt	ggtcttttct	tttaactctg	agggtaggcc	35340
cttaggaaat	ttatttagga	aagtctgaac	acgttatcac	ttggttttct	ggaaagtagc	35400
ttaccctaga	aaacagctgc	aaatgccaga	aagatgatcc	ctaaaaatgt	tgagggactt	35460
ctgttcattc	atcccagaaa	cattggcttc	cacatcacag	tatctaccct	tacatggttt	35520
aggattaaag	ccaggcaatc	ttttactatg	cattaagacc	tctgattcaa	aacttattag	35580
aacagtagct	tctgctggaa	tttgcaatca	ctgaagtcac	agaaaatagg	taactatcta	35640
attagagaaa	taattgttgt	attttaagat	ctgagagtgt	gtacaagttt	tagtatacat	35700
gccatgccag	aagatagtgt	atgcaagaag	tcttgggacc	agaaaatggc	aatgatagga	35760
gactgacata	gaagaagaat	gcttccctag	gaaaaaggtc	gctggctttg	gtgcaagagg	35820
aagaagaatg	ttccactgga	agcctgagca	cctaatacag	tctcagtgat	caaccctctc	35880
ttgttatggg	tggctctctg	cactttgaat	gccaggtctg	cttctcgtct	agcagtattc	35940
agataccctt	tctgctcagc	ctgcttggcg	ttaaaataca	aatcattgaa	ctgaggggga	36000
aaaatgtaac	taggaagaaa	aacccaattt	aagaaattac	ataatgcttt	caaaggcac	36060
ctacaactta	gttttaaatt	acttgcactt	ggggattacc	catggatata	cttaataggc	36120
aggaagtctg	ggaattctgg	tggcctctag	ggcagtgttc	tcacagcacc	gttccgacag	36180
ggaccagtga	aagaaaagag	acaaagttag	aacgtgctgg	ggagcggcca	tttctaaggc	36240
cagtctgggt	taagtagtca	tttctgctga	aaaacagat	gatcctgggtg	gaagaaaagg	36300
ttgaaggcag	ctgccctcgg	gagggtctgt	atgctcggca	catcctgcct	ggcacataca	36360
cgtgtctgca	ggccacaccg	tgcattgtccc	cagacctgcc	gcctggcttc	tggagtgttt	36420
caagcagagc	atggtgggtc	attgaggaga	cccaggaatc	tcactctgaga	accactctc	36480
tgccggagaa	ccccatgggtg	acacattttc	atctttctga	ccagaggctg	tttttttttt	36540
tttttgagac	agtctcattc	tgttgcccag	gctggagtgc	agtggcttga	tctcggctca	36600

ctgcaacctc	gcctcccggg	ttcaagcaat	tctctgcegc	agcctccaga	gtagctggga	36660
taacaggtgc	ccaccaccac	accccactaa	tttttgtatt	tgtatTTTTA	gtagagatgg	36720
ggtttcacca	tgttggtcag	gctggctctg	gactcctgac	ctcatgctcc	acccgcttcg	36780
gcctcccaaa	gttctgggat	tacaggtgtg	agccaccgtg	cacggccggc	ctgacctttg	36840
gaaaagcctt	gtcacttttg	acgtttgcgt	ctttgaagag	gcatgaggag	catatcatga	36900
ctgcctgcca	ccattgcttt	tcagactacc	acaactcaat	catgctgtcc	aggacttctg	36960
gccctgtggt	caccactggg	aaaacgtact	tcagactgga	tagcctaaaa	aggagcaatg	37020
ccctttagtg	atgtggagaa	gggaaaatac	ggacattaac	attaaaagac	accagtgaaa	37080
ttgttaggtc	tctaggaagt	tggagcacia	ggcttcacgc	tttaagacca	tctgtggttt	37140
tcagtgaaca	agcgtgagc	accagcagca	gaaaacaaca	acaaaaaac	acctcgTTTT	37200
taccttgtct	tctagacatg	aaaaggcagt	tgcattccac	tctgcattat	gttctacatg	37260
ttgctttatc	agtatatget	tagctgtaag	tgacaagtat	TTTTtctgaa	cagaagTTTA	37320
cttagaaaata	ccatgcactt	gggggtacca	attaaccgcc	tgaaaattag	catattgata	37380
gttcttagag	agaccagata	taatctaaga	atttatatga	aagatttgta	tcattagagc	37440
cagaaataat	tttatattaa	tatataatac	agattaacat	tatatataat	atgtacctgt	37500
gtcacttctg	acatgagcct	gtaaacatat	attcatatat	gtacctgcac	atgtaccac	37560
ctgatgtagg	tcttattcct	ttagtatgga	cttaaagtac	ttattcatat	accttgtaac	37620
taaaaattag	aacagctccc	tagaattgtg	aacttttaag	agtctgacta	gaaatttgca	37680
acttataaaa	aagtactttt	taaaaatata	agttagggtc	aggcacagtg	gctcatgcct	37740
ataatctcag	cacttttggg	aggccaagac	aggaggatca	cttcaggcca	ggagttcaag	37800
atcaaccaac	ctgggtaaca	tggccagacc	ccatctctat	ttatatatat	atatataaaa	37860
cttagagttt	ttatcttccc	ctaaaagagg	ccgtgatatt	tgcagcagcc	tcaaattgct	37920
cttaaggggt	ttaggtgtgc	agaagctttc	ctttccctac	ccagtaacca	tgtgactact	37980
aacgtgggat	attgatttat	ttgtttgct	gtctgtctcc	cctgccccac	tgctggaaca	38040
gaggctccaa	gaaaacaggg	accttattat	tcattactgc	atccccagta	atgaaagtac	38100
ttagaaaata	attattgaat	gaatgaaatc	taaactgtga	acctgagggt	gtttgtggca	38160
gtgtttgttt	tactgaattg	tagaaggaca	taaccgtggt	ttcagtgttt	ctatggaaca	38220
aacttgtaaca	ttttatttca	cttgtgtttt	gtcttaaacc	ctactgctgg	aaacaatttt	38280
atgtaataag	caatgggccc	aaaagtctag	gagTTTTTT	gtacttagtg	aatttgatg	38340
caacagagat	gctgcagctg	atgcctttaa	aaggatttca	tcattggaaga	gctgaggcct	38400
gtgcttgggt	ttccagagcc	cagggttgag	catctggaag	gagccactgc	agccgtcact	38460
gtccccagag	cctgtggaga	tagagcctgt	ttgtctcttt	ttcttcccgc	tcttaagaca	38520
tggtctggagc	tcagtcttca	ttgaatgaag	tttctgtgtg	tattgcatag	ccttgctttc	38580
ttgaactaaa	ctgtttgccc	ttcacaagta	gttcttcttt	caggattagt	tcgttccaag	38640
gaggctcttc	agtctcacag	ataagtagat	ctctctgct	gtctggacac	atctcactcg	38700
gaaattgaat	acaatttgta	ttcaggetgg	gaacctgaac	acacacttgt	gtttttaagc	38760
ttcccttttt	tacagtggac	aaggacacia	ataataaata	aatcatcct	aatgcccag	38820
aaatgccctg	gtacttagta	ataacaaaat	accagtaact	tccagttggt	tctcactacc	38880
TTTTtcttg	agtaggatga	taatagaatt	acaactcttg	agggaacat	aaatataggt	38940

ggatatttgt	ggtatgatat	tgatggaaaa	atagcaatct	ttttctttac	ctgaggggaa	39000
caaaggcaag	aggagaattc	gatagttctc	ataacaaagg	atctctgagt	tttctcccc	39060
tttctgtgat	ctgtctccac	ttggaactca	tgttctagca	aaggacattt	tgtgggtgaa	39120
gaagtgatta	atgattagga	tgaagaaaat	gttggcagtt	ccagcctggc	caacatggtg	39180
aaaccccgctc	tctactaaaa	atacaaaaat	tagccaagca	tggtggcatg	tcctgtaat	39240
cccagctact	ggggaggctg	aggcaggaga	atcgattgaa	cccgggaggc	ggaggttaca	39300
gtgagctaag	atcgcaccac	tgcaactccag	gctgggcgac	agagcgagac	tccatctcaa	39360
aagaaaaaaaa	atggtggcag	agaagatgtt	ctggtgtttt	ttttttttt	taaggtcttg	39420
agaaaaaggga	ggaagttgaa	aaattttatc	actcaatagc	tggattaaat	taaacattac	39480
gtctcacagt	gactcaccac	ccttgagcct	ccctcccaga	ttttctggat	acatcaaagt	39540
taagaagaaa	aacctatttt	cctatctttc	cagtaaaagg	accctttttt	ctaaacatag	39600
tccttaaata	tataataggc	tttttgtgta	cttgactctg	ttgtctattc	ccaaatttta	39660
taatactttt	aatattctgg	aattgtactt	agagagatta	ttctaaatgt	tgtagtataa	39720
aagtacatca	tccactctga	aatctcccta	aaagaactcc	actgcataca	cgtggagaag	39780
tcatcatgcc	ccatctgtgt	ctgtacctgc	gggtgtgtct	agcatgctcc	ctaggggaagg	39840
gattttatac	catttgctta	tatttatttg	gcaagctcca	tgaaaacaag	gactgttttt	39900
taactttgtg	gctgacactt	ggttgcceta	gtgtttaacg	gtgattgagc	ggggacgttg	39960
acggtacaaa	cactgattga	atttaccact	ggagggcaac	aagtcaccct	gttcaggctg	40020
acaatcggtt	actattcaat	aattccattc	ccagaagata	cgccaagtat	gtttatacag	40080
gtggtttctt	aaagttctgt	ttgtgattat	ctcgtcttga	gcaaatgagg	aaaggatgtg	40140
aagaatctgg	tgtccccatg	atctcaccca	gaaatggttt	ggtagttaca	aagcaagata	40200
gagcagttga	gcaaataactt	agcccatcta	gtcctctacc	actaccacct	tcgcctttta	40260
atgagcagga	ctttgtagta	agcgagttgt	tgaaaaggag	ctccacatac	ttagtaacag	40320
cctcggagcg	gatggaaaga	agtaggcatt	gctgcagagc	tgagatgaac	ctgcaaggag	40380
acagccttgg	cccagggaa	tgatcactgc	actgcgcccc	ctactggcct	ggctgagatg	40440
actagctgtg	attccctcct	tagtctcacc	tgttgaagat	ggcgcagaac	agttacagcc	40500
atgatcaaaa	aagataatta	atactttagt	gtctcctgcc	ctatccgccc	ccagggagag	40560
gccagaccat	tcagggtgcc	agctggaggt	tataagggtg	gagtggtggag	acagtgtttc	40620
gtgtcactac	ttcctttttt	ttttttttt	ttttttttt	tgagacagag	ttttgctctt	40680
gtcgcgccagg	ctggagtgcg	gtggggcgat	ctcggctcac	tccaactttc	acctcccagg	40740
ttcaagcaat	tctcctgcct	cagcctgctg	aatagctggg	attacaggcg	cctgccacca	40800
cgcccaacta	atttttctat	tttttagtaga	gagcttctg	atagctgaac	atgcagaggc	40860
tgctgggaag	ggcatagaat	ctctgcagtc	cttctecat	accttatcct	atgtatctct	40920
tcactctgtat	cctttgtaat	agccttcata	ataaacgggt	aacataagt	tagtgtttcc	40980
tctagttctg	ttaggcaatc	tagcaaatca	gttgaacaca	aggagggggc	catgggaccc	41040
tcaatttata	gtcattcagt	cataacaggt	aaaacctggg	gcttgcaatt	ggcatcgtaa	41100
ataagggggc	agtcttgtgg	gaatgagctc	tcaacctgtg	agattgaagc	agcatggttg	41160
tctggggtaa	tacgtgtggt	ttgttcccc	acgccaagga	aatcgaggat	ggggacacaa	41220
aaggagtggg	ttcaagagcg	gaagttagc	aggcaaaaga	aagaagagac	cttcctgtg	41280

cagaggaagg agtcccgaac aggtttccgg gtttacagcg agatgcggtt gcttttatag	41340
atgagcttga ggaagcgggtg tcttatttac gtagggcaca gaggattggt tggaccaggt	41400
gttccattta catagcacag gaagaggctg gccatccac cctcatctgt tattatgcaa	41460
atggcacctc tacctagccc aggccttggt gcctgctttt ttactgcaca cgtggcaaca	41520
aagaaaaggg aaaagggaac ttcaatattg aatatactg acttccaagt atccctttcc	41580
tattggcaca gctgctggca ttcgcctatg caagcttcca gtttgcttat ctatgtttgc	41640
agcttgagtt ttcaggctct ttttgtaga aaagaaatga tttggggctt ctttttatta	41700
aaaggcaaac cttactgagg actcttttat cctcactaac tgcctaaata aattttgttt	41760
agggtgtgta tcaggatctg atgctatctc caggtagaca gtgtcagaat taaataggag	41820
gatacccaac cagtgtctgc tgcagaattg attgccttct tgttaatggg gagaaatcac	41880
tacgcatthg gtcacagaag tcttctgtgt ttattgttgt ggcatgagag cagaggaaaa	41940
acggtttgag atttttcccc tcaaaaacat aggggaaatc ttcatgatat tggacttggc	42000
<210> 2	
<211> 6099	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 2	
aggcggcgcg tgcgtagagg ggcggtgaga gctaagaggg gcagcgcgtg tgcagagggg	60
cggtgtgact taggacgggg cgatggcggc tgagaggagc tgcgcgtgcg cgaacatgta	120
actggtgga tctgcggcgg ctcccagatg atggtcgtcc tcttgggcgc gacgacccta	180
gtgctcgtcg ccgtggcgcc atgggtgttg tccgcagccg caggtggaaa aatctaaaa	240
tctcctcaaa aagtagaggt cgacatcata gatgacaact ttatcctgag gtggaacagg	300
agcgatgagt ctgtcgggaa tgtgactttt tcattcgatt atcaaaaaac tgggatggat	360
aattggataa aattgtctgg gtgtcagaat attactagta ccaaatgcaa cttttcttca	420
ctcaagctga atgtttatga agaaattaa ttgcgtataa gagcagaaaa agaaaact	480
tcttcatggt atgaggttga ctcatthaca ccatttcgca aagctcagat tggctctcca	540
gaagtacatt tagaagctga agataaggca atagtgatac acatctctcc tggacaacaa	600
gatagtgtta tgtgggcttt ggatggttta agctttacat atagcttagt tatctggaaa	660
aactcttcag gtgtagaaga aaggattgaa aatatttatt ccagacataa aatttataaa	720
ctctcaccag agactactta ttgtctaaaa gttaaagcag cactacttac gtcatggaaa	780
attggtgtct atagtccagt acattgtata aagaccacag ttgaaaatga actacctcca	840
ccagaaaata tagaagtcag tgtccaaaat cagaactatg ttcttaaatg ggattataca	900
tatgcaaaaca tgaccttca agttcagtggt ctccacgct ttttaaaaag gaatcctgga	960
aaccatttgt ataaatggaa acaaaact gactgtgaaa atgtcaaac taccagtggt	1020
gtctttcctc aaaacgtttt ccaaaaagga atttacctc tccgcgtaca agcatctgat	1080
ggaaataaca catctttttg gtctgaagag ataaagtttg aactgaaat acaagctttc	1140
ctacttcctc cagtctttaa cattagatcc cttagtgatt cattccatat ctatatcggg	1200
gctccaaaac agtctggaaa cacgcctgtg atccaggatt atccactgat ttatgaaatt	1260
atTTTTTggg aaaacacttc aaatgctgag agaaaaatta tcgagaaaaa aactgatgtt	1320

acagttccta	atttgaacc	actgactgta	tattgtgtga	aagccagagc	acacaccatg	1380
gatgaaaagc	tgaataaaag	cagtgttttt	agtgacgctg	tatgtgagaa	aacaaaacca	1440
ggaaatacct	ctaaaatttg	gcttatagtt	ggaatttgta	ttgcattatt	tgctctcccg	1500
tttgtcattt	atgctgcgaa	agtcttcttg	agatgcatca	attatgtctt	ctttccatca	1560
cttaaaccctt	cttccagtat	agatgagtat	ttctctgaac	agccattgaa	gaatcttctg	1620
ctttcaactt	ctgaggaaca	aatcgaaaaa	tgtttcataa	ttgaaaatat	aagcacaatt	1680
gctacagtag	aagaaactaa	tcaaactgat	gaagatcata	aaaaatacag	ttcccaaact	1740
agccaagatt	caggaaatta	ttctaataa	gatgaaagcg	aaagtaaac	aagtgaagaa	1800
ctacagcagg	actttgtatg	accagaaatg	aactgtgtca	agtataaggt	ttttcagcag	1860
gagttacact	gggagcctga	ggtcctcacc	ttcctctcag	taactacaga	gaggacgttt	1920
ccctgtttag	ggaaagaaaa	aacatcttca	gatcataggt	cctaaaaata	cgggcaagct	1980
cttaactatt	taaaaatgaa	attacaggcc	cgggcacggt	ggctcacacc	tgtaatccca	2040
gcactttggg	aggctgaggc	aggcagatca	tgaggtcaag	agatcgagac	cagcctggcc	2100
aacgtggtga	aaccccatct	ctactaaaaa	tacaaaaatt	agccgggtgt	ggtggcgcgc	2160
gctgtttgtc	ttagctactc	aggaggctga	ggcaggagaa	tcgcttgaaa	acaggaggtg	2220
gaggttgacg	tgagccgaga	tcacgccact	gcactccagc	ctggtgacag	cgtgagactc	2280
tttaaaaaaa	gaaattaaaa	gagttgagac	aaacgtttcc	tacattcttt	tccatgtgta	2340
aaatcatgaa	aaagcctgtc	accggacttg	cattggatga	gatgagtcag	accaaacag	2400
tggccaccgc	tcttctctct	gtgagcctaa	gtgcagccgt	gctagctgcg	caccgtggct	2460
aaggatgacg	tctgtgttcc	tgtccatcac	tgatgctgct	ggctactgca	tgtgccacac	2520
ctgtctgttc	gccattccta	acattctgtt	tcattcttcc	tcgggagata	tttcaaacat	2580
ttggtctttt	cttttaacac	tgagggtagg	cccttaggaa	atthatttag	gaaagtctga	2640
acacgttatc	acttggtttt	ctggaaagta	gcttacccta	gaaaacagct	gcaaatgccca	2700
gaaagatgat	ccctaaaaat	gttgaggac	ttctgttcat	tcaccccgag	aacattggct	2760
tccacatcac	agtatctacc	cttcatggt	ttaggattaa	agccaggcaa	tcttttacta	2820
tgcatthaaga	cctctgattc	aaaacttatt	agaacagtag	cttctgctgg	aatttgcaat	2880
cactgaagtc	atagaaaata	ggttaactatc	taattagaga	aataattggt	gtattttaag	2940
atctgagagt	gtgtacaagt	tttagtatac	atgccatgcc	agaagatagt	gtatgcaaga	3000
agtcttgga	ccagaaaaatg	gcaatgatag	gagactgaca	tagaagaaga	atgcttccct	3060
aggaaaaagg	tcgctggcct	tggtgcaaga	ggaagaagaa	tgttccactg	gaagcctgag	3120
cacctaataca	gctctcagtg	atcaaccac	tcttgttatg	ggtggtctct	gtcactttga	3180
atgccaggct	ggcttctcgt	ctagcagtat	tcagataacc	cttctgctca	gctgcttgg	3240
cgtaaaaata	caaatcattg	aactgagggg	gaaaaatgta	actaggaaga	aaaacccaat	3300
ttaagaaatt	acataatget	ttccaaaggc	acctacaact	tagtttttaa	ttacttgcta	3360
ctggggatta	cccatggata	tccttaatag	gcaggaagtc	tggaattct	ggtggcctct	3420
agggcagtg	tctcacagca	ccgttccgac	aggaccagt	gaaagaaaag	agacaaagtt	3480
agaacgtgct	ggggagcggc	catttctaag	gccagtctgg	tttaagtagt	catttctgct	3540
gaaaaaacag	atgatcctgg	tggaagaaaa	ggttgaaggc	agctgcctc	gggagggctg	3600
tgatgctcgg	cacatcctgc	ctggcacata	cacgtgtctg	caggccacac	cgtgcatgct	3660

cccagacctg	ccgcctggct	tctggagtgc	ttcaagcaga	gcatggtggg	tcattgagga	3720
gacccaggaa	tctcatctga	gaaccactc	tctgccggag	aacccatgg	tgacacattt	3780
tcattctttct	gaccagaggc	tgTTTTTTTT	TTTTTTTgag	acagtctcat	tctgttgccc	3840
aggctggagt	gcagtggcct	gatctcggct	cactgcaacc	tcgcctcccc	ggttcaagca	3900
attctctgcc	gcagcctcca	gagtagctgg	gataacaggt	gcccaccacc	acacccact	3960
aatttttgta	tttgtatttt	tagtagagat	ggggtttcac	catgttggtc	aggctggtct	4020
tggactcctg	acctcatgct	ccacccgctt	cggcctccca	aagtctggg	attacaggtg	4080
tgagccaccg	tgacggccg	gctgacctt	tgaaaagcc	ttgtcacttt	ggacgtttgc	4140
gtctttgaag	aggcgatggg	agcatatcat	gactgctgc	caccattgct	tttcagacta	4200
ccacaactca	atcatgctgt	ccaggacttc	tgccctgtg	ttcaccactg	ggaaaacgta	4260
cttcagactg	gatagcctaa	aaaggagcaa	tgcccttgta	ggatgtggag	aagggaaaat	4320
acggacatta	acattaaaag	acaccagtga	aattgttagg	tctctaggaa	gttggagcac	4380
aaggettac	gctttaagac	catctgtggt	tttcagtga	caagcgtga	gcaccagcag	4440
cagaaaaca	caacaaaaa	acacctcgtt	tttacctgt	cttctagaca	tgaaaaggca	4500
gttgcatcc	actctgcatt	atgttctaca	tgttgcttta	tcagtatatg	cttagctgta	4560
agtgacaagt	atTTTTTctg	aacagaagtt	tacttagaaa	taccatgcac	ttgggggtac	4620
caattaaccg	cctgaaaatt	agcatattga	tagttcttag	agagaccaga	tataatctaa	4680
gaatttatat	gaaagatttg	tatcattaga	gccagaaata	atTTTatatt	aatatataat	4740
acagattaac	attatatata	atatgtacct	gtgtcacttc	tgacatgagc	ctgtaaacad	4800
atattcatat	atgtacctgc	acatgtacc	acctgatgta	ggtcttattc	ctttagtatg	4860
gacttaaagt	acttattcat	ataccttgta	actaaaatt	agaacagctc	cctagaattg	4920
tgaactttta	agagtctgac	tagaaatttg	caactataa	aaaagttact	tttaaaaata	4980
taagttaggg	ctaggcacag	tggctcatgc	ctataatctc	agcacttttg	ggaggccaag	5040
acaggaggat	cacttcaggc	caggagtcca	agatcaacca	acctgggtaa	catggccaga	5100
ccccatctct	atTTtatata	atatatataa	aacttagagt	TTTTatcttc	ccctaaaaga	5160
ggccgtgata	tttgcagcag	cctcaaattg	ctcttaaggg	gtttaggtgt	gcagaagctt	5220
tcctttccct	accagtaac	catgtgacta	ctaactgggt	atattgattt	atTTTgtttg	5280
ctgtctgtct	cccctgcccc	actgctggaa	cagaggctcc	aagaaaacag	ggaccttatt	5340
attcattact	gcatccccag	taatgaaagt	acttagaaaa	taattattga	atgaatgaaa	5400
tctaaactgt	gaacctgagg	gtgtttgtgg	cagtgtttgt	tttactgaat	tgtagaagga	5460
cataaccgtg	TTTTcagtgt	ttctatggaa	caaacttgta	cattttattt	cacttgtggt	5520
ttgtcttaaa	ccctactgct	ggaacaatt	ttatgtaata	agcaatgggc	ccaaaagtct	5580
aggagttttt	ttgtacttag	tgaatttgta	tgcaacagag	atgctgcagc	tgatgccttt	5640
aaaaggtatt	catcatggaa	gagctgaggc	ctgtgcttgg	tgttcagag	cccagggttg	5700
agcatcctga	aggagccact	gcagccgtea	ctgtccccag	agcctgtgga	gatagagcct	5760
gtttgctgct	TTTTcttccc	gctcttaaga	catggctgga	gctcagtctt	cattgaatga	5820
agtttgctgt	ggtattgcat	agccttgctt	tcttgaacta	aactgtttgc	ccttcacaag	5880
tagttcttct	ttcaggatta	gttcgtcca	aggagctct	tcagtctcac	agataagtag	5940
atctctcctg	ctgtctggac	acatttcaact	cggaaattga	atacaatttg	tattcaggct	6000

gggaacctga acacacactt gtgtttttaa gtttccttt ttacagtgg acaaggacac	6060
aaataataaa taaatcatcc ctaatgccca agaaaaaa	6099
<210> 3	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 引物	
<400> 3	
ggaactgagg ccatgattaa ga	22
<210> 4	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 引物	
<400> 4	
acctccgact ttcgttcttg	20
<210> 5	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 探针	
<400> 5	
aagacggacc agagcgaaag cat	23
<210> 6	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 引物	
<400> 6	
ctttcaagtt cagtggctcc a	21
<210> 7	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	

<223> 引物	
<400> 7	
cgttttgagg aaagacacac tg	22
<210> 8	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 探针	
<400> 8	
agttttgaca ttttcacagt caggtatttg ttcc	35
<210> 9	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 9	
tttatccaat tatccatccc	20
<210> 10	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 10	
tgcctaatt tttctctcac	20
<210> 11	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 11	
ctttttctgc tcttatacgc	20
<210> 12	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	12	
	ctgttttaca ttttttttcc	20
<210>	13	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial sequence)	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	13	
	tttcatatgtt gttacttcct	20
<210>	14	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial sequence)	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	14	
	ttcgcctaatt ttttctctca	20
<210>	15	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial sequence)	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	15	
	tttgcataatg tataatccca	20