



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I794662 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：109135754

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 14 日

(51)Int. Cl.：

*C12N15/113 (2010.01)**A61K47/54 (2017.01)**A61K31/712 (2006.01)**A61K31/7125(2006.01)**A61P31/20 (2006.01)**A61P33/00 (2006.01)*

(30)優先權：2016/03/14

歐洲專利局

16160149.7

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：佩得森 萊可 PEDERSEN, LYKKE (DK)；傑凡巴क्टर 海珊 JAVANBAKHT, HASSAN (CA)；傑克羅特 梅蘭妮 JACKEROTT, MALENE (DK)；歐特森 索倫 OTTOSEN, SOREN (DK)；盧安賽 蘇法隆尼 LUANGSAY, SOUPHALONE (FR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 104583401A

US 20110251259A1

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：13 共 460 頁

(54)名稱

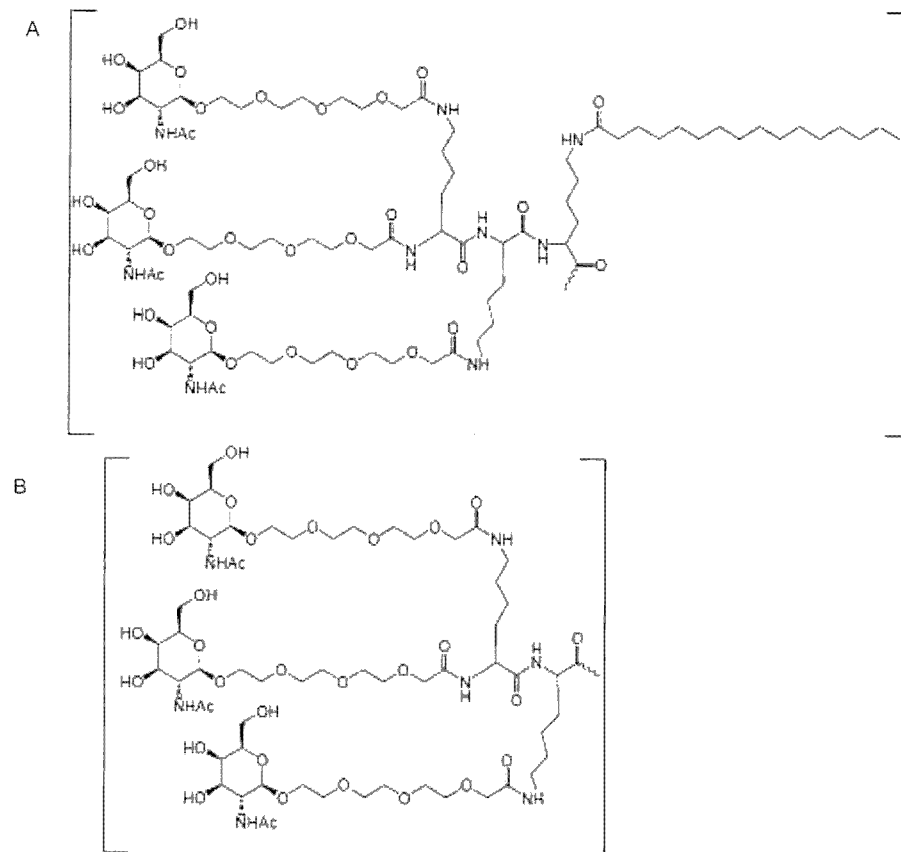
用於降低 PD-L1 表現之寡核苷酸

(57)摘要

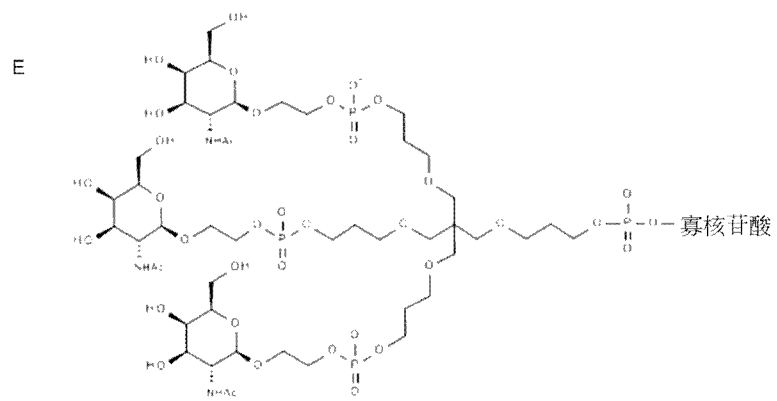
本發明係關於能夠降低靶細胞中之 PD-L1 表現之反義寡核苷酸。該等寡核苷酸雜交至 PD-L1 mRNA。本發明另外關於該寡核苷酸之偶聯物及醫藥組合物以及使用該寡核苷酸治療病毒性肝感染 (諸如 HBV、HCV 及 HDV)、寄生蟲感染 (諸如瘧疾、弓蟲症、利什曼病(leishmaniasis)及錐蟲病)或肝癌或肝中轉移之方法。

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

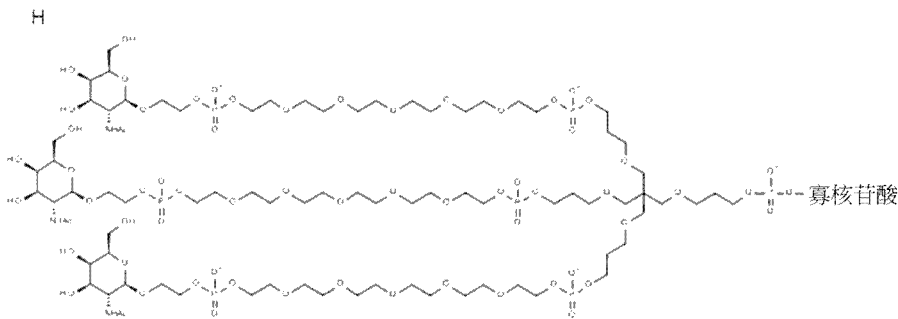
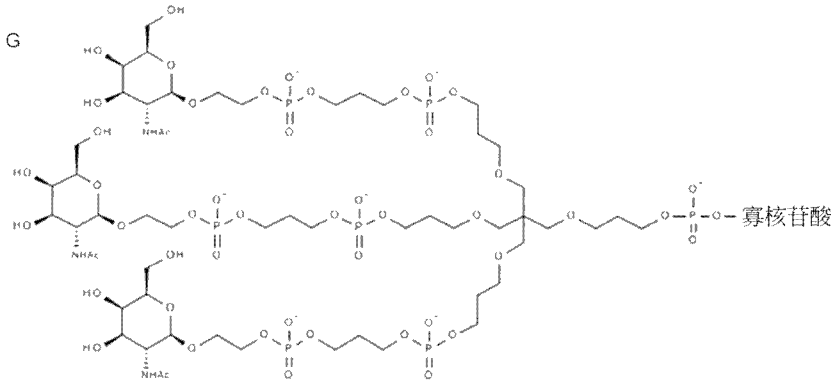
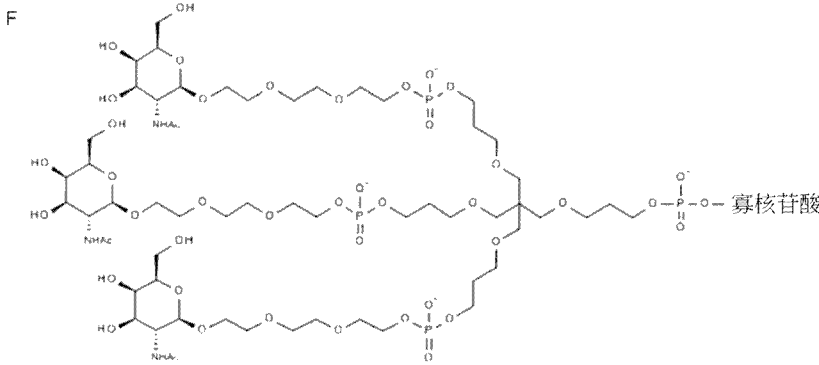
指定代表圖：



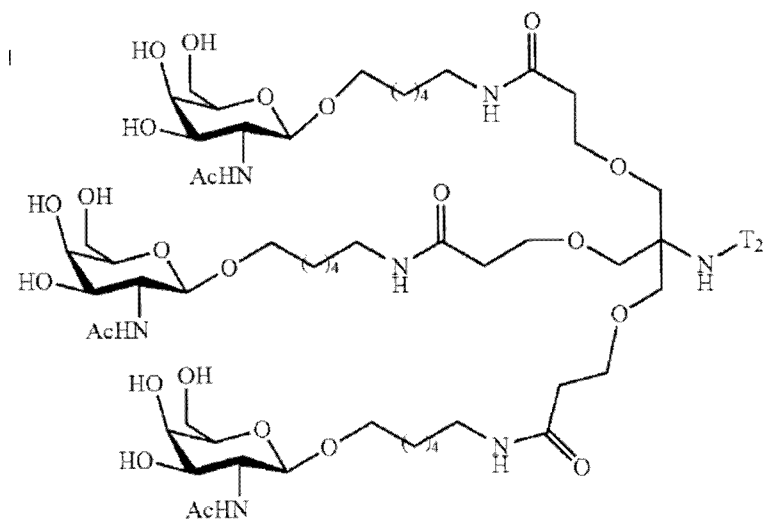
【圖1】



【圖 1】(續)



【圖 1】(續)



【圖 1】(續)



I794662

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於降低PD-L1表現之寡核苷酸

【英文發明名稱】

OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1

EXPRESSION

【中文】

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

【英文】

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

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於降低PD-L1表現之寡核苷酸

【英文發明名稱】

OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1

EXPRESSION

【技術領域】

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

【先前技術】

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

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

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

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

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

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

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

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

本發明目標

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

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

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

【發明內容】

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

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

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

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

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

在另一態樣中，本發明提供用於恢復針對病毒或寄生蟲之免疫性之

寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

在另一態樣中，本發明提供用作藥劑之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

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

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

【圖式簡單說明】

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

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

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

圖4：CMP ID NO 766_2之結構式。

圖5：CMP ID NO 767_2之結構式。

圖6：CMP ID NO 768_2之結構式。

圖7：CMP ID NO 769_2之結構式。

圖8：CMP ID NO 770_2之結構式。

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

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

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

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

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

【實施方式】

定義

寡核苷酸

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

反義寡核苷酸

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

鄰接核苷酸序列

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

核苷酸

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

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

經修飾核苷

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

經修飾核苷間鏈接

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

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

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

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

在一些實施例中，核苷間鏈接包括硫(S)，例如硫代磷酸酯核苷間鏈接。

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

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

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

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

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

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

在一實施例中，寡核苷酸中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯及/或

硼烷磷酸酯鏈接。較佳地，寡核苷酸中之所有核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯鏈接。

核鹼基

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

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

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

經修飾寡核苷酸

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

互補性

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

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

術語「完全互補」係指100%互補性。

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

5'gcagtagagccaatta3' (SEQ ID NO:772)

3'cgatcatctcggttaat5' (SEQ ID NO: 5)

一致性

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

雜交

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

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

靶核酸

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

表1：人類PD-L1外顯子及内含子

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

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

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

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

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

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

表2：各物種中之PD-L1之基因體及組合體資訊。

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

Fwd = 正向鏈。基因體坐標提供 mRNA 前體序列(基因體序列)。
NCBI 參考提供 mRNA 序列(cDNA 序列)。

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

表3：各物種中之PD-L1之序列細節。

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

靶序列

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

靶序列可為靶核酸之子序列。

在一些實施例中，子序列係選自由 a1-a149 (參見表4) 組成之群之序

第 16 頁(發明說明書)

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

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

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

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

靶細胞

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

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

天然變體

術語「天然變體」係指PD-L1基因或轉錄物之如下變體：其與靶核

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

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

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

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

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

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

表現調節

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

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

高親和力修飾性核苷

高親和力修飾性核苷係在納入寡核苷酸中時會增強寡核苷酸對其互補靶之親和力(例如如藉由熔融溫度(T_m)所量測)之經修飾核苷酸。本發明之高親和力修飾性核苷較佳地使得每一經修飾核苷之熔融溫度增加 $+0.5^{\circ}\text{C}$ 至 $+12^{\circ}\text{C}$ 、更佳地 $+1.5^{\circ}\text{C}$ 至 10°C 及最佳地 $+3^{\circ}\text{C}$ 至 $+8^{\circ}\text{C}$ 。業內已知諸多高親和力修飾性核苷且包含(例如)許多2'取代核苷以及鎖核酸(LNA) (例如參見 Freier & Altmann ; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 及 Uhlmann ; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213)。

糖修飾

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

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

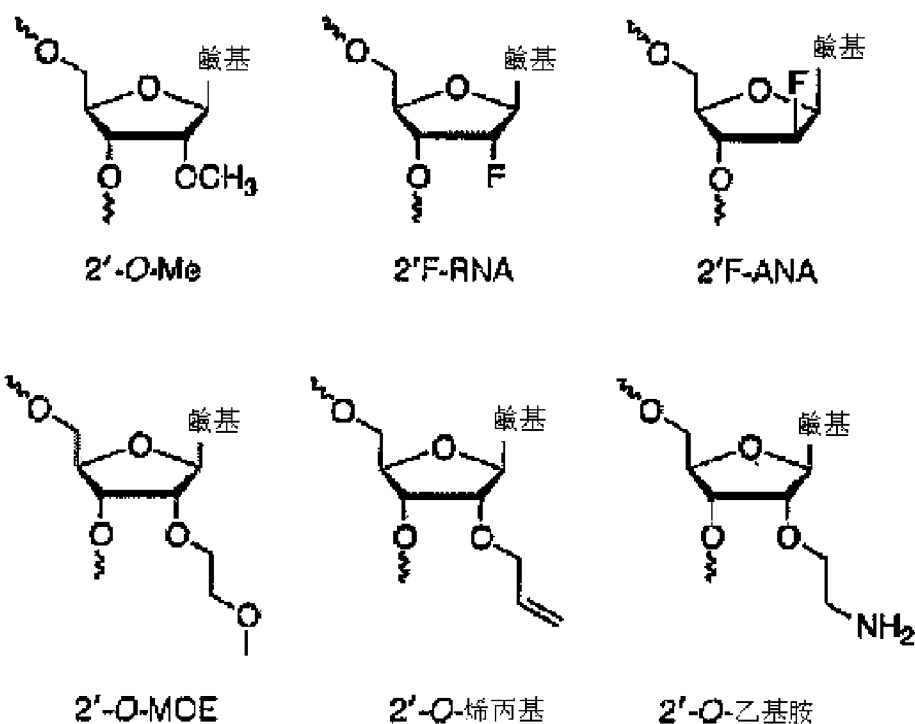
該等修飾包含核糖環結構(例如)藉由使用以下結構進行代替來修飾者：己糖環(HNA)；或通常在核糖環上之C2碳與C4碳之間具有雙自由基橋之雙環(LNA)；或通常在C2碳與C3碳之間缺乏鍵之未連接核糖環(例如 UNA)。其他糖修飾性核苷包含(例如)雙環己糖核酸(WO2011/017521)或三環核酸(WO2013/154798)。經修飾核苷亦包含糖部分經非糖部分代替之核苷，例如在肽核酸(PNA)或嗎啉基核酸之情形下。

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

核苷在納入寡核苷酸中時具有有益性質(例如增強之核苷抗性及增強之親和力)。

2' 修飾核苷

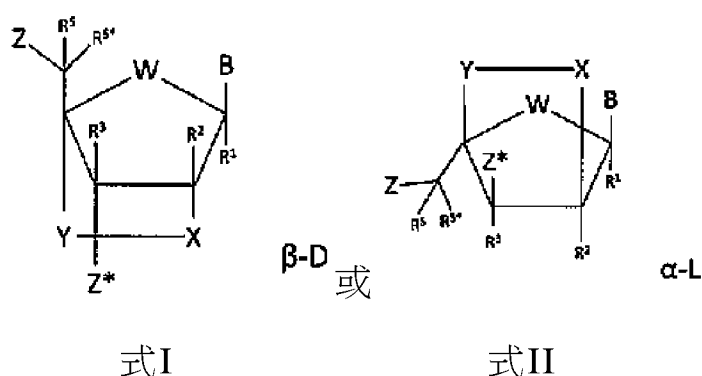
2' 糖修飾性核苷係在2' 位具有除H或-OH外之取代基(2' 取代核苷)或包括2' 連接雙自由基之核苷，且包含2' 取代核苷及LNA (2' - 4' 雙自由基橋接)核苷。舉例而言，2' 修飾糖可向寡核苷酸提供增強之結合親和力及/或增加之核酸酶抗性。2' 取代修飾性核苷之實例係2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA (MOE)、2'-胺基-DNA、2'-氟-RNA 及2'-F-ANA核苷。關於其他實例，請參見(例如) Freier & Altmann ; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443及Uhlmann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



鎖核酸核苷(LNA)。

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

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



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

B指定核鹼基或經修飾核鹼基部分；

Z指定至毗鄰核苷之核苷間鏈接或5'-末端基團；

Z*指定至毗鄰核苷之核苷間鏈接或3'-末端基團；

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

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

在一些實施例中，X係-O-。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

醯基氧基、硝基、疊氮基、硫烷基、C₁₋₆-硫烷基、鹵素，其中芳基及雜芳基可視情況經取代且其中兩個孿位取代基R^a及R^b一起可指定視情況經取代之亞甲基(=CH₂)，其中對於所有對掌性中心而言，不對稱基團可以*R*或*S*定向發現。

其中R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}獨立地選自由以下組成之群：氫、視情況經取代之C₁₋₆-烷基、視情況經取代之C₂₋₆-烯基、視情況經取代之C₂₋₆-炔基、羥基、C₁₋₆-烷氧基、C₂₋₆-烷氧基烷基、C₂₋₆-烯基氧基、羧基、C₁₋₆-烷氧基羰基、C₁₋₆-烷基羰基、甲醯基、芳基、芳基氧基-羰基、芳基氧基、芳基羰基、雜芳基、雜芳基氧基-羰基、雜芳基氧基、雜芳基羰基、胺基、單-及二(C₁₋₆-烷基)胺基、胺甲醯基、單-及二(C₁₋₆-烷基)-胺基-羰基、胺基-C₁₋₆-烷基-胺基羰基、單-及二(C₁₋₆-烷基)胺基-C₁₋₆-烷基-胺基羰基、C₁₋₆-烷基-羰基胺基、脲基、C₁₋₆-烷醯基氧基、磺醯基、C₁₋₆-烷基磺醯基氧基、硝基、疊氮基、硫烷基、C₁₋₆-硫烷基、鹵素，其中芳基及雜芳基可視情況經取代，且其中兩個孿位取代基一起可指定側氧基、側硫基、亞胺基或視情況經取代之亞甲基。

在一些實施例中，R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}獨立地選自C₁₋₆烷基(例如甲基)及氫。

在一些實施例中，R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。

在一些實施例中，R¹、R²、R³皆係氫，且R⁵及R^{5*}中之任一者亦係氫且R⁵及R^{5*}中之另一者不為氫(例如C₁₋₆烷基，例如甲基)。

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

在一些實施例中，R^a及R^b中之一者或兩者係氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 中之一者係氫且另一者不為氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 中之一者係甲基且另一者係氫。

在一些實施例中， R^a 及 R^b 皆係甲基。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

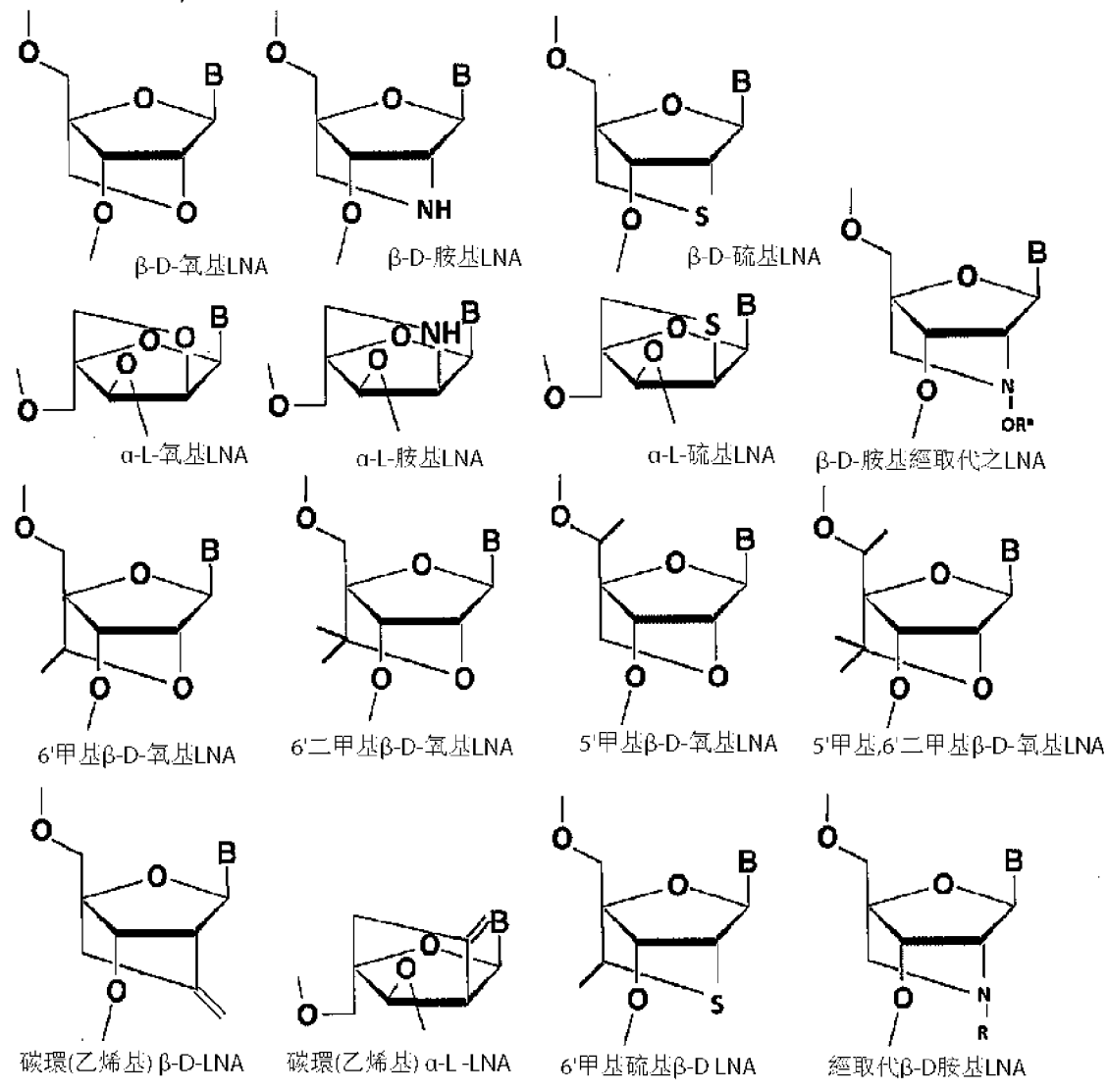
在一些實施例中，雙自由基係-CR^aR^b-O-CR^aR^b- (例如CH₂-O-CH₂-)，W係O且R¹、R²、R³、R⁵及R^{5*}皆係氫。在一些實施例中，R^a係C₁₋₆烷基，例如甲基。該等LNA核苷亦稱為構象限制性核苷酸(CRN)且揭示於WO2013036868 (其以引用方式併入本文中)中。

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

應認識到，除非指定，否則LNA核苷可呈β-D或α-L立體異構體形式。

LNA核苷之某些實例呈現於結構圖1中。

結構圖1



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

核酸酶調介之降解

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

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

***RNase H* 活性及招募**

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

間隙聚體

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

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

LNA間隙聚體

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

混合翼間隙聚體

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

間隙中斷體

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

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

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

間隙中斷體寡核苷酸可由下列各式代表：

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

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

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

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

其中區域D'及D''係如「間隙聚體設計」部分中所闡述。

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

偶聯物

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

本發明寡核苷酸至一或多個非核苷酸部分之偶聯可(例如)藉由影響寡

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

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

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

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

其組合。

連接體

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

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

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

用方式併入本文中)中。

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

治療

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

針對病原體之免疫反應之恢復

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

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

本發明的詳細敘述

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

本發明寡核苷酸

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

本發明寡核苷酸係靶向PD-L1之反義寡核苷酸。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

表4：可使用本發明寡核苷酸靶向之SEQ ID NO 1之區域

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

酸。

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

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

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

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

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

706、716、728、733、734及735。

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

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

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

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

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

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

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

寡核苷酸設計

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

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

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

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

在一些實施例中，本發明寡核苷酸包括至少一個LNA核苷，例如1、

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

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

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

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

硫代磷酸酯)。

在本發明之一實施例中，本發明寡核苷酸能夠招募RNase H。

本發明寡核苷酸之結構設計可選自間隙聚體、間隙中斷體、頭聚體及尾聚體。

間隙聚體設計

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

區及3'側接區之核苷係經修飾核苷，較佳係非核酸酶招募性核苷。

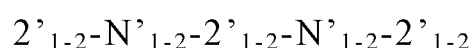
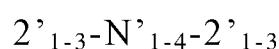
區域F

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

在一些實施例中，區域F中之經修飾核苷具有3'內向結構。

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

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



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

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

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

區域G

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

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

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

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

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

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

在一些實施例中，區域G中之核苷具有2'內向結構。

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

區域F'

連接至區域G之'3端之區域F'(3'側翼或3'翼)包括、含有至少一個經

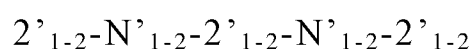
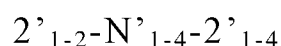
修飾核苷(例如至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7個經修飾核苷)或由其組成。在一實施例中，區域F'包括1至7個經修飾核苷(例如2至6個經修飾核苷，例如2至4個經修飾核苷，例如1至3個經修飾核苷，例如1、2、3或4個經修飾核苷)或由其組成。F'區域定義為在該區域之5'端及3'端具有至少一個經修飾核苷。

在一些實施例中，區域F'中之經修飾核苷具有3'內向結構。

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

在一實施例中，區域F'中之一或多個經修飾核苷係2'修飾核苷。

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



其中2'指示經修飾核苷且N'係RNA或DNA。在一些實施例中，交替

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

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

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

區域D'及D''

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

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

靶核酸不互補之磷酸二酯連接之DNA或RNA核苷構成。

本發明之間隙聚體寡核苷酸可由下列各式代表：

5'-F-G-F'-3'；尤其F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇

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

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

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

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

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

具有交替側翼之寡核苷酸之實例可由下列各式代表：

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

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

F-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₄-2'₁₋₄

F-G₆₋₁₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂-N'₁₋₂-2'₁₋₂

2'₁₋₃-N'₁₋₄-2'₁₋₃-G₆₋₁₂-F'

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

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

中。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

具有此性質之特定間隙聚體設計包含選自由11核苷間隙組成之群的

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

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

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

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

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

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

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

4-17-1、2-17-2、2-17-3及3-17-2間隙聚體。

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

在每一設計中，較佳經修飾核苷係LNA。

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

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

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

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

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

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

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

在本發明之一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 287_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 342_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 640_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 466_1。

在本發明之另一較佳實施例中，寡核苷酸係CMP-ID-NO: 566_1。

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

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

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

碳水化合物偶聯物部分

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

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

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

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

典型方法測定。

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

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

(以引用方式併入本文中))一起使用。

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

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

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

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

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

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

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

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

在一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖4中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖5中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖6中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖7中所表示之化合物。

在另一較佳實施例中，反義寡核苷酸偶聯物對應於圖8中所表示之化合物。

連接體

生物可裂解連接體(區域B)

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

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

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

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

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

接體(區域B)。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

其他連接體(區域Y)

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

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

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

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

製造方法

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

醫藥組合物

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

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

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

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

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

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

應用

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

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

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

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

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

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

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

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

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

本發明亦係關於用作藥劑之本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物。

本發明之寡核苷酸、寡核苷酸偶聯物或醫藥組合物通常係以有效量來投與。

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

在一實施例中，本發明係關於用於治療選自病毒或寄生蟲感染之疾

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

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

本發明方法較佳用於治療或預防與免疫耗竭有關之疾病。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

投與

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

與本發明之寡核苷酸或醫藥組合物。

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

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

組合療法

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

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

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

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

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

實施例

本發明之下列實施例可與本文所闡述之任一其他實施例組合使用。

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

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

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

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

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

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

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

8. 如實施例2至7之寡核苷酸，其中該靶核酸係RNA。

9. 如實施例8之寡核苷酸，其中該RNA係mRNA。

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

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

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

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

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

15. 如實施例1至14之寡核苷酸，其中該寡核苷酸或鄰接核苷酸序列係單鏈。

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

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

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

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

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

716、728、733、734及735。

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

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

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

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

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

26. 如實施例1至25之寡核苷酸，其包括一或多個經修飾核苷。

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

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

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

30. 如實施例28之寡核苷酸，其中該一或多個經修飾核苷係LNA核苷。

31. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾LNA核苷係氧基-LNA。

32. 如實施例31之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係 β -D-氧基-LNA。

33. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係硫代-LNA。

34. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係胺基-LNA。

35. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係cET。

36. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾核苷係ENA。

37. 如實施例30之寡核苷酸，其中該經修飾LNA核苷係選自 β -D-氧基-LNA、 α -L-氧基-LNA、 β -D-胺基-LNA、 α -L-胺基-LNA、 β -D-硫代-LNA、 α -L-硫代-LNA、(S)cET、(R)cET β -D-ENA及 α -L-ENA。

38. 如實施例30至37之寡核苷酸，其中除該經修飾LNA核苷外存在至少一個2'取代經修飾核苷。

39. 如實施例38之寡核苷酸，其中該2'取代經修飾核苷係選自由以下組成之群：2'-O-烷基-RNA、2'-O-甲基-RNA、2'-烷氧基-RNA、2'-O-甲氧基乙基-RNA (MOE)、2'-胺基-DNA、2'-氟-DNA、2'-氟-ANA。

40. 如實施例1至39中任一項之寡核苷酸，其中該寡核苷酸包括至少一個經修飾核苷間鏈接。

41. 如實施例40之寡核苷酸，其中該經修飾核苷間鏈接係核酸酶抗性。

42. 如實施例40或41之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列內之至少50%之該等核苷間鏈接係硫代磷酸酯核苷間鏈接或硼烷磷酸酯核苷間鏈接。

43. 如實施例40或41之寡核苷酸，其中該鄰接核苷酸序列內之所有該等核苷間鏈接皆係硫代磷酸酯核苷間鏈接。

44. 如實施例1至43之寡核苷酸，其中該寡核苷酸能夠招募RNase

H。

45. 如實施例44之寡核苷酸，其中該寡核苷酸係間隙聚體。

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

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

48. 如實施例47之寡核苷酸，其中D'或D''係可選的。

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

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

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

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

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

54. 如實施例53之寡核苷酸，其中區域F及F'係由LNA核苷組成。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

63. 一種反義寡核苷酸偶聯物，其包括

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

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

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

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

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

糖胺、N-正丁醯基-半乳糖胺及N-異丁醯基半乳糖胺。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

78. 如實施例63至77中任一項之寡核苷酸偶聯物，其中該寡核苷酸偶

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

聯物或如實施例1至62之寡核苷酸或如實施例81之醫藥組合物。

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

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

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

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

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

93. 如實施例92之用途，其中該HBV抗原係HBsAg。

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

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

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

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

98. 如實施例98之方法、寡核苷酸或用途，其中該病毒感染係

HBV、HCV或HDV。

99. 如實施例86至95之方法、寡核苷酸或用途，其中該疾病係慢性HBV。

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

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

102. 如實施例101之方法、寡核苷酸或用途，其中該哺乳動物係人類。

實例

材料及方法

基序序列及寡核苷酸化合物

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

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

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

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

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

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

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
124	gcagttggctaaagaaa	3-13-2	GCAgttggctaaagAA	124_1	2050	-22
122	agttggctaaagaaa	3-9-4	AGTtggctaaagAGAA	122_1	2050	-20
126	gcagttggctaaagaga	2-13-2	GCagttggctaaagaGA	126_1	2051	-21
125	cagttggctaaagaga	4-10-2	CAGTtggctaaagaGA	125_1	2051	-21
127	gcagttggctaaagag	2-11-3	GCagttggctaaGAG	127_1	2052	-21
128	ctcatatcagggcagt	2-10-4	CTcatatcagggCAGT	128_1	2063	-24
129	cacacatgttctttaac	4-11-2	CACAcatgttctttaAC	129_1	2087	-18
130	taaatacacacatgttct	3-11-4	TAAatacacacatgTTCT	130_1	2092	-19
131	gtaaatacacacatgttc	4-11-3	GTAAatacacacatgTTC	131_1	2093	-19
132	tgtaaatacacacatggt	4-10-4	TGTAAatacacacaTGTT	132_1	2094	-22
133	gatcatgtaaatacacac	4-10-4	GATCatgtaaatacACAC	133_1	2099	-20
134	agatcatgtaaatacaca	4-10-4	AGATcatgtaaataCACA	134_1	2100	-21
135	caaagatcatgtaaatacac	4-12-4	CAAAGatcatgtaaatacACAC	135_1	2101	-19
136	acaaagatcatgtaaataca	4-12-4	ACAAagatcatgtaaataTACA	136_1	2102	-20
137	gaatacaaaagatcatgta	4-10-4	GAATacaaaagatcaTGTA	137_1	2108	-20
138	agaatacaaaagatcatgt	4-10-4	AGAAatacaaaagatcATGT	138_1	2109	-20
139	cagaatacaaaagatcatg	4-10-4	CAGAatacaaaagatCATG	139_1	2110	-21
140	gcagaatacaaaagatca	4-9-4	GCAGaatacaaaagATCA	140_1	2112	-22
141	aggcagaatacaaaagat	4-11-2	AGGCagaatacaaaagAT	141_1	2114	-19
142	aaggcagaatacaaaaga	4-10-3	AAGGcagaatacaaaAGA	142_1	2115	-19
143	attagtgaggacgaa	3-10-3	ATTagtgaggacGAA	143_1	2132	-18
144	cattagtgaggacga	2-11-3	CATTagtgaggacGA	144_1	2133	-20
145	gagggtgatggattag	2-11-3	GAgggtgatggatTAG	145_1	2218	-19
146	ttaggagtaataaagg	2-10-4	TTaggagtaataAAGG	146_1	2241	-14
147	ttaatgaatttggtg	3-11-2	TTAatgaatttggtTG	147_1	2263	-13
148	ctttaatgaatttggt	2-12-2	CTTaatgaatttgGT	148_1	2265	-14
149	catggattacaactaa	4-10-2	CATGgattacaactAA	149_1	2322	-16
150	tcatggattacaacta	2-11-3	TCatggattacaaCTA	150_1	2323	-16

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
151	gtcatggattacaact	3-11-2	GTcatggattacaaCT	151_1	2324	-18
152	cattaaatctagtc	2-10-4	CAttaaatctagTCAT	152_1	2335	-16
153	gacattaaatctagtc	4-10-3	GACAttaaatctagTCA	153_1	2336	-19
154	agggacattaaatcta	4-10-2	AGGGacattaaatcTA	154_1	2340	-18
155	caaagcattataacca	4-9-3	CAAAgcattataaCCA	155_1	2372	-18
156	acttactaggcagaag	2-10-4	ACttactaggcaGAAG	156_1	2415	-19
157	cagagttaactgtaca	4-10-2	CAGAgttaactgtCA	157_1	2545	-20
158	ccagagttaactgtac	4-10-2	CCAGagttaactgtAC	158_1	2546	-20
159	gccagagttaactgta	2-12-2	GCcagagttaactgTA	159_1	2547	-20
160	tgggccagagttaact	2-12-2	TGggccagagttaaCT	160_1	2550	-21
161	cagcatctatcagact	2-12-2	CAGcatctatcagaCT	161_1	2576	-19
162	tgaataacatgagtc	3-11-4	TGAataacatgagTCAT	162_1	2711	-19
163	gtgaataacatgagtc	3-10-4	GTGaaataacatgAGTC	163_1	2713	-19
164	tctgtttatgtcactg	4-10-2	TCTGtttatgtcacTG	164_1	2781	-20
165	gtctgtttatgtcact	4-10-2	GTCTgtttatgtcaCT	165_1	2782	-22
166	tggctgtttatgtca	2-10-4	TGgtctgtttatGTCA	166_1	2784	-21
167	ttggctgtttatgtc	4-10-2	TTGGctgtttatgTC	167_1	2785	-20
168	tcaccattgtttaa	2-12-2	TCaccattgtttaaAA	168_1	2842	-15
169	ttcagcaaataatcg	2-10-4	TTcagcaaataatTCGT	169_1	2995	-17
170	gtgtgttcagcaaata	3-10-4	GTGgttcagcaaATAT	170_1	2999	-21
171	tctattgttaggtatc	3-10-3	TCTattgttaggtATC	171_1	3053	-18
172	attgcccattctactg	2-12-2	ATtgcccattctacTG	172_1	3118	-19
173	tattgcccattctact	3-11-2	TATtgcccattctacCT	173_1	3119	-21
174	aaatattgcccattct	2-11-3	AAatattgcccattCTT	174_1	3122	-17
175	ataaccttatcataca	3-11-2	ATAaccttatcataCA	175_1	3174	-16
176	tataaccttatcat	2-11-3	TAtaccttatcaTAC	176_1	3175	-14
177	ttataaccttatcata	3-11-2	TTAtaccttatcaTA	177_1	3176	-14
178	tttataaccttatcat	3-10-3	TTTataaccttatCAT	178_1	3177	-16

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

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

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
235	cta atggaaggattg	3-11-2	CTAatggaaggattTG	235_1	5673	-15
236	aata tagaaccta atg	2-12-2	AAatagAACCTaaTG	236_1	5683	-10
237	gaa agaata ga atgtt	3-10-3	GAAagaata gaatGTT	237_1	5769	-12
238	atgg gtaata gattat	3-11-2	ATGggtaata gattAT	238_1	5893	-15
239	gaa agagcacagggtg	2-12-2	GAaagagcacagggTG	239_1	6103	-18
240	ctacatagaggga atg	4-10-2	CTACatagagggaTG	240_1	6202	-18
241	gcttcctacatagagg	2-10-4	GCttcctacataGAGG	241_1	6207	-24
242	tgcttcctacatagag	4-10-2	TGCTtctacatagAG	242_1	6208	-22
243	tgg gcttgaa atatgt	2-11-3	TGggcttgaaataTGT	243_1	6417	-19
244	cattatatttaagaac	3-11-2	CATtatttttaagaAC	244_1	6457	-11
245	tcggttatgttatcat	2-10-4	TCggttatgttaTCAT	245_1	6470	-19
246	cactttatctggtcgg	2-10-4	CActttatctggTCGG	246_1	6482	-22
247	aaattggcacagcggtt	3-10-3	AAAttggcacagcGTT	247_1	6505	-18
248	accgtgacagtaa atg	4-9-3	ACCGtgacagtaaATG	248_1	6577	-20
249	tgggaaccgtgacagta	2-13-2	TGggaaccgtgacagTA	249_1	6581	-22
250	ccacatataggctctt	2-11-3	CCacatataggctCTT	250_1	6597	-21
251	catattgctaccatac	2-11-3	CAtattgctaccaTAC	251_1	6617	-18
252	tcatattgctaccata	3-10-3	TCAtattgctaccATA	252_1	6618	-19
253	caattgcatattgct	4-8-4	CAATtgcatatTGCT	253_1	6624	-21
254	cattcaattgcatattg	3-12-3	CATtcaattgcatTTG	254_1	6626	-18
255	tttctactgggaatttg	4-9-4	TTTCtactgggaaTTTG	255_1	6644	-20
256	caattagtgcagccag	3-10-3	CAAttagtgcagCAG	256_1	6672	-21
257	gaataatgttcttatcc	4-10-3	GAATaatgttcttaTCC	257_1	6704	-20
258	cacaaattgaataatgttct	4-13-3	CACAaattgaataatgtTCT	258_1	6709	-20
259	catgcacaaattgaataat	4-11-4	CATGcacaaattgaaTAAT	259_1	6714	-20
260	atcctgcaatttcacat	3-11-3	ATCctgcaatttcaCAT	260_1	6832	-22
261	ccaccatagctgatca	2-12-2	CCaccatagctgatCA	261_1	6868	-22
262	accaccatagctgatca	2-12-3	ACcaccatagctgaTCA	262_1	6868	-23

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
263	caccaccatagctgac	2-13-2	CACCaccatagctgaTC	263_1	6869	-21
264	tagtcggcaccaccat	2-12-2	TAGtcggcaccaccAT	264_1	6877	-22
265	cttgtagtcggcaccac	1-14-2	CttgtagtcggcaccAC	265_1	6880	-21
266	cttgtagtcggcacca	1-13-2	CttgtagtcggcacCA	266_1	6881	-21
267	cgctttagtcggcac	2-12-2	CGctttagtcggcAC	267_1	6883	-21
268	tcaataaagatcaggc	3-11-2	TCAataaagatcagGC	268_1	6942	-17
269	tggacttacaagaatg	2-12-2	TGgacttacaagaaTG	269_1	6986	-14
270	atggacttacaagaat	3-11-2	ATGgacttacaagaAT	270_1	6987	-15
271	gctcaagaaattggat	4-10-2	GCTCaagaaattggAT	271_1	7073	-19
272	tactgtagaacatggc	4-10-2	TACTgtagaacatgGC	272_1	7133	-21
273	gcaattcatttgatct	4-9-3	GCAAttcatttgaTCT	273_1	7239	-20
274	tgaagggaggaggacac	2-14-2	TGaagggaggaggacAC	274_1	7259	-20
275	agtgggtgaagggaggag	2-13-2	AGtgggtgaagggaggAG	275_1	7265	-21
276	tagtgggtgaagggaggag	2-14-2	TAggtgggtgaagggaggAG	276_1	7265	-21
277	atagtgggtgaagggaggag	1-16-2	AtagtgggtgaagggaggAG	277_1	7265	-20
278	tagtgggtgaagggaggga	2-13-2	TAggtgggtgaagggaggGA	278_1	7266	-21
279	atagtgggtgaagggaggga	2-14-2	ATagtgggtgaagggaggGA	279_1	7266	-21
280	tagtgggtgaagggaggg	3-11-2	TAGtgggtgaaggggaGG	280_1	7267	-21
281	atagtgggtgaagggaggg	3-12-2	ATAggtgggtgaaggggaGG	281_1	7267	-22
282	gatagtgggtgaagggaggg	2-14-2	GAtagtgggtgaaggggaGG	282_1	7267	-21
283	atagtgggtgaagggagg	4-10-2	ATAGtgggtgaagggAG	283_1	7268	-20
284	gatagtgggtgaagggagg	2-12-3	GAtagtgggtgaaggGAG	284_1	7268	-21
285	gagatagtgggtgaagg	2-10-4	GAgatagtgggtGAAGG	285_1	7271	-20
286	catgggagatagtgggt	4-10-2	CATGggagatagtGT	286_1	7276	-22
287	acaaataatggttactct	4-10-4	ACAAataatggttaCTCT	287_1	7302	-20
288	acacacaaataatggtta	4-10-4	ACACacaaataatGTTA	288_1	7306	-20
289	gaggggacacacaaataat	3-11-4	GAGgggacacacaaTAAT	289_1	7311	-21
290	atatagagaggctcaa	4-8-4	ATATagagaggcTCAA	290_1	7390	-21

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
291	ttgatatagaggct	2-10-4	TTgatatagagaGGCT	291_1	7393	-20
292	gcatttgatatagaga	4-9-3	GCA TtgatatagAGA	292_1	7397	-20
293	tttgcatttgatatag	2-11-3	TTtgcatttgataTAG	293_1	7400	-15
294	ctggaagaatagggttc	3-11-2	CTGgaagaataggTC	294_1	7512	-17
295	actggaagaatagggtt	4-10-2	ACTGgaagaataggTT	295_1	7513	-18
296	tactggaagaatagggt	4-10-2	TACTggaagaataggGT	296_1	7514	-18
297	tggcttatcctgtact	4-10-2	TGGCttatcctgtaCT	297_1	7526	-25
298	atggcttatcctgtac	2-10-4	ATggcttatcctGTAC	298_1	7527	-22
299	tatggcttatcctgta	4-10-2	TATGgcttatcctgTA	299_1	7528	-22
300	gtatggcttatcctgt	3-10-3	GTA tggcttatccTGT	300_1	7529	-23
301	atgaatatatgccagt	2-11-4	ATgaatatatgccCAGT	301_1	7547	-22
302	gatgaatatatgcca	2-10-4	GAtgaatatatgCCCA	302_1	7549	-22
303	caagatgaatatatgcc	3-10-4	CAAgatgaatatatTGCC	303_1	7551	-21
304	gacaacatcagtataga	4-9-4	GACAacatcagtaTAGA	304_1	7572	-22
305	caagacaacatcagta	4-8-4	CAAGacaacatcAGTA	305_1	7576	-20
306	cactcctagttccttt	3-10-3	CACtctagttccTTT	306_1	7601	-22
307	aacactcctagttcct	3-10-3	AACactcctagttCCT	307_1	7603	-22
308	taacactcctagttcc	2-11-3	TAacactcctagtTCC	308_1	7604	-20
309	ctaacactcctagttc	2-12-2	CTaacactcctagtTC	309_1	7605	-18
310	tgataacataactgtg	2-12-2	TGataacataactTG	310_1	7637	-13
311	ctgataacataactgt	2-10-4	CTgataacataaCTGT	311_1	7638	-18
312	tttgaactcaagtac	4-10-2	TTTGaactcaagtAC	312_1	7654	-16
313	tcctttacttagctag	4-9-3	TCCTttacttagcTAG	313_1	7684	-23
314	gagtttggattagctg	2-11-3	GAgtttggattagCTG	314_1	7764	-20
315	tgggatatgacaggga	2-11-3	TGggatagacagGGA	315_1	7838	-21
316	tgtgggatatgacagg	4-10-2	TGTGggatagacaGG	316_1	7840	-22
317	atatggaagggatatc	4-10-2	ATATggaagggataTC	317_1	7875	-17
318	acagggatatggaaggg	3-10-3	ACAggatatggaaGGG	318_1	7880	-21

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
319	atttcaacaggatatgg	4-9-4	ATTTcaacaggatATGG	319_1	7885	-20
320	gagtaatttcaacagg	2-11-3	GAGtaatttcaacAGG	320_1	7891	-17
321	aggaggagtaatttcaaca	4-9-4	AGGGagtaatttcaACA	321_1	7893	-22
322	attaggaggagtaatttca	4-9-4	ATTAgggagtaatTTCA	322_1	7896	-21
323	cttactattaggaggagt	2-10-4	CTtactattaggGAGT	323_1	7903	-20
324	cagcttactattaggagg	2-11-3	CAGcttactattaGGG	324_1	7906	-20
326	atttcagcttactattag	3-11-4	ATTtcagcttactaTTAG	326_1	7908	-20
325	tcagcttactattagg	3-10-3	TCagcttactattAGG	325_1	7907	-20
327	ttcagcttactattag	2-10-4	TTcagcttactaTTAG	327_1	7908	-17
328	cagatttcagcttact	4-10-2	CAGAtttcagcttaCT	328_1	7913	-21
329	gactacaactagagggg	3-11-2	GACTacaactagagGG	329_1	7930	-19
330	agactacaactagagg	4-10-2	AGACTacaactagaGG	330_1	7931	-19
331	aagactacaactagag	2-12-2	AAgactacaactagAG	331_1	7932	-13
332	atgatttaattctagtagcaaa	4-12-4	ATGAtttaattctagtagCAAA	332_1	7982	-20
333	tttaattctagtagcaaa	3-10-3	TTTaatctagtagcAAA	333_1	7982	-12
334	gatttaattctagtagca	4-8-4	GATTtaattctagtagCA	334_1	7984	-20
771	tgatttaattctagtagca	3-10-4	TGAtttaattctagtagCA	771_1	7984	-20
335	atgatttaattctagtagca	4-11-3	ATGAtttaattctagtagCA	335_1	7984	-20
336	gatgatttaattctagtagca	4-13-2	GATGatttaattctagtagCA	336_1	7984	-20
337	gatttaattctagtagca	2-10-4	GAtttaattctagtagCA	337_1	7984	-18
338	gatgatttaattctagtagtc	4-11-3	GATGatttaattctagtagTC	338_1	7985	-20
339	tgatttaattctagtagtc	2-12-2	TGatttaattctagtagTC	339_1	7985	-13
340	gagatgatttaattctagtagtc	4-9-4	GAGAtgatttaattctagtagTC	340_1	7988	-20
341	gagatgatttaattctagtagtc	3-10-3	GAGAtgatttaattctagtagTC	341_1	7989	-16
342	cagattgatgtagtagtt	4-10-2	CAGAttgatgtagtagTT	342_1	8030	-19
343	ctcagattgatgtagtagtt	2-10-4	CTcagattgatgtagtagTT	343_1	8032	-20
344	gttagccctcagattg	3-10-3	GTTAgccctcagattgTTG	344_1	8039	-23
345	tgtattgttagccctc	2-10-4	TGtattgttagccctcCCTC	345_1	8045	-24

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

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

SEQ ID NO	基序序列	設計	寡核苷酸化合物	CMP ID NO	ID NO: 1 上之起點	dG
399	tttgcataatggaggtgactc	1-17-2	TttgcataatggaggtgacTC	399_1	8962	-21
400	gcataatggaggtgact	2-12-2	GCataatggaggtgaCT	400_1	8963	-20
401	tgcataatggaggtgact	2-13-2	TGCataatggaggtgaCT	401_1	8963	-20
402	ttgcataatggaggtgact	3-13-2	TTGCataatggaggtgaCT	402_1	8963	-22
403	tttgcataatggaggtgact	1-16-2	TttgcataatggaggtgaCT	403_1	8963	-20
404	tgcataatggaggtgac	3-11-2	TGCataatggaggtgAC	404_1	8964	-20
405	ttgcataatggaggtgac	3-11-3	TTGCataatggaggtGAC	405_1	8964	-21
406	tttgcataatggaggtgac	4-12-2	TTTGCataatggaggtgAC	406_1	8964	-21
407	tttgcataatggaggtga	4-11-2	TTTGCataatggaggtGA	407_1	8965	-21
408	tttgcataatggaggtg	2-10-4	TTtgcataatggaGGTG	408_1	8966	-21
409	aagtgaagttcaacagc	2-11-4	AAgtgaagttcaaCAGC	409_1	8997	-20
410	tgggaagtgaagttca	2-10-4	TGggaagtgaagTTCA	410_1	9002	-20
411	atgggaagtgaagttc	2-11-3	ATgggaagtgaagTTC	411_1	9003	-17
412	gatgggaagtgaagtt	4-9-3	GATGggaagtgaagGTT	412_1	9004	-21
413	ctgtgatgggaagtgaa	3-11-3	CTGtgatgggaagtGAA	413_1	9007	-20
414	attgagtgaatccaaa	3-10-3	ATTgagtgaatccAAA	414_1	9119	-14
415	aattgagtgaatccaa	2-10-4	AAttgagtgaatCCAA	415_1	9120	-16
416	gataattgagtgaatcc	4-10-3	GATAattgagtgaatTCC	416_1	9122	-20
417	gtgataattgagtgaa	3-10-3	GTGataattgagtGAA	417_1	9125	-16
418	aagaaaggtgcaataa	3-10-3	AAGaaaggtgcaaTAA	418_1	9155	-14
419	caagaaaggtgcaata	2-10-4	CAagaaaggtgcAATA	419_1	9156	-15
420	acaagaaaggtgcaat	4-10-2	ACAagaaaggtgcaAT	420_1	9157	-16
421	atttaaactcacaac	2-12-2	ATtaaactcacaacAC	421_1	9171	-10
422	ctgttaggttcagcga	2-10-4	CTgttaggttcaGCGA	422_1	9235	-24
423	tctgaatgaacatttcg	4-9-4	TCTGaatgaacatTTCG	423_1	9260	-20
424	ctcattgaaggttctg	2-10-4	CTcattgaaggtTCTG	424_1	9281	-20
425	ctaattcattgaagg	3-11-2	CTAattcattgaaGG	425_1	9286	-17
426	cctaattcattgaag	2-12-2	CCtaattcattgaAG	426_1	9287	-16

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

基序序列代表存在於寡核苷酸中之核鹼基之鄰接序列。

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

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

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

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

基序序列代表存在於寡核苷酸中之核鹼基之鄰接序列。

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

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

表7：寡核苷酸基序序列及具有5’ ca生物可裂解連接體之反義化合物。

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

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

表8：GalNAc偶聯之反義寡核苷酸化合物。

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

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

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

AAV/HBV小鼠模型

巴斯德(Pasteur)模型：

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

在該等研究中使用攜載可複製HBV DNA基因體之腺相關病毒(AAV)載體AAV血清型2/8。在無菌磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中稀釋AAV-HBV載體(GVPN批號6163)以達到5 × 10¹¹ vg/mL之效價。在尾部靜脈中經靜脈內(i.v.)向小鼠注射100μL此經稀釋溶液(劑量/小鼠：5 × 10¹⁰ vg)。在攜帶

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

上海模型：

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

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

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

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

DNA疫苗

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

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

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

抗PD-L1抗體

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

寡核苷酸合成

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

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

寡核苷酸之延長:

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

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

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

藉由RP-HPLC進行之純化：

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

縮寫：

DCI：	4,5-二氰基咪唑
DCM：	二氯甲烷
DMF：	二甲基甲酰胺

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

*T_m*分析

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

組織特異性活體外連接體裂解分析

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

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

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

S1核酸酶裂解分析

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

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

肝單核細胞之製備

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

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

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

細胞之表面標記

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

細胞內細胞介素染色(ICS)分析

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

佈雷菲德菌素A (Brefeldin A) (Sigma, B6542)。

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

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

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

根據實驗背景來定義陽性臨限值，亦即在單獨培養基條件中針對每

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

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

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

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

實例1 測試活體外效能

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

細胞系

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

寡核苷酸效能

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

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

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

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

細胞)。

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
5_1	50	1	32	11	TAattggctctacTGC	236
6_1	25	5	9	6	TCGCataagaatgaCT	371
7_1	29	2	15	5	TGaacacacagtcgCA	382
8_1	27	7	3	1	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	23	4	11	3	TCTgaacacacagtCG	384
10_1	32	3	19	6	TTCTgaacacacagTC	385
11_1	57	5	39	16	ACaagtcatgttaCTA	463
12_1	75	5	37	12	ACacaagtcatgttAC	465
13_1	22	2	10	3	CTtacttagatgcTGC	495
14_1	33	4	23	11	ACTtacttagatgCTG	496
15_1	33	7	21	6	GACTtacttagatgCT	497
16_1	41	6	18	10	AGacttacttagaTGC	498
17_1	96	14	40	7	GCAggaagagactTAC	506
18_1	22	2	9	3	AATAaattccggttCAGG	541
19_1	34	6	21	9	GCAAaataaattcCGTT	545
19_2	51	4	27	11	GCAAaataaattccGTT	545
20_1	38	5	23	7	AGCAAaataaattcCGT	546
21_1	73	8	56	15	CAGAgcaaataaatTCC	548
22_1	83	8	65	10	TGGAcagagcaaataAAT	551
23_1	86	6	80	8	ATGGacagagcaAATA	554
24_1	44	4	30	2	CAGaatggacagaGCA	558
25_1	63	10	40	11	TTCTcagaatggacAG	562
26_1	31	1	39	5	CTGAactttgacATAG	663
27_1	60	4	56	19	AAgacaaaccagacTGA	675
28_1	36	4	34	10	TATAagacaaaccAGAC	678

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

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

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
80_1	19	2	19	13	CAGagtatcatagTTC	1078
81_1	23	2	26	2	TTCAgagtatcataGT	1080
82_1	35	3	36	11	CTTcagagtatcATAG	1081
83_1	24	6	20	7	TTCTtcagagtatcaTA	1082
84_1	20	2	16	2	TTTcttcagagtaTCAT	1083
85_1	33	4	37	10	GAGAAaggctaagTTT	1099
86_1	42	2	35	18	GAcactcttgtaCATT	1213
87_1	50	4	54	8	TGagacactcttgtaCA	1215
88_1	50	8	28	8	TGagacactcttgTAC	1216
89_1	61	4	33	6	CTtattaaactCCAT	1266
90_1	71	8	43	12	ACCAaactttattaAA	1272
91_1	62	5	42	9	AAACctctactaagTG	1288
92_1	22	3	12	5	AGattaagacagtTGA	1310
93_1	46	3	ND	ND	AAgtaggagcaagaGGC	1475
94_1	42	4	60	24	AAAGtaggagcaagAGG	1476
95_1	86	15	46	10	GTtaagcagccaggAG	1806
96_1	66	6	82	27	AGggtaggatgggtAG	1842
97_1	83	19	62	36	AAGggtaggatgggTA	1843
98_1	60	9	69	5	CAAgggtaggatggGT	1844
98_2	76	13	34	7	CAagggtaggatggGT	1844
99_1	65	8	76	28	CCaagggtaggatgGG	1845
100_1	61	2	75	17	TCcaagggtaggatGG	1846
101_1	83	4	82	13	CTTCaagggtaggAT	1848
102_1	45	3	52	14	ATCttccaagggtagGA	1849
103_1	29	2	17	7	AGaagtgatggctCATT	1936
104_1	26	3	22	1	AAGaagtgatggcTCAT	1937

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
105_1	34	6	22	2	GAAGaagtgatggcTCA	1938
106_1	41	5	21	5	ATGAaatgtaaacTGGG	1955
107_1	40	8	29	6	CAATgaaatgtaaaCTGG	1956
108_1	24	3	16	4	GCAATgaaatgtaaACTG	1957
109_1	30	4	20	6	AGCAatgaaatgtaAACT	1958
110_1	44	4	34	14	GAGCaatgaaatgtAAAC	1959
111_1	18	1	13	3	TGaattcccatatcCGA	1992
112_1	69	8	35	8	AGaattatgaccaTAT	2010
113_1	77	7	38	10	AGGtaagaattatGACC	2014
114_1	97	10	56	13	TCAGgtaagaattaTGAC	2015
115_1	69	8	54	21	CTTCaggtaagaatTATG	2017
116_1	91	7	115	42	TCTTcaggtaagaATTA	2019
117_1	88	6	104	36	CTTCttcaggtaaGAAT	2021
118_1	85	6	118	17	TCTTcttcaggtaaGAA	2022
119_1	105	14	102	9	TCTtcttcaggtaAGA	2023
120_1	37	2	76	18	TGGtctaagagaaGAAG	2046
121_1	46	6	81	11	GTTGgtctaagagAAG	2049
122_1	74	11	64	4	AGTtgggtctaagAGAA	2050
123_1	74	9	55	21	CAGttgggtctaagAGAA	2050
124_1	65	9	95	21	GCAGttgggtctaagagAA	2050
125_1	63	7	ND	ND	CAGTtgggtctaagaGA	2051
126_1	65	6	ND	ND	GCagttgggtctaagaGA	2051
127_1	67	14	104	34	GCagttgggtctaaGAG	2052
128_1	22	6	10	3	CTcatatcagggCAGT	2063
129_1	50	4	46	9	CACAcatgttctttaAC	2087
130_1	22	4	12	12	TAAatacacacatgTTCT	2092

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
131_1	24	2	43	28	GTAAatacacacatgTTC	2093
132_1	33	3	20	12	TGTAatacacacaTGTT	2094
133_1	73	17	57	21	GATCatgtaaatacACAC	2099
134_1	47	5	28	14	AGATcatgtaaataCACA	2100
135_1	35	6	26	11	CAAAgatcatgtaaACAC	2101
136_1	30	2	14	3	ACAAagatcatgtaaTACA	2102
137_1	52	6	24	18	GAATacaaagatcaTGTA	2108
138_1	33	5	20	6	AGAAatacaaagatcATGT	2109
139_1	37	1	22	15	CAGAatacaaagatCATG	2110
140_1	85	6	53	8	GCAGaatacaaagATCA	2112
141_1	79	4	40	6	AGGCagaatacaaagAT	2114
142_1	56	2	53	20	AAGGcagaatacaaaAGA	2115
143_1	28	5	20	5	ATTagtgagggacGAA	2132
144_1	26	2	22	10	CAttagtgagggaCGA	2133
145_1	29	6	16	4	GAgggtgatggatTAG	2218
146_1	45	6	22	5	TTaggagtaataAAGG	2241
147_1	65	7	44	9	TTAatgaatttggTG	2263
148_1	84	8	43	10	CTttaatgaatttgGT	2265
149_1	32	0	15	3	CATGgattacaactAA	2322
150_1	33	2	20	4	TCatggattacaaCTA	2323
151_1	29	1	11	3	GTCatggattacaaCT	2324
152_1	64	2	40	9	CAttaaactagTCAT	2335
153_1	97	8	63	22	GACAttaaactagTCA	2336
154_1	92	7	ND	ND	AGGGacattaaatcTA	2340
155_1	35	4	25	15	CAAAGcattataaCCA	2372
156_1	34	3	24	6	ACttactaggcaGAAG	2415

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
157_1	102	6	113	18	CAGAgttaactgtaCA	2545
158_1	102	10	103	15	CCAGagttaactgtAC	2546
159_1	88	7	95	18	GCcagagttaactgTA	2547
160_1	78	10	ND	ND	TGggccagaggttaaCT	2550
161_1	59	5	26	5	CAgcatctatcagaCT	2576
162_1	78	8	42	10	TGAaataacatgagTCAT	2711
163_1	31	6	ND	ND	GTGaaataacatgAGTC	2713
164_1	18	2	11	3	TCTGtttatgtcacTG	2781
165_1	56	5	29	9	GTCTgtttatgtcaCT	2782
166_1	37	8	12	5	TGgtctgtttatGTCA	2784
167_1	39	1	19	3	TTGGtctgtttatgTC	2785
168_1	41	3	35	14	TCaccattgtttaAA	2842
169_1	18	3	14	4	TTcagcaaatatTCGT	2995
170_1	36	8	13	2	GTGgttcagcaaATAT	2999
171_1	18	2	11	4	TCTattgttaggtATC	3053
172_1	67	4	26	12	ATtgcccatcttacTG	3118
173_1	71	2	33	9	TATtgcccatcttaCT	3119
174_1	47	4	20	5	AAatattgcccatCTT	3122
175_1	74	4	34	7	ATAaccttatcataCA	3174
176_1	98	19	44	12	TAtaaccttatcaTAC	3175
177_1	100	10	64	11	TTAtaaccttatcaTA	3176
178_1	72	38	28	5	TTTataaccttatCAT	3177
179_1	47	6	34	6	ACtgctattgctaTCT	3375
180_1	41	3	23	6	AGgactgctattgCTA	3378
181_1	32	6	27	7	GAGgactgctattgCT	3379
182_1	83	1	46	20	ACgtagaataataaCA	3561

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
183_1	94	4	52	9	CCaagtgatataATGG	3613
184_1	49	2	16	3	TTagcagaccaaGTGA	3621
185_1	96	3	26	5	GTttagcagaccaaGT	3623
186_1	78	3	46	10	TGacagtgattataTT	3856
187_1	88	5	45	21	TGTCcaagatattgAC	3868
188_1	46	6	23	6	GAAtatcctagatTGT	4066
189_1	79	3	45	14	CAaactgagaataTCC	4074
190_1	63	5	27	8	GCAaactgagaataTC	4075
191_1	77	9	37	11	TCCtattacaatcgTA	4214
192_1	74	10	36	9	TTCCtattacaatcGT	4215
193_1	91	8	51	28	ACtaatgggaggatTT	4256
194_1	95	14	67	24	TAgttcagagaataAG	4429
195_1	86	5	47	16	TAacatatagttcAGA	4436
196_1	87	4	81	20	ATAacatatagttcAG	4437
197_1	101	6	67	20	CAtaacatatagttCA	4438
198_1	91	6	60	13	TCataacatatagtTC	4439
199_1	61	3	31	10	TAGCtectaacaatCA	4507
200_1	79	12	49	11	CTCCAatctttgtaTA	4602
201_1	74	2	58	13	TCTCcaatctttgtAT	4603
202_1	53	3	33	10	TCtatttcagccaaTC	4708
203_1	25	4	30	9	CGGaagtcagagtGAA	4782
204_1	32	5	21	7	TTAAgcatgaggaaTA	4798
205_1	34	10	26	11	TGAttgagcacctCTT	4831
206_1	81	12	62	12	GACtaattatttcgTT	4857
207_1	57	7	37	7	TGActaattatttCGT	4858
208_1	26	5	21	6	GTGactaattattTCG	4859

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
209_1	48	3	33	13	CTGCttgaaatgtgAC	4870
210_1	32	1	34	13	CCtgcttgaaatgTGA	4871
211_1	60	5	50	19	ATcctgcttgaaATGT	4873
212_1	111	8	110	26	ATTataaatctatTCT	5027
213_1	107	1	67	12	GCtaaatactttcATC	5151
214_1	26	3	19	6	CAttgtaacataCCTA	5251
215_1	33	2	20	4	GCattgtaacatacCT	5252
216_1	89	8	53	16	TAatattgcaccaaAT	5295
217_1	25	2	29	9	GAtaatattgcacCAA	5297
218_1	27	1	27	6	AGataatattgcacCA	5298
219_1	79	6	45	11	GCcaagaagataATAT	5305
220_1	159	16	68	14	CACAgccacataaaCT	5406
221_1	90	2	72	12	TTgtaattgtggaaAC	5463
222_1	10	2	11	5	TGacttgtaattgTGG	5467
223_1	82	1	67	18	TCtaactgaaatagTC	5503
224_1	30	1	32	9	GTGgttctaactgaAA	5508
225_1	53	7	53	15	CAatatgggacttgGT	5522
226_1	44	1	33	10	ATGacaatatgggaCT	5526
227_1	49	1	41	14	TATGacaatatgggAC	5527
228_1	77	1	54	15	ATATgacaatatggGA	5528
229_1	100	3	98	29	CTtcacttaataaTTA	5552
230_1	90	12	80	19	CTGCttcacttaatAA	5555
231_1	91	0	79	23	AAgactgcttcacTTA	5559
232_1	49	8	77	34	GAATgccctaattaTG	5589
233_1	17	7	88	33	TGGaatgccctaataTA	5591
234_1	40	5	35	10	GCAaatgccagtagGT	5642

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
235_1	81	6	72	25	CTAatggaaggattTG	5673
236_1	97	17	87	25	AAatatagaacctaaTG	5683
237_1	98	4	83	21	GAAagaatagaatGTT	5769
238_1	93	2	102	26	ATGggtaatagattAT	5893
239_1	110	24	44	14	GAAagagcacagggTG	6103
240_1	66	5	36	10	CTACatagagggaaTG	6202
241_1	70	4	34	8	GCttcctacataGAGG	6207
242_1	64	NA	33	6	TGCTtcctacatagAG	6208
243_1	30	NA	19	7	TGggcttgaaataTGT	6417
244_1	88	6	69	15	CATtatatttaagaAC	6457
245_1	8	2	5	2	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	18	9	12	4	CActttatctggTCGG	6482
247_1	37	2	19	5	AAAttggcacagcGTT	6505
248_1	46	12	29	8	ACCGtgacagtaaATG	6577
249_1	31	2	25	2	TGggaaccgtgacagTA	6581
250_1	17	2	23	9	CCacatataggtcCTT	6597
251_1	15	6	23	7	CAtattgctaccaTAC	6617
252_1	4	2	9	2	TCAatattgctaccATA	6618
253_1	65	12	85	14	CAATtgtcatatTGCT	6624
254_1	20	2	51	7	CATtcaattgtcataTTG	6626
255_1	48	8	91	41	TTTCtactgggaaTTTG	6644
256_1	11	5	23	8	CAAttagtgcagcCAG	6672
257_1	43	7	62	13	GAATaatgttcttaTCC	6704
258_1	28	2	36	19	CACAaattgaataatgtTCT	6709
259_1	64	4	78	22	CATGcacaattgaaTAAT	6714
260_1	53	8	104	73	ATCctgcaatttcaCAT	6832

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
261_1	54	5	59	14	CCaccatagctgatCA	6868
262_1	42	8	52	22	ACcaccatagctgaTCA	6868
263_1	68	5	118	66	CAccaccatagctgaTC	6869
264_1	40	2	73	20	TAgtcggcaccaccAT	6877
265_1	64	6	72	35	CttgtagtcggcaccAC	6880
266_1	56	4	82	35	CttgtagtcggcacCA	6881
267_1	41	5	46	21	CGctttagtcggcAC	6883
268_1	51	4	33	14	TCAataaagatcagGC	6942
269_1	61	2	49	10	TGgacttacaagaaTG	6986
270_1	45	7	40	9	ATGgacttacaagaAT	6987
271_1	51	12	36	12	GCTCaagaaattggAT	7073
272_1	17	0	14	5	TACTgtagaacatgGC	7133
273_1	15	3	11	3	GCAAttcatttgaTCT	7239
274_1	64	11	ND	ND	TGaagggaggaggacAC	7259
275_1	52	6	50	28	AGtggtgaagggaggAG	7265
276_1	79	7	ND	ND	TAgtggtgaagggaggAG	7265
277_1	81	6	ND	ND	AtagtggtgaagggaggAG	7265
278_1	70	9	ND	ND	TAgtggtgaagggagGA	7266
279_1	84	9	ND	ND	ATagtggtgaagggagGA	7266
280_1	40	6	64	53	TAGtggtgaagggaGG	7267
281_1	42	10	ND	ND	ATAgtggtgaagggaGG	7267
282_1	63	7	ND	ND	GAtagtggtgaagggaGG	7267
283_1	27	7	38	11	ATAGtggtgaagggaAG	7268
284_1	60	22	ND	ND	GAtagtggtgaaggGAG	7268
285_1	23	3	97	54	GAgatagtggtgAAGG	7271
286_1	51	6	72	19	CATGggagatagtgGT	7276

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
287_1	7	1	21	9	ACAAataatggttaCTCT	7302
288_1	66	8	48	20	ACACacaaataatgGTTA	7306
289_1	67	6	58	20	GAGggacacacaaaTAAT	7311
290_1	46	2	50	21	ATATagagaggcTCAA	7390
291_1	22	6	ND	ND	TTgatatagagaGGCT	7393
292_1	11	2	17	3	GCATttgatatagAGA	7397
293_1	70	18	44	8	TTtgcatttgataTAG	7400
294_1	30	1	30	9	CTGgaagaataggTC	7512
295_1	53	5	42	10	ACTGgaagaataggTT	7513
296_1	56	2	41	15	TACTggaagaatagGT	7514
297_1	80	8	53	13	TGGCttatcctgtaCT	7526
298_1	73	6	52	14	ATggccttatcctGTAC	7527
299_1	75	7	89	25	TATGgccttatcctgTA	7528
300_1	52	5	50	11	GTAatggccttatccTGT	7529
301_1	27	3	31	6	ATgaatatatgccCAGT	7547
302_1	41	8	33	9	GATgaatatatgCCCA	7549
303_1	8	2	ND	ND	CAAgatgaatataTGCC	7551
304_1	32	5	37	14	GACAacatcagtaTAGA	7572
305_1	28	5	30	23	CAAGacaacatcAGTA	7576
306_1	47	5	41	9	CACtctagttccTTT	7601
307_1	39	6	33	7	AACactcctagttCCT	7603
308_1	68	3	42	14	TAacactcctagtTCC	7604
309_1	115	5	69	22	CTaacactcctagtTC	7605
310_1	97	16	57	14	TGataacataactgTG	7637
311_1	36	1	23	10	CTgataacataaCTGT	7638
312_1	38	5	24	5	TTTGaactcaagtgAC	7654

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
313_1	42	3	39	5	TCCTttacttagcTAG	7684
314_1	15	2	14	3	GAgtttggattagCTG	7764
315_1	49	28	ND	ND	TGggatatgacagGGA	7838
316_1	34	6	ND	ND	TGTGggatatgacaGG	7840
317_1	47	3	37	8	ATATggaagggataTC	7875
318_1	11	3	ND	ND	ACAggatatggaaGGG	7880
319_1	48	4	ND	ND	ATTTcaacaggatATGG	7885
320_1	18	2	16	4	GAgtaatttcaacAGG	7891
321_1	74	6	44	5	AGGGagtaatttcAACA	7893
322_1	38	5	56	28	ATTAgggagtaatTTCA	7896
323_1	66	9	32	11	CTtactattaggGAGT	7903
324_1	13	1	15	5	CAGcttactattaGGG	7906
325_1	26	4	20	9	TCAGcttactattAGG	7907
326_1	43	4	17	2	ATTtcagcttactaTTAG	7908
327_1	54	5	57	16	TTcagcttactaTTAG	7908
328_1	28	3	8	2	CAGAtttcagcttaCT	7913
329_1	43	4	37	16	GACtacaactagagGG	7930
330_1	45	12	36	10	AGACTacaactagaGG	7931
331_1	99	8	94	32	AAgactacaactagAG	7932
332_1	59	4	52	19	ATGAtttaattctagtCAAA	7982
333_1	100	2	84	23	TTTaattctagtcAAA	7982
771_1	91	9	60	19	GATTtaattctaGTCA	7984
334_1	74	6	50	5	TGAtttaattctaGTCA	7984
335_1	73	5	54	12	ATGAtttaattctagTCA	7984
336_1	15	1	26	3	GATGatttaattctagtCA	7984
337_1	71	22	49	16	GAtttaattctaGTCA	7984

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
338_1	43	5	30	11	GATGatttaattctaGTC	7985
339_1	98	5	90	27	TGatttaattctagTC	7985
340_1	87	21	86	2	GAGAtgatttaatTCTA	7988
341_1	92	5	85	27	GAGatgatttaatTCT	7989
342_1	7	1	7	1	CAGAttgatggtagTT	8030
343_1	7	2	24	11	CTcagattgatgGTAG	8032
344_1	3	1	14	9	GTTagccctcagaTTG	8039
345_1	14	5	20	7	TGtattgttagcCCTC	8045
346_1	10	2	11	5	ACttgtattgttAGCC	8048
347_1	52	4	52	17	AGCcagtatcagggAC	8191
348_1	33	3	18	8	TTgacaatagtGCGAT	8213
349_1	7	2	13	5	ACAagtggtatctTCT	8228
350_1	63	8	44	15	AATCtactttacaaGT	8238
351_1	36	2	ND	ND	CAcagtagatgcctGATA	8351
352_1	24	2	30	9	GAacacagtagatGCC	8356
353_1	23	4	103	14	CTTGgaacacagtagAT	8359
354_1	20	2	45	2	ATAtcttgaacaCAG	8364
355_1	25	3	24	6	TCTttaatatcttgGAAC	8368
356_1	39	2	41	10	TGatttctttaatatCTTG	8372
357_1	54	5	88	43	TGatgatttctttaTATC	8375
358_1	31	4	45	27	AGGctaagtcatgaTG	8389
359_1	18	3	43	20	TTGAtgaggctaagTC	8395
360_1	6	2	11	2	CCAggattatactcTT	8439
361_1	43	5	40	14	GCcaggattataCTCT	8440
362_1	56	8	73	13	CTGccaggattataCT	8442
363_1	23	1	33	7	CAGAAacttatactttaTG	8473

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
364_1	49	8	45	14	AAGCagaaacttaTACT	8478
365_1	39	6	37	4	GAAGcagaaacttaTACT	8478
366_1	26	4	45	13	TGGaagcagaaacttataCT	8478
367_1	21	4	44	5	TGGaagcagaaacttaTAC	8479
368_1	97	4	70	22	AAGcagaaacttaTAC	8479
369_1	34	3	32	11	TGGaagcagaaactTATA	8480
370_1	71	7	46	19	AAGGgatattatggAG	8587
371_1	51	9	79	38	TGccggaagatttcCT	8641
372_1	45	6	52	25	ATGGattgggagtaGA	8772
373_1	27	7	30	8	AGatggattgggagTA	8774
374_1	13	3	28	6	AAGatggattgggaGT	8775
375_1	42	10	44	11	ACAagatggattGGGA	8777
375_2	41	3	45	14	ACAagatggattggGA	8777
376_1	83	9	88	32	AGAaggttcagaCTTT	8835
377_1	40	5	33	3	GCAGAaggttcagaCT	8837
377_2	28	5	20	4	GCagaaggttcagACT	8837
378_1	70	2	43	8	TGCAGAaggttcagAC	8838
379_1	23	3	55	17	AGtcagaaggttCAG	8840
379_2	51	6	41	8	AGTGcagaaggttcAG	8840
380_1	34	6	35	7	AAGTgcagaaggttCA	8841
381_1	44	11	24	6	TAagtgcagaagGTTC	8842
382_1	37	5	45	9	TCtaagtgcagaAGGT	8844
383_1	75	5	147	26	CTCaggagtctactTC	8948
384_1	90	10	141	55	CTCaggagtcttaCTT	8949
385_1	73	8	234	116	AtggaggtgactcaggAG	8957
386_1	33	4	42	7	ATggaggtgactcagGA	8958

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
387_1	24	3	29	14	ATggaggtgactcAGG	8959
388_1	37	2	65	15	TAtggaggtgactcAGG	8959
389_1	50	10	81	19	ATatggaggtgactcaGG	8959
390_1	42	5	61	10	TATGgaggtgactcAG	8960
391_1	36	2	76	50	ATatggaggtgacTCAG	8960
392_1	52	6	64	6	CAtatggaggtgactcAG	8960
393_1	63	5	57	6	ATAtggaggtgacTCA	8961
394_1	53	7	64	12	CAtatggaggtgacTCA	8961
395_1	51	5	56	24	CAtatggaggtgACTC	8962
396_1	23	3	41	34	GCatatggaggtgacTC	8962
397_1	34	3	54	10	TGcatatggaggtgacTC	8962
398_1	54	5	71	24	TtgcatatggaggtgacTC	8962
399_1	61	11	59	13	TttgcatatggaggtgacTC	8962
400_1	25	2	30	6	GCatatggaggtgaCT	8963
401_1	34	4	25	9	TGcatatggaggtgaCT	8963
402_1	25	4	31	20	TTGcatatggaggtgaCT	8963
403_1	51	6	37	11	TttgcatatggaggtgaCT	8963
404_1	26	1	33	5	TGCatatggaggtgAC	8964
405_1	25	2	69	19	TTGcatatggaggtGAC	8964
406_1	26	4	24	4	TTTGcatatggaggtgAC	8964
407_1	19	3	20	7	TTTGcatatggaggtGA	8965
408_1	16	5	46	16	TTtgcatatggaGGTG	8966
409_1	9	2	9	6	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
410_1	26	8	109	52	TGggaagtgaagTTCA	9002
411_1	31	5	24	5	ATgggaagtgaagTTC	9003
412_1	49	9	19	10	GATGggaagtgaaGTT	9004

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
413_1	28	10	17	9	CTGtgatgggaagtGAA	9007
414_1	54	4	34	8	ATTgagtgaatccAAA	9119
415_1	11	1	14	2	AAttgagtgaatCCAA	9120
416_1	58	6	14	2	GATAattgagtgaatCC	9122
417_1	5	1	16	3	GTGataattgagtGAA	9125
418_1	73	5	61	14	AAGaaagggtgcaaTAA	9155
419_1	86	6	64	13	CAagaaagggtgcAATA	9156
420_1	75	19	64	14	ACAAGaaagggtgcaAT	9157
421_1	75	8	50	13	ATttaaactcacaaAC	9171
422_1	21	8	23	6	CTgttaggttcaGCGA	9235
423_1	54	10	30	5	TCTGaatgaacatTTCG	9260
424_1	11	4	15	5	CTcattgaagggtTCTG	9281
425_1	87	3	52	8	CTAatctcattgaaGG	9286
426_1	95	1	85	13	CCtaatctcattgaAG	9287
427_1	31	7	22	7	ACTttgatctttcAGC	9305
428_1	64	7	49	16	ACtatgcaacacttTG	9315
429_1	18	6	21	3	CAAatagctttatCGG	9335
430_1	19	6	17	4	CCaaatagctttATCG	9336
431_1	35	4	27	8	TCCAaatagctttaTC	9337
432_1	75	8	43	7	GATCcaaatagcttTA	9339
433_1	67	11	32	8	ATgatccaaataGCTT	9341
434_1	53	5	43	6	TATGatccaaatagCT	9342
435_1	97	9	66	29	TAAAcagggtctggGAAT	9408
436_1	58	12	44	17	ACttaaacagggtCTGG	9412
437_1	58	10	30	12	ACacttaaacagGGCT	9414
438_1	87	38	41	3	GAACacttaaacAGGG	9416

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
439_1	70	4	59	33	AGAGaacacttaaACAG	9418
440_1	83	17	28	9	CTACagagaacaCTTA	9423
441_1	49	12	27	4	ATGctacagagaaCACT	9425
442_1	53	10	24	13	ATAAatgctacagagAACAA	9427
443_1	23	6	20	10	AGataaatgctacaGAGA	9430
444_1	48	6	27	7	TAGAgataaatgcTACA	9434
445_1	51	3	32	8	TAGAtagagataaatGCT	9437
446_1	38	5	ND	ND	CAATatactagataGAGA	9445
447_1	52	3	31	1	TACAcaatatactagATAG	9448
448_1	65	6	48	11	CTAcacaatatacTAG	9452
449_1	67	9	29	2	GCTAcacaatatACTA	9453
450_1	103	17	65	15	ATATgctacacaatATAC	9455
451_1	71	13	129	22	TGATatgctacaCAAT	9459
452_1	19	4	9	1	ATGAtatgatatgCTAC	9464
453_1	75	10	45	21	GAGGagagagacaaTAAA	9495
454_1	68	6	43	10	CTAggaggagagagACA	9500
455_1	72	7	79	25	TATTctaggaggagAGA	9504
456_1	31	3	29	9	TTATattctaggagGAG	9507
457_1	38	5	62	17	GTTtatattctaGGAG	9510
458_1	15	6	15	8	TGgagtttatattcTAGG	9512
459_1	34	3	21	3	CGtaccaccactcTGC	9590
460_1	41	5	55	22	TGAGgaaatcattcATTC	9641
461_1	81	8	47	22	TTTGaggaaatcatTCAT	9643
462_1	76	8	39	5	AGGtaaatcctattTG	9657
463_1	93	12	216	12	TTTAggctaateCTAT	9660
464_1	15	6	30	9	TGCtccagtgtaccCT	9755

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
465_1	27	3	25	6	TAgtagtactcgATAG	9813
466_1	9	2	7	3	CTAattgtagtagtaCTC	9818
467_1	52	3	32	6	TGctaattgtagTAGT	9822
468_1	68	11	36	16	AGTGctaattgtagTA	9824
469_1	35	6	32	3	GCAAgtgctaattgTA	9827
470_1	91	9	ND	ND	GAGGaaatgaactaattTA	9881
471_1	92	5	ND	ND	CAGGaggaaatgaacTA	9886
472_1	67	5	42	6	CCctagagtcattTCC	9902
473_1	35	5	20	8	ATCttacatgatgaAGC	9925
474_1	13	1	20	5	GACacactcagatttcAG	9967
475_1	24	4	20	2	AGacacactcagatttcAG	9967
476_1	25	4	24	7	AAGacacactcagatttcAG	9967
477_1	26	6	19	4	AGacacactcagattTCA	9968
478_1	28	4	32	13	AAGacacactcagattTCA	9968
479_1	31	8	37	6	AAagacacactcagatTTCA	9968
480_1	63	7	51	26	GAAagacacactcagatTTC	9969
481_1	37	10	ND	ND	AAGAcacactcagatTTC	9969
482_1	41	4	ND	ND	AAAGacacactcagaTTTC	9969
483_1	19	5	48	14	TGAAagacacactcagatTT	9970
484_1	60	8	68	10	TGaaagacacactcaGATT	9971
485_1	42	8	63	22	TGAaagacacactcaGAT	9972
486_1	48	9	41	20	ATTGaaagacacacTCA	9975
487_1	27	6	27	12	TCattgaaagacaCACT	9977
488_1	88	13	121	33	TTCcatcattgaAAGA	9983
489_1	80	12	ND	ND	ATAAtaccacttaTCAT	10010
490_1	13	4	27	15	TTacttaatttcttTGGA	10055

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
491_1	32	5	60	24	TTAgaactagctttaTCA	10101
492_1	58	10	55	17	GAGgtacaaatatAGG	10171
493_1	4	1	12	3	CTTatgatacaacTTA	10384
494_1	37	6	35	5	TCttatgatacaaCTT	10385
495_1	30	0	27	6	TTCttatgatacaaCT	10386
496_1	27	8	18	3	CAGtttcttatgaTAC	10390
497_1	25	10	25	6	GCAgtttcttatgaTA	10391
498_1	77	6	72	29	TACAaatgtctattagGTT	10457
499_1	66	5	69	17	TGTACaaatgtctatTAG	10460
500_1	27	10	20	4	AGCatcacaattagTA	10535
501_1	31	10	25	5	CTAatgatagtgaGC	10548
502_1	21	7	30	8	AGCtaatgatagtgAA	10550
503_1	35	5	39	8	ATGCcttgacataTA	10565
504_1	64	11	79	26	CTCAagattattgACAC	10623
505_2	25	4	83	32	ACctcaagattaTTGA	10626
505_1	94	7	22	6	ACCtcaagattaTTGA	10626
506_1	31	6	34	10	AACCtcaagattatTG	10627
507_1	55	6	62	17	CACAaacctcaagattaTT	10628
508_1	66	12	40	4	GTActtaattagACCT	10667
509_1	78	5	80	10	AGTActtaattagACC	10668
510_1	36	5	42	15	GTATgaggtggtaaAC	10688
511_1	40	4	48	22	AGgaaacagcagaAGTG	10723
512_1	27	7	13	6	GCacaaccagaggAA	10735
513_1	54	5	ND	ND	CAAgcacaaccagAG	10738
514_1	35	7	ND	ND	TTCaagcacaaccCAG	10740
515_1	49	6	52	15	AAttcaagcacaACCC	10742

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
516_1	72	4	106	49	TAATaattcaagcacaaCC	10743
517_1	43	4	57	21	ACTAataattcaaGCAC	10747
518_1	37	3	60	12	ATAAtactaataattcAAGC	10749
519_1	9	3	6	1	TAgatttgtgagGTAA	11055
520_1	59	10	31	5	AGCCttaattctccAT	11091
521_1	41	4	34	9	AATGatctagagcCTTA	11100
522_1	34	6	34	7	CTAatgatctagaGCC	11103
523_1	52	6	52	17	ACTaatgatctaGAGC	11104
524_1	60	4	54	10	CATtaacatgttctTATT	11165
525_1	57	4	55	8	ACAAgtacattaacatGTTC	11170
526_1	53	6	44	5	TTACAagtacattaaCATG	11173
527_1	54	11	49	17	GCTTtattcatgtTTAT	11195
528_1	34	7	17	5	GCTTtattcatgtTA	11196
529_1	11	2	21	4	AGAgctttattcatgtTT	11197
530_1	22	4	33	7	ATAAagagctttattCATG	11200
531_1	30	5	32	15	CATAagagctttaTTCA	11202
532_1	77	8	24	4	AGCAtaagagctTTAT	11205
533_1	8	3	15	6	TAGattgttagtGCA	11228
534_1	4	2	10	2	GTagattgtttaGTGC	11229
535_1	41	6	33	11	GACAattctagtaGATT	11238
536_1	50	1	37	7	CTGacaattctaGTAG	11241
537_1	49	7	36	6	GCTGacaattctagTA	11242
538_1	59	2	42	11	AGgattaagatacgTA	11262
539_1	28	11	28	4	CAGgattaagataCGT	11263
540_1	96	5	20	6	TCAGgattaagataCG	11264
541_1	70	11	59	11	TTcaggattaagATAC	11265

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
542_1	53	5	28	4	AGGAagaaagtttgATTC	11308
543_1	92	13	59	12	TCAAggaagaaagtTTGA	11311
544_1	44	3	67	7	CTCAaggaagaaagTTTG	11312
545_1	43	4	32	4	TGCtcaaggaagaAAGT	11315
546_1	41	7	44	20	AATTatgctcaaggaAGA	11319
547_1	11	4	26	8	TAGGataccacattatGA	11389
548_1	25	4	26	12	CAtaatttattccattcCTC	11449
549_1	64	6	ND	ND	TGCAtaattttatcCAT	11454
550_1	48	17	49	7	ACTGcataatttatTCC	11456
551_1	91	10	92	15	CTAAactgcataattTATT	11458
552_1	85	8	38	9	ATaactaaactgCATA	11465
553_1	86	4	ND	ND	TTAttaataactaaaCTGC	11468
554_1	91	13	92	21	TAGTactattattaataaCT	11475
555_1	50	4	37	7	CATAactaaggacgTT	11493
556_1	41	5	30	7	TCataactaaggaCGT	11494
557_1	80	7	55	13	CGTCataactaaggAC	11496
558_1	86	3	59	11	TCgtcataactaagGA	11497
559_1	51	9	33	12	ATcgtcataactAAGG	11498
560_1	91	6	65	26	GTtagtatcttacATT	11525
561_1	30	3	41	8	CTCtattgttagtATC	11532
562_1	59	8	18	6	AGTatagagttacTGT	11567
563_1	65	11	41	11	TTCCtggtgatactTT	11644
564_1	57	13	45	13	GTTCCtggtgatacTT	11645
565_1	57	15	30	7	TGttcctggtgataCT	11646
566_1	17	4	35	4	ATaaacatgaatctCTCC	11801
567_1	16	3	30	4	CTTataaacatgaaTCTC	11804

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
568_1	60	5	45	11	CTGtctttataaaCATG	11810
569_1	20	2	19	5	TTgttataaatctgTCTT	11820
570_1	68	9	44	4	TTAaatattattcttgGATA	11849
571_1	76	8	48	12	CTtaaatttattctTGGA	11851
572_1	62	5	66	5	CTTCttaaatttattctTG	11853
573_1	28	4	44	10	TATGtttctcagtAAAG	11877
574_1	29	6	36	11	GAAttatctttaaACCA	11947
575_1	74	6	34	7	CCCttaaatttctaCA	11980
576_1	37	8	30	9	ACACtgctcttgtaCC	11995
577_1	45	14	27	6	TGAcaacactgctCTT	12000
578_1	2	1	12	5	TACAtttattgggcTC	12081
579_1	65	14	39	9	GTacatttattgGGCT	12082
580_1	34	4	53	12	TTGgtacatttatTGG	12085
581_1	41	7	35	6	CATGttggtacattTAT	12088
582_1	11	4	12	5	AATCatgttggtacAT	12092
583_1	96	16	48	9	AAatcatgttggtacaCA	12093
584_1	71	15	42	13	GACaagtttggtattAA	12132
585_1	46	34	39	6	AAtgttcagatgCCTC	12197
586_1	37	26	28	12	GCttaatgttcagaTG	12201
587_1	75	8	43	12	CGTAcatagcttgaTG	12267
588_1	41	10	28	5	GTGaggaattaggaTA	12753
589_1	41	5	27	9	GTAacaatatggttTG	12780
590_1	67	10	37	7	GAAatattgtagaCTA	13151
591_1	97	10	80	12	TTGaaatattgtagAC	13153
592_1	64	10	47	9	AAgtctagtaatTTGC	13217
593_1	84	7	60	9	GCTCagtagattatAA	13259

CMP ID NO	KARPAS-299細胞 5 μ M CMP		THP1細胞 20 μ M CMP		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
594_1	42	8	32	9	CATacactgttgcTAA	13296
595_1	101	6	79	17	ATGgtctcaaattcATT	13314
596_1	53	14	46	7	CAATggtctcaaattCA	13316
597_1	47	6	36	6	TTCCtattgattgaCT	13568
598_1	97	12	41	6	TTTCTgttcacaacAC	13600
599_1	85	1	49	11	AGgaaccactaaTCT	13702
600_1	56	3	34	7	TAAatggcaggaaCC	13710
601_1	15	4	24	8	GTAAatggcaggaaCC	13711
602_1	40	6	26	8	TTgtaaatggcagGAA	13713
603_1	59	12	26	6	TTatgagttaggCATG	13835
604_1	62	2	42	10	CCAggtgaaactttAA	13935
605_1	77	9	55	18	CCCtagtcagctCCT	13997
606_1	82	13	42	11	ACccttagtcagCTCC	13998
607_1	74	1	39	10	CACCttagtcagCTC	13999
608_1	76	9	30	8	TCTcttactaggeTCC	14091
609_1	82	5	50	13	CCtatctgtcatcATG	14178
610_1	82	1	48	12	TCCTatctgtcatcAT	14179
611_1	41	6	50	13	GAGaagtgtagaaGC	14808
612_1	70	5	84	19	CATCcttgaagtttAG	14908
613_1	64	14	61	16	TAAtaagatggctCCC	15046
614_1	85	2	51	14	CAAggcataataagAT	15053
615_1	47	1	35	10	CCaaggcataatAAGA	15054
616_1	74	8	53	11	TGatccaattctcaCC	15151
617_1	63	4	41	11	ATGatccaattctCAC	15152
618_1	46	7	42	9	CGCttcatcttcacCC	15260
619_1	104	4	15	4	TAtgacactgcaTCTT	15317

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
620_1	8	3	8	5	GTAtgacactgcaTCT	15318
621_1	21	3	27	10	TGtatgacactgCATC	15319
622_1	37	7	38	11	TTCTcttctgtaagTC	15363
623_1	49	7	36	11	TTctacagaggaACTA	15467
624_1	47	1	32	10	ACTacagttctacAGA	15474
625_1	78	8	69	6	TTCCcacaggtaaaTG	15561
626_1	70	7	ND	ND	ATTAttgaaataactCATT	15594
627_1	73	7	49	25	TGGGaggaaattatTTG	15606
628_1	80	5	64	11	TGACtcactcttaaTG	15621
629_1	71	6	66	19	CTGactcatcttaaAT	15622
630_1	31	6	41	6	TTTactctgactcATC	15628
631_1	88	2	68	18	TATtggagggaattaTT	15642
632_1	53	2	27	6	GTAttggagggaattAT	15643
633_1	23	3	39	7	TGgtatacttctctaagTAT	15655
634_1	42	9	33	3	GATCtcttggtataCT	15666
635_1	38	1	30	16	CAgacaactctataCC	15689
636_1	10	2	19	3	AACAtcagacaacTCTA	15693
637_1	13	1	11	3	TAACatcagacaacTC	15695
638_1	14	2	27	2	TTTAacatcagacaACTC	15695
639_1	101	14	81	16	ATttaacatcagacAA	15698
640_1	14	1	17	1	CCtatttaacatcAGAC	15700
641_1	65	2	ND	ND	TCCctatttaacaTCA	15703
642_1	41	6	42	12	TCAAcgactattgGAAT	15737
643_1	37	2	29	5	CTTAtattctggcTAT	15850
644_1	31	7	35	4	ATCCttatattctgGC	15853
645_1	13	3	8	1	GAtccttatattCTGG	15854

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
646_1	25	5	20	4	TGAtccttatattCTG	15855
647_1	33	6	54	10	ATTGaaacttgaTCCT	15864
648_1	43	3	27	6	ACtgtcattgaaACTT	15870
649_1	54	7	32	12	TCTtactgtcattgAA	15874
650_1	12	1	25	2	AGgatcttactgtCATT	15877
651_1	13	4	11	3	GCAaatcaactccATC	15896
652_1	10	5	16	3	GTGcaaactcaactCCA	15898
653_1	7	0	36	18	CAATtatttctttgTGC	15910
654_1	21	3	31	7	TGGcaacaattattTCTT	15915
655_1	75	9	73	24	GCTggcaacaatTATT	15919
656_1	21	6	39	6	ATCCatttctactgCC	15973
657_1	25	3	38	8	TAATatctattgattTCTA	15988
658_1	14	2	11	5	TCaatagtgtagggCA	16093
659_1	11	4	10	3	TTCaatagtgtaggGC	16094
660_1	18	1	32	12	AGGTaattaattcaATAG	16102
661_1	33	7	25	10	CATttgtaatccCTAG	16163
661_2	64	14	31	8	CATttgtaatcccTAG	16163
662_1	48	6	34	6	ACAttgtaatccCTA	16164
663_2	29	6	23	5	AAcatttgtaatCCCT	16165
663_1	30	6	18	6	AACatttgtaatCCCT	16165
664_1	49	1	26	6	TAAatttcaagttCTG	16184
665_1	17	3	30	10	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
666_1	22	7	40	9	CCAAGtttaaatttCAAG	16189
667_1	89	11	ND	ND	ACCCaagtttaaaTTTC	16192
668_1	60	16	87	8	CAtacagtgaccaagTTT	16199
669_1	65	9	50	12	ACatcccatacagTGA	16208

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
670_1	83	8	103	4	AGcacagctctaCATC	16219
671_1	80	9	150	36	ATAtagcacagcTCTA	16223
672_1	57	14	ND	ND	TCCatatagcacagCT	16226
673_1	53	10	106	8	ATTtccatatagCACA	16229
674_1	78	3	96	14	TTTAttccatatAGCA	16231
675_1	77	9	31	7	TTTatttccatatAGC	16232
676_1	32	6	ND	ND	AAGGagaggagatTATG	16409
677_1	32	5	24	6	AGTtcttgtagCT	16456
678_1	19	4	17	4	GAgttcttggttaGC	16457
679_1	14	3	25	3	ATTaattatccatCCAC	16590
680_1	11	2	20	6	ATCaattaattatcCATC	16593
681_1	31	5	40	11	AGAatcaattaattaTCC	16596
682_1	8	3	30	10	TGagataccgtgcaTG	16656
683_1	11	3	ND	ND	AAtgagataccgTGCA	16658
684_1	15	3	33	10	CTGtggttaggctaAT	16834
685_1	45	7	38	7	AagagtaagggctctgtggTT	16842
686_1	24	5	ND	ND	GATGgggtaagagTAA	16854
687_1	11	2	ND	ND	AGCagatgggttaaGA	16858
688_1	ND	ND	51	7	TGtaaacatttgTAGC	16886
689_1	83	1	54	11	CCTgcttataaatgTA	16898
690_1	103	4	73	14	TGCCctgcttataaAT	16901
691_1	104	2	64	22	TCttcttagttcaaTA	16935
692_1	ND	ND	60	9	TGgtttctaactACAT	16980
693_1	ND	ND	94	22	AGtttggtttctaaCTA	16983
694_1	8	2	17	5	GAAtgaaacttgcCTG	17047
695_1	98	6	51	9	ATTatccttacatGAT	17173

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μ M CMP		20 μ M CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
696_1	48	4	18	4	GTaccaattatcCTT	17180
697_1	94	2	48	9	TGTaccaattatCCT	17181
698_1	31	5	42	13	TTgtaccaattaTCC	17182
699_1	41	4	39	6	TTTgtaccaattaTC	17183
700_1	63	0	28	12	AGCAgcagggtataTT	17197
701_1	99	6	43	12	TGGgaagtggctGGG	17292
702_1	103	2	28	5	CTGgagagtataTA	17322
703_1	52	6	27	9	AATGctggattacgTC	17354
704_1	67	3	37	7	CAatgctggattaCGT	17355
705_1	36	10	80	12	TTgttcagaagtATCC	17625
706_1	19	9	47	9	GAtgatttgctGGAG	17646
707_1	44	NA	60	9	GAAatcattcacaACC	17860
708_1	46	9	32	9	TTGtaacatctacTAC	17891
709_1	56	0	79	17	CATtaagcagcaagTT	17923
710_1	30	9	46	7	TTActagatgtgagCA	17942
711_1	29	4	36	6	TTtactagatgtgAGC	17943
712_1	41	13	41	6	GACcaagcaccttaCA	17971
713_1	36	19	49	11	AGAccaagcacctTAC	17972
714_1	30	6	34	7	ATgggttaaataAAGG	18052
715_1	70	2	24	8	TCaaccagagtattAA	18067
716_1	11	4	26	8	GTCaaccagagtatTA	18068
717_1	126	56	26	6	ATtgtaaagctgaTAT	18135
718_1	73	1	42	10	CAcataattgtaAAGC	18141
719_1	23	9	55	18	GAggtctgctattTAC	18274
720_1	50	1	42	11	TGtagattcaatgCCT	18404
721_1	79	3	39	10	CCtcattatactaTGA	18456

CMP ID NO	KARPAS-299細胞		THP1細胞		化合物(CMP)	SEQ ID NO 1上 之起點
	5 μM CMP		20 μM CMP			
	% mRNA of control	sd	% mRNA of control	s d		
722_1	27	6	30	8	CCttatgctatgacAC	18509
723_1	26	7	50	13	TCCTtatgctatgaCA	18510
724_1	59	1	48	12	AAGatgtttaagtATA	18598
725_1	54	2	50	13	CTgattattaagATGT	18607
726_1	92	10	84	19	TGgaaaggtatgaaTT	18808
727_1	24	8	61	16	ACttgaatggcttgGA	18880
728_1	8	4	51	14	AACTtgaatggctTGG	18881
729_1	35	4	35	10	CAATgtgttactatTT	19004
730_1	36	9	53	11	ACAatgtgttactATT	19005
731_1	70	2	41	11	CATCtgctatataaGA	19063
732_1	38	NA	42	9	CCTAgagcaaatacTT	19223
733_1	102	15	15	4	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	37	10	8	5	GTTCaagcacaacgAA	19493
735_1	13	1	38	11	AGggttcaagcacAAC	19496
736_1	49	NA	36	11	TGttggagacactgTT	19677
737_1	48	NA	32	10	AAGgaggagttaggAC	19821
738_1	36	NA	64	11	CTATgccatttacgAT	19884
739_1	105	19	66	19	TCaaatgcagaattAG	19913
740_1	44	NA	41	6	AGtgacaatcaaATGC	19921
741_1	107	NA	68	18	AAgtgacaatcaaATG	19922
742_1	102	4	27	6	GTGtaccaagtaacAA	19978
743_1	110	10	30	16	TGGgatgttaaacTGA	20037

實例2-以劑量反應曲線測試活體外效能

在實例1中所闡述之活體外效能分析中於KARPAS-299細胞中使用於PBS中之半對數連續稀釋液(50 μM、15.8μM、5.0μM、1.58μM、

0.5μM、0.158μM、0.05μM至0.0158μM寡核苷酸)來測試來自表10之所選寡核苷酸。評價寡核苷酸之IC 50及最大抑制(殘餘PD-L1表現%)。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算。IC50及最大PD-L1敲低量展示於表11中(以經對照(PBS)處理之細胞之%形式)。

表 11： KARPAS-299細胞系中之最大抑制(呈鹽水之%形式)及EC50。

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現%；經鹽水處理結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	11	3.3	0.69	0.11	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	29	1.7	0.06	0.01	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	19	1.7	0.23	0.02	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	14	4.7	0.45	0.12	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	10	1.8	0.19	0.02	TCAttttagttaccCAA	822
42_1	17	1.3	0.19	0.02	TTcattttagttaCCCA	823
58_1	23	1.5	0.17	0.01	CCagagatatataTGC	909
77_1	24	2.4	0.16	0.02	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	12	2.4	0.25	0.03	AGattaagacagtTGA	1310
111_1	3	2.0	0.27	0.03	TGaattcccatatcCGA	1992
128_1	11	1.8	0.25	0.03	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	16	2.7	0.28	0.05	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	19	1.6	0.15	0.01	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	36	1.7	0.11	0.02	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	10	1.6	0.22	0.02	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	12	2.0	0.21	0.02	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	1	2.0	0.21	0.02	TGacttgaattgTGG	5467

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
233_1	1	4.3	0.89	0.17	TGGaatgccctaataTA	5591
245_1	4	2.0	0.17	0.02	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	7	2.1	0.25	0.03	CActttatctggTCGG	6482
250_1	0	2.5	0.23	0.03	CCacatataggtcCTT	6597
251_1	0	2.8	0.75	0.10	CAtattgctaccaTAC	6617
252_1	3	2.2	0.19	0.02	TCAtattgctaccATA	6618
256_1	5	2.2	0.32	0.03	CAAttagtgcagcCAG	6672
272_1	1	3.2	0.69	0.10	TACTgtagaacatgGC	7133
273_1	3	2.8	0.28	0.04	GCAAttcatttgaTCT	7239
287_1	1	1.4	0.13	0.01	ACAAataatgggttaCTCT	7302
292_1	2	2.1	0.21	0.02	GCATttgatatagAGA	7397
303_1	0	1.2	0.21	0.01	CAAgatgaatataTGCC	7551
314_1	3	2.1	0.39	0.04	GAgtttggttagCTG	7764
318_1	3	1.4	0.14	0.01	ACAggatatggaaGGG	7880
320_1	2	2.4	0.22	0.03	GAGtaatttcaacAGG	7891
324_1	0	2.4	0.44	0.05	CAGcttactattaGGG	7906
336_1	0	2.5	0.21	0.03	GATGatttaattctagtCA	7984
342_1	1	2.2	0.12	0.01	CAGAttgatggttagTT	8030
343_1	4	1.8	0.11	0.01	CTcagattgatgGTAG	8032
344_1	0	0.9	0.12	0.01	GTTagccctcagaTTG	8039
345_1	0	2.3	0.36	0.04	TGtattgttagcCCTC	8045
346_1	1	2.1	0.22	0.02	ACttgtattgttAGCC	8048
349_1	4	2.9	0.21	0.03	ACAagtggatatctTCT	8228
359_1	6	2.9	0.39	0.05	TTGAtgaggctaagTC	8395
360_1	0	1.7	0.18	0.02	CCAggattatactcTT	8439

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
374_1	5	1.7	0.33	0.03	AAGatggattgggaGT	8775
408_1	3	1.8	0.21	0.02	TTtgcatatggaGGTG	8966
409_1	0	1.8	0.21	0.02	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
415_1	0	1.4	0.23	0.02	AAttgagtgaatCCAA	9120
417_1	7	0.9	0.15	0.01	GTGataattgagtGAA	9125
424_1	6	3.2	0.19	0.03	CTcattgaaggtTCTG	9281
429_1	5	2.5	0.48	0.05	CAAatagctttatCGG	9335
430_1	1	2.7	0.68	0.09	CCaaatagctttATCG	9336
458_1	0	4.1	0.35	0.07	TGgagtttatattcTAGG	9512
464_1	0	4.1	0.56	0.10	TGCtccagtgtagCT	9755
466_1	1	2.1	0.21	0.02	CTAattgtagtagtaCTC	9818
474_1	0	2.4	0.27	0.03	GACacactcagatttcAG	9967
490_1	0	1.9	0.29	0.03	TTacttaatttcttTGGA	10055
493_1	3	1.8	0.20	0.02	CTTatgataacaacTTA	10384
512_1	0	3.3	0.63	0.10	GCacaaccagaggAA	10735
519_1	5	1.5	0.15	0.01	TAgatttgtgagGTAA	11055
529_1	0	2.7	0.24	0.03	AGAgctttattcatgtTT	11197
533_1	6	1.5	0.14	0.01	TAGattgttagtGCA	11228
534_1	5	0.9	0.06	0.00	GTagattgtttaGTGC	11229
547_1	1	1.6	0.26	0.02	TAGGataccacattatGA	11389
566_1	0	3.0	0.40	0.06	ATaaacatgaatctCTCC	11801
567_1	2	2.5	0.34	0.04	CTTataaacatgaaTCTC	11804
578_1	2	1.3	0.09	0.01	TACAttatttgggcTC	12081
582_1	1	1.6	0.20	0.02	AATCatgttggtacAT	12092
601_1	1	2.1	0.47	0.05	GTAAatggcaggaaCC	13711

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
619_1	4	3.4	0.44	0.08	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	1	1.2	0.12	0.01	GTAtgacactgcaTCT	15318
636_1	0	1.3	0.19	0.01	AACAtcagacaacTCTA	15693
638_1	0	2.2	0.36	0.04	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	0	2.1	0.21	0.02	TTTAacatcagacaACTC	15695
640_1	2	3.3	0.42	0.06	CCtattttaacatcAGAC	15700
645_1	1	2.9	0.34	0.04	GATccttatattCTGG	15854
650_1	0	2.4	0.24	0.03	AGgatcttactgtCATT	15877
651_1	4	3.4	0.33	0.05	GCAaatcaactccATC	15896
652_1	0	1.3	0.16	0.01	GTGcaaatcaactCCA	15898
653_1	4	2.0	0.09	0.01	CAATtatttcttgTGC	15910
658_1	3	1.6	0.32	0.02	TCaatagtgtaggCA	16093
659_1	5	1.4	0.20	0.01	TTCaatagtgtaggGC	16094
660_1	4	2.1	0.22	0.02	AGGTtaattaattcaATAG	16102
665_1	3	1.8	0.18	0.02	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
678_1	3	2.1	0.43	0.04	GAgttcttggttaGC	16457
679_1	0	3.5	0.31	0.05	ATTaattatccatCCAC	16590
680_1	4	1.6	0.12	0.01	ATCaattaattatcCATC	16593
682_1	3	2.4	0.27	0.03	TGagataccgtgcaTG	16656
683_1	0	3.2	0.16	0.03	AAtgagataccgTGCA	16658
684_1	2	2.3	0.25	0.03	CTGtggttaggctaAT	16834
687_1	5	1.3	0.13	0.01	AGCagatgggttaaGA	16858
694_1	0	1.7	0.16	0.02	GAAtgaaacttgcCTG	17047
706_1	15	3.6	0.27	0.06	GAtgatttgcttGGAG	17646
716_1	10	2.1	0.15	0.02	GTCaaccagagtatTA	18068

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；經鹽水處理 結果之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上之 起點
	Avg	SD	Avg	SD		
728_1	5	1.2	0.09	0.01	AACttgaatggctTGG	18881
733_1	0	12.7	8.01	3.62	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	0	14.6	3.49	2.39	GTTCaagcacaacgAA	19493
735_1	0	2.5	0.30	0.04	AGggttcaagcacAAC	19496

在實例1中所闡述之活體外效能分析中在THP-1中使用1:3連續水溶液 (25 μM至0.004 μM)來測試來自表6之所選寡核苷酸。評價寡核苷酸之IC50及最大抑制(殘餘PD-L1表現百分比)。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算。IC50及最大PD-L1敲低量展示於表12中(以經對照(PBS)處理之細胞之%形式)。

表12：THP1細胞系中之最大抑制(呈鹽水之%形式)及EC50。

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上 之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	12	11.5	0.73	0.38	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	6	5.6	0.11	0.04	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	1	14.3	0.36	0.27	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	2	12.4	0.49	0.31	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	14	14.6	0.38	0.27	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	21	10.4	0.22	0.10	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	6	19.8	0.97	0.81	CCagagatatataTGC	909
77_1	5	4.8	0.14	0.04	AGTatcatagtTCC	1075
92_1	0	12.9	0.57	0.39	AGattaagacagtTGA	1310

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上 之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
128_1	15	10.1	0.23	0.13	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	9	14.4	0.18	0.15	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	16	22.0	0.57	0.60	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	13	11.9	0.17	0.11	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	0	9.3	0.22	0.11	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	11	12.9	0.28	0.20	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	16	19.7	0.68	0.64	TGacttgtaattgTGG	5467
245_1	14	6.1	0.26	0.08	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	28	7.3	0.10	0.20	CActttatctggTCGG	6482
252_1	19	8.0	0.29	0.12	TCAtattgtctaccATA	6618
272_1	3	9.7	0.25	0.14	TACTgtagaacatgGC	7133
314_1	13	9.6	0.31	0.15	GAgtttggttagCTG	7764
344_1	11	8.0	0.14	0.06	GTTagccctcagaTTG	8039
349_1	12	12.5	0.18	0.14	ACAagtggatatctTCT	8228
415_1	11	9.6	0.26	0.12	AAttgagtgaatCCAA	9120
493_1	15	16.5	0.48	0.34	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	43	14.1	0.31	0.68	GCacaaccagaggAA	10735
519_1	9	12.2	0.45	0.26	TAgatttgtgagGTAA	11055
533_1	11	13.6	0.29	0.21	TAGattgtttagtGCA	11228
534_1	9	6.5	0.09	0.03	GTagattgtttaGTGC	11229
582_1	0	12.3	0.33	0.23	AATCatgttggtacAT	12092
619_1	8	10.4	0.32	0.18	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	12	24.6	1.10	1.08	GTAtgacactgcaTCT	15318
638_1	2	5.4	0.00	0.00	TAACatcagacaacTC	15695
645_1	20	29.6	1.10	1.50	GAtccttatattCTGG	15854
651_1	0	11.2	0.14	0.09	GCAaatcaactccATC	15896

CMP ID NO	最大抑制 (殘餘PD-L1表現 %；鹽水之%)		EC50 (μM)		化合物CMP	SEQ ID NO: 1上 之起點
	Avg	SD	Avg	SD		
658_1	11	13.8	0.48	0.32	TCaatagtgtaggCA	16093
659_1	0	8.2	0.11	0.06	TTCaatagtgtaggGC	16094
733_1	0	69.6	11.03	26.95	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	36	16.8	2.84	2.12	GTTCaagcacaacgAA	19493

表7及8中之結果亦展示於圖2中(與其靶向SEQ ID NO: 1之PD-L1 mRNA前體之位置相關)。

自此圖可看到，幾乎所有化合物皆具有低於1 μM之EC50值及低於25%之對照細胞(經鹽水處理)中之PD-L1表現程度之靶敲低。

實例3 -聚(I:C)誘導之小鼠中使用裸及GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸之活體外功效及效能及活體內PD-L1降低

在活體外實驗之劑量-反應研究中於MCP-11細胞中使用表6中之寡核苷酸來實施效能及功效測試。在聚(I:C)誘導之C57BL/6J雌性小鼠中於活體內測試相同寡核苷酸以及GalNAc偶聯形式(表8 CMP ID NO 755_2 - 765_2)降低PD-L1 mRNA及蛋白質表現之能力。

活體外分析

將懸浮於DMEM (Sigma目錄編號D0819，補充有10%馬血清、2 mM L-麩醯胺酸、0.025 mg/ml慶大黴素(gentamicin)及1 mM丙酮酸鈉)中之MCP-11細胞(最初購自ATCC)以8000細胞/孔之密度添加至96孔圓底板中之寡核苷酸(10μl)中且以200 μl/孔之最終體積在37℃及5% CO₂下於加濕培育器中培養3天。以劑量範圍濃度(50 μM、15.8 μM、5.0 μM、1.58 μM、0.5 μM、0.158 μM、0.05 μM及0.0158 μM)篩選寡核苷酸。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen, PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析,使用TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1)及Gusb (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm01197698-m1)來實施qPCR。相對PD-L1 mRNA表現程度以殘餘PD-L1表現%於PBS對照試樣(經PBS處理細胞)之%示於表9中。在GraphPad Prism6中實施EC50計算。EC50及最大PD-L1敲低量以對照(PBS)細胞之%示於表13中。

活體內分析

向C57BL/6J雌性小鼠(20-23 g; 5隻小鼠/組)經皮下注射5 mg/kg靶向小鼠PD-L1之未偶聯寡核苷酸或2.8 mg/kg靶向小鼠PD-L1之GalNAc偶聯之寡核苷酸。3天後,小鼠經靜脈內注射10 mg/kg聚(I:C) (LWM, Invivogen)。在聚(I:C)注射之後5 h將小鼠處死且將肝試樣置於RNAlater (Thermo Fisher Scientific)中用於RNA提取或冷凍於乾冰上用於蛋白質提取。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)自均質化肝試樣來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen, PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析,使用TaqMan® Fast Advanced Master Mix TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1

mRNA (Thermo Fisher Scientific ; FAM-MGB Mm00452054-m1)及TBP (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1) 來實施 qPCR。相對PD-L1 mRNA表現程度示於表13中(以使用鹽水及聚(I:C)注射之小鼠之對照試樣之%)。

藉由在 2 ml/100 mg 組織之 T-PER® 組織蛋白提取試劑(Thermo Fisher Scientific) (與 1× Halt 蛋白酶抑制劑混合劑混合，無 EDTA (Thermo Fisher Scientific))中均質化肝試樣來製備肝均質物。根據製造商說明書使用Coomassie Plus (Bradford)分析試劑(Thermo Scientific)來量測肝均質物中之蛋白質濃度。在4-12% Bis-Tris Plus聚丙稀醯胺凝膠(Thermo Fisher Scientific)上於1×MOPS運行緩衝液中分離肝均質物(40 µg蛋白質)且根據製造商說明書使用iBLOT乾燥印漬系統(Thermo Fisher Scientific)轉移至硝基纖維素膜中。在64 kDa帶處將每一印漬水平切割成兩個部分。在含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中阻斷後，將膜與兔單株抗紐蛋白(Abcam目錄編號ab129002，以1:10000稀釋於含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中，上膜)或山羊多株抗mPD-L1 (R&D Systems目錄編號AF1019，以1:1000稀釋，下膜)一起在4℃下於培育過夜。在含有0.05% Tween20之TBS中洗滌膜，且在室溫下暴露與HRP偶聯之豬抗兔 IgG (DAKO，以1:3000稀釋於含有5%脫脂奶粉及0.05% Tween20之TBS中，上膜)或HRP偶聯之兔抗山羊IgG (DAKO，以1:2000稀釋) 1 h。在洗滌膜後，使用ECL select (Amersham GE Healthcare)檢測反應性。對於使用寡核苷酸治療之每一組小鼠而言，藉由與注射有鹽水及聚(I:C) (對照)之小鼠之PD-L1/紐蛋白帶強度進行比較來評估與紐蛋白帶相關之PD-L1帶的強度。結果展示於表13中，且使用裸寡核苷酸及偶聯

寡核苷酸之對之西方印漬展示於圖9 A-E中。

表13：靶向小鼠PD-L1之寡核苷酸之活體外及活體內效能

CMP ID NO	化合物CMP	最大抑制 (PBS%)	EC50 (μM)	PD-L1 mRNA (對照%)	PD-L1蛋白 (相對於對照)
744_1	AGTttacattttcTGC	9.1	0.56	86	++
746_1	CACctttaaaaccCCA	5.0	0.46	181	nd
747_1	TCCtttataatcaCAC	4.4	0.52	104	++
748_1	ACGgtattttcacAGG	1.8	0.26	102	+++
749_1	GACactacaatgaGGA	7.6	1.21	104	nd
750_1	TGGtttttaggacTGT	12.4	0.74	84	nd
751_1	CGAcaaattctatCCT	9.9	0.69	112	nd
752_1	TGAtatacaatgcTAC	10.5	1.11	142	+++
753_1	TCGttgggtaaatTTA	5.7	0.53	116	+++
754_1	TGCtttataaatgGTG	5.2	0.35	98	nd
755_2	5'-GN2-C6-caAGTttacattttcTGC	nd	nd	58	+
757_2	5'-GN2-C6-caCACctttaaaaccCCA	nd	nd	62	nd
758_2	5'-GN2-C6-caTCCtttataatcaCAC	nd	nd	53	+
759_2	5'-GN2-C6-caACGgtattttcacAGG	nd	nd	66	+
760_2	5'-GN2-C6-caGACactacaatgaGGA	nd	nd	101	nd
761_2	5'-GN2-C6-caTGGtttttaggacTGT	nd	nd	99	nd
762_2	5'-GN2-C6-caCGAcaaattctatCCT	nd	nd	84	nd
763_2	5'-GN2-C6-caTGAtatacaatgcTAC	nd	nd	93	+++
764_2	5'-GN2-C6-caTCGttgggtaaatTTA	nd	nd	53	+
765_2	5'-GN2-C6-caTGCtttataaatgGTG	nd	nd	106	nd

+++：類似於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；++：弱於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；+：遠弱於對照之PD-L1/紐蛋白帶強度；nd=未測定。

自表13中之數據可看到，寡核苷酸之GalNAc偶聯明顯改良活體內

PD-L1降低。mRNA之降低通常與PD-L1蛋白之降低相關。除CMP ID NO: 754_1外，在寡核苷酸偶聯至GalNAc後，低活體外EC50值通常反映良好活體內PD-L1 mRNA降低。

實例4 -來自聚(I:C)誘導之小鼠中之經分選肝細胞及非實質細胞中之活體內PK/PD

在自聚(I:C)誘導之小鼠分離之肝細胞及非實質細胞中探究裸寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸之分佈以及PD-L1 mRNA降低。

向C57BL/6J雌性小鼠(n=3隻/組)經皮下注射靶向小鼠PD-L1 mRNA之5 mg/kg未偶聯寡核苷酸(748_1)或7 mg/kg GalNAc偶聯之寡核苷酸(759_2)。2天後，向小鼠經腹膜腔內注射15 mg/kg聚(I:C) (LWM, Invivogen)。在聚(I:C)注射之後將小鼠麻醉18-20 h且使用含有15 mM HEPES及0.38 mM EGTA之漢克氏平衡鹽溶液經由腔靜脈以7 ml/min之流速灌注肝5 min，隨後使用膠原酶溶液(含有0.17 mg/ml膠原酶類型2 (Worthington 4176)、0.03% BSA、3.2 mM CaCl₂及1.6 g/l NaHCO₃之漢克氏平衡鹽溶液)灌注12 min。在灌注後，取出肝且打開肝囊，經由70 μ m細胞過濾器使用威廉E培養基(William E medium)過濾肝懸浮液且取出細胞懸浮液之等分試樣(=混合肝臟細胞)以用於隨後分析。將其餘細胞懸浮液在50×g下離心3 min。收集上清液以用於非實質細胞之隨後純化。將糰粒再懸浮於25 ml威廉E培養基(Sigma目錄編號W1878，補充有1× Pen/Strep、2 mM L-麩醯胺酸及10% FBS (ATCC 30-2030號))中，與含有90% percoll之25 ml威廉E培養基混合且藉由在50×g下離心10 min來沈澱肝細胞。在威廉E培養基中洗滌2次後，將沈澱之肝細胞再懸浮於威廉E培養基中。將含有非實質細胞之上清液在500×g下離心7 min且將細胞再

懸浮於4 ml RPMI培養基中並經由兩層percoll (25%及50% percoll)在1800×g下離心30 min。在收集兩個percoll層之間之非實質細胞後，洗滌細胞且再懸浮於RPMI培養基中。

根據製造商說明書使用PureLink Pro 96 RNA純化套組(Ambion)自純化肝細胞、非實質細胞及總肝懸浮液(未分級分離之肝臟細胞)來提取總RNA。根據製造商說明書使用M-MLT逆轉錄酶、隨機十聚體RETROscript、RNase抑制劑(Ambion)及100 mM dNTP組(Invitrogen, PCR等級)來合成cDNA。對於基因表現分析而言，使用TaqMan Fast Advanced Master Mix (2×) (Ambion)以雙螺旋體設置利用TaqMan引子分析針對PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1)及TBP (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1)。相對PD-L1 mRNA表現程度展示於表10中(以來自使用鹽水及聚(I:C)注射之小鼠之對照試樣之%形式)。

使用ELISA採用利用序列5'-TACCGT-s-Bio-3'之生物素化捕獲探針及利用序列5'- DIG-C12-S1-CCTGTG - 3'之地高辛偶聯檢測探針來實施寡核苷酸含量分析。該等探針僅由具有磷酸二酯主鏈之LNA組成。將肝試樣(大約50 mg)在含有一種5mm不銹鋼珠粒之2 mL埃彭道夫管(Eppendorf tube)中於1.4 mL MagNa純裂解緩衝液(Roche目錄編號03604721001)中均質化。將試樣在Retsch MM400均質器(Merck Eurolab)上均質化直至獲得均勻裂解物為止。將試樣在室溫下培育30 min。藉由將未偶聯反義寡核苷酸化合物(CMP ID NO 748_1)以界定濃度摻加至未處理肝試樣中且將其處理為試樣來生成標準。選擇摻加濃度以匹配預期試樣寡核苷酸含量(在約10倍內)。

將均質化試樣在5 × SSCT緩衝液(750 mM NaCl及75 mM檸檬酸鈉，含有0.05 % (v/v) Tween-20，pH 7.0)中稀釋最少10倍且使用捕獲-檢測溶液(於5×SSCT緩衝液中之35 nM捕獲探針及35 nM檢測探針)製備經6次2倍稀釋之一系列稀釋液並在室溫下培育30 min。將試樣轉移至96孔鏈黴抗生物素蛋白(Streptavidin)塗覆板(Nunc目錄編號436014)中且使每孔含有100 μL。將板在室溫及輕微攪動下培育1小時。使用2 × SSCT緩衝液洗滌三次且向每一孔中添加以1:4000稀釋於PBST (磷酸鹽緩衝鹽水，含有0.05 % (v/v) Tween-20，pH 7.2，新製)中之100 μL抗DIG-AP Fab片段(Roche Applied Science，目錄編號11 093 274 910)，並在室溫及輕微攪動下培育1小時。使用2 × SSCT緩衝液洗滌三次且添加100 μL鹼性磷酸酶(AP)受質溶液(藍磷基質(Blue Phos Substrate)，KPL產品代碼50-88-00，新製)。在培育30分鐘之後於輕微攪動下以分光光度方式在615 nm下量測色彩強度。將原始數據自讀數器(Gen5 2.0軟體)輸出為excel格式且在excel中進一步分析。使用GraphPad Prism 6軟體及邏輯4PL回歸模型生成標準曲線。

表14：來自使用未偶聯寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸治療之聚(I:C)小鼠(n=3)之總肝懸浮液、肝細胞及非實質細胞中的PD-L1表現及寡核苷酸含量。

細胞類型	CMP ID no	PD-L1表現 (鹽水-聚(I:C)之%)		寡核苷酸含量 (ng/10 ⁵ 個細胞)	
		Avg	SD	Avg	SD
總肝臟細胞	748_1	31	12.4	2.3	0.3
	759_2	28	5.3	8.3	1.1
肝細胞	748_1	33	8.0	5.1	3.7
	759_2	7	1.0	43.8	18.9

細胞類型	CMP ID no	PD-L1表現 (鹽水-聚(I:C)之%)		寡核苷酸含量 (ng/10 ⁵ 個細胞)	
		Avg	SD	Avg	SD
非實質細胞	748_1	31	10.1	2.2	0.7
	759_2	66	1.6	1.7	0.9

結果展示，裸(CMP ID NO: 748_1)及偶聯(CMP ID NO: 759_2)寡核苷酸同等程度地降低總肝臟細胞中之PD-L1 mRNA。在經分離肝細胞中，偶聯寡核苷酸之效應幾乎強於裸寡核苷酸之效應5倍，而裸寡核苷酸展示其效應強於非實質細胞中之GalNAc偶聯之寡核苷酸兩倍。在肝細胞及非實質細胞中，PD-L1 mRNA表現之降低在一定程度上與該等細胞類型中之寡核苷酸含量相關。

實例5 -使用裸及GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸之AAV/HBV小鼠中之活體內PD-L1敲低

在本發明研究中，使用裸或GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸治療AAV/HBV小鼠，且在肝中評估PD-L1 mRNA表現及HBV基因表現。

在第-1週使用媒劑(鹽水)、裸PD-L1反義寡核苷酸(CMP ID NO 752_1，在5 mg/kg下，經皮下)及GalNAc PD-L1反義寡核苷酸(CMP ID NO 763_2，在7 mg/kg下，經皮下)預處理5-8週齡雌性HLA-A2/DR1小鼠(5隻動物/組)，該等劑量對應於等莫耳濃度之寡核苷酸。在第0週藉由5×10¹⁰ vg AAV-HBV轉導小鼠(關於其他細節，參見材料及方法部分中之AAV/HBV小鼠模型闡述)。自AAV-HBV轉導後W1至W4，使小鼠接受4次PD-L1寡核苷酸或媒劑(鹽水溶液)之其他皮下注射且相隔一週給予。

在轉導之前一週及在每一注射之後一週獲取血樣。

在最後注射之後兩週將小鼠處死且在PBS灌注後取出其肝。將肝切

割成較小切片且直接冷凍。

為量測HBV基因表現，利用Qiagen Biorobot使用 the QIAamp One for all核酸套組(目錄編號965672)自血清提取DNA，將血清以1:20稀釋度稀釋於PBS中，在200ul緩衝液AL中裂解總共100 µl。自套組在100 µl中洗脫DNA。

對於實時qPCR而言，將TaqMan Gene Expression Master Mix (目錄編號 4369016，Applied Biosystems)與藉由添加1:1:0.5之下列引子F3_core、R3_core、P3_core (Integrated DNA Technologies，皆各自以100uM重構)來製得之引子混合物一起使用：

正向(F3_core)：CTG TGC CTT GGG TGG CTT T (SEQ ID NO: 784)

反向(R3_core)：AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA(SEQ ID NO: 785)

探針 (P3_core)：56-FAM-AGC TCC AAA/ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G-3IABkFQ(SEQ ID NO: 786)

使用10倍稀釋液(始於 1×10^9 個拷貝/ μ l至1個拷貝/ μ l且以5 μ l/反應使用)製得使用HBV質體(基因型D，GTD)之標準曲線。

對於每一反應而言，添加10 μ l Gene Expression Master Mix、4.5 μ l水、0.5 μ l引子混合物及5 μ l試樣或標準且運行qPCR。

對於分析而言，使用標準曲線計算拷貝數/ml/孔。結果展示於表15中。

使用qPCR量測PD-L1 mRNA表現。

自添加至含有陶瓷珠粒(Lysing Matrix D管，116913500, mpbio)及

1ml Trizol之2ml管中之經冷凍肝切片提取mRNA。

使用Precellys組織破碎器將肝切片均質化。將200μl氯仿添加至均質物中，渦旋且在4℃及10000rpm下離心20min。將含有RNA之澄清相(大約500ul)轉移至新管中且添加相同體積之70% EtOH。在充分混合之後，將溶液轉移至RNeasy自旋管柱上且遵循RNeasy套組之人工RNeasy微型套組(目錄編號74104，Qiagen) (包含RNA消解RNase-free DNase Set，目錄編號79254) 進一步提取RNA。在50μl H₂O中洗脫。對於所有試樣而言，量測最終RNA濃度且調節至100ng/ul。

根據製造商說明書在7.5μl RNA下使用Taqman RNA-to-ct 1-step套組(目錄編號4392938，Thermo Fisher)實施qPCR。所用引物混合物含有PD-L1_1-3 (引物編號 Mm00452054_m1、Mm03048247_m1及Mm03048248_m1)及內源性對照(ATCB Mm00607939_s1、CANX Mm00500330_m1、YWHAZ Mm03950126_s1及GUSB Mm01197698_m1)

使用2^{-ddct}方法分析數據。使用所有4種內源性對照之平均值來計算dct值。PD-L1表現係相對於內源性對照之平均值且以鹽水之%形式

表15：使用未偶聯及GalNAc偶聯之寡核苷酸治療之AAV/HBV小鼠(n=5)中之PD-L1 mRNA表現及HBV DNA。

	CMP ID no	PD-L1 mRNA表現 (鹽水之%)		HBV DNA表現 (鹽水之%)	
		Avg	SD	Avg	SD
裸	752_1	55	35	72	16
GalNAc偶聯	763_2	34	3	79	9

自該等結果可看到，裸寡核苷酸及GalNAc偶聯之寡核苷酸能夠降低

AAV/HBV小鼠之肝中之PD-L1 mRNA表現，其中GalNAc偶聯之寡核苷酸略微較佳。兩種寡核苷酸亦使得血清中之HBV DNA略有降低。

實例6 -對AAV/HBV小鼠中之T細胞反應之活體內效應

在本發明研究中，使用靶向PD-L1之抗體或反義寡核苷酸治療來自巴斯德之AAV/HBV小鼠。反義寡核苷酸係裸反義寡核苷酸或偶聯至GalNAc。在治療期間，使用針對HBs及HBc抗原之DNA疫苗對動物實施免疫(參見材料及方法部分)以確保T細胞由抗原呈遞細胞有效引發。評估該治療如何影響肝及脾中之細胞群體以及該等群體上之PD-L1表現及是否可鑑別HBV特異性T細胞反應。

治療方案：

根據下文方案來治療雌性HLA-A2/DR1小鼠。在兩個單獨子研究中實施研究，其中投與方案略有差異，如下表16及17中所指示。

如材料及方法部分中所闡述來投與DNA疫苗及抗PD-L1抗體。所用反義寡核苷酸係5 mg/kg CMP ID NO 748_1 (裸)及7mg/kg CMP ID NO: 759_2 (GalNAc偶聯)，二者皆係以皮下注射(s.c.)形式來投與。

表16：使用DNA疫苗及DNA疫苗+抗PD-L1抗體之AAV/HBV小鼠治療方案，每組6隻小鼠

天	媒劑 (第10組)	DNA疫苗 (第11組)	DNA疫苗+抗PDL-1 Ab (第13組)
0	AAV/HBV		
29*	動物隨機化		
34	鹽水+同型	-	Ab
41	鹽水+同型	-	Ab
48	鹽水+同型	-	Ab
50	-	CaTx	CaTx

55*	PBS+同型	DNA	DNA+Ab
62	鹽水+同型	-	Ab
69	PBS+同型	DNA	DNA+Ab
76*	鹽水+同型	-	Ab
83	鹽水+同型	-	Ab
97*	處死		

同型=小鼠IgG對照Ab，CaTx =心臟毒素，DNA = DNA疫苗，Ab=抗PD-L1 Ab且*=血清收集

表17：使用DNA疫苗及DNA疫苗+裸或偶聯PD-L1寡核苷酸(ASO)之AAV/HBV小鼠治療方案，每組7隻小鼠

天	媒劑 (第1組)	DNA疫苗 (第2組)	DNA疫苗 + PDL-1 ASO (第7組)	DNA疫苗 + GN- PDL-1 ASO (第8組)
0	AAV/HBV			
29*	動物隨機化			
39	鹽水	鹽水		
41		鹽水	ASO	GN-ASO
46	鹽水	鹽水		
49		鹽水	ASO	GN-ASO
53	鹽水	鹽水		
55	CaTx	CaTx	CaTx	CaTx
56		鹽水	ASO	GN-ASO
59	PBS+鹽水	DNA+PBS	DNA	DNA
62*		鹽水	ASO	GN-ASO
67	鹽水	鹽水		
70		鹽水	ASO	GN-ASO
74	PBS+鹽水	DNA+PBS	DNA	DNA
77		鹽水	ASO	GN-ASO
81	鹽水	鹽水		

天	媒劑 (第1組)	DNA疫苗 (第2組)	DNA疫苗 + PDL-1 ASO (第7組)	DNA疫苗 + GN- PDL-1 ASO (第8組)
84*		鹽水	ASO	GN-ASO
88	鹽水	鹽水		
91		鹽水	ASO	GN-ASO
102	處死			

DNA = DNA疫苗，CaTx =心臟毒素，Ab=抗PD-L1 Ab，ASO=裸PDL-1寡核苷酸，GN-ASO= GalNAc-PDL-1寡核苷酸且*=血清收集

在處死時，收集來自每一組之每一小鼠之血液、脾及肝單核細胞且消耗紅血球(裂解緩衝液，BD biosciences, 555899)。肝單核細胞需要如材料及方法部分中所闡述之特定製備。

細胞群體：

在肝中，藉由肝單核細胞上之表面標記(參見材料及方法)使用細胞術來分析細胞群體。

與對照組(亦即媒劑及DNA免疫化組)相比，經治療小鼠之脾及肝中之NK細胞頻率並未發現顯著變化。表18展示，在肝中，使用裸PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO 748_1)及GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO: 759_2)治療之組之T細胞數與亦呈現於圖10 A中的任一對照組(亦即媒劑及DNA免疫化組)相比顯著增加。此增加係源於CD4+及CD8+ T細胞群體有所增加(分別在表18及圖10B及10C中)。

表18：在治療後之肝中之T細胞(以百萬個細胞之形式)

	T細胞 (百萬)		CD4+ T細胞 (百萬)		CD8+ T細胞 (百萬)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑(組1)	0.77	0.44	0.51	0.35	0.11	0.05
DNA疫苗(組2)	0.90	0.24	0.58	0.16	0.16	0.08
DNA疫苗+ 抗PD-L1 Ab (組13)	1.98	0.90	1.40	0.81	0.41	0.23
媒劑(組10)	1.73	0.87	1.13	0.55	0.40	0.25
DNA疫苗(組11)	1.27	0.97	0.79	0.58	0.32	0.32
DNA疫苗+ PD-L1 ASO(組7)	3.78	1.31	2.46	0.72	0.79	0.39
DNA疫苗+ GN-PD-L1 ASO(組8)	3.33	0.66	2.18	0.40	0.67	0.17

PD-L1表現：

在處死時，在來自脾及肝之巨噬球、B及T細胞上評估PD-L1蛋白之表現。PD-L1抗體在表面標記抗體混合物(參見材料及方法)中之存在使得可藉由細胞術量化PD-L1表現細胞。

在脾中，據觀察，在治療之間表現PD-L1之巨噬球、B細胞及CD4+ T細胞之%並無顯著差異。使用裸PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO 748_1)及GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸(CMP ID NO: 759_2)治療之小鼠中之表現PD-L1之CD8+ T細胞的%低於其他治療(數據未展示)。

在肝中，PD-L1主要以32%之平均頻率表現於CD8+ T細胞上且在對照組(分別係兩個媒劑及DNA接種疫苗組組合，圖11A)中為41%。使用裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸進行治療使得表現PD-L1之CD8+ T細胞之頻率有所降低(參見表19及圖11A)。亦在ASO治療之後針

對B細胞及CD4+ T細胞觀察到表現PD-L1之細胞%具有顯著差異，但該等細胞類型表現顯著小於CD8+ T細胞之PD-L1（參見表19及圖11B及C）。使用抗PD-L1 Ab進行治療亦使得所有細胞類型中之PD-L1表現明顯降低。然而，此降低可能係由於PD-L1表位由用於治療之抗PD-L1抗體部分地阻斷，從而防止表面標記抗體混合物中之PD-L1檢測抗體預防結合至PD-L1。因此，藉由用於治療之抗PD-L1抗體所達成之PD-L1下調似乎可為治療抗體與檢測抗體之間之表位競爭的結果。

表19：具有PD-L1表現之肝臟細胞群體之%

	CD8+ T細胞之%		CD4+ T細胞之%		B細胞之%	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑(組10)	35.5	4.7	0.75	0.52	5.9	1.5
DNA疫苗 (第11組)	36.8	7.7	0.61	0.08	5.5	1.1
DNA疫苗+ 抗PD-L1 Ab (第13組)	18.6	12.3	0.33	0.10	2.9	1.7
媒劑 (第1組)	28.5	11.5	0.64	0.21	5.9	1.7
DNA疫苗 (第2組)	44.9	14.4	1.43	0.69	8.7	3.1
DNA疫苗+ PD-L1 ASO (第7組)	9.6	2.4	0.37	0.21	2.9	0.8
DNA疫苗+ GN-PD-L1 ASO (第8組)	14.6	3.3	0.31	0.11	2.8	0.8

HBV特異性T細胞反應：

使用檢測IFN γ 及TNF α 產生之細胞內細胞介素染色分析(參見材料及方法部分)檢測產生促發炎性細胞介素之NK細胞及CD4+及CD8+ T細胞。

在脾中，在處死時，未檢測到分泌IFN γ -及TNF α 之NK細胞且可檢測到少量CD4+ T細胞(頻率< 0.1%)。在使用裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸治療之小鼠以及此研究中僅接受DNA疫苗之小鼠中檢測靶向兩種HBV抗原之產生IFN γ 之CD8+ T細胞(數據未展示)。

在DNA免疫化HBV攜載小鼠之肝中，在處死時並未檢測到產生IFN γ 之NK細胞，而在少數DNA免疫化小鼠之肝中以低頻率檢測到對核心或S2+S具有特異性之產生IFN γ 之CD4+ T細胞(< 0.4%，數據未展示)。在大部分DNA免疫化小鼠中檢測到產生IFN γ 之HBV S2+S 特異性CD8+ T細胞。在使用DNA疫苗及裸PD-L1寡核苷酸或GalNAc PD-L1寡核苷酸之組合治療之小鼠中，分泌IFN γ 之CD8+ T細胞之頻率有所增加，而使用抗PD-L1抗體之治療並不向DNA接種疫苗增加任何明顯額外效應(圖12)。在大部分DNA免疫化組(除抗PD-L1抗體外)中檢測到靶向套膜蛋白及核心抗原之產生IFN γ 之CD8+ T細胞(圖12B)。大部分S2-S特異性T細胞產生IFN γ 及TNF α (圖12C)。結果亦展示於表20中。

表20：來自總IFN γ 或IFN γ + TNF α 細胞群體之HBV抗原(S2-S或核心)特異性CD8+ T細胞之%

	PreS2-S特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		核心特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		S2-S特異性T細胞 (IFN γ + TNF α 之%)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
媒劑 (第10組)	0.15	0.37	0.18	0.43	0.00	0.00
DNA疫苗 (第11組)	1.48	1.10	0.47	0.53	0.42	1.02

	PreS2-S特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		核心特異性T細胞 (IFN γ 細胞之%)		S2-S特異性T細胞 (IFN γ + TNF α 之%)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
DNA疫苗+ 抗PDL-1 Ab	1.18	0.95	0	0	0.38	0.49
媒劑 (第1組)	0.17	0.45	0.11	0.28	0.00	0.00
DNA疫苗 (第2組)	1.70	1.02	0.27	0.51	0.98	0.90
DNA疫苗+ PDL-1 ASO	2.56	1.60	0.78	0.80	1.44	1.55
DNA疫苗+ GN-PDL-1 ASO	3.83	2.18	0.68	1.16	2.62	1.62

實例7 -對AAV/HBV小鼠血清中之HBV抗原及HBV DNA之活體內效應

在本發明研究中，使用GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸CMP ID NO 759_2治療來自上海之AAV/HBV小鼠(參見材料及方法部分)。

評估該治療與媒劑治療動物相比如何影響血清中之HBe及HBs抗原及HBV DNA含量。

治療方案：

在此研究中使用如在材料及方法部分中之上海模型下所闡述感染攜載HBV基因體(AAV/HBV)之重組腺相關病毒(AAV)之雄性C57BL/6小鼠。經8週每週一次向小鼠(6小鼠/組)注射5 mg/kg反義寡核苷酸CMP ID NO: 759_2或媒劑(鹽水)，其中二者皆係如皮下注射(s.c.)所投與。在治療期間每週以及在治療後6週收集血樣。如下文所闡述在血清試樣中量測HBV DNA、HBsAg及HBeAg含量。前10週之結果展示於表21及圖13中。在歸檔時研究仍在進行，因此，剩餘4週之數據尚未獲得。

HBsAg及HBeAg檢測：

在經感染AAV-HBV小鼠中使用HBsAg化學發光免疫分析(CLIA)及HBeAg CLIA套組(Autobio diagnostics Co. Ltd., Zhengzhou, China, 目錄編號分別為CL0310-2及CL0312-2)根據製造商方案在血清中來測定血清HBsAg及HBeAg含量。簡言之, 將50 μ l血清轉移至各別抗體塗覆微量滴定板中且添加50 μ l酶偶聯物試劑。將板在室溫下於振盪器上培育60 min, 然後利用洗滌緩衝液使用自動洗滌器將所有孔洗滌6次。向每一孔中添加25 μ l受質A且然後添加25 μ l受質B。將板在室溫下培育10 min, 然後使用Envision發光讀數儀量測發光。以單位IU/ml給出HBsAg; 其中1 ng HBsAg = 1.14 IU。以單位NCU/ml血清給出HBeAg。

HBV DNA提取及qPCR：

首先, 使用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)將小鼠血清稀釋10倍(1:10)。使用MagNA Pure 96 (Roche)機器人提取DNA。將50 μ l經稀釋血清在處理柱中與200 μ l MagNA Pure 96 外部裂解緩衝液(Roche, 目錄編號06374913001)一起混合且培育10分鐘。然後使用「MagNA Pure 96 DNA及Viral Nucleic Acid Small Volume Kit」(Roche, 目錄編號06543588001)及「Viral NA Plasma SV external lysis 2.0」方案提取DNA。DNA洗脫體積為50 μ l。

使用Taqman qPCR機器(ViiA7, life technologies)來量化所提取HBV DNA。一式兩份在PCR中測試每一DNA試樣。將5 μ l DNA試樣添加至384孔板中含有10 μ l TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, 目錄編號4369016)、0.5 μ l PrimeTime XL qPCR引子/探針(IDT)及4.5 μ l蒸餾水之15 μ l PCR標準混合物中且使用下列設置實施PCR：

UDG培育(2min, 50℃)，酶活化(10min, 95℃)及PCR (40個循環，其中在95℃下變性15sec且在60℃下退火及延伸1min)。自C_t值基於HBV質體DNA標準曲線藉由ViiA7軟體來計算DNA拷貝數。

用於TaqMan引子及探針(IDT)之序列：

正向核心引子(F3_core)：CTG TGC CTT GGG TGG CTT T(SEQ ID NO: 784)

反向引子(R3_core)：AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA (SEQ ID NO: 785)

Taqman探針(P3_core)：56-FAM/AGC TCC AAA /ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G/3IABkFQ (SEQ ID NO: 786)。

表 21：在使用 GalNAc 偶聯之 PD-L1 反義寡核苷酸治療後來自 AAV/HBV 小鼠之血中之清HBV-DNA、HBsAg及HBeAg含量。

	鹽水						CMP ID NO: 759_2，在5 mg/kg下					
	HBV-DNA		HBsAg		HBeAg		HBV-DNA		HBsAg		HBeAg	
天數	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
0	7.46	0.35	3.96	0.48	3.23	0.14	7.44	0.29	3.87	0.40	3.17	0.13
7	7.53	0.23	4.17	0.45	3.35	0.10	7.53	0.20	3.91	0.42	3.19	0.18
14	7.57	0.24	4.12	0.49	3.19	0.11	7.45	0.22	3.90	0.50	2.99	0.27
21	7.47	0.27	3.93	0.51	3.12	0.05	7.33	0.47	3.71	0.76	2.78	0.26
28	7.68	0.26	3.88	0.67	3.18	0.13	7.45	0.46	3.65	0.93	2.67	0.38
35	7.69	0.21	4.03	0.54	2.95	0.08	7.13	0.75	2.98	1.05	2.04	0.38
42	7.58	0.23	3.89	0.65	3.34	0.10	6.69	0.89	2.60	1.05	1.98	0.45
49	7.77	0.17	3.54	1.06	3.08	0.26	6.56	1.26	2.19	0.70	1.47	0.37
56	7.71	0.24	3.99	0.86	3.28	0.05	6.21	1.48	2.28	0.84	1.38	0.30
63	7.59	0.28	3.67	1.07	3.25	0.13	6.08	1.39	2.08	0.71	1.35	0.30

自此研究可看到，在治療6週之後，GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核

苷酸CMP NO 759_2對血清中之HBV-DNAH、BsAg及HBeAg含量降低具有顯著效應，且在治療之後持續至少2週之效應已終止。

實例8 -使用GalNAc偶聯之PD-L1寡核苷酸之人類原代肝細胞中之活體外PD-L1敲低

使用基因體學探究GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸化合物降低原代人類肝細胞中之PD-L1轉錄之能力。

細胞培養物

將經冷藏保存之人類肝細胞以大約 5×10^6 個細胞/ml之密度懸浮於補充有10%胎牛血清、青黴素(100 U/ml)、鏈黴素(0.1 mg/ml)及L-麩醯胺酸(0.292 mg/ml)之WME中且以 2×10^5 細胞/孔之密度接種至膠原塗覆之24孔板中(Becton Dickinson AG, Allschwil, Switzerland)。在開始使用寡核苷酸以100 μ M之最終濃度進行處理之前，將細胞預培養4h以使得連接至細胞培養板。所用寡核苷酸展示於表21及表8中，媒劑係PBS。將接種培養基更換為315 μ l無血清WME (補充有青黴素(100 U/ml)、鏈黴素(0.1 mg/ml)、L-麩醯胺酸(0.292 mg/ml))且將35 μ l於PBS中之1 mM寡核苷酸儲備溶液添加至細胞培養物中並在細胞上保留24小時或66小時。

文庫製備

使用Illumina Stranded mRNA化學在Illumina測序平臺上利用 2×51 bp配對端讀數及每一樣品中30M之最小讀取深度之測序策略(Q squared EA)來描述轉錄物表現。藉由添加350 μ l Qiagen RLT緩衝液來在孔中裂解細胞且登錄於隨機化方案中。

使用Qiagen RNeasy微型套組純化mRNA。量化mRNA且使用Agilent生物分析儀評價完整性。在經分離RNA之初始品質評價後，據觀

察，所有試樣皆符合100ng之輸入品質度量且RIN評分>7.0。

使用Illumina TruSeq Stranded mRNA文庫製備自100 ng總RNA開始來生成用於所有試樣之測序文庫。使用Agilent生物分析儀(DNA 1000套組)分析最終cDNA文庫之大小分佈，藉由qPCR (KAPA Library Quant套組)量化且在製備中正規化至2 nM以用於測序。使用標準簇生成套組v5來使cDNA文庫以等溫方式結合至流動槽表面及cBot以將連接cDNA構築體各自擴增至最高約1000個拷貝之純系簇。藉由邊合成邊測序技術使用TruSeq SBS套組測定DNA序列。

數據處理

使用GSNAP短讀數比對程式將長2×51 bp之Illumina配對端測序讀數定位於人類參考基因體hg19上。使用SAMTOOLS程式將SAM格式比對轉換成分選比對BAM格式檔案。基於來自NCBI RefSeq之外顯子注釋(由hg19之相應GTF檔案指定)來估計PD-L1之基因讀取計數。使用DESeq2 R套件應用考慮每一試樣之不同文庫大小之正規化步驟。

在與GalNAc偶聯之PD-L1反義寡核苷酸化合物一起培育之後之PD-L1轉錄降低展示於表22中。

表22：在使用GalNAc偶聯之寡核苷酸處理後原代一級肝細胞中之PD-L1轉錄降低，n=4

化合物	PD-L1表現程度，24 h (文庫大小調節之計數)	PD-L1表現程度，66 h (文庫大小調節之計數)
媒劑	259	156
	159	168
	192	136
	202	211

化合物	PD-L1表現程度，24 h (文庫大小調節之計數)	PD-L1表現程度，66 h (文庫大小調節之計數)
767_2	7	7
	11	14
	22	9
	28	15
766_2	16	13
	15	10
	17	11
	29	13
769_2	15	21
	18	18
	25	18
	26	25
768_2	41	25
	27	48
	31	25
	34	22
770_2	21	16
	44	62
	67	51
	38	63

在培育24及66小時之後，在與使用媒劑處理之試樣相比時，所有5種GalNAc偶聯之反義化合物皆展示顯著PD-L1轉錄降低。

實例9 -偶聯及裸PD-L1反義寡核苷酸在HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中之EC50

在HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中比較兩種裸及等效GalNAc偶聯PD-L1反義寡核苷酸之功效。

細胞系

將HepaRG細胞(Biopredic International, Saint-Gregoire, France)培養於威廉E培養基(補充有10% HepaRG生長補充物(Biopredic))中。自此細胞系，使用慢病毒方法生成穩定過度表現人類ASGPR1及ASGPR2之HepaRG細胞系。以MOI 300使用由Sirion biotech按需產生之編碼人類ASGPR1及2之慢病毒(CLV-CMV-ASGPR1-T2a_ASGPR2-IRES-Puro)在CMV啟動子及嘌呤黴素抗性基因之控制下來轉導增殖HepaRG細胞。使用1µg/ml嘌呤黴素經11天選擇轉導細胞且然後維持於相同濃度之抗生素中以確保轉基因之穩定表現。在mRNA層面下藉由RT-qPCR (ASGPR1：8560倍對非轉導，ASGPR2：2389倍對非轉導)及在蛋白質層面下藉由流式細胞術分析來證實ASGPR1/2過度表現。

在感染之前使用1.8% DMSO分化細胞至少2週。HBV基因型D係衍生自HepG2.2.15細胞培養上清液且使用PEG沈澱濃縮。為評估測試化合物針對HBV之活性，使用HBV以20至30之MOI感染96孔板中之分化ASGPR-HepaRG細胞20 h，然後使用PBS將細胞洗滌4次以去除HBV接種物。

寡核苷酸功效

將下列寡核苷酸

裸PD-L1 ASO	等效GalNAc偶聯PD-L1 ASO
CPM ID NO: 640_1	CPM ID NO: 768_2
CPM ID NO: 466_1	CPM ID NO: 769_2

在感染後第7天及第10天使用25µM至0.4 nM之連續稀釋液(於PBS中以1:4稀釋)添加至HBV感染之ASGPR-HepaRG細胞中。在感染後第13天收穫細胞。

根據製造商說明書使用MagNA Pure 96 Cellular RNA大體積套組在MagNA Pure 96系統(Roche Diagnostics)上來提取總mRNA。對於基因表現分析而言，如實例5中所闡述來實施RT-qPCR。

使用2^{-ddct}方法分析數據。使用肌動蛋白B作為內源性對照以計算dct值。PD-L1表現係相對於內源性對照及鹽水媒劑。

在GraphPad Prism6中實施EC50計算且展示於表23中。

表23：ASGPR-HepaRG HBV感染細胞中之EC50，n=4。

CMP ID NO	EC50 (μM)
640_1	2.25
768_2	0.10
466_1	5.82
769_2	0.13

該等數據明確展示，PD-L1反義寡核苷酸之GalNAc偶聯物顯著改良EC50值。

實例10 -衍生自慢性HBV患者之PBMC中之T細胞功能刺激

探究在末梢血單核細胞(PBMC)之離體HBV抗原刺激之後裸PD-L1反義化合物是否可增加慢性感染HBV (CHB)患者之T細胞功能。

將來自三名慢性HBV感染患者之冷凍PBMC解凍且以200’000個細胞/孔之密度接種於100μl培養基(RPMI1640 + GlutaMax+ 8%人類血清+ 25mM Hepes + 1% PenStrep)中。第二天，使用1μM PepMix HBV大套膜蛋白或1μM PepMix HBV核心蛋白(參見表9)使用或不使用5μM CMP ID NO: 466_1或CMP ID NO: 640_1在100μl含有100pg/ml IL-12及5ng/ml IL-7之培養基中刺激細胞(在第8天僅施加伴刀豆球蛋白(Concanavalin)刺激)。4天後，使用含有50IU IL-2之培養基更新PD-L1反義寡核苷酸處

理。在第一刺激之後第8天，使用PepMix或5 μ g/ml伴刀豆球蛋白A以及PD-L1反義寡核苷酸再刺激細胞24h。對於最後5h刺激而言，添加0.1 μ l 佈雷菲德菌素A（佈雷菲德菌素A）、0.1 μ l莫能菌素(monensin)及3 μ l抗人類CD-107 (APC)。

在24h之後，使用染色緩衝液(PBS + 1% BSA + 0.09% 疊氮化鈉+ EDTA)洗滌細胞且在4 $^{\circ}$ C下施加表面染色30min [抗人類CD3 (BV 605)、抗人類CD4 (FITC)、抗人類CD8 (BV711)、抗人類PDL1 (BV421)、抗人類PD1 (PerCP-Cy5.5)及活及死亡染色(BV510) (BD Biosciences)]。將細胞在4 $^{\circ}$ C下固定於BD固定緩衝液中保持15min。次日早上，使用BD Perm/Wash緩衝液將細胞在4 $^{\circ}$ C下滲透15min且在4 $^{\circ}$ C下實施細胞內染色30mi [抗人類INF((PE)]。在Perm/Wash緩衝液中洗滌之後，將細胞溶於250 μ l染色緩衝液中。

在BD Fortessa (BD Biosciences)上實施FACS量測。對於分析而言，首先將整個細胞群體選通於活細胞上(活及死亡染色，BV510)，且然後選通於CD3+ (BV605)細胞上。然後將CD3+細胞繪圖為CD107a+ (APC)對IFN γ + (PE)。

結果展示於表24中。

表 24：PD-L1 ASO處理對來自分離自三名慢性HBV感染患者之PBMC之CD3+ T細胞之效應。

	無抗原刺激			套膜蛋白抗原			核心抗原		
	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1	鹽水	CMP 466_1	CMP 640_1
INFγ-/ CD107+	1.16	4.95	4.81	4.7	9.12	8.62	3.84	9.66	7.31
	2.7	3.59	2.74	2.57	3.69	3.2	3.25	3.34	2.92
	3	3.87	3.98	4.59	12.5	10.9	9.23	6.11	6.88
INFγ+/ CD107+	0.12	1.03	1.15	3.19	17.3	18.9	2.38	15.1	5.75
	0.49	3.12	1.75	2.73	7	5.34	1.63	2.35	1.9
	0.24	1.13	1.5	1.6	8.16	3.06	1.68	1.9	1.91
INFγ+/ CD107-	0.33	1.43	1.08	5.11	7.74	9.47	3.14	7.76	2.83
	0.61	2.9	2.26	7.84	5.79	5.78	2.33	2.82	2.95
	0.17	1.57	1.72	1.22	2.58	0.99	0.1	0.61	1.04

自該等數據可看到，抗原刺激本身能夠誘導CHB患者(n=3)之PBMC中之T細胞活化(增加表現INF γ (及/或CD107a之CD3+細胞之%)。添加PD-L1反義寡核苷酸CMP 466_1或640_1使得額外增加CD3+ T細胞反應。此增加主要於HBV套膜蛋白刺激組中觀察到。

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司(F. Hoffmann-La Roche AG)

<120> 用於降低PD-L1表現之寡核苷酸

<130> TW106108305

<150> EP16160149.7

<151> 2016-03-14

<160> 786

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20064

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

ggcgcaacgc tgagcagctg gcgcgtcccg cgcggcccca gtctctgcgc gcttcccagag	60
gctccgcacc agccgcgctt ctgtccgcct gcaggtaggg agcgttggtc ctccgcgggt	120
gcccacggcc cagtatctct ggctagctcg ctgggcactt taggacggag ggtctctaca	180
ccctttcttt gggatggaga gaggagaagg gaaagggaac gcgatggtct agggggcagt	240
agagccaatt acctgttggg gttaataaga acaggcaatg catctggcct tcctccaggc	300
gcgattcagt ttgtctctaa aaataattta tacctctaaa aataaataag ataggtagta	360
taggataggi agtcattctt atgcgactgt gtgttcagaa tatagctctg atgctaggct	420
ggaggctctgg acacgggtcc aagtcaccgc ccagctgctt gctagtaaca tgacttgtgt	480
aagttatccc agctgcagca tctaagtaag tctcttctg cgctaagcag gtccaggatc	540
cctgaacgga atttatttgc tctgtccatt ctgagaaccc aaaggagtcc taaaagagga	600
atggaggagc ctaagaataa aaatagtata ataaaacatt tcttagacac attgaccttg	660
gcctatgtca aagttcagtc tgggtttgtc ttataacaca aggagtaaaa gtaccattgt	720
tctacctctt ttttaatac ttgaaaaaaaa ttactgtgg atgcttttct atgaattaaa	780
taaccttcta aaaaatgttt tcattgtctg attcgattag attgggtaac taaatgaaat	840

taattctctca ctgttgggta taaaggttat ttacagtggg tctgtcttag ccattcactg	900
aactcattgc atataatact ctggaatatt gctgattgtt tccttcaagt aaacttagaa	960
gtgtaactac ttagtcaaag agcctgaata ttttaaaggc cttttgaaga aaactgaaaa	1020
tgctttccag aaaggatgta tcagttgaca atgacagtcg tcaacagtat ttaaggagaa	1080
ctatgatact ctgaagaaaa acttagcctt tctcagtaaa agtaggtagg cagaggccac	1140
atgacagcag ttagagtgtg gtcttcaagg aagtcacaga aatactgttg ggaattgaaa	1200
ccccatgtgg aaaatgtaca agagtgtctc agtgtgactg agaaggagggt tgggcatggg	1260
gtttcatgga gtttaataaa gtttggtcac ttagtagagg tttataaat caactgtctt	1320
aatctttgat cctacttaag aatTTTTTTT ttgtttttgt agagatgggg ctcttgttat	1380
gttgcccagg ctgttctcga actcctagcc tcaggcgatc ctccctctc aggcctcaga	1440
agtcctggga ttactggcgg gagccaccat gcaggcctct tgctcctact tttgagaaag	1500
gaagttaaac cggTTTTTTT tgtctTTTTT tttttTTTTT tgagacagag tctcactctg	1560
ttgcccatgc tggagtcag tgggtcaatc tcagctcact gcctcccggg ttcaagtgat	1620
tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg actacaggca cctgccacca cggccagcta	1680
atTTTTgtat ttttagtaga aatggggttt caccatattg gccaggctga tctcgaactc	1740
ctgacctcag gtgatccgcc tgcctcggcc tcccaaagtg ctgggattac aggcattgagc	1800
cactgctcct ggctgcttaa ctttttctct atctcatcct cctacccatc ctacccttgg	1860
aagatagaga agtagtatta gtccatagt gtataactgg gcttcccca gggacaaacc	1920
cacttccca acctgaatga gccatcactt ctccccagt ttacatttca ttgctcttta	1980
aatgtctcca ttcggatatg ggaattcaca tatggtcata attcttacct gaagaagatg	2040
tcagtcttct tctcttagac caactgccct gatatgaggt ttagaggtta aagaacatgt	2100
gtgtatttac atgatctttg tattctgcct tttcgtccct cactaatgac agctgcaccc	2160
caaggaaatg gagctgtgga agagagggtt tgataagaaa ttaagtaaat attggatcta	2220
atccatcacc ctccaggaag cttttattac tcctaaaaat ttcaaccaa ttcattaaag	2280
gacaagaact ccaccagagt aggccataaa cattggcaaa attagttgta atccatgact	2340

agatttaatg tccctttgtt ttattcccat atggttataa tgctttgctt ggcattaggg	2400
gtattttaag ttttcttctg cctagtaagt gaatttgtgt ttataataca ataatacataa	2460
aatacacat taataattta taactgtaca gttataaaat attttataag taataattat	2520
attttataag taataattta taactgtaca gttaactctg gccaaggaa aagatagtct	2580
gatagatgct gcagcccat tttagcaaat gtgacctcac aggcctgaat gccatcgcta	2640
ttccacatct acaggataga cggaaaggaa agaaataaaa aaataggtac ctaacactgg	2700
caagaggatg atgactcatg ttatttcaact taaccttttt atcttttaac atgaaggact	2760
catacaggtt gataagaaac cagtgcata aacagaccaa aaaatgatca gatctttcaa	2820
attagcaaaa aaataatatt ttttaacaa tgggtgaaaa tacagtgtaa cagtaccaat	2880
tatcaacatg tgttgagaac cagaaaaatg ttctttttct ttgatcagca aactatttg	2940
ggaaaatcta tcttcagggc ctagcctggg gccctggcac acagtaggca ctcaacgaat	3000
atttgc tgaa cacacaaata cttatgatat tttaaaaat tggcaacaat ctgataccta	3060
acaatagagg gattaaatat tatggaactg ttaaataaga tgcttatgaa taccatgcag	3120
taagatgggc aataatttatg ccataagctt taatgaaaca aatgggtatt aaatgtatga	3180
taaggttata aattactttt taaaagatta cagggaaaaa aattgaaaga tatacactga	3240
aatgtttttt gctcacagtg gtgacaaggt ttctcagcac tggcactgtt gacgttttag	3300
gctgtatgtc tttgctgtgg gaggctggcc tglgcactgc aggggtgtttg gcagcactct	3360
tggcctctgc ccctagatag caatagcagt cctccctcaa ccagcccaat tttgacaacc	3420
aaaaatgttt ccaggcatca ccagatgctc cctgggtgag agtgatgaaa tagtagggga	3480
tttccccctt cttttcttat tttctgtaat tccattatat tactttaata ataaagaaaa	3540
aaacataaaa aataaacgaa tgttattatt ctacgtcagt ttggatgttt ggactccatt	3600
ttggggttct ttccattata tcacttggtc tgctaaacat tctacggttt ggtaaggatga	3660
agtgattcat gaaattttgg ttttattttt ttctgtatc taaaaataaa acattctttc	3720
acttggaat ttggacacag aacacaaaaa aaaatccata atctcatctc tctttttctg	3780
tcttttcctt cttttttcc ctttaaaaac aataaagagt gaaacctacc tgttctccct	3840

ctaatttaat tcctaaatat aatcactgtc aatatcttgg acatttcctg tgtctaaaca	3900
cacacacaca cttttttttt tcagcaaaag tggatttctg ctacatgtag tgttctgcaa	3960
cttactttct atgtgtttac aaaatcagta catgtacata tgctgaattc agtccttaat	4020
ggtattatat ttgtgaata taccaaaatt tgtttaacca cttagacaat ctaggatatt	4080
ctcagtttgc tgttatgagc aatgctcttc ctttacatat acagacatat atatatatat	4140
gtgtgtgtgt gtgtttttgt tttagtagga tagatttcta ggagagggtg aaaggctta	4200
tgacatccgc atttacgatt gtaataggaa gtatcaaagt gccccctaaa gaaaaaaatc	4260
ctcccattag tgggtaagaa agcctatttg ttcatatcct cacaacact aaatattaga	4320
aatatttaca attgtgggtca agctcataag tgaaaatggg atttcataac ttatatTTTT	4380
tattgtgaga ttgaacatct ttcatatgtt tacatgtcac ctgtatttct tattctctga	4440
actatatgtt atgaccttcc actttttttc ctcatggggt atgtgtagtt tgtatagttg	4500
tcttattgat tgttaggagc tttttatata ttaggaacat taatctcctg tcttatatat	4560
acgtggcatc gattagttga tcatttgtga gtccatgtct gtatacaaag attggagagg	4620
cactaagagg gaaaacttac ctctttctta tcaaagtttg taaatatatg tataacagaa	4680
gaggggagaaa atattaataa atgcacagat tggctgaaat agagtataaa tcttttactc	4740
ccctacttca acataaactg caaaaggaga gtgacttttc tttactctg acttccgtat	4800
tcctcatgct taaaatagtg cctagcacag aagagggtgt caatcagtgt ttgctaaacg	4860
aaataattag tcacatttca agcaggatga ctaaataag aatagaatct aggcagatac	4920
tctggaagag tggctgtgag tcattcatat cttagtatga attagtcaaa tccaactctc	4980
tccccctccc actccccact gttagtagaa gaatctgttt attgagagaa tagatttata	5040
atttagaata agtgagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga	5100
ctagcatggc tgagacagtg aagtggaagc cttgaatagc taaagggtaa gatgaaagta	5160
tttagctgta gggggaaaaa gcattgacag gttaggaaaag taaaagtcag attctccttg	5220
ctctgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga	5280
aataattgag aggaatttgg tgcaatatta tcttcttggc ttcttttgag tgggcagatt	5340

tttttcacgg cctgtaacta taataaat	ttt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc	5400
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaagatat tgaacttcca attccctgtt		5460
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactat	ttt cagttagaac	5520
caccaagtcc cataattgtca tattgtatgt ttaattatta agtgaagcag tcttcttttc		5580
gtgtttttcca taattagggc attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatat	ttcat	5640
gacctactgg catttgctga acggtaa	gac accaaatcct tccattaggt tctatatttt	5700
aaatatttta accatgagtt taaaactaaa atg	atcattt aaaatgcatg caattttctt	5760
atagagagaa cattctattc tttcttctac tttacacaat ggcaaagtct tcttctact		5820
ttacgcaatg ataaagttac ctgtgtcatt ttgtaaaaat atagagaata tagacaaatt		5880
gaaagacaca aaataatcta ttaccattt	cccagggtta actactgaaa atatctgggg	5940
aaatggcctg tatgtataca tttatttgtt tgctttcaac aaggccaaga tcctttgatc		6000
tttcagtctt ggttgctctg tgacatgcct ttcc	tgatga ggatacttta aggaagaatt	6060
gtaagataca tggaaaatgt caggctaaca cagtactggc atcac	cctgt gctctttcct	6120
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagtttagg gaagtaaaaa		6180
gagatgactg ttagaatcta ccattccctc tatgtaggaa gcaaataggt gtcctgtcaa		6240
aggacattct ggggatgtct acatgaaacc aagtctccct ggttgtaagg actccatctc		6300
catataatat ttatacagta atatatgtt ataaattgtg ggggcaactt gtttagctaa		6360
ttttattatt ctgctattgg gacactgtgt ct	cagcatga gatatagtgt cccaaaacat	6420
atttcaagcc cattggataa aatatgtgtt tagcaagttc ttaa	atataa tgataacata	6480
accgaccaga taaagtgatt tataaacgct gtgccaattt	tgtaaatgtt tcgaggaatt	6540
ttcccttttc tgaagattgt ccttctttct ttttagcatt tactgtcacg gttccaag	g	6600
acctatatgt ggtagagtat ggtagcaata tgacaattga atgcaaattc ccagtagaaa		6660
aacaattaga cctggctgca ctaattgtct attgggaaat ggaggataag aacattattc		6720
aatttgtgca tggagaggaa gacctgaagg ttcagcatag tagctacaga cagagggccc		6780
ggctgttgaa ggaccagctc tccctgggaa atgctgcact tcagatcaca gatgtgaaat		6840

tg	cagg	atgc	agg	gtgt	ac	cg	tg	catga	tc	ag	ct	at	gg	tg	gt	gcc	gac	taca	ag	cg	aa	6900													
tt	act	gt	g	aa	agt	ca	at	gg	t	aga	at	tatt	at	ag	at	g	g	gc	ct	g	at	ct	ttattg	aaaa	6960										
ca	tatt	cc	aa	gt	gt	t	ga	ga	a	ct	tt	t	catt	c	tt	gt	a	ag	t	cc	ata	ct	tatt	t	caa	ac	ag	aa	7020						
cag	cat	ag	tc	gt	c	att	tc	a	at	t	c	a	a	t	t	c	a	a	t	t	c	a	t	t	t	t	t	t	t	7080					
tct	t	g	a	gc	a	c	a	c	a	t	t	t	g	a	t	a	t	a	a	a	a	c	a	c	a	a	a	c	a	gag	cc	at	gt	7140	
ct	a	g	t	a	g	t	a	t	g	t	c	t	t	t	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7200	
a	a	t	a	c	g	t	a	t	a	t	a	c	t	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7260	
g	t	c	c	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	t	c	7320
tg	t	c	c	c	t	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7380	
t	t	t	c	c	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	7440	
tg	t	a	a	g	g	t	t	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7500	
t	a	a	g	t	g	t	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7560	
ca	t	c	t	t	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7620	
t	t	c	c	t	c	g	g	t	a	t	g	t	t	a	t	t	a	t	t	a	t	t	a	t	t	a	t	t	a	t	t	a	t	t	7680
g	c	a	c	t	a	g	c	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7740	
g	c	t	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	7800	
c	a	g	a	g	g	a	t	c	t	t	t	c	t	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	a	t	7860
c	t	c	c	c	t	g	c	c	a	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	7920	
g	a	a	a	t	c	t	g	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	7980	
a	t	t	t	g	a	c	t	a	g	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	8040	
a	t	c	t	g	a	g	g	g	c	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	8100	
t	a	t	t	a	a	t	c	a	a	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	8160	
g	a	a	a	t	g	t	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	t	c	a	8220
a	t	t	g	t	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	8280	
t	t	c	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	c	a	t	t	8340

catccgcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca tcatgactta	8400
gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaggaa gagtataatc ctggcagtca	8460
ggaagaaggc agcataaagt ataagtttct gcttccaaaa aaggctcttc atcagcctgt	8520
agggagtgtg tagggaaggg acagctgtcc ttgtagtagg gaagggtttt attcaggtcg	8580
tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga tcaacacaat	8640
aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttcttga gcaaagcaaa	8700
tgaccaacca ggtttgagga cctgatttgt ttgacaattc cattttgtat tgtaaattac	8760
ttaattggca ttctactccc aatccatctt gtcatttgca tacagtggtt ttgggattga	8820
gttcagctat accaaaagtc tgaaccttct gcacttagaa caaggcaacc accaagcttc	8880
acttgcactg aggccgtgtc tccaatggaa atgaggcagc tggcttgca gagcttccca	8940
actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa atgatttcac agtaatgctg	9000
ttgaacttca cttcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agcttcccca caggagtta	9060
ctcaccatgg tattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt	9120
tggattcact caattatcac tatcacttcg ggtgttattg cacctttctt gtttgtgagt	9180
ttaaattgcc gactctcagg ccactaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcgtg	9240
aacctaacag cagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt cagaaccttc aatgagatta	9300
ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tglcccgata aagctatttg gatcatatgg	9360
accaaatega ctgctgtcat tccccaccaa ccccatctct ccccaaaatt ccagccctg	9420
tttaagtgtt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat atcatatcat	9480
acttttctgt tttgtttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac aagcacaaag	9540
atttgggcct gttttataat attgttgcac cccagggcc tgatatacag cagagtgggtg	9600
gtacgaaaag agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga tttcttcaa	9660
taggattagc ctaaaatfff ggaaacatga acagatttgg atatgtgaaa atttatttcc	9720
agactgttca tcaggaactg ttagcagctt cttaaaggga cactggagca gcagtagtaa	9780
aaggaggaag aggagcagct ctgctactgc tactatcgag tactactaca attagcactt	9840

gcttattctg tgtgttaggc cctgtactga acactctgtc taaattagtt catttcctcc	9900
tggaaatgac tctagggggt aagtgtctca tcatgtaaga tgagtatttt tcacattttg	9960
ttgtgtctga aatctgagtg tgtctttcaa tgatggaatc tttgattcca tgataagtgg	10020
tattattccc attttaagga tgaggaaact gaggtccaaa gaaattaagt aatttgccca	10080
aattcaccca gcctagaaaa tgataaagct agttctaaac ccaagcagat tagctctgaa	10140
gtctggggccc ttaataacca ctttttattg cctatatattg tacctctggg gtacgtatca	10200
agttatatgt tgacttcaaa actatcatga ccttttcttg gttttgattg tccaacatta	10260
gtatagtgtt ctgggtctgc aaaaattttg attactcatc tcatctgtaa aacattttga	10320
actcgtgtgt ttgtgcatgc acatttgtgt gtaattataa aaattttact ttctgttaat	10380
atataagttg tatcataaga aactgccgtt tttgaagagc aaaaaaagggt tgaatgttac	10440
cagttacatc tggttcaacc taatagacat ttgtacaaaa acagacattt taagaggttg	10500
aaataaaaaat ttaataaaca atattttcag tttttactaa ttgtgatgct tcactatcat	10560
tagctaatat gtcaaggcat aatatacctt aggggtgaact ttatcattaa caaagggtgga	10620
tgggtgtcaat aatcttgagg tttgtgtttt tttatataac actgcgagggt ctaattaagt	10680
acttactgtt taccacctca tacagtggcc gataaaaagt gtcacttctg ctgtttcctc	10740
tgggttgtgc ttgaattatt agtattatct tcagtcctca gtttctttgt gggaaacttt	10800
ttaattagtt gtttaatttt gtaagatggg tagtttagtc aaaattagat aagagaattt	10860
gaaaatccgt agctacccca aagcaaccta cacataagaa ctattatttt tgtgttttga	10920
aatcataatt ttattgattt ccagtgttc cactggtagt ggtttcattg atataggagt	10980
atcaaaacat cactcattat ttatttcagt ttcatttgat cctagccgtt ttgtattaac	11040
tctctgtgaa gaaattacct cacaaatcta ttgctgtcct tggtaaagga atggagaatt	11100
aaggctctag atcattagtg gttacactat agtattagaa gtaaaaaaaaa gattatacca	11160
acaaaataag aacatgttaa tgtacttgta atgaataaac atgaataaag ctcttatgct	11220
atataggtgc actaaacaat ctactagaat tgcagcaaa ctacgtatct taatcctgaa	11280
agggtcccaa accaatgatc taaaattgaa tcaaactttc ttccttgagc ataattactt	11340

aatgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tgtaaataatc ataatgtggt	11400
atcctagata gcatcccaga acagaaaaag gatattaggg aaaaactgga ggaatggaat	11460
aaattatgca gtttagttat taataatgta ctaacgtcct tagttatgac gattgtacca	11520
tggtaatgta agatactaac aatagaggaa accgggtaag gagtatacag taactctata	11580
ctatctttgc aacttttttg taaattttaa acttctaaaa taaagaacaa atttaaacad	11640
taaaaagtat caccaggaac atatatcact gtttacagat gaaatactat gtattttcat	11700
atctaatttc tgatcattga cttcaaatca gaaaagtga tgacacctca aaatcaggtt	11760
ttctgtttac tgaagictaa gaaaagaaag cataccagct ggagagattc atgtttataa	11820
agacagattt ataacaacaa aaataaaata tccaagaata aatttaagaa gaagcacttt	11880
actgagaaac atatgaaaac ctgaacaaat ggagagggat attttgtatt tgaatagaaa	11940
gacttctggt ttaaagataa ttctctttta attatttttt gtagaaattt aagggggtaca	12000
agagcagtgt tgtcacatgg atatatfaca tagtggtgaa gtctgggggt ttagtgtaaa	12060
ttaatcttta cattttgttt gagcccaata aatgtacca catgattttt atagaaagat	12120
agtcattcct attaatccaa acttgtccca actttgaatt gaattgaggc agagctagca	12180
ggtgttcccc acggctgagg catctgaaca ttaagcatat ccctctgaga accagcctgc	12240
attgatactc tttctaattgt ggacagcatc aagctatgta cgtagtcttg tgctcagcaa	12300
aagccctgac ttctttttgt ttatgtccta gcccataca acaaaatcaa ccaaagaatt	12360
ttggttggtg atccagtcac ctctgaacat gaactgacat gtcaggctga gggctacccc	12420
aaggccgaag tcatctggac aagcagtac catcaagtcc tgagtggtaa gaccaccacc	12480
accaattcca agagagagga gaagcttttc aatgtgacca gcacactgag aatcaacaca	12540
acaactaatg agattttcta ctgcactttt aggagattag atcctgagga aaaccataca	12600
gctgaattgg tcatcccagg taatatcttg aatgtgtcca ttaaaatatg tctaacttg	12660
tcccctagca cctagcatga tgtctgccta tcatagtcac tcagtgattg ttgaataaat	12720
gaatgaatga ataacactat gtttacaaaa tatatcctaa ttctcacct ccattcatcc	12780
aaaccatatt gttacttaat aaacattcag cagatattta tggaatatac cttttgttcc	12840

atgcattgta	gtactcattg	gatacacata	gaataataag	actcagttca	cactcttcag	12900
gaaacagata	aaaaactaag	aaacaaacaa	aaaacaggca	atccaacacc	atgtgggaaa	12960
tgcctttcata	gccgggaaac	ctgggggaata	ccfgagagga	atactcaatt	caggccttgt	13020
ttcaggaatc	caaatcctgg	cacatcagag	ctgcttccct	ctttccaggg	tggcaggaaa	13080
taaatggaac	atatttttct	atcttatgcc	aaacatgagg	gaccctttct	ccccggtgcc	13140
tctccaagg	tagtctacaa	tatttcaact	ctagcagtct	gcttagtgca	tagaacatga	13200
ggctgtgtgt	ccctggggcaa	attactagac	tctgtgtgc	ttcactttcc	ctgtaggatt	13260
ataatctact	gagcaagctt	attgtaaggg	tcagattagc	aacagtgtat	gaaaatgatt	13320
tgagaccatt	gcctgcacaa	attcaactat	ttttttttat	ctcactactc	tacagaagta	13380
ggtaggggtg	gagacagagt	ctgatgagag	gctcagaatg	tgaagaaaag	tgaggcgagt	13440
gagcatgata	tttaatataa	acacaaaagat	attctgagaa	gagctgctca	ctgccccctc	13500
ccccaataca	tgttgatagg	aaaatgccac	gtacttcagc	aaaaacaact	gaaaaattag	13560
atagaaaagt	caatcaatag	gaaaagataa	tccaggacgg	tgttgatgaac	agaaagaggg	13620
ggaaaaaact	ttagaaaatg	atggggatgc	tcttactggg	gtacgagtcc	tcaggatttg	13680
aactggcttt	cagtaaaagc	tagattagt	ggttcctgcc	atttacaagc	tgttttatga	13740
caacttactt	gttggtggc	ctacagtaac	tcacctaact	gcactgagtc	tgtttcctca	13800
tctgtaaatt	ggggattttt	ttttaaatat	ctggcatgcc	taactcataa	agttgttctg	13860
aaactgaaat	aaaacatacg	tgaacaggca	ttgtaaactg	taagttacgg	aaaaagctgg	13920
ctgttgttgt	gtctttaaag	tttcacctgg	gtagtcaaag	atggatcatg	ggtctcagtg	13980
gagagctgag	ccaggcagga	gctgactaag	ggtgagaggt	gggagttagc	agcctctgaa	14040
catctgtgta	ccatgggacc	ccctttcctc	ctgcatggta	ccccagacaa	ggagcctagt	14100
aagagatact	aatggcttgt	tgtccagaga	tgttcaaact	gcagagaaaag	ataagacaac	14160
aagcattggc	ctccaatcat	gatgacagat	aggaggaggt	gggagctcct	tagcagtgct	14220
ggttggcctt	ccatgttcta	ctgtgggcca	tctctgcat	gtactgtagg	ctactagctt	14280
ctatattaaa	gaatgcaaga	ggggccagga	gcggaggctc	atgcctgtaa	tctcagcact	14340

ttgggaggcc aaggtgggca gatcacttga ggtcaggagt ttgtgaccag cctggccaac	14400
atggtgaaac tctgccttta ctaaaaatat aaaaattagc tgggtgttgt ggtgtgcacc	14460
tgtaatccca gctactcggg agactgaggc acaagaattg cttgaacctg ggaggcggaa	14520
gttgcagtga gcccagattg cggcactgca ctccacctg ggcaacagag aaagactctg	14580
cctcaaaaaa aaaaaaaaaa agcaagagga agtgaaataa tcaaggccgc catttaatag	14640
tgagcagcca ctccatgttg tactgtgcaa gcacattata aatattagcc tcacaagaaa	14700
tgtattagca ttgtatttt gtacacttgt taagtatctt gccaagacc tcaaaactgg	14760
ttaagggcag cagaatttag cccagcacc accttttcaa agcctgggct tctcacactt	14820
ctccatgctg ttcccatttt aacacaggta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc	14880
atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgaccattc tctgacccc	14940
ttcccatcaa aattttatct ttagtcagtt tgttttcgtt ttgttttgtt tttcagaact	15000
acctctggca catcctccaa atgaaaggac tcacttggtg attctgggag ccactttatt	15060
atgccttggt gtagcactga cattcatctt ccgtttaaga aaaggtagta tttccttaat	15120
tgcagtggtc tccactgggg gtgaggaagg ggtgagaatt ggatcatggc tgcaaggaaa	15180
cccgacttaa cctctgcaag gtggtgcaaa ggcattccac tgttcaacag caattatatt	15240
gaagctgagt gggatcactg ggtgaagatg aagcgttaagg ggtgaggggc aggagaatgg	15300
gtatggatgg aggtagaaga tgcagtgtca tacagttttt ttctatcatg aaaataacca	15360
cagacttaca gaagagaaag agctaaaatg cccgtcattt tcagttgcat tttagtcttg	15420
cattagttgc aaccagctgg tttctgggta ccctaagtaa taaaaatagt tcctctgtag	15480
aactgtagta tgtttaccat agagtatttt gcaaaatttt tggtagagga tgttacataa	15540
tttgcatgtg ttcatttctc catttacctg tgggaacaat taaaatccag gaaaatgagt	15600
atattcaaat aatttcctcc catttaagat gagtacagat aaataattcc tccaatactt	15660
agagaagtat accaagagat ccagtgatgg tatagagttg tctgatgtta aatagggaag	15720
tagaatatgg aaggggattc caatagtcgt tgaaaaattc cccataacc cttacatggg	15780
ggaaagtagt gttaactgag agagtagaga taagctgttt ccaaaaatta tattcttaac	15840

aggactgaga tagccagaat ataaggatca agtttcaatg acagtaagat cctgagatgg	15900
agttgatttg cacaaagaaa taattgttgc cagcatgcat ttggaatatt tctctggaaa	15960
aaaagattag ttggcagtag aaatggatag aaatcaatag atattaaaat acctcagaat	16020
ttggttcatc tctgggaaaa gatgaaaaat aaaagtgtat actcctcaag aacatctagg	16080
atcaaaagca tgtgccctac actattgaat taattaacct cataagttgg gacctgtgga	16140
ataaggatgt ccaccagact tcctagggat tacaaatggt tcacagaact tgaaatttaa	16200
acttgggtca ctgtatggga tgtagagctg tgctatatgg aaataaaaaat gatttctttt	16260
tctcaaggga gaatgatgga tgtgaaaaaa tgtggcatcc aagatacaaa ctcaaagaag	16320
caaagtggta agaatatcag aaggaattgg gaagtaaaag tcaaaggaaa caaaaagcta	16380
aagcaataac aaagagaaat ccatcagtcg taatctcctc tcctttttaa gaatgctggt	16440
tcccctttgc ctcacagcta acacaagaac tcctccaccg tctgaggagg tttaggagca	16500
gggaagggga aggagtcagc ttcatttgcg aatcttctgt tgccctgcac cctagcagct	16560
ccttgcagca ggggacaagg atgacttagg tggatggata attaatgat tctaaaatat	16620
tgtgtgtcag tatttgaata ctatgttaat tgcaccatgc acggtatctc atttaatccc	16680
cccccccttg ccattaccaa agagagagag agagagagag agagaaatac tagaatttat	16740
cctcatttta cagtagagaa aacagagggt caagaagata atgtaaagtg cccaagaaca	16800
cacagctgat cacaaaaatc aagcttgggg gccattagcc taaccacaga cccttactct	16860
taacccatct gcttcaatcc attttgctac aaatgtttac atttataagc agggcagaaa	16920
aacctcatcc aggttattga actaagaaga aagttatatt aaggtttcta atttttttaa	16980
tgtagttaga aaccaaactt aacaatgagc ccaagtttaa agcagtctaa ttaacctgga	17040
caagctcagg caagtttcat tctgtggccc atagcatcat ctgtgttgta aagctaagta	17100
gcaaagtgtg tttgggtcat gctgggggac aagccatccc aatttgctca ggactgaggg	17160
gttttccagg atatcatgta aggataattg ggtacaaata taacctgctg ctttctctca	17220
tttcaaattt atcatttatc atatcagcaa ctatgagtta tgttttttat tagatttctt	17280
gttacttttt cccagacca cttcccatga aattaatata ctattatcac tctccagata	17340

cacatttggg	ggagacgtaa	tccagcattg	gaacttctga	tcttcaagca	gggattctca	17400
acctgtggtt	taggggttca	tcggggctga	gcgtgacaag	aggaagggaat	gggcccgtgg	17460
gatgcaggca	atgtgggact	taaaaggccc	aagcactgaa	aatggaacct	ggcgaagca	17520
gaggaggaga	atgaagaaag	atggagtcaa	acagggagcc	tggagggaga	ccttgatact	17580
ttcaaattgcc	tgaggggctc	atcgacgcct	gtgacaggga	gaaaggatac	ttctgaacaa	17640
ggagcctcca	agcaaatacat	ccattgtctca	tcctaggaag	acgggttgag	aatccctaata	17700
ttgagggtca	gttccctgcag	aagtgccctt	tgccctccact	caatgcctca	atttgitttc	17760
tgcatgactg	agagtctcag	tgttggaacg	ggacagtatt	tatgtatgag	tttttcctat	17820
ttatitttgag	tctgtgaggt	cttcttctga	tgtgagtgtg	gttgtgaatg	atttcttttg	17880
aagatatatt	gtagtagatg	ttacaatttt	gtcgccaaac	taaacttgct	gcttaatgat	17940
ttgtctacat	ctagtaaaac	atggagtatt	tgtlaagggtgc	ttggctctcct	ctataactac	18000
aagtatacat	tggaagcata	aagatcaaac	cgttggttgc	ataggatgtc	acctttattt	18060
aaccatttaa	tactctggtt	gacctaatct	tattctcaga	cctcaagtgt	ctgtgcagta	18120
tctgttccat	ttaaataatca	gctttacaat	tatgtggtag	cctacacaca	taatctcatt	18180
tcctcgtgt	aaccacctg	ttgtgataac	cactattatt	ttacctatcg	tacagctgag	18240
gaagcaaaca	gattaagtaa	cttgcccaaa	ccagtaaata	gcagacctca	gactgccacc	18300
cactgtcctt	ttataataca	atttacagct	atattttact	ttaagcaatt	cttttattca	18360
aaaaccattt	attaagtgcc	cttgcaatat	caatcgtgt	gccaggcatt	gaatctacag	18420
atgtgagcaa	gacaaagtac	ctgtcctcaa	ggagctcata	gtataatgag	gagattaaca	18480
agaaaatgta	ttattacaat	ttagtccagt	gtcatagcat	aaggatgatg	cgaggggaaa	18540
acccgagcag	tgttgccaag	aggaggaaat	aggccaatgt	ggtctgggac	ggttgatat	18600
acttaaacat	cttaataatc	agagtaattt	tcattttaca	agagaggtcg	gtacttaaaa	18660
taacctgaa	aaataacact	ggaattcctt	ttctagcatt	atattttattc	ctgatttgcc	18720
tttgccatat	aatctaatagc	ttgtttatat	agtgtctggt	attgtttaac	agttctgtct	18780
tttctattta	aatgccacta	aattttaaat	tcataccttt	ccatgattca	aaattcaaaa	18840

gatcccatgg gagatggttg gaaaatctcc acttcaccc ccaagccatt caagtctcct	18900
ttccagaagc aactgctact gcctttcatt catatgttct tctaaagata gtctacattt	18960
ggaaatgtat gttaaaagca cgtattttta aaatTTTTT cctaaatagt aacacattgt	19020
atgtctgctg tgtactttgc tatttttatt tatttttagtg tttcttata agcagatgga	19080
atgaatttga agttcccagg gctgaggatc catgccttct ttgtttctaa gttatctttc	19140
ccatagcttt tcattatctt tcatatgac cagtatatgt taaatatgtc ctacatatac	19200
atttagacaa ccaccatttg ttaagtattt gctctaggac agagtttgga tttgtttatg	19260
tttgcTcaaa aggagacca tgggctctcc aggggtgcact gagtcaatct agtcctaaaa	19320
agcaatctta ttattaaactc tgtatgacag aatcatgtct ggaacttttg ttttctgctt	19380
tctgtcaagt ataaacttca ctttgatgct gtacttgcaa aatcacattt tctttctgga	19440
aattccggca gtgtaccttg actgctagct accctgtgcc agaaaagcct cattcgttgt	19500
gcttgaacct ttgaatgcc ccagctgtca tcaactacaca gccctcctaa gaggtctcct	19560
ggaggtttcg agattcagat gccctgggag atcccagagt ttcctttccc tcttggccat	19620
attctggtgt caatgacaag gagtaccttg gctttgccac atgtcaaggc tgaagaaaca	19680
gtgtctccaa cagagctcct tgtgttatct gtttgtacat gtgcatttgt acagtaattg	19740
gtgtgacagt gttctttgtg tgaattacag gcaagaattg tggtgagca aggcacatag	19800
tctactcagt ctattcctaa gtcctaactc ctccctgtgg tgttggaattt gtaaggcact	19860
ttatcccttt tgtctcatgt ttcactgtaa atggcatagg cagagatgat acctaatctt	19920
gcatttgatt gtcacttttt gtacctgcat taatttaata aaatattctt atttattttg	19980
ttacttggtA caccagcatg tccattttct tgtttatttt gtgtttaata aaatgttcag	20040
tttaacatcc cagtggagaa agtt	20064

<210> 2
<211> 20261
<212> DNA
<213> 食蟹猴

<400> 2
gtaaaatcaa ggtgcgttca gatgttggct tgttgtaaat ttctgtttat attaataaca 60

taccaaattgt ggatttgttt taatcttcgg aactctttcc ggtgaaaacc tcatttacia	120
gaaaacttga ctgacagggt tcactttctg tticatttct atacatagct ttattcctag	180
gacaccaaca ccactcgcta cccaaactga aagcttcccc gattccgccg aaggtcagga	240
aagtccaatg ccgggcaaac tggatttgtt gccttgcgca gaggtgggcg ggaccccgcc	300
tccggggccgg gcgccaagtt gagcagctgg cacgcctcgc gaagccccag tcctgaagcc	360
ccagtcctgc gctgcttccc gaggtctcgc accagccgcg ctctctctg cctgcaggta	420
gggagcgttg ttccctccga ggtgcccacg gcccagcacc tctggctaac tcgctgggca	480
ccttaggacg gaggatctct acaccctttc ttgggatgg agagaggagg agggaaaggg	540
aaggcgatgg tctagggggc agtagagcca attacctgtt ggggttaata agaacaggca	600
atgcactctg gcttctcca ggcgcaattc agttttgtc taaaaataat ttatacctct	660
aaaaataaat aagggtgggt gtataggata ggtagtcatt ctatgcgac cgtgtgttca	720
gaatatagct ctgatgctag gctggaagtc tggacacggg tcctagtcca ccgtcagctg	780
cttgctagta atatgacttg tgtaagtcac ccagctgca gcagataagt aagtctcttc	840
ctgcgctaag cacgtccagg acccctgaac ggaatttatt tgctctgtcc attctgaaaa	900
cccaaaggag tcctaaaaga ggaatggagg agcctaagaa taaaaatagt ataataaac	960
atttcttaga catgttgacc ttggcctatg tcaaagttca gtctgggttt gtcttataac	1020
ataaggagta aaagtacat tgttctacct ctttttttaa tacttgaaaa aaaatttact	1080
gtagatgctt ttctattaat taaataacct tctaaaaat gtttttagtg ctgcattcga	1140
ttaggttggg taactaaatg aaattaattc ctactgttg ggtataaagg ttatttacag	1200
tggttctgtc ttagctattc actgaacacc attacataga tatctctgga atattgctga	1260
ttgtttccgt caataaacct agaagtgtaa ctacttagtc aaagagactg aatattttaa	1320
aggcattttg aagaaaactg aaaatgcttt ccagaaagga tgtatcagtt gacaatgatg	1380
gttgtcaaca gtatttaagg agaactatga tactctgaag aaaaacttag cctttctcag	1440
tagaagcagg taggcagagg ccacatgaca gcagttagag tgtggctctc aaggaagtca	1500
cagaaatact gtgggggaatt gaaaccccaa gtggaaaatg tacaagagtg tctcagtgtg	1560

actgagaagg aggttgggct tggggtttaa cttagaatt ttttctttt tctttgtgg	1620
agatagggct tttgttatgt taccaggct ggtcttgaa tcctagcctc aggcgatcct	1680
cccgccctag gctgcagaag tcctgggatt actggccgga gccaccatgc aggcctcttg	1740
ctcctacttt tgagaaagga agcttaacct ttttttttg tttgtttgtt tttgtttttt	1800
gttttttttg agacagttct cactctgttg cccaagctgg agtgcagtgg tgccatctca	1860
gctcacggca acctctgcct cctgggttca agtgattctc ctgcctcagc ctcccagta	1920
gctgggacta caggcaccca ccaccagcc cggctaattt ttgtattttt agtagagatg	1980
gggtttcacc atatiggtca ggctgattc gaactcctga ctcaggtgat ccacctgcct	2040
cagcctccca aagtgtctggg attacaggcg tgagccaccg cgcctggcca cttagctttt	2100
tctctatctc ttcttctac ccacctacc ctgggaagat agagaagtaa tatcagttcc	2160
atcgtgttat actgggcttc cccaggagc aaaccactt cccaacctg aatgagccat	2220
cacttcttcc ccagttaca ttctattgt ctttgaatgt ctccgttcgg atatgggaat	2280
tcacatgtgg tcataattct tactgaaga agactgacgt cttcttctct tagaccaact	2340
gccctgatgt gaggtttaga ggttaaagaa catgtgtgta ttacatgat ctttgtattc	2400
tgccttttcg tccctcacta atgacagctg aaccccaagg aaatagagct gtggaggaga	2460
gggtttgatg agaaagtagg taaatatgg atctaacca tcattctcca ggaaacctcc	2520
attacttcta aaaatttcaa ccaattcgt taaaggacaa gaactccacc agagtagggc	2580
cataaacatt ggcaaaatta gttgtaatct atgactagat ttaatgtccc tttgttttat	2640
tcacatatgg ttataatgct ttgcttgga ttaggggtat tttaagtttt cttctgccta	2700
gtaagtgtat ttgtgcttat aatacaataa ttataaaata tcacattaat attttataac	2760
tgtacagtta actctggccc aaggaaaaga tagtccgga gatgctgcag cctgattttg	2820
tatctaacc tggaagagg ataatgactc atgtatttc acttaccctt tttatctttt	2880
aacatgaagg gctcatatag gtcaataaga aaccagtgat ataacagac caaaaaatga	2940
tcagatcttt cacattagca aaaaaaata ttttttaaac aataccaac tgggtgaaaa	3000
tacagtgtaa cagtacaaa tatcaaatg tgcaagaac cagaaaaatg tttgtttct	3060

ttgatcagca acactatttg aggaaatcta tcttcagggc ctagcctggg gcctggcaca	3120
cagtaggcac tgaacaaata tttgctgaac acacacatac ttatgataatt tttaaaattg	3180
gcaacaatcc aatacccaat aatagaggaa ttaaataatta tagaactggt caataagatg	3240
cttacgaata tcatgcagta agatgggcaa tatttatatc ataagcttaa atgaaacaaa	3300
tgggtattaa aggtatggta aggttataaa ttacttttta agagattaaa gggaaaagac	3360
tgaaagatat atactgaaat gctcacagtg gtgacaaggt tccccagcct tggcactatt	3420
gacatttttg gctatgtctt tgctgtggga ggctggcctg tgctctgcag gaggtttggc	3480
agcactcttg gtttctaccc ctagatagca gttagcaaccc tccctcaacc agcccaattt	3540
tgacaaccaa aaatgtttcc aggcatacacc agattctccc tgggtgagag tgatgaaaca	3600
gtaggtgatt ttcccttctt tttctcattt tctgtaattt tgtcacatta cgtaataat	3660
aaggaaaaaa cataaaaaat agatgaattt attattctac ctcagtttgg atgtttggac	3720
tccctttggg ggttctttcc attataacac ttgggtctgt aaacagtcta tggtttggca	3780
aggtgaaatg attcatgaaa ttttgttttt attttttacc tgatactaaa agtaaaacat	3840
tcattcgctt gaaaatttgg acacagaaca ccaaaaaaaaa tccataatct catctctctt	3900
tttctgtctt ttccctcctt ttttcccttt aaaaacaaga gtgaaaacct accggttctc	3960
cctccaattt aattcctaaa tataatcact gtaacatct tggacatttc ctgtgtctaa	4020
acacacatac tcactttttc ttttttttag caaaaagtggt atttctgcta catgtagtgt	4080
tccgcaactt cctacatgtt tacaaaatca gtacatttac atatgctgaa ttcagtcctt	4140
aatggtatta tattttgtga atataacaaa atttatttaa ccacttagac aatctaagat	4200
attctcagtt tgctgttatg agcaatgctc ttccctttaca tatacatata tatgtgtgtg	4260
tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg ttttagtagg atagatttct aggagagggc	4320
gaaatgtcat atgacatcca catttacaat tgaatagga agtatcaaag tgccccctaa	4380
aaaaaaaaat tcttcccat agtgtgtgag aaagcctatt tgttcatatc ttcacaaaca	4440
ctaaatatta gaaatattta caattgtgtt caagctaaga agtgaaaaat ggtatttcat	4500
atcttataat ttttgtgtg agattgaaca tatttccat gtttacctgt cacctgtatt	4560

tcttattctc tgaactatac gttatgacct ttcacttatt ttcctcatgg gttatgtgta	4620
gtttgtgtag ttgtcttatt gattgttagg agctatttat atattaggaa cattaatctc	4680
ctgtcttata tgtatgtggc attgattagt tgatcatttg tgagtccatg tctgtataca	4740
aagattagag aggcagtaag agggaaaact tacctctttc ttatcaaagt ttgtaaatat	4800
atgtataaca gaagagagag aaaacattaa taaatgctga aataaagtat aaatttttta	4860
ctccactact tcaacataaa ctacaaaagg agagtgactt ttctttcatg ctgacttcca	4920
tattcccat gcctaaaata gtgcctagca cagaagaggt gctcaatcag tgtttgctaa	4980
atgaaagaat tagtaacatt tcaagcagga tgactaaatg aagaatagaa tctaggcaga	5040
tactctggaa gagtgactgt gagtcattca tggctttggt atgaattagt caaatccagc	5100
tttctccct tcccactccc cactgttagt agaataatct gtttattgag agaatagatt	5160
tataatttag aataagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga	5220
ctagcatggc tgagatagtg aagtggaaat cttggaaaagc taaagggtaa gatgaaagta	5280
tttagccgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaatg taaaagtcag attctccttg	5340
ctttgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga	5400
aatagttgag aggaatttgg tgaaatatta tcttcctggc ttcttttgag tgagcagatt	5460
tttttcaggg cctgtaacta taataaatTTT gaaacttctc atcttttagt aacttttttc	5520
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaaggat tgaacttccT attccctgct	5580
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactatTT caattagaac	5640
caccaagtc cataatgtca tattgtgtgt ttaattatta agtaaagcag tcttcttttt	5700
gtgttttcca taattagcac attccagaaa gatgaggata ttgctgtct ttatatccac	5760
gatctactgg catttgctga atggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatttt	5820
aaatatttta accatgagtt taaaactaaa atgataattt aaaatgcatg caattttctt	5880
atagagagaa tattctcttc ttctctctac ttacacaat gacaaagtct ttctctgct	5940
ttacacaatg ataaagtTcc ctgtgtcatt gtgtaaaaat atagagaata tagacaaatt	6000
gaaagacaca aaataatcta ttaccatttt cccagggtta actactgaaa atatctgggg	6060

aaatggcctg tatgtatata tttatttggt tgttttcaac aaggccagga tctttcaatc	6120
tttcaatctt ggttgctctg tgacatgcct ttccctgatga gaatactcta aggaagaatt	6180
gtaggataca tggaaaatgt cagggttaaca cagtactggc accaccctgc ggtcctttct	6240
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagttagg gaagtaaaaa	6300
gagatgttag aatctacat tccctctatg taggaagcaa atagggtgtcc agtcaaagga	6360
cattctgggg atgtctacat gaaaccaagt ctccctgggtg taagtactcc atctccatat	6420
aatatttcta cagtaatata tgtttataaa ttgtgggggc aacttggtta gctaatttta	6480
ttattctgtt attgggacac tatgtctctg catgagacat agtgtccaa aacatatttc	6540
aagcccattg gataaaatat gtatttagca agttcttaaa tataatgata acataactga	6600
ccagataagg tgatttttaa atgctgtgcc aactttataa atgttttgag gaattttccc	6660
ttttctgaag gttattcttc tttcttttta gcatttactg tcacggttcc caaggaccta	6720
tatgtggtag agtatggcag caatatgaca attgaatgca aattccagt agaaaaacaa	6780
ttagacctga cttcactaat tgtctattgg gaaatggagg ataagaacat tattcaattt	6840
gtgcatggag aggaagacct gaaggttcag catagtaact acagacagag ggcccagctg	6900
ttgaaggacc agctctccct gggaaatgct gcacttcgga tcacagatgt gaaattgcag	6960
gatgcagggg tttaccgctg catgatcagc tatggtgggtg ccgactacaa gcggattacc	7020
gtgaaagtca atggtaagaa ttattataga tgagaggcct gatctttata gaaaacatat	7080
tctaagtgtt gaagactttt cattcttata agtcatact tattttcaaa cagaatagca	7140
tagtctcttc attcattcat tcagttcatg aattcattca cgtaagtctc caattagcat	7200
ttcttgagca cctatatgat agtcattgga aatccagaga caacacagag ccatgttcta	7260
cgglatgtac agttttccaa aaataattcc tagtctttac tttttatta taaatgtaat	7320
acatatactt gcaaagaatt cagatactat ggaagagatc aaatgaattg caaaagtgtc	7380
cctcctccct tcaccactat ctcccatgag ataaccaaga gacactccaa gagagtaacc	7440
attatttgtg tgtccctcca gaaccttttt tattcaacta ccattttttt attttattag	7500
gtctgtcagt tttccttttt tgagcctctc tatatcaaat gctaataaat atattcagat	7560

caaacccac tgtaagggtc atattaaaa agacttgaag tctccctatg aagacaaaa	7620
ataatcatat taagtgtaaa agaacttatt ctccagtac agtataaact atactcactg	7680
ggcatatatt catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga agaggaacta	7740
ggagtgtaaa ttccctgggaa ctgaccaca gttatgtcat caggtcactt gagttcgaag	7800
ttttgtgttg gcactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcat	7860
agaattgaga gctgaaagga tcccaggcag gagcgactaa tccaaactcc cacaagaac	7920
aaaaatcccc cagaggatct tctgttcata tatttccctg agtggcatcc ctgtcatatc	7980
ccacaatggc atccctgcc tttggactcc cttccatat cctgttgaaa ttactcccta	8040
atagtaagct gaaatctgcc cctctagtgt tagttttgga attatttcat ttccatgatg	8100
accttttaat atttgactag aattaaatca tctcccttg gtatttccat tcctggacta	8160
actacatca atctgagggc taacaatca agtagaaaa gtctacactt gtcattgatc	8220
actgatcaat gattaatcaa tgatcactga taattataaa ctcaaaaaca aaatcatgta	8280
gggattaaga gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgatt ctggctcaaa	8340
taatgtact attgtcaaga agatacact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt	8400
taccatgtgc ttctccattc acggcatttc ttgagatgtt gtggtttata ctttcagttt	8460
ttctccagtc catcagcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca	8520
tcatgactta gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaagaa gagtataatc	8580
ctggcagtea ggaagaaggc tgcataaagt ataagtttct gcttccaaag aagatctctc	8640
atcagcctgt agggagtgtg tagggagggg acagctgtcc ttgtagtagc aaagggtttt	8700
attcaggtea tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga	8760
tcaacacaat aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttcaggga	8820
gcaaagcaaa tgaccaacca ggtttgagga cctgatttga caattccatt ttgtatttta	8880
aattagttaa ttgtcattct agtcccaatc catcttgta ttgcagaca gtggttttgg	8940
ggttgagtgt agctatacca aaagtctgaa cttctctcac ttagaacaag gaaggcaacc	9000
accaagcttc acttgacttg aggcagtgtc tccaatggaa acgaggtagc tggtctgcag	9060

aagcttttcca actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa ataatttcac	9120
agtactgctg ttgaacttca ctccccatca cagcaaatgt gtggtaacat agctttgcc	9180
caggagttaa ctcccatgg gattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag	9240
aatttagttt tggattcact caattatcat gatcactttg ggtgttattg caccattcat	9300
gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct	9360
ttaatcactg aacctaatag tagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt caggaccttc	9420
aatgagatga ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tatcccagta aagctatttg	9480
gatcgtatgg accagatcaa ctgctgtcat tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt	9540
cccagccctg tttaaagtgtt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat	9600
atcatatcat acttttctat ttgttttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac	9660
aagcacagag atttgggtct gttttttaat attgtttgat cccaggggt tgacgtaaag	9720
cagagtggta gtatgacaaa agcacacaaa aaaatatitg ttgagtcaat gaatgaatga	9780
tttctcaaa taggattagc ctaaaatitg ggaaacatga acagacttgg atatatgaaa	9840
atttatttcc aaaactgttc atcaggaact gttagcacct tctaaaggt acactgaagc	9900
agcagtagta aaaggaggag gaggagaagc agctctgcta ctactattat cgagtactac	9960
tacaactatc gagtactact acaactatcg agtactacta caattagcac ttgcttattc	10020
tgtgtgttag gtccgtact gaacattctg cctaaattag ttcatttccct cctggaaatg	10080
actctgtggg gtaggtgctt catcatgtaa gatgagtatt tttcacactt cactgtctct	10140
gaaatctgag tgtgtctttc aatgatggaa tctttgattt catgataagt ggtattattc	10200
ccattttaag gatgagggaa ctgggggtcca aagaaattaa gtaatttgcc caaattcacc	10260
tagcctcgta aatgataaag ctagtcttaa atccaagcag attggctctg aagtctgggc	10320
ccttaataac cacttattgc ctgtatttgc acctctggtg tatgtatcaa gttatatatt	10380
ggcttcaaaa ctatcatgac cttttcttga ttttgattgt tcaatattag tatagtgttc	10440
tagatctagt agaccagggg tctgcaaaaa attttgatta ctcacctcat ctgtaaaaca	10500
ttttaactt gtgtgtctgt gcaggcacat ttgtgtgtaa ttataaaaaa ttactatct	10560

attaatatat aggttgtagc gtaagaaaaa ttgccatttt tgaagagcaa aaaaggttga	10620
atattaccag tttcatctgg ttcaacctaa tagacatttg tacaaaaaca gacattttaa	10680
gaggatgaaa taaaaattta ataaacaata ttttcaattt ttactaattg tgacgcttca	10740
ctattgttag ctaatatgtc aaggcatgat ataccttagg gtggaattta tcattaacaa	10800
aggtaggatag tgtcaataat cttgaggttt gtgttttttt atataacact gtgaggctca	10860
attaagtact taattgttta caacctcata cagtcgccaa taataagtgt cacttctgct	10920
gtttcctctg ggttgtgctt gaattattag tattatcttc aatcctcagt tttttgtgg	10980
aaaacttttt aattagtgtt ttaattttgt aagatggta gtttagtcaa aattagataa	11040
gagaatctga aaatccataa ttaccccaaa gcaaccact cataagaact attatttttg	11100
tgttttgaaa tcataatttt attgatttcc agtgtttcca ctggtagtgg tttcattgat	11160
gtaggagtat caaaacatca ctaattattt atttcagttt tgtttgatcc tagctgtttt	11220
gtgttaactt tgaagaaatt acatcacaga tctattgttg tccttggtaa aggaatggag	11280
agttaaggct ctagatcatt agtggttatg ctgtagtatt aggagtaaaa aaaaagatta	11340
tatcaacaaa ataagaacat gttaatgtac ttgtaataga taaacatgaa taaagctctt	11400
atgctatata gatgcactga acaatctact agaattgtca gcaaacggta tcttaatcct	11460
aaaagggtcc caaaccaatg atctaaaatt gaatcaaact ttcttccttg agcataatta	11520
tttaagtgat ttattaaaat agccagcatt taaaagctta aatataggt atcataatgt	11580
ggtagcctag atagatccca gaacagagaa aggatattag ggaaaaactg gaggaatgga	11640
ataaattatg cagtttagtt attaataatg tactaatgtc cttagttatg accattgtac	11700
catggtaaag taagatacta acaatagagg aaattgggta aggggtatat gtaactctat	11760
actatctttg caattttttt gtaaatttaa aacttctaaa ataaagaaca aatttgaaca	11820
ttaaaaagtg tcgccaggaa catgtatcac tgtttacaga tgaaacagta tgtattttta	11880
tatctaattt ctgatcattg gcttcaaatc agaaaagtga atgacacatc aagatcaggt	11940
tttctgttta ctaaataaag tctaagaaaa caaagcatac cagctggaga gattcatgtt	12000
tataaagaca gatttataac aacaaaaata aaatatccaa gaataaattt aagaagaaat	12060

agggcactat gtaaaaagta tagcacittha ctgagaaaca tatgaaaacc tgaatacatg	12120
gagagaggta ttttatatth gaatagaaaag attgctgggt taaagataat tctctttaaa	12180
ttttttttgt agaaatthaa gaggtacaag agcagttttg tcacacggat atattacata	12240
gtgggtgaagt ctgggggttt agtgtaaat aatctttaca tttgtttga gccaataaa	12300
tgtaccaaca tgatthttat agcaagatag tcattcctat taacccaaac ttgtcccaac	12360
tttgaactga actgaggcag agctagcagg ttttcccccac tgctgaggca tctgaacatt	12420
aagcgtatcc ctctgagaac cagcctgcat tgatcctctt tctaatgtag acagcatcaa	12480
gctatatatc tagttctgtg ctgagcaaaa gccctgactt ctttttgctt atgtcctagc	12540
tccatacaac aaaatcaacc aaagaattht ggttgctgat ccagtcacct ctgaacatga	12600
actaacatgt caggctgagg gctaccccaa ggccgaagtc atttggacaa gcagtgacca	12660
tcaagtctg agtggtlaaga ccaccaccac caattccaag agagaggaga agctthttaa	12720
tgtgaccagc acactgagaa tcaacacaac agctaattgag atthtctact gcattthtag	12780
gagattagat cctgaggaaa accatacagc tgaattggtc atcccaggta atattctgaa	12840
tgtgtccatt aaaatatgtc taacactgtc ccttagcacc tagtatgatg tctgcctatc	12900
atagtcatth agtgthtgtt gaataaatga attaatgaat aacattatat ttacaaaatg	12960
tatcctaatt cctcacttcc attcatccaa atcatattgt tacttaataa acattcacca	13020
aatatthtatt gaatatgcct tttgttccat gcattgtagt actcatttga cacacataga	13080
ataataagac tcacgttcac actcttcagg aaacagataa aaaacaaatg aacaaacaaa	13140
aaacaggcaa tccaatacca tgtgggaaat gctttcatac catgtgggaa acctggggga	13200
atacctgaga ggaatattca attcaggcca tgthtcagga atccaaatcc tggcacatca	13260
gagccgcctc cttcttacta gggthtctgt ggcaggaaat aaatggaacg tattthtcta	13320
tcttatgcca aacaggaggg accctthtct cctgtgcct ctcccaaggt agtctacaat	13380
atttcaacgc tagcagtctg thtagtgcac aggacatgag gctgtgtatc cctgggcaaa	13440
ttgtacact tctgtgtgct tcactthtct ttaggatta taacctactg agcaaggtha	13500
ttgtgggggt caaattagca acagtgtatg aaatgattt gagaccagtg cctgcacaaa	13560

ttcaactatt tttttttatc tcactactct atagaagtag gtaggatggg agacagagtc	13620
tgatgggagg ctcagaatgt gaaagtaagt gaggtgagtg agcatgatat ttcataataa	13680
cacaaagata ctctgagaag agcttctcac tcccccgcc cccaatagat gttgacagga	13740
aatgccatg tacttcagca aaaacagctg aaaaattaga cataaaaagtc aatcaatagg	13800
aaaagataat ccaggatggg cttgtgaaca gaaagaggga aaaaaaagt ttagaaaatg	13860
atgggggatgc tcttactggg gtatgagtc tcaggtattc aactggcttt cagaaaaagc	13920
tagactagtg ggttcctgcc atttaaaagc tgttttatga caacttactt gttgggtggc	13980
ctacagtaac tcacttaact gtgctgagtc tgtttccca tctgtaaatt ggggatTTTT	14040
taaaataact ggcatgccta actcataaag ttgttctgaa actgaaataa aacatatatg	14100
aacaggcatt gtaaactgta agttacggaa aaagctggct gttgttgtgt ctttaaagct	14160
tcacctgggt agttagagat ggatcatggg tctcagtgga gagctgagcc aggcaggagc	14220
tgactaaggg taagagggtgg gagttagcaa tctctgaaca tctgtgtgcc atgggacccc	14280
ttttcctcct gcatgggtacc ccagacaagg agcctagtaa gagatactaa tgacttgttg	14340
tccagagatg ttcaaactgc agagaaaagat aagacaacaa gcattggcct ccaatcatga	14400
tgacagatag gaggagggtgg gagctcctta gcagtgtgg ttggttttcc atgttctact	14460
gtggggccatc tctgccatgt actgtaggct actaacttct atattaaaaa atgcaagagg	14520
ggccgggagt ggaggctcat gcctgtaatc tcagcacitt gggaggccaa ggtgggcaga	14580
tcacttgagg tcaggagttt gtaaccagcc tggccaacat ggtgaatctc tgcctctact	14640
aaaaatacaa aaattagcca gatgtggtgg cgtgcacccg taatcccagc tactcgggaa	14700
gctgaggcac gagaattgct tgaacctggg aggcggaggt tgcagtgagc caagattgtg	14760
ccactgcctt ccagcctggg caacagagaa agactttgcc taaaaataa ataaataaat	14820
aaataataa ataaataaat aaatggaagt gaaataatca aggccacat ttaatactga	14880
gtagccactc catgtggtac tgtgctaagc acattataaa atattagcct cacaagaaat	14940
gtattagcat ttgtattttg tacactgggt aagtatcttg cccaagacct caaaactggt	15000
taaggggcag cagaatttaa cccagcgcc accttttcaa agtctgggct tcttacatt	15060

ctccatgctg ttcccatfff aacagatgta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc	15120
atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgactattc tectgatgac	15180
cccttcccat caaaatfffa tctttagfca gtttgfffft gttttgffff gtttttcaga	15240
actacctctg gcgccttctc caaatgaaag gactcacttg gtaattctgg gagccatctt	15300
tttactcctt ggtgtagcac tgacattcat ctctatfffa agaaaaggta gtatttcctt	15360
aattgcagtg gtctccactg gggatgagga gggggtgaga attggatcga tcatggctgc	15420
aaggaaacct gacttaacct ctgcagggtg gtgcaaaggc attccactat tcaacagtaa	15480
ttatattgaa gctgcatggg atcactgggt gaagatgagg tglaaagggt gagggacagg	15540
agaatgggta tggatggagg tagaagatgc agtgtcatc aatttttttc tatcatgaaa	15600
ataaccacag acttactgta aagaaggagc taaaatgcct gtcattttca gttgcatttt	15660
agttttgcat tagttgcacc cagctggttt ctgggtactc taagtaataa aaatagtcc	15720
tctgtagaac tgtagtattt tcacataga gtattttgta aaattattgg tagaggatgt	15780
tacataattt gcatgtgttc ctttctccat ttacctgtgg gaacaattaa aatccaggaa	15840
aatgagtata ttcaaataat ttcctcccat ttatgatgat tcagagtaaa taattcctct	15900
gatacttaga gaagtatacc aagagatcca gtgattgtat agagtgtct gatgttaaat	15960
agggaagtag aatatggaag ggaattccaa tagtcgttga aaaattcccc acaaccctt	16020
acatggggga aagtgtgttt aactgagata gtagagataa gctgttacca aaaattatgt	16080
tcttaacagg attgagatag ccagaatata aggatcaagt ttcaatgaca gtaagatcct	16140
gagatgcagt tgatttgcac aaagaaataa ttgttgccag ctgcatfff gaatatttct	16200
ctggaaaaag agattagtig gcagtagaaa tgaatagaaa tcaatagata ttaaaatacc	16260
tcagaatttg attcatctct gggaaaagat gaaaaataaa agtgtatagt cctcaagaaa	16320
atctgggatc aaaagcatgg gccttacct attgaattaa ttaacctcag aagttgggaa	16380
ctgtggaata aggatgtcca ccagacttcc tagggattac aaatgtttca tagaacttga	16440
aatttaaact tgggtcactg tatgggatgt agagctgtgc tatatggaaa taaaaatgat	16500
ttctttttct caagggagaa tgatggatat gaaaaaatgt ggcattcgag ttacaaaactc	16560

aaagaagcaa cgtggtlaaga atatcagaag gaattgggaa gtagaaggca aaggaaacaa	16620
aaagctaaag caataacaaa gagaaatcca ttagtcataa tctcctctcc ttttaaagaa	16680
tgtctggttcc cctttgcctc acaactaata caagaacttc tccaccatct caggaagttt	16740
agggatggcc ttcaagagta gagagtaggg agcagctctg tggagagagg agaggagcag	16800
ggaaggggaa ggagtcagct tctctttgct aatctgttgc cctgcaccct agcagctccc	16860
tgcagcaggg gacaaggttg acttaggttg atggataatt aattgattct aaaatattgt	16920
gtgtcagtat tgtatattgt aatactatgt taactgcgcc atgcacggta tctcatTTaa	16980
tccccaccc cttgccatta ccaaaaagag agagagaaaa atactagaat tatcctcatt	17040
ttacagtaga gaaaacagag ggtcaagaag ataaagtaaa gtgccaaga acacacaact	17100
gatcacaat atcaagcttg ggggtccatta gcctaaccac agacccttac tcttaaccca	17160
tctgtttcaa tccattttgc tacaaatgtt tacatttata tgcagggcag aaaagtctca	17220
tccagtttat tgaactaaga agaaagtat attaaggigt ctaatTTTT ttaatgtagt	17280
tagaaaccaa acttaacaat gagcccaagt ttaaagcagt ctaattaact tgacaagctc	17340
aggcaagttt cattctgttg cctgtagcat catctgtgtt gtaaagctaa gtagcaaatg	17400
ttatttgggt catcctgggg ggaaagtcac cccaatttgc tcaagactga ggggtttttc	17460
aggatatcat gtaaggataa ttgggtacaa atataacctg cttctttctc tcatttcaaa	17520
tttatcattt atcatctcag caactatgag ttatgttttt tattagattt cttgttactt	17580
tttccccaga ccgtcccca tgaaattaat atactattat cactctccag atacacaatt	17640
ggaggagacg taatccagca ttggaacttc tgatcttcaa gcagggattc tcagcctgtg	17700
gtttgggggt tcgtcagggc tgagcatgac cagaggaatg aatgggcccg tgggatgcat	17760
gcagtatggg acttaaaagg cccaagcact gaaaatggaa cctggcgaaa gcagaggagg	17820
agaatgaaga aaaatggagt tgaacaggga gcgtggaggg agaccttgat actttcaaat	17880
gcctgagggg ctcatcggtg catgtgacag ggagaaagga tacttctgaa caaggagcct	17940
ccaagcaaat catccactgc tcactttagg aaaacgggtt gagaatccct aatttgaggg	18000
tcagttcctg cagaagtgcc ctttgcctcc actcaatgcc tcaatttggt tctgcgtga	18060

ctgagggtcc cagtgttga acagtattta tglatgagat tttcctatit attttgagtc	18120
tgtgaggtct tcttgtcatg ggagtggtgt tglgaatgat ttcttttgaa gatataattgt	18180
agtagatgtt acaattttgt cgccaaacta aacttgaatgc ttaatgactt gctcacatct	18240
agtaaaacat ggagtatttg taagggtgctt ggtctcctct ataactacaa gtacacattg	18300
gaagcataaa gatcaaaccg ttgatttgta taggatgtca cctttattta acccataat	18360
actctgattg acttaatctt attctcagac ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt	18420
taaatatcag ctttataatt atgtgggtacc atacacacat aatctccttt catcgtctga	18480
accacctgt tgtgatgacc actattatit taccattgt acagctgagg aagcaaacag	18540
attaagtaac ttgccaaaac cagtaaatag cagagctcag actgccaccc actgtccttt	18600
tataatacaa ttacagcta tattttactt taagcaattc atttattcaa aaccattta	18660
ttaagtgtcc ttgcaatatc aatcactgta ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag	18720
agaaagtacc tgtcctcaag gagcttggag tataataagg agattaataa gaaaatatat	18780
tattacaatc tagtccagtg tcatagcata aggatgatgt gaggagaaaa gctgagcagt	18840
gttgccaaga ggaggaaata ggccaatgtg gtcgtgggaca gttgaatgta tttaaacatc	18900
ttaataatca aagtaatttt catttacaaa gagaagtcag tacttaaaat aacctgaaa	18960
aataacactg gaattccttt tctagcatta tatttatccc tgatttgcct ttgccataca	19020
atctaagtct tgtttatata gtgtctgata ttgtttaaca gttctgtctt ttctattcaa	19080
atgtatttaa attttaaatt cataccttc catgattcaa aattcaaaag atcccatggg	19140
agatggtttg aaaatctcca cttcacctc caagccattc aagtttcctt tccagaagca	19200
actgctactg ccttttattc atatgttctt ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg	19260
ttaaaageat atatttttaa attttttcc cttaaataga acacattata tgtctgctgt	19320
gcactttgct atttttatit attgtagtgt ttcttatgta gcagatggaa tgaatttgaa	19380
gtccccaagg gtcaggacac atgccttctt tgtttctaag ttaettttcc catagctttt	19440
cataatcttt catatgattt agtacatgtt aaatatgtgc tacatataca tttagacaac	19500
cagcatttgt taagtatttg ctctaggact gagtttggat ttatgtttgc tcaaaaggag	19560

acccatgggc tctccagggt gcactgagtc aatctagtc taaaaagcaa tcttattatt	19620
aactctgtat gacagaatca tatctggaac ttttgtttgc tgctttctgt caagtataaa	19680
cttcactttg atgctgtact tgcaaaatca cattttcttt ctggaaattc cagtagtgta	19740
ccttgactgc tagtiacct gtgccagaaa agcctcattc gttgtgcttg aaccttttaa	19800
tgccaccagc tgtcatcact acacaggcct cctaagaggc ttcctggagg ttttgagatt	19860
cagatgccct gagagatccc agagtttcct ttccctcttg gccacattct ggtgtcagtg	19920
acaaggaata ccttcgcttt gccacccgtc aaggttgaag aaacagcgtc tccaacagag	19980
ctccttgtgt tatctgtttg tacatgtgca ttgttacagt aatttgtgtg acagtgttct	20040
ttgtgtgaat tacaggcaag aactgtggct gagcaaggca catagtctac tcagtctatt	20100
cctaactcct ccttttggtg ttggatttgt aaggcacitt atcccttttg tctcatgttt	20160
catcgtaaat ggcataggca gagatgatat ctaattctgc atttgattgt cactttttgt	20220
acctgcatta atttaataaa atatccttat ttattttgtt a	20261

<210> 3
<211> 20340
<212> DNA
<213> 食蟹猴

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

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

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

<220>
<221> misc_feature
<222> (2749)..(2749)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (4764)..(4802)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (8775)..(8778)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (8980)..(8984)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (9161)..(9293)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (9344)..(9348)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (9840)..(9874)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (9958)..(9973)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (10437)..(10452)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (10603)..(10603)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (10830)..(10830)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (10989)..(11006)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (11105)..(11122)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (11457)..(11457)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (13710)..(13710)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (14015)..(14049)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (14518)..(14585)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (14689)..(14699)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (14707)..(14767)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (14837)..(14865)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (15703)..(15741)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (17403)..(17415)

<223> n係a、c、g或t

<220>

<221> misc_feature

<222> (19122)..(19135)

<223> n係a、c、g或t

<400> 3

ctgaaagctt ccccgattcc gccgaaggtc aggaaagtc aatgccgggc aaactggatt	60
tgctgccttg cgcagaggtg ggcgggaccc cgctccggg ccgggcgcca agttgagcag	120
ctggcacgcc tcgcaagcc ccagtcctga agccccagtc ctgcgctgct tcccaggct	180
ccgcaccagc cgcgcttctc tctgcctgca ggtagggagc gttgttcctc cgcaggtgcc	240
cacggcccag catctctggc taactcgtg ggcaccttag gacggaggat ctctacacc	300
ttcttttggg atggagagag gaggaggga agggaaggcg atggtctagg gggcagtaga	360
gccaattacc tgttggggtt aataagaaca ggcaatgcat ctgggcttcc tccagcgcaa	420
ttcagttttg ctctaaaaat aatttatacc tctaaaaata aataaggtag gtagtatagg	480
ataggtagtc attcttatgc gaccgtgtgt tcagaatata gctctgatgc taggctggaa	540
gtctggacac gggctcctagt ccaccgtcag ctgcttgcta gtaatatgac ttgtgtaagt	600
catcccagct gcagcagata agtaagtcct ttcctgcgct aagcacgtcc aggacccctg	660
aacggaattt atttgctctg tccattctga aaacccaaag gagtcctaaa agaggaatgg	720
aggagcctaa gaataaaaat agtataataa aacatttctt agacaggttg accttggcct	780
atgicaaagt tcagtcctggg ttgtctttat aacataagga gtaaaagtac cattgttcta	840
cctctttttt taatacttga aaaaaattt actgtagatg cttttctatt aattaaataa	900
ccttctaaaa aatgttttta gtgctgcatt cgattagggt ggataactaa atgaaattaa	960
ttctcactg ttgggtataa aggttattta cagtggttct gtcttagcta ttcactgaac	1020
atcattacat agatatctct ggaatatgac tgattgtttc cgtaataaa cttagaagtg	1080
taactactta gtcaaagaga ctgaatatat taaaggcatt ttgaagaaaa ctgaaaatgc	1140

tttccagaaa ggatglatca gttgacaatg atggttgica acagtattta aggagaacta	1200
tgatactctg aagaaaaact tagcccttct cagtagaagc aggtaggcag aggccacatg	1260
acagcagtta gagtgtggtc ttcaaggaag tcacagaaat actgtgggga attgaaaccc	1320
caagtggaaa atgtacaaga gtgtctcagt gtgactgaga aggaggttgg gcttgggggt	1380
taacttaaga attttttctt ttcttttggt gagatagggc ttttgttatg ttaccaggc	1440
tggctctgaa ctccctagcct caggcgatcc tcccgcctca ggctgcagaa gtcctgggat	1500
tactggccgg agccaccatg caggcctctt gctcctactt ttgagaaagg aagcttaacc	1560
tttttttttt gtttgttttt gttttttgtt tttttttag acgagtctca ctctgttgcc	1620
caagctggag tgcagtggtg ccctctcagc tcacagcnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1680
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1740
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1800
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1860
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngacttttct tetatctctt ccttctaccc atcctaccct	1920
tggaagatag agaagtaata tcagttccat cgtgttatac tgggcttccc ccagggacaa	1980
accacttcc ccaacctgaa tgagccatca ctctctcccc agtttacatt tcattgctct	2040
ttgaatgtct ccgttcggat atgggaattc acatgtggtc ataattctta cctgaagaag	2100
actgacgtct tcttctctta gaccaactgc cctgatgtga ggtttagagg ttaaagaaca	2160
tgtgtgtatt tacatgatct ttgtattctg ccttttcgtc cctcactaat gacagctgaa	2220
ccccaaggaa atagagctgt ggaggagagg gtttgatgag aaagtaggta aatattggat	2280
ctaatecatc atcttccagg aaacctccat tacttctaaa aattcaacc aaattcgta	2340
aaggacaaga actccaccag agtagggcca taaacattgg caaaattagt tgtaatctat	2400
gactagattt aatgtccctt tgttttattc acatatggtt ataatgcttt gcttgggaatt	2460
aggggtatth taagtttctt tctgcctagt aagtgtatth gtgcttataa tacaataatt	2520
ataaaatata acattaatat ttataactg tacagttaac tctggcccaa ggaaaagata	2580
gtccggtaga tgctgcagcc tgattttgta tctaaccctg gcaagaggat aatgactcat	2640

gttatttcac ttaccttttt tatcttttaa catgaagggc tcatataggt caataagaaa	2700
ccagtgatat aaacagacca aaaaatgac agatctttca cnnnnanana aaaaaaatat	2760
ttttaacaa tacccaactg ggtgaaaata caatgtaaca gtaccaaata tcaacatgtg	2820
tcaagaacca gaaaaatgtt tgttttcttt gatcagcaac actatttgag gaaatctatc	2880
ctcagggcct agcctggggc ctggcacaca gtaggcactg aacaaatatt tgctgaacac	2940
acacatactt atgatatttt taaaattggc aacaatccaa tacccaataa tagaggaatt	3000
aaatattata gaactgttca ataagatgct tacgaatac atgcagtaag atgggcaata	3060
tttatatcat aagcttaaat gaaacaaatg ggtattaaag gtatggtaag gttataaatt	3120
actttttaag agattaaagg gaaaagactg aaagatatat actgaaatgc tcacagtgg	3180
gacaaggttc cccagccttg gcactattga catTTTgggc tatgtctttg ctgtgggagg	3240
ctggcctgtg ctctgcagga ggTTTggcag cactcttggT tctaccct agatagcagt	3300
agcaaccctc cctcaaccag cccaattttg acaacaaaa atgtttccag gcatcaccag	3360
attctccctg ggtgagagt atgaaacagt aggtgatTTT cccctctttt tctcatTTTc	3420
tgtaattttg tcacattacg ttaataataa ggaaaaaaca taaaaaatag atgaatttat	3480
tattctacct cagtttggat gtttggactc cctttggggg ttctttccat tatacactt	3540
ggtctgctaa acagtctatg gtttggcaag gtgaaatgat tcatgaaatt ttgtttttat	3600
ttttacctg atactaaaag taaaacattc attcgttga aaatttggac acagaacacc	3660
aaaaaaaatc cataatctca tctctctttt tctgtctttt ccttccTTTT ttccctttaa	3720
aaacaagagt gaaaacctac cggttctccc tccaatttaa ttctaaata taatcactgt	3780
taacatcttg gacatttctt gtgtctaaac acacatactc actttttctt ttttttagca	3840
aaaagtggat ttctgtaca tgtagtgtc cgcaacttcc tacatgttta caaaatcagt	3900
acatttacat acgtgaatt cagtccttaa tggfattata ttttgtgaat ataacaaaat	3960
ttatttaacc acttagacaa tctaagatat tctcagtttg ctgttatgag caatgtcttt	4020
cctttacata tacatatata tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt	4080
ttagtaggat agatttctag gagaggcgga aatgtcatat gacatccaca tttacaattg	4140

taataggaag tatcaaagtg cccctaaaa aaaaaaatc ctcccattag tgtgtgagaa	4200
agcctatttg ttcatatctt cacaaacact aaatattaga aatatttaca attgtgttca	4260
agctaagaag tgaaaaatgg tatttcatat ctataatit ttgtttgtgag attgaacata	4320
tttccatgtg ttacatgtca cctgtatttc ttattctctg aactatacgt tatgaccttt	4380
cacttatttt cctcatgggt tatgtgtagt ttgtgtagt gtcttattga ttgttaggag	4440
ctatttataat attaggaaca ttaatctcct gtcttatatg tatgtggcat tgattagtgt	4500
atcattttgtg agttcatgtc tgtatacaaa gattagagag gcagtaagag ggaaaactta	4560
cctctttctt atcaaagttt gtaaataat gtataacaga agagagagaa aacattaata	4620
aatgtctgaaa taaagtataa atttttactc cactacttca acataaacta caaaaggaga	4680
gtgacttttc ttcatgtctg acttccatat tccccatgcc taaaatagt cctagcacag	4740
aagagggtgt caatcagtgt ttgnnnnnnn nnnnnnnnn nnnnnnnnn	4800
nnaaatgaag aatagaatct aggcagatac tctggaagag tgactgtgag tcattcatgg	4860
tcttggtatg aattagtcaa atccagcttt ctccccttcc cactccccac tgtttagtaga	4920
ataatctgtt tattgagaga atagatttat aatttagaat aagaggggca gaagaggaga	4980
ttttgaagga tggcacctga aggaggacta gcatggctga gatagtgaag tggaagtctt	5040
ggaaagctaa agggtaagat gaaagtattt agccgtaggg ggaaaaagca ttgacaggtt	5100
ggaaatgtaa aagtcagatt ctcttgcct tgaaattttg tacagggcag gttctactag	5160
gtatgttaca atgcagaaaa aacatgaaat agttgagagg aatttggtga aatattatct	5220
tcctggcttc ttttgagtga gcagattttt ttcagggcct gtaactataa taaatttgaa	5280
acttctcacc ttttagtaac ttttttact taagtttatg tggctgtggg caatggaatg	5340
aaggtattga acttctat cctgtctggg ttccacaat tacaagtcaa tcatgactgg	5400
ttattagaag actatttcaa ttagaaccac caagtcctat aatgtcatai tgttgtttta	5460
attattaagt aaagcagtct tctttttgtg ttttccataa ttagcacatt ccagaaagat	5520
gaggatattt gctgtcttta tattcacgat ctactggcat ttgttgaatg gtaagacacc	5580
aaatccttcc attaggttct atattttaaa tattttaacc atgagtttaa aactaaaatg	5640

ataatttaaa atgcatgcaa ttttcttata gagagaatat tctcttcttt cttctacttt	5700
acacaatgac aaagtccttc tctcgttita cacaatgata aagctccctg tgtcattgtg	5760
taaaaatata gagaatatag acaaattgaa agacacaaaa taatctatta cccatttccc	5820
agggttaact actgaaaata tctggggaaa tggcctgtat gtatataattt atttgtttgt	5880
tttcaacaag gccaggatct ttcaatcttt caatcttggg tgctctgtga catgcctttc	5940
ctgatgagaa tactctaagg aagaattgta ggatacatgg aaaatgtcag ggtaacacag	6000
tactggcacc accctgcggt cctttctgaa ctccatacca atgtacttct tgccagaaaa	6060
ctgatcaaaa gtttagggaa gtaaaaagag atgttagaat ctaccattcc ctctatgtag	6120
gaagcaaata ggtgtccagt caaaggacat tctggggatg tctacatgaa accaagtctc	6180
ctggttgtaa gtactccatc tccatataat atttctacag taatataatgt ttataaattg	6240
tgggggcaac ttgtttagct aattttatta ttctgttatt gggacactat gtctctgcat	6300
gagacatagt gtcccaaac atatttcaag cccattggat aaaatatgta tttagcaagt	6360
tcttaaatat aatgataaca taactgacca gataaggta tttttaaatg ctgtgccaac	6420
tttataaatg ttttagaggaa ttttcccttt tctgaagggt attcttcttt ctttttagca	6480
tttactgtca cggttcccaa ggacctatat gtggtagagt atggcagcaa tatgacaatt	6540
gaatgcaaat tcccagtaga aaaacaatta gacctgactt cactaattgt ctattgggaa	6600
atggaggata agaacattat tcaatttgtg catggagagg aagacctgaa gggtcagcat	6660
agtaactaca gacagagggc ccagctgttg aaggaccagc tctccctggg aaatgctgca	6720
cttcggatca cagatgtgaa attgcaggat gcaggggttt accgctgcat gatcagctat	6780
ggtggtgccg actacaagcg gattaccgtg aaagtcaatg gtaagaatta ttatagatga	6840
gaggcctgat ctttatagaa aacatattct aagtgttgaa gacttttcat tcttataagt	6900
ccatacttat ttccaacag aatagcatag tctcttcatt cattcattca gtteatgaat	6960
tcattcacgt aagtctccaa ttagcatttc ttgagcacct atatgatagt cattggaaat	7020
ccagagacaa cacagagcca tgttctacgg tatgtacagt ttccaaaaa taattcctag	7080
tctttacttt ttattataa atgtaataca tatacttgca aagaattcag atactatgga	7140

agagatcaaa tgaattgcaa aagtgtccct cctcccttca ccactatctc ccatgagata	7200
accaagagac actccaagag agtaaccatt atttgttgtt cctccagaa cctttttat	7260
tcaactacca tttttttatt ttattagggtc tgtcagtttt ccttttttga gcctctctat	7320
atcaaatgct aataaatata ttcagatcaa accccactgt aaggttcata ttaaaaaaga	7380
cttgaagtct ccctatgaag acaaaaaata atcatattaa gtgtaaaaga acttattctt	7440
ccagtlacagt ataaactata ctccactgggc atatatcat cttgaaaatc tatactgatg	7500
ttgtcttggg gaattgaaga ggaactagga gtgtcaattc ctgggaactg acccacagtt	7560
atgtcatcag gtcacttgag ttcgaagttt tgtgttagca ctagctaagt aaaggaaaac	7620
acctctgctt tcatigtgtg gtttcataga attgagagct gaaaggatcc caggcaggag	7680
cgactaatcc aaactccac aaagaacaaa aatccccag aggatcttct gttcatatat	7740
ttcttgcagt ggcatccctg tcatatccca caatggcatc cctgccattt ggactccct	7800
tccatatcct gttagaatta ctccctaata gtaagctgaa atctgccct ctagtgttag	7860
ttttggaatt atttcatttc catgatgacc ttttaatat tgactagaat taaatcatct	7920
cccttggta tttccattcc tggactaact accatcaatc tgagggctaa caatacaagt	7980
agaaaaagtc tacacttgtc attgatcact gatcaatgat taatcaatga tcactgataa	8040
ttataaactc aaaaacaaaa tcatgtaggg attaagagaa atgtatcagt tttatgttgt	8100
atttctggtc cctgattctg gctcaaataa tgctactatt gtcaagaaga tatacttgt	8160
aaagtagatt taattttcat tatattttac catgtgcttc tccattcacg gcatttcttg	8220
agatgttgtg gtttatactt tcagtttttc tccagtccat cagcaaatat caggcatcta	8280
ctgtgttcca agatattaaa gaaatcatca tgacttagcc tcatcaacag cattgctaga	8340
tctgggatgg aaaagaagag tataatcctg gcagtcagga agaaggctgc ataaagtata	8400
agtttctgct tccaaagaag atctctcatc agcctgtagg gagtgtatag ggaggggaca	8460
gctgtccttg tagtagcaaa gggttttatt caggtcactt gggtccata atatcccttg	8520
tgtatctgca gtctcctttg ccatggatca acacaatagg aaatcttccg gcactgatgg	8580
ttttccaag ggggagtctt tcaggagca aagcaaatga ccaaccaggt ttgaggacct	8640

gatttgacaa ttccattttg tattttaaat tagttaattt gcattctagt cccaatccat	8700
cttgtcatTT gcagacagtg gttttggggt tgagttgagc tataccaaaa gtctgaacct	8760
tctgcactta gaacnnnnaa ggcaaccacc aagcttcact tgcactgagg cagtgtctcc	8820
aatggaaacg aggtagctgg cttgcagaag ctttccaact cagggaagta gaactcctga	8880
gtcacctcca tatgcaaata atttcacagt actgctgttg aacttcactt cccatcacag	8940
caaatgtgtg gtaacatagc tttgccacag gagtttactn nnnnccatgg gattttaaag	9000
gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt tggattcact caattatcat	9060
gatcactttg ggtgttattg cacctttcat gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg	9120
cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcactg nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	9180
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	9240
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnctgtcat	9300
tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt ccagccctg tttnnnnngt tttcttttaa	9360
tcactgaacc taatagtagg gaaaacgaaa tgttcattca gactttcagg accttcaatg	9420
agatgaggca gctgaaagat caaagtagtt gcatagttaa ccagtaaag ctatttggat	9480
cgtatggacc agatcaactg ctgtcattcc ccaccaaccc catctttccc caaaattccc	9540
agccctgttt aagtgttctc tgtagcattt atctctatct agtatattgt gtagcatatc	9600
atatcatact tttctatttt gtttattgtc tctctctccc tagaatataa actccacaag	9660
cacagagatt tgggtctgtt ttttaatatt gttgtatccc cagggttga cgtaaagcag	9720
agtggtagta tgacaaaagc acacaaaaaa tatttgttga gtcaatgaat gaatgatttc	9780
ctcaaatagg attagcctaa aatttgaaa catgaacaga cttggatata tgaaaatttn	9840
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnttctaa aggttacact gaagcagcag	9900
tagtaaaagg aggaggagga gaagcagctc tgctactact attatcgagt actactannn	9960
nnnnnnnnnn nnnctacaac tatcgagtac tactacaatt agcacttgct tattctgtgt	10020
gttaggtcct gtactgaaca ttctgcctaa attagttcat ttctctctgg aaatgactct	10080
gtggggtagg tgcttcatca tgtaagatga gtatttttca cacttactg tctctgaaat	10140

ctgagtgtgt ctttcaatga tggaaatcttt gatttcatga taagtgggtat tattcccatt	10200
ttaaggatga ggaaactggg gtccaaagaa attaagtaat ttgcccaaat tcacctagcc	10260
tctlaaatga taaagctagt tctaaatcca agcagattgg ctctgaagtc tgggccctta	10320
ataaccactt attgcctgta tttgcacctc tgggtgtatgt atcaagttaa atattggctt	10380
caaaactatc atgacctttt cttgattttg attgttcaat attagtatag tgttctnnnn	10440
nnnnnnnnnn nngggtctgc aaaaaatfff gattactcac ctcatctgta aaacatttta	10500
aacttgtgtg tctgtgcagg cacatttgtg tglattata aaaaatttac tatctattaa	10560
tatatagggt gtaccgtaag aaaaattgcc atttttgaag agncaaaaaa ggttgaatat	10620
taccagtffc atctggttca acctaafaga catttgtaca aaaacagaca ttttaagagg	10680
atgaaataaa aatttaataa acaatatfff caatfffac taattgtgac gcttcactat	10740
tgtagctaa tatgtcaagg catgatatac ctaggggtgg aatttatcat taacaaagg	10800
ggatagtgtc aataatcttg aggtttgtgn tttttatat aacctgtga ggtctaat	10860
agtacttaat tgtttacaac ctcatagct cgccaataat aagtgtcact tctgtgttt	10920
cctctgggtt gtgcttgaat tattagtatt atcttcaatc ctcatgttct ttgtggaaaa	10980
ctttttaann nnnnnnnnnn nnnnnnaaga tggtagttt agtcaaaatt agataagaga	11040
atctgaaaat ccataattac cccaaagcaa cccactcata agaactatta tttttgtgtt	11100
ttggnnnnnn nnnnnnnnnn nntttccagt gtttccactg gtagtgggtt cattgatgta	11160
ggagtatcaa aacatcacta attatttatt tcagttttgt ttgacctag ctgttttgtg	11220
ttaactttga agaaattaca tcacagatct attgtttgcc ttggtaaagg aatggagagt	11280
taaggctcta gatcattagt ggttatgctg tagtattagg agtaaaaaaa agattatct	11340
aacaaaataa gaacatgta atgtacttgt aatagataaa catgaataaa gctcttatgc	11400
tatatagatg cactgaacaa tctactagaa ttgtcagcaa acggtatctt aatcctnaaa	11460
agggtcccaa accaatgac taaaattgaa tcaaaacttc ttccttgagc ataattattt	11520
aagtgttta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tataagtatc ataagtgg	11580
atcctagata gatccagaa cagagaaagg atattagga aaaactggag gaatggaata	11640

aattatgcag tttagtatt aataatgtac taatgtcctt agttatgacc attgtacat	11700
ggtaaagtaa gatactaaca atagaggaaa ttgggtaagg ggtatatgta actctatact	11760
atctttgcaa tttttttgta aattttaaac ttctaaaata aagaacaaat ttgaacatta	11820
aaaagtgtcg ccaggaacat gtatcactgt ttacagatga aacagtatgt atttttatat	11880
ctaatttctg atcattggct tcaaatcaga aaagtgaatg acacatcaag atcaggtttt	11940
ctgtttacta aataaagtct aagaaaacaa agcataccag ctggagagat tcatgtttat	12000
aaagacagat ttataacaac aaaataaaat atccaagaat aaatttaaga agaaataggg	12060
cactatgtaa aaagtatagc actttactga gaaacatatg aaaacctgaa tacatggaga	12120
gaggatTTTT atatttgaat agaaagattg ctggttttaa gataattctc tttaaatttt	12180
ttttgttaga aatttaagag gtacaagagc agttttgtca cacggatata ttacatagtg	12240
gtgaagtctg ggggttttagt gtaaattaat ctttacattt tgtttgagcc caataaatgt	12300
accaacatga tttttatagc aagatagtca ttctatttaa cccaaacttg tcccaacttt	12360
gaactgaact gaggcagagc tagcagggtg tccccactgc tgaggcatct gaacattaag	12420
cgtatccctc tgagaaccag cctgcattga tctcttttct aatgtagaca gcatcaagct	12480
atatatctag ttctgtgctc agcaaaagcc ctgacttctt ttgtcttatg tcctagctcc	12540
atacaacaaa atcaacaaa gaattttggt tgtcgatcca gtcacctctg aacatgaact	12600
aacatgtcag gctgagggct accccaaggc cgaagtcatt tggacaagca gtgaccatca	12660
agtcctgagt ggtaagacca ccaccaccaa ttccaagaga gaggagaagc ttttaaattg	12720
gaccagcaca ctgagaatca acacaacagc taatgagatt ttctactgca tttttaggag	12780
attagatcct gagggaaaacc atacagtga attggtcac ccaggtata ttctgaatgt	12840
gtccattaaa atatgtctaa cactgtcccc tagcacctag tatgatgtct gcctatcata	12900
gtcattcagt gtttgttgaa taaatgaatt aatgaataac attatattta caaaatgtat	12960
cctaattcct cacttccatt catccaaatc atattgttac ttaataaaca ttcaccaa	13020
atttattgaa tatgcctttt gtcccatgca ttgtagtact catttgacac acatagaata	13080
ataagactca cgttcacact cttcaggaaa cagataaaaa acaaatgaac aaacaaaaa	13140

caggcaatcc aataccatgt gggaaatgct ttcataccat gtgggaaacc tgggggaata	13200
cctgagagga atattcaatt caggccatgt ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag	13260
ccgcctcctt ctactaggg tttctgtggc aggaaataaa tggaacgtat tttctatct	13320
tatgccaaac aggagggacc ctttctcccc tgtgcctctc ccaaggtagt ctacaatatt	13380
tcaacgctag cagtctgttt agtgcacagg acatgaggct gtgtatccct gggcaaattg	13440
ctacacttct gtgtgttca ctttctctgt aggattataa cctactgagc aaggttattg	13500
tgggggtcaa attagcaaca gtgtatgaaa atgatttgag accagtgcct gcacaaattc	13560
aactattttt ttttatctca ctactctata gaagtaggta ggatgggaga cagagtctga	13620
tgggaggctc agaatgtgaa agtaagtgag gtgagtgagc atgatatttc atataaacac	13680
aaagatactc tgagaagagc ttctcacttn ccccgccccc aatagatgtt gacaggaaaa	13740
tgccacgtac ttcagcaaaa acagctgaaa aattagacat aaaagtcaat caataggaaa	13800
agataatcca ggatggctct gtgaacagaa agaggaaaaa aaaagtttag aaaatgatgg	13860
ggatgtctct actggggtat gagtccctcag gtattcaact ggctttcaga aaaagctaga	13920
ctagtgggtt cctgccattt aaaagctgtt ttatgacaac ttacttgttg ggtggcctac	13980
agtaactcac ttaactgtgc tgagtctgtt tctnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnn	14040
nnnnnnnnna tgcctaactc ataaagtgtg tctgaaactg aaataaaaca tatatgaaca	14100
ggcattgtaa actgtaagtt acggaaaaag ctggctgttg ttgtgtcttt aaagcttcac	14160
ctgggtagtt agagatggat catgggtctc agtggagagc tgagccaggc aggagctgac	14220
taagggtaag aggtgggaat tagcaatctc tgaacatctg tgtgccatgg gaccctttt	14280
cctcttgcac ggtaccccag acaaggagcc tagtaagaga tactaatgac ttgttgtcca	14340
gagatgttca aactgcagag aaagataaga caacaagcat tggcctccaa tcatgatgac	14400
agatagagga ggtgggagct ccttagcagt gctggtttgt ttccatgtt ctactgtggg	14460
ccatctctgc catgtactgt aggcactaa ctctatatatt aaaaaatgca agaggggnnn	14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnn	14580
nnnnntcagg agtttgaac cagcctggcc aacatggtga atctctgcct ctactaaaaa	14640

tacaaaaatt agccagatgt ggtggcgtgc acccgtaatc ccagctacnn nnnnnnnna	14700
ggcacgnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnn	14760
nnnnnnnagc atgggcaaca gagaaagact ttgcctcaaa aataaataaa aaataaataa	14820
ataaataaat aaataannnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnncattt aatactgagt	14880
agccactcca tgttggtactg tgctaagcac attataaaat attagcctca caagaaatgt	14940
attagcattt gtattttgta cactgggttaa gtatcttgcc caagacctca aaactggtta	15000
aggggcagca gaatttaacc ccagcgccac cttttcaaag tctgggcttc ttacattct	15060
ccatgctgtt cccattttaa cagatgtatc tcgccattcc agccactcaa actttggcat	15120
ttaagaaaat tatcctaaag ctaaactaaa ctcaaggat gactattctc ctcatgaccc	15180
cttcccatca aaattttatc tttagtcagt ttgtttttgt ttgtttttgt ttttcagaac	15240
tacctctggc gcttccctcca aatgaaagga ctactttgtt aattctggga gccatctttt	15300
tactccttgg tgtagcactg acattcatct tctatttaag aaaaggtagt atttccttaa	15360
ttgcagtggg ctccactggg gatgaggagg gggtgagaat tggatcgatc atggctgcaa	15420
ggaaacctga cttaacctct gcagggttgtt gcaaaggcat tccactattc aacagtaatt	15480
atattgaagc tgcatgggat cactgggtga agatggggtg taaggggtga gggacaggag	15540
aatgggtatg gatggaggta gaagatgcag tgcatacaa tttttttcta tcatgaaaat	15600
aaccacagac ttactgtaaa gaaggagcta aaatgcctgt cattttcagt tgcattttag	15660
ttttgcatta gttgcacca gctggtttct gggfactcta acnnnnnnnn nnnnnnnnn	15720
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nccatagagt attttgtaaa attattggca gaggatgtac	15780
ataatttgca tgtgttcctt tctccattta cctgtgggaa caattaaaat ccaggaaaat	15840
gaglatattc aaataatttc ctcccattha tgatgattca gagtaaataa ttctctgat	15900
acttagagaa gtataccaag agatccagtg attgtataga gttgtctgat gttaaatagg	15960
gaagtagaat atggaaggga ttccaatagt cgttgaaaaa ttccccacaa ccccttacat	16020
gggggaaagt ggtgttaact gagatagtag agataagctg ttaccaaaaa ttatgttctt	16080
aacaggattg agatagccag aatataagga tcaagtttca atgacagtaa gatcctgaga	16140

tgcagttgat ttgcacaaag aaataattgt tgccagcttg catTTtgaat atttctctgg	16200
aaaaagagat tagttggcag tagaaatgaa tagaaatcaa tagatattaa aatacctcag	16260
aatttgattc atctctggga aaagatgaaa aataaaagtg tatagtcctc aagaaaatct	16320
gggatcaaaa gcatgggcct taccctattg aattaattaa cctcagaagt tgggaactgt	16380
ggaataagga tgtccaccag acttcctagg gattacaaat gtttcataga acttgaaatt	16440
taaacttggg tcactgtatg ggatgtagag ctgtgctata tggaaataaa aatgatttct	16500
ttttctcaag ggagaatgat ggatatgaaa aaatgtggca ttcgagttac aaactcaaag	16560
aagcaacgtg gtaagaatat cagaaggaat tgggaagtag aaggcaaagg aaacaaaaag	16620
ctaaagcaat aacaaagaga aatccattag tcataatctc ctctcctttt aaagaatgct	16680
ggttccctt tgccicacaa ctaatacaag aacttctcca ccatctcagg aagtttaggg	16740
atggccttca agagtagaga gtagggagca gctctgtgga gagaggagag gagcagggaa	16800
ggggaaggag tcagcttctc ttgtctaate tgttgccctg caccctagca gctccctgca	16860
gcaggggaca aggttgactt aggttgatgg ataattaatt gattctaaaa tattgtgtgt	16920
cagtattgta tattgtaata ctatgttaac tgcgcatgc acggtatctc atttaatccc	16980
ccaccccttg ccattaccaa aaagagagag agaaaaatac tagaattatc ctcatTTtac	17040
agtagagaaa acagagggtc aagaagataa agtaaagtc ccaagaacac acaactgatc	17100
acaaatatca agcttgggggt ccattagcct aaccacagac ccttactctt aacctatctg	17160
cttcaatcca ttttctaca aatgtttaca ttatatgcag ggcagaaaag tctcatccag	17220
tttattgaac taagaagaaa gttatattaa ggtgtctaatt tttttttaat gtagttagaa	17280
acaaaactta acaatgagcc caagtttaaa gcagtctaatt taacttgaca agctcaggca	17340
agtttcattc tgtggcctgt agcatcatct gtgttgtaaa gctaagtagc aaatgttatt	17400
tgnnnnnnnn nnnnnggtca tccTgggggg aaagtcatcc caatttgctc aagactgagg	17460
ggtttttcag gatacatgt aaggataatt gggTacaaat ataacctgct tctttctctc	17520
atttcaaatt tatcatttat catctcagca actatgagtt atgtttttta ttagatttct	17580
tgttactttt tcccagacc gctcccatg aaattaatat actattatca ctctccagat	17640

acacaattgg aggagacgta atccagcatt ggaacttctg atcttcaagc agggattctc	17700
agcctgtggg ttgggggttc gtcagggtg agcatgacca gaggaatgaa tgggcccgtg	17760
ggatgcatgc agtatgggac ttaaaaggcc caagcaciga aaatggaacc tggcgaaagc	17820
agaggaggag aatgaagaaa aatggagttg aacagggagc gtggagggag accttgatac	17880
tttcaaatgc ctgaggggct catcggtgca tglgacaggg agaaaggata cttctgaaca	17940
aggagcctcc aagcaaatca tccactgctc atcttaggaa aacgggttga gaatccctaa	18000
tttgagggtc agttcctgca gaagtgccct ttgcctccac tcaatgcctc aatttgtttt	18060
ctgcgtgact gaggggccca gtgttggaac agtatttatg tatgagattt tcctatttat	18120
tttgagtctg tgaggctctc ttgtcatggg agtgtggtg tgaatgattt cttttgaaga	18180
tatattgtag tagatgttac aattttgtcg ccaaactaaa ctigatgctt aatgacttgc	18240
tcacatctag taaaacatgg agtatttgta aggtgcttgg tctcctctat aactacaagt	18300
acacattgga agcataaaga tcaaaccgtt gatttgtata ggatgtcacc tttatttaac	18360
ccattaatac tctgattgac ttaatcttat tctcagacct caagtgtctg tgcagtatct	18420
gttcatttta aatacagct ttataattat gtggtacat acacacataa tctcctttca	18480
tcgtgtaac caccctgttg tgatgaccac tattatttta cccattgtac agctgaggaa	18540
gcaaacagat taagtaactt gccaaaacca gtaaatagca gagctcagac tgccaccac	18600
tgtcctttta taatacaatt tacagctata tttacttta agcaattcat ttattcaaaa	18660
cccatttatt aagtgccctt gcaatatcaa tcaactgtacc aggcattgaa tctacagatg	18720
tgagcaagag aaagtacctg tcctcaagga gcttggagta taataaggag attaataaga	18780
aaatatatta ttacaatcta gtccagtgtc atagcataag gatgatgtga ggagaaaagc	18840
tgagcagtgt tgccaagagg aggaaatagg ccaatgtggt ctgggacagt tgaatgtatt	18900
taaacatctt aataatcaaa gtaattttca ttacaaaaga gaagtcagta cttaaaataa	18960
ccctgaaaaa taacactgga attccttttc tagcattata ttatccctg atttgccctt	19020
gccatacaat ctaatgcttg ttatatagt gtctgatatt gttaacagt tctgtctttt	19080
ctattcaatg ctattaattt taaattcata cctttccatg annnnnnnnn nnnnngatec	19140

catgggagat ggtttgaaaa tctccacttc atccctccaag ccattcaagt ttcctttcca	19200
gaagcaactg ctactgccctt ttattcatat gtctctctaa agatagtcta catttggaag	19260
tgtatgttaa aagcatatat ttttaaattt ttttccctaa atagtaacac attatatgtc	19320
tgctgtgcac tttgctatct ttatttattg tagtgtttct tatgtagcag atggaatgaa	19380
tttgaagctc ccaaagggtc ggacacatgc ctcttttgtt tctaagttat ctttcccata	19440
gcctttcata atctttcata tgatttagta catgttaaat atgtgctaca tatacattta	19500
gacaaccagc atttgttaag tatttgctct aggactgagt ttggatttat gtttgctcaa	19560
aaggagaccg atgggctctc cagggtgcac tgagtcaatc tagtcctaaa aagcaatctt	19620
attattaact ctgtatgaca gaatcatatc tggaactttt gttttctgct ttctgtcaag	19680
tataaacttc actttgatgc tgtacttgca aaatcacatt ttctttctgg aaattccagt	19740
agtgtacctt gactgctagt taccctgtgc cagaaaagcc tcattcgttg tgcttgaacc	19800
ctttaatgcc accagctgtc atcactacac aggcctccta agaggcttcc tggaggtttt	19860
gagattcaga tgccctgaga gatcccagag tttcctttcc ctcttgcca cattctggtg	19920
tcagtgacaa ggaatacctt cgctttgcca cccgtcaagg ttgaagaaac agcgtctcca	19980
acagagctcc ttgtgttata tgtttgtaca tgtgcatttg tacagtaatt tgtgtgacag	20040
tgttctttgt gtgaattaca ggcaagaact gtggctgagc aaggcacata gtctactcag	20100
tctattccta actcctcctt ttgggtgttg atttgtaagg cactttatcc cttttgtctc	20160
atgtttcatc gtaaatggca taggcagaga tgatatctaa ttctgcattt gattgtcact	20220
ttttgtacct gcattaattt aataaaatat ccttatttat ttgtttactt ggtacaccag	20280
catgtccatt ttcttgttta ttttgtgtt cataaaatgc ttagtttaac atcccgggtg	20340

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

<400> 4	
gcctcatgcc aggctgcact tgcacgtcgc gggccagtct cctcgcctgc aggtaaggga	60

gcacattctc gcggaatccg ctgacagggc actttaaga gccagaatcc ctagaccttt	120
ttaggacgga gaagggaacc ggtttcctgg gaaagttaag aactcagaat ccgcagtttt	180
gtgtgtttat ggatcttgtg ggtaggtagc tgggtcagaa gagatgaatt aattggctct	240
agcgcgactt gactgtttgc tagcaatgac tgggtctttc cacttgaagc atctccggag	300
gtcccttctt ctgtcgaggt ctaggatgct ggagcttaag atttcatlc tatctgcca	360
gagaacctaa aggatttttg gaagaaaatg tcccaaacag ttcttagata cagtgccta	420
ggctatgtta aagtttaggt tggggttgtc ataagaggtg aaagtacaat attctatctt	480
tttttaaaaa taaattatta caggtgcttt cctatgaatt acttagccag tttttttta	540
attgctatat tccattgtgc tgggttatta aagggcacat ctctccact gaggaatgca	600
caggttagta atagtgcctt actagctcag tcatccactg accatctgtg tatgtgactg	660
tctggaatat ggctagggtat ttcatttaga taaactctta tatgtataag tacttcatta	720
tgtttgagtg tctgaaaggc ctttgtgtag aaaaaaaaaa aacaacaacc tgagaataca	780
ttccagaaag tatccgcagc tgatgatgat agtgaccaag cggtgtttaa ggagaacttt	840
atacagggaa aatattcacc tttcccagct gagcatcata gataggaaga catgatagtg	900
gttatatgct gctctaagga gggatggaga agggatggat ttgagcacag ggttcaggat	960
catttgatag aatttgaaaa ctgggtaaat tttcactctt ttgagaaagg aagtttgcatt	1020
ctgcttcccc tccccgcccc aggcactctt cccccccca tcccccccg tgccccccc	1080
ccccatggga agataaagaa gtggcgttcc aagatcttca tctggacttc ccctgggaca	1140
aacctatttc cccatcttga atgagcgtca ctcttttact ttaaactctg ttctgtgaaa	1200
ggctctcagc tcttgctctg gaatttgtga aaggttacag tttcttgccg gagggaggga	1260
gaagggtgacc ctggactctt agcccatgta agagggtgcag gtttagaggt caaaggccat	1320
gctgatttac atggtccctg aatttccctt ttgatctac tgctcacacc tgcacctga	1380
gagccaggga ggggaggata tgatactgaa gaagggtgact atcagacca acccatcacc	1440
tttcagactt tatactaagc tttaaagcag atccataagc aatagataac tgttccaact	1500
gagcttgcca tcaacgtagg aaaaattagg tacagtcttc agtggatatc atgtacctca	1560

ttgtgactgt ctagtactcg gcttggccat ttctcccagg gcctcattgc aacagtcact	1620
gtgtcctcac aggcctggat gtcacctgc ctcatctgct tgggcagatg aactggagag	1680
atatgattaa taatgagtc tttgattttg ctctttttgt aaatgtcctt ggtttggttt	1740
ggtttgttta tttttgttt tgttgttgtt gtttgttttt atttcatgc tcttgttgtt	1800
gtttgagaca gagtctcact atgtagccca ggctagcctc ttcccccagt ctctcagatg	1860
ctgttgcac tgcctttttc taacatcaat gattcataat aatcagcaag aaggctatga	1920
ccttaacagt caaaataagt aatcaggtaa ttattgagag ctaaataatt atttaacaa	1980
atcaagttag atttttcaag aattgaatgg ggggatctaa aaagtaatgt ttgtgctgca	2040
caaagatgta gtggtatcag ttgccatagt ctttctccct agatccgcag atctccttag	2100
ggaaatctat aattcaagcc taaacttga cctgggtacac aactgggtact cgcccaaaca	2160
ttggccaagc acacacatat ttgtgactct gaaaaaaggg acaacacata acagcaaagg	2220
cgctccgtgt taggggcctg ttaaatacaa gacttgggga aattatgcca taatcttaca	2280
ttttaaaat ggctattaca tgtgtgagac aacgggggct ggagagatac ctgagaggta	2340
ctaggcacac atatggcaag cagatgtaca agcaggcaaa acattcttaa aaaacaaaaa	2400
caaaacccca aaacagattt ctttctatat tatttatatg gggttctgcc tgcgtgtaca	2460
cctgaagggc agaggagagc accaggcttc ataggtggtt ggttgtaagc taccatatgg	2520
ttgctaggaa ttaaaactcag gactttggta agagcagcca gtgctcttaa cctctgagcc	2580
atccctccag tcccagacaa aacactctta cacataaaat aaatcaatct ttaaaagtgt	2640
agaggaaaat ggctgaacag aaactattga cagacatgct gagagtggtc accgtttctc	2700
cagcttgga ctggtgggtgc tgtaggccat ctgagtgtct gtcaccttgg ggcggggcgg	2760
ggggcgggag ggggggaagg cggcagggca gggctttggc agcatctcgg gcctctattt	2820
catcacatca gtaacagctc tccttcgtcc caagcaagct ttggcaacca aataaatatg	2880
ttagccaata ttaccaaagc gtccttagag gagaatgtgt gtaatgtgcc tacattcgtt	2940
tttataacaa caccaacaat atccaacat aaaaataaac tgaaatggtc actctacctc	3000
agtgacaacg tctgagctcc gtttcagggt cctcacaag aaattcgata ggtgtaatga	3060

tttatTTTTc ctaataagta aaatgattat tcactcattt gaaaattgga cacacacaca	3120
aaaaaatgaa gaaaaaatTT gctatttcat ctctcctttt ctatctcttt cccTTtaaaa	3180
aaagtataaa tgtgggctaa agagatggct cagcagttaa gagcactggc tgctcttccg	3240
gaggTactga gttcaaaCTg caccaaccac atggTggctc acaaccatct gtaatgggat	3300
ctgatgccct cttctggTgt gtctagagac agtgacagtg tactcacata cataaaataa	3360
gtaaaaaaaa aaaaaaCaAa actTTTTttt aagtataaat gtgtaagaac ttacctgtct	3420
tccTataaaa agccacaatt accTTTgcag ataatcactg tcaggcagtg tcttCaagag	3480
aagTggggTt gttctacgac acaagaatat tttTgtttat atactaccct ctaagctcct	3540
tcctacttct ctgCaaaCTc atccccTgtg catatactga aatctatccg tcacggTatt	3600
ttgagtatac acagttatcc gtcacggTat ttTgagtata cacagTTTTa ttagctAata	3660
catggggTat ttCaagtctg ggactgtTgt TggctgtgTc atctctgtta catatgactt	3720
atatTTtcta agatgaattt ccaagacagg aatagagaga tcatacgaca tgcacagtta	3780
aagTTTTaag agattacaaa attgaccttT aagaagctat acaatttcac atccTTtcca	3840
ggaaaggTca agaaatccct gtatcttcac taatgctacc tatgaggagt ctgtaatttt	3900
ggtagagcag aaggTccaaa Tggtatcaca gatccTccat ggactTTctt atcgagagcg	3960
ttctttccgc ttttattgat tatccTtCga gctatgtgag actctcatcc gtcttccTct	4020
Tgaccgatgt atagTTTTct cactgagTtc agaggctagg atgcagaagc cgtccTcgtc	4080
agctTTtatac accTTtcaga ttgactgtga atgagcacac aggtcagaga gacggtaagg	4140
gaagacctac tctcccatga acgtTgtaaa catgcgaata acacagaagc agaaaatgta	4200
aactattaga ctggctggaa tgtagcgctc accTTtgagc ccactccttt agacaccggT	4260
ttcatggaag aatggctcct gtttccCacc TgctgcttCa gcagTgcccc aaatagtgcc	4320
agattcagag gagatactca gtgtttTccg agTgaattag gaaagtgttc agcggagggg	4380
acactagcat tcagacatcc agaccttaga gtaaccgggc cagatggaag tctccttctt	4440
tcccatagct gttaccactg tactgtcttt actggggaaa agattttatca tgtggaatag	4500
gtgcgaggca gaggtgagat tttaatgggg aggaagcatt gaaaagtga agtgaaaatt	4560

ggatgctctt	tgctttgaag	ctttgcctaa	agcaggtttt	agctttcaaa	tacgtttcaa	4620
tgttgaaaga	acgcatgata	catatggagg	ggggcctggg	gggggtcctt	ggctgagttt	4680
gaatgtacat	taacaatctg	gggggcta	aactcaatgt	aaagctgctg	atcccatcat	4740
actgacttct	ttccacttgg	ttctacatgg	ctttgagtta	caaaatgaaa	gcattgaatt	4800
ttgaactgtt	cagctgtgtt	tccacacttg	caaatcgggt	gttggccagc	cctcagaatt	4860
gcttcagtta	cagctggctc	gtctgtctct	tccagactgg	cttttagggc	ttatgtatat	4920
atgagaagga	cacatttact	agtgtctcct	tgctctgcta	ttgaaattaa	gcagacctct	4980
ctgtgtttcc	cgttactaga	tagttcccaa	aacatgagga	tatttgctgg	cattatattc	5040
acagcctgct	gtcacttgct	acggggtaag	tcaccaaate	tttcagtgg	gttctatatt	5100
ttcaatattt	tagctatgaa	ttaaaaatgg	aagtaatttg	tggggtgtgt	atgtgtgtgt	5160
atatgtgtgt	gtagaggggg	gtctgtgtgt	atgtgcagtt	gctaggcaca	cataaagcgt	5220
tcataggaca	acctagagct	tagtctcac	cttctacctt	gtttgagaca	aggtctctta	5280
tttgttgtag	attgctgagt	cctgtagttc	ggctagctca	gaacctcctg	ggggctctcc	5340
tgtctccacc	tcccagtcca	ctgagattgt	aggcacatgc	tactgcacct	ggcttctacc	5400
tggctctctg	ggatttgaac	ttgggtccat	gggctacaca	gcaagtcgtt	tacttactgg	5460
gcaatcactc	catcccctaa	gataattata	aggaatatatac	cttgcttatac	caaacacatt	5520
ctcattctcc	tttgccataa	ataagttact	tggcaaatat	attgtatgta	tttttaataa	5580
ataaataaaa	tcttaaaaat	aaataaaatt	atttgtgaag	acaaaaaaaa	taagttactt	5640
ggaaaggatg	aaggaaaata	ctggagcttt	gggtgtgggt	tagtagtaga	acacttggct	5700
gatgtaaaaa	aaaagcccta	ggtgcaatcc	caacaccaga	aacaaatgaa	ggaatgaaca	5760
acaaccgccc	ccacccccca	ggggatgaat	ataaaaaatat	caggtaatac	agaactaaca	5820
ggtgatccgt	ttcctatgaa	taactactga	acattcccag	ggaggtggcc	cactgataat	5880
atatttttat	ttattggttc	cttttaaaaa	agactgggaa	tatattatct	agcttgcatac	5940
accaccacca	ccccccaccc	ccgccccatg	aagttatttc	aaagaagaat	tttagtgttc	6000
atgtgattcc	ctaaataaaa	tgatagtaac	cttttaccba	ggttttcaga	tgtgtttgga	6060

ggagttttct gctttctgag ggctggtcct ctttcctttt cagcgtttac tatcacggct	6120
ccaaaggact tgtacgtggt ggagtatggc agcaacgtca cgatggagtg cagattccct	6180
gtagaacggg agctggacct gcttgcgtta gtggtgtact gggaaaagga agatgagcaa	6240
gtgattcagt ttgtggcagg agaggaggac cttaaccttc agcacagcaa cttcaggggg	6300
agagcctcgc tgccaaagga ccagcttttg aagggaatg ctgcccttca gatcacagac	6360
gtcaagctgc aggacgcagg cgtttactgc tgcataatca gctacggtgg tgcggactac	6420
aagcgaatca cgctgaaagt caatggtaag aattaccctg gatggggaag gcttcacccg	6480
tatttaaac agctccctaa tgttgagagc tcttcattct tgagagttcg cacgcacttc	6540
tcacagaaca acagcagcct gttcttctcg ctcgtttggt cattcgttcg ttcacacact	6600
tcaccagtga aaaagcctag cactgtgtgt ttgatatga cttgagattc agtaccagat	6660
aatactcagc catgctttgc agtcagtacc atgatcttgc aaaggtgaaa tgccagggtg	6720
ttgtttctta tcataaatgc aatatataat atattacata gatgtataga tataactgtg	6780
taacatgcaa taagatataa tatgcatata tttcatataa cataatgtat aatatataat	6840
gtataataat atatactaca atatatagtt atatgcatag ttatatattg catttatgat	6900
aaaaagcaaa cacctggcat ttcacttttg caagcttttt gaattacttg taaatatata	6960
tacatgcaaa catacataca cacacatgtt tttttacaag taatttgaat gtcatggaaa	7020
gaaatagaat cataaaaatg tccctcctcc ctaactacca tcttctaagc ataaatatac	7080
agtaactact atttgtacat cctccatga ctttttgatt ggattactgt ttatattta	7140
tctatcaggc ttagcacatt ttttttcctt tgaatacctc catacaaaat tcaatgtgtg	7200
tttatatata tatgtatata tatagttata tcatatcata ttcatacaa agttttatat	7260
atgtatacat atataaacac acatatctac acatacatc acatttttta tatatataca	7320
caatatataa tgtatatgtg tgtgtgtgtg catatacctc tatatctatc tatctatcta	7380
tctatctatc tatctatcta tctatctatc tatagcttct actgtaaggg tcacttttta	7440
aaaaattaag gttaatctat gaaggatgag aagtgaagat ctttaagtgt gaagaagccg	7500
ttcttcaca gagatggtac aggctacact cagcaggcat gcattcattt tcagggcctg	7560

catctctggg agtgcctgagg aggaactatg agtgtaagtt cctgggtaac gagccacaga	7620
aatgtcatca ggtcccttga gttcacggtt ctgggttgga actaactaag ggaaggaaaa	7680
caccttgcta accacccctg ctttcactgt tgggttgcat agacctgaga gcttcactca	7740
tgcagggcgt gcacacagcc agcccagttg cccaccagga ctggaaatcc ccaaggctct	7800
cctcttcaca tacctcccac agtgggtgcc ctggaatcag gtccctttcg tggctctcgg	7860
aaacttcacc ttgatggaca ctgagccgaa ccccgcttc tccaggcaga cgttcagat	7920
ggtctgcctg ctccctttcg gttttcataa taactttaaa actatttggc tagaatcaga	7980
tagtctcctt cgatcttttt actcctaaac tagtgtgaag ctcaatatta tacataggaa	8040
aaattcacat tcttcataag ggatcacggc agttattaac gcaatcttat gtagagatta	8100
ggaaaaatgt gtccattcga cagtttatta atgggtctgt gatgggtgggt cgcttagagc	8160
ttatgaagat gccacttgcc ttatttcggt gcttggtctt aacttcatt accttttact	8220
tacaattctt catttgtgac actcatgaaa ggagactcgg gatatggttg ttaatatctt	8280
gagcagctgt tagtacatca gcaaatatga ggctcctggt tggttccaag atttttaag	8340
acattgtgaa gctggaaggc catgagcagt caaagttgct ggacctgggg cactggaagg	8400
agctcaaggc gggcagtcag gaagaaggga gcagggtgta agcctctgtg acaagaggtc	8460
tctcatggct tgttaggagt aggtgactct ggtaaggagg aatttactct agattatgtg	8520
ctcagtgata tctctgatac caaagacaat cttttggagc gcacggcttc tccacggagg	8580
gacctgtgat gcggcaaagc tggatatcaa gcagtcttga aggcctgctt gactattttg	8640
ttttcttaca gaaatcacta cgtcgatatt ttactccag ttcaccttgc catttgcag	8700
cacgttagct ggtctaggcc aagagctga accttggttg tggtcaaat ctgtaatctc	8760
agctatgtgg gaagctgagg caggagaatc gcgcaattag gacttgtctg agctacgaac	8820
atatagcagg ttcaagagca gcctgggcaa tttggcaaga tccgttctca aagacataca	8880
tacatacata tatttggcaa gatccgttct caaagacata catacataca tacatttggc	8940
aagatccgtt ctcaaagaca tacatacatg catgcatgca taaatacatg tataaatgaa	9000
tataaaatta aaataggaac aggactgagg acatgccag tgatgtacag gacctgggtt	9060

tcagtttcta gcaccatggt cgctggcatg caaaagcttt ccatgtcaag gaagtagaac	9120
tcctgaattc tgtgctatgc aaatgacttc acagcaagggt tccttcccat cactgcaagt	9180
gtgtgggtggt gaagcagccc tacagggagt tcactcgcca tggggtttta aaggtagaatt	9240
atttcaaac tgaaatctga aagagtgtag ttttgatta actcagtttt tattatctct	9300
ttggataatg ttctaccttc aaaggtttac agaagaccct caggcatcag gcttttaatt	9360
gaaaaatatt cagctttaat cactgacctc aatatcagaa aagaatgaag tgtccattta	9420
gtagtcctcg gaccgtagat ggcattaagc agctgtaaga aacacgctca tcacatggtt	9480
caacaattaa ggattgccat ggtgcacccg atcccccagc tctgtttaaa ccttttctct	9540
gtcatctatg cctatctaag atgtctcagc atatcatgct tattgtctct ttccttctct	9600
tgaacacaag ctctaggggt aggggccttg gtcagtttta ttgttgacc tgttggcctt	9660
gacgtattat gaaggggcag tgtaataaga aaagaaaacc gtgtttgttg atggaatggt	9720
ttaaaaaaaaa attagcttaa aatgtatgct atacgaacgg gcatgaatct gggagatttt	9780
agactgttcc ttgtgagccg taggaacttt ctgttttctg tgttcacagt cctccgcagc	9840
tgtgctcatg gtctccaca tctgcctaac aacagcagggt gtagatgtta taattaacac	9900
tcacagaaca cctgatatgt gagaggttgt gccctgggct tcttgctcat atgaattcat	9960
ttcatcttta acataactct tcgggggagg cacttgccca tgaccatggc ttgttttctt	10020
tcctatcgac tatctttcaa atcggaatgt gtctttccct aggtgacatc tcagattcaa	10080
tgttacacag cactgctgtg cccattttca ggcattaaaa atcgcatccg cctaaattcc	10140
accccgataa aattatgcag ccaggttcgg aacccaacta gccatctct aaaaatctat	10200
gcccttecta gcctcgcttt gttgcctgtc tttgtacctc tggagtgggt atcaaggaac	10260
agaatggctt taaacatgat ttgaactttt cctggttttt gatcacagca gtaacagagt	10320
gttctagaga taagccagag gtttgaaaac aaacagaact tgtctttgag gtgttataaa	10380
catgtgtgtg attataaagg atatatctgg tgccaatagg tatagcttat attataagaa	10440
atggccattg tgaagatcag aaggagataa ctactgatt tcagggtggt gattcaatct	10500
aacacatgat atattctgaa actgtacaaa aaagatatc aaaagaagaa acacatggaa	10560

caaagagtat atggaaattc tgacaactca gaatcagtgt atgttaagat gaagttcatg	10620
attaacaaat ggagatggtc gcagtcaccc tgaagcttat tttagccaat gctttatcac	10680
atccaactca atcttcgttt ttttttttc agatggatct tcccattttt aattaacctt	10740
atcatgatag cccctagtaa ggcatgtcct gacatttcct ttcttttttt ttatagctta	10800
tgtttctttt tttaaaaatt tttttactac atattttcct caattacatt tccaatgcta	10860
tcccaaaagt cccccatacc ctctccccc actcccctac ccacccactc ccactttttg	10920
gccctggggg tccccgttac tgggggatat aaagtctgcg tgtccaatgg gcctctcttt	10980
ccagtgatgg cctactaggc catcttttga tacatatgca gcttgagtca agagctccgg	11040
gggtactggtt agttcatagt gttgttccac ctatagggtt gcagatccct ttagttcctt	11100
gggtgctttc tctagcttct ccattgggag cctgtgatc catccaatag ctgactgtga	11160
gcatccactt ctgtgtttgc taggtcccgg ccaagtctca caagagacag ctatttcagg	11220
gtcctttcag catatgcttg ctagtgtatg caatgggtgc atcgtttgga ggctaattat	11280
gggatggctc cctggatatg gcagtcctta aatgggtccat ccttttgtct cagctccaaa	11340
ctttgtctct gtaactcctt tcaatcttcg tttttaatgt ccgaaaatga ctggtaacgt	11400
cactgcttac atttcccttt gcttttgttt gaattgtgag ctttatcttt gatctggagt	11460
ttctttaaga agactttgta atgtgcttat ttttaagat ggtgaattca attaaagata	11520
gacaagaggg acgggtctgt atttcatctg gtagagtgt tacctgccat tcatgaagtt	11580
ctggttcgat ccccggcaca gcatagaacc acatgcggtg gcaactcagt tgcctgtgac	11640
cccagcactc aggagctaga ggcaggttac ctttgactac acagcaagtt caaggctagc	11700
ctggtctaca tgcaactctt cctcaaaggg aaaacaaaac aaaaatagac aggagaattg	11760
gaaacatcca tagaaacca aatatgaatc aatagactcc cctcttcctg tgtcagacat	11820
tcagactcag tgacagccgt caccgtttat gaggcattgac tgattttaca gatcctagag	11880
caagcgtgca caattctggt gtttcctgcc tgcgtcctca cacacacgct caccctaggg	11940
acggaggcag cggaggctta gtcagtttca gacgaatcca ctcatcagct gctcaccatg	12000
gtcttctagg tgaagcagaa ctctccttcc atcagcaccg gtgaaaaaca aaagtggaaa	12060

gcagatattt cactccgaat gctttatcat tggcagtgat ttcaaattta aaccactaat	12120
ttcccagaag aattagggtca cgggccatgt ggcattagac cctattgtgg tgacattatt	12180
tcctgatgtg cctatttaat aatgtatagt ggtctcatct ttatttagtt ggtcttgaat	12240
gtgataaata caagactggg caagtgttca tcaaagctgt tacttgaaat tgtaattata	12300
cctattttgt tgggtggtgtt ttttcttggg tcatggacaa ccaaacacat tacggctttg	12360
ctttgtctta gctactctgt gtcaagtcc tgtgaaaata ccgtattaca gtgctcttat	12420
tacatctttg gtaatgaagt agtcacctaa gcccctatcc tgggctctct atggctcact	12480
aaagaatcgt aagtgggata atgattgctg aagaaataga tatgttttat ttacattgag	12540
gtagaaagac ctgtggtttc taggtaacag ttactttaac ttagttgcta catctagttt	12600
gcactcagta aacaccctgg tgtggttttt acaacaacaa ggttgttcct gaagcccaaa	12660
catggcccag atttgaatag aagacctgag gcagactaac actcactccc tgctgccaaa	12720
gtagcagagc cggggacata tttctccaat agccagcccg agttgatgct ctttgaagc	12780
agacaccaca aagccacacg gctagcccta agatgggaga gccctgacct ctctttgctt	12840
ctgacctagc ccataaccgc aaaatcaacc agagaatttc cgtggatcca gccacttctg	12900
agcatgaact aatatgtcag gccgagggtt atccagaagc tgaggtaatc tggacaaaca	12960
gtgaccacca acccgtgagt ggggaagagaa gtgtcaccac ttcccggaca gaggggatgc	13020
ttctcaatgt gaccagcagt ctgagggtca acgccacagc gaatgatgtt ttctactgta	13080
cgttttggag atcacagcca gggcaaaacc acacagcggg gctgatcatc ccaggtgagt	13140
tgcctaactc gtccccgat tcctagcacg atggccatcc gccatagtca tttagcagta	13200
gttggccgag tgtatgaata catgaaactt acattggcta gacgtattct agttcctctt	13260
tctcttgctg gcaagccata atgctacttg gtcaacactc agcaagaatt aagtgtttgc	13320
tcctgacaga cagtatgtta gtcattgagt attcgtggct ggataggaca taagtactc	13380
tgctccagga aacaggtgac agtcgcatgt aggagatgct cttgtaactt gggcaccacg	13440
ggcaacgtga gagcaagctt atgcttcagg aatgtaaacc tttgtcacat caaagctgcc	13500
ctcttcctc ccgggctgct gtagtagaaa gcaaatgcat tgcctttttt tgtatcttat	13560

attcaacagg aagaatcctt tcttcccata ctctcttca gggcattccc tgatacttca	13620
actccaggaa gtctgcctgt gcatagaaca cgaggctgat gcctatgggc aaccgactag	13680
ctgggttgta actcaccagg ccagggcatt gtagggatag aatgagctgc acgaaaatga	13740
ttgtaggaaa atcgtttgag aattcagctg tctttaaaat tcatttacct tacagaaata	13800
gggccacagg agacagtttg gtgagaggct cagagcatta tatgaatatg aaccagagg	13860
tactcactct gaggagggtt gcttctgcct ccatcgacac ccttttccca atgtatgtca	13920
acagtacatt gatgtctaga gatagctctg tgaagtttag agaagatata taaaactaca	13980
ttaaaaagtc aaccaatatg aaaaatgaag cccaggatgg gcgtggagcc aaaaggagca	14040
cacaagtttg gaaaaatgta aaataaaaag gaagacactc taactagaat tggacttttc	14100
cataaaagct atattgttgg tttcctacca ttaaatgttt tatggggctg gagacgttgt	14160
agctcagttg ggagagtact tgcctagcat ccacaatgct ctgaccccag cgccatataa	14220
acgtatatag ggctcaccta tagtctaaac actttgttgg tggaagccgg agggtcagtt	14280
caaggtcatc ctcagcttca tagcaagttc aaggccagta tggactgact acaagagacc	14340
ctgcctcaaa gacaaaacaa gcaaacatca tcataataaa acagcaaaaa gctgttctct	14400
ggccatttct ttgtaggaca tcctggagta acttaaccac tctgagtgtc tcttctcatc	14460
tgtaacttgg gttcatagtg ggaccaata ggagctgagt tacaacagga gatggaagtt	14520
agcaatctca gagcatccca gagccctggg acccattttt ctctttctca aaactccagg	14580
cagagaaaca gggagatgtt aatgactgga gtgcccaaga gtctcagaca tggaagaaac	14640
acaacccgca ctggtccaca tttgtgggag acagaagcgg cttagcagtg ccccgctttc	14700
ccatgttcgg gagttggcct tccacaccaa gtcagccatt actgtctata ttaatgagtg	14760
cacaaggaag ttactgcact aaggttacca tttaatattg cagtcacttt ctgtggcaac	14820
atgtcacagg cctggagttc ttctctgtgc tgctcccagt ttcttaggag atctgtcttc	14880
ttcttccaac cttacctgg acattaactt tcagtgatta agattaccct aagaccaaac	14940
tatatttcag gagtcatcat tcccctgact atggcgcagc aaagcettac cttccatcag	15000
cttctcttta tccttttcca gaactgcctg caacacatcc tccacagaac aggactcact	15060

gggtgcttct	gggatccatc	ctgttgttcc	tcattgtagt	gtccacggtc	ctcctcttct	15120
tgagaaaaca	aggatatttc	tccattgctg	tactgcctgc	agggaagtgc	atgagggtcc	15180
cttcaccatt	gccttgagca	ggcagtgcca	gagatggtac	caccctgaca	agaacagacc	15240
cacatcacag	ggcgtcctac	actgcacgt	agctgaacct	caccaggaaa	cactgacttg	15300
aaaggtgctg	ccctccattc	cctgggcttg	ctttcagtta	cacagagtaa	gttttaacag	15360
tgactctggt	gtactgagtc	tcccttaagt	ccgtttcaca	ttgttgctct	gcgacatctc	15420
ctaccttgga	gctcggtggt	ggacctgtt	gtaatatgaa	gaggatcag	ttggacaagg	15480
gcgtagggaa	gctaaaagac	ttagctttca	aggcgtgggg	gagggggagg	gcattgtgag	15540
gttccctgtt	cagcggttca	gagtaaagct	gggcagcaca	caagtttaga	caacaaggaa	15600
gatgctctaa	ctggggttgg	aggtcaatgg	tgacgggata	ggtagcaatg	gaggctaaag	15660
aagaaagcca	taaggtttct	ttctacagac	tctgaagaca	gagcactgtg	gtgcctattg	15720
gtctcaggtg	aactcaagtc	ttgtgttcc	tacaccacct	attgagctgg	gttctggata	15780
ccctaagtgg	aaaaacactt	ctgtctaaaa	agagctgtgg	catctttacc	acaaagcact	15840
ttttttttt	gcaagatttc	tgaagacgaa	atgacacagt	ttttaaata	atttccatat	15900
atttatttca	gtacttacc	ataagaatga	ctgaaatcta	ggaaaatgaa	tatattcaaa	15960
taatgccttc	ctattgtaaa	gtgacttaga	gtaaaccttt	tcaccaaata	ctttgaaatg	16020
cataccaagt	gagccaatga	tgcatggact	tgtgtgaagc	caaatgggga	aatagaatat	16080
gggaggggaa	atcaatcatc	agagaggaa	tccccatcac	ctttttggag	ggcgcgtgta	16140
tgggaaaagt	gttgtaactg	gggcggtagc	gaccagctgc	ttccaaagaa	taagccctga	16200
gcagaaccaa	gagggttgcc	aggggtgtgaa	gattaagctt	cagagacaca	tctggcttag	16260
ggctagccta	ggacttgcac	aggaccgcag	ttgttgcccta	atggcatctg	ggatgattgg	16320
ctgaggatga	ggaaagcaga	gagtcagtta	ggtggtaagc	tagctcagga	tgtgggacgt	16380
ttctgaggga	agggtggaag	acaaagtaga	cagtcctaaa	aaccatctga	gaatgaaagt	16440
atgtacccta	aattgttgaa	taattaactt	tgccgcgtgg	gatctggaat	aaggaaagttc	16500
acgggctaaa	agcctgggtga	ttaggggatt	gatcgggtgc	tcctaaaaac	cttaagttga	16560

aaatcgagtc cctgtgggtt gtagtagcat cttgctataa ggaattaaga ttgatttctt	16620
cttcttttagt gagaatgcta gatgtggaga aatgtggcgt tgaagataca agctcaaaaa	16680
accgaaatgg taagtgtgag taacgaggga ggggcaagcc gagggaatga gtgggacaga	16740
gcagccaagc agggtcctgc aagggtcgca gtccagcgc tctgtaggct gaggcagggg	16800
gatagggagt tccaggccag caaccacaca gccaaaacaa aacaaacaaa aaaaaaaca	16860
aagcaaaagg aagagcagaa aaagctactg ttaccaacaa gagacatact ttagccgtga	16920
tctcctctcc ttccaaagga agctgtttgt gggggctgct gggtcctctg cctaaggatc	16980
gccacatctg agaaaactct gggtttctg ctgcggtgic tgtgtggtag ccctgcaacc	17040
agggacgctg ttgacttatt tgaatgggca ttgattaag caaatgattc tgctgtgtgg	17100
ttagctgtta actgtttcat gtgtatgata tggcatttca tttcatcatc ctgccccaa	17160
tcagataaat atgagaatca tctccattgt atagtaggga aaacagggtc gagaagataa	17220
tgcgaggtgc ctaagaacac acagacttgc taccacagac gtccgttctt tgctaggtgc	17280
ttcaatctat gctgtacta atgtctgtat ttataagagt agaaaactct gcccgggcgt	17340
tggtgggcca cgccittaat ccagcactc gggaggcaga ggtagtcgga tttctgagtt	17400
tgaggccagc ctggtctaca gagtgagttc caggacagcc aggtacaca gagaaacct	17460
gtctcgaaaa aaatcaaaaa agaaaaaga acaagaaac tctaactgaa ctatcttgta	17520
gtaaattaca gtgtgttcta attcatttta gtgttgtag aaaccaaaca gtaaggccag	17580
gcagaactaa agtggtttcg ctaacttggg cagaccaag caggttccct cctgtacatt	17640
accatttatt ctgctgagtc accctgagga accggcctgg cttgctcaag actgaggatt	17700
tctcagccat gaacactttc cattttaaaa ctagggcagt cccggacaag caaggatggt	17760
tagtcatcct tcatcatgta agggtagtca gacataggta gtatctgtct ctgtcttacg	17820
gcaacgttac tatctgtct agcaaacatc ccatttgitt atcttacata tcatacgttt	17880
cccccccaca tattccctgc ccctgtgaaa ttattatact atgatcactc tccagataca	17940
caattcgagg agacgtaagc agtgttgaac cctctgatcg tcgattggca gcttgtggtc	18000
tgtgaaagaa agggcccatg ggacatgagt ccaaagactc aagatggaac ctgagggaga	18060

gaaccaagaa agtgttggga gaggagcctg gaacaacgga catTTTTTcc agggagacac	18120
tgctaagcaa gttgcccatc agtcgtcttg ggaaatggat tgagggttcc tggcttagca	18180
gctggtcctt gcacagtgc cttttcctct gctcagtgcc gggatgagag atggagtcat	18240
gagtgttgaa gaataagtc cttctattta ttttgagtct gtgtgttctc actttgggca	18300
tgtaattatg actggtgaat tctgacgaca tgatagatct taagatgtag tcaccaaact	18360
caactgctgc ttagcatcct ccgtaactac tgatacaagc agggaacaca gaggtcacct	18420
gcttggtttg acaggctctt gctgtctgac tcaaataatc tttatttttc agtcctcaag	18480
gctcttcgat agcagttgtt ctgtatcagc cttataggtg tcaggatatag cactcaacat	18540
ctcatctcat tacaatagca accctcatca ccatagcaac agctaacctc tgttatectc	18600
acttcatagc caggaagctg agcgactaag tcacttgccc acagagtatc agctctcaga	18660
tttctgttct tcagccactg tcctttcagg atagaatttg tcgttaagaa attaatttaa	18720
aaactgatta ttgagtagca ttgtatatca atcacaacat gccttgtgca ctgtgctggc	18780
ctctgagcat aaagatgtac gccggagtac cggtcggaca tgtttatgtg tgttaaatac	18840
tcagagaaat gttcattaac aaggagcttg catTTTtagag aacttgaaa gtaactccag	18900
ttcattgtct agcattacat ttacctcatt tgctatcctt gccatacagt ctcttgttct	18960
ccatgaagtg tcatgaatct tgttgaatag ttcttttatt ttttaaatgt ttctatttaa	19020
atgatattga catctgaggc gatagctcag ttggtaaaac ctttcctca caagtgtgaa	19080
accctgagtc ttatccctag aaccacata aaaaacagtt gcgtatgttt gtgcatgctt	19140
ttgatccag cactagggag gcagaggcag gcagatcctg agctctcatt gaccaccag	19200
cctagcctac atggttagct ccaggcctac aggagctggc agagcctgaa aaacgatgcc	19260
tagacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacaccat gtactcatag	19320
acctaagtgc accctcctac acatgcacac acatacaatt caaacacaaa tcaacaggga	19380
attgtctcag aatggtcctc aagacaaaga agaagaaaaa caccaaacca gctctattcc	19440
ctcagcctat cctctctact ccttcctaga agcaactact attgtttttg tatataaatt	19500
taccaacga cagttaatat gtagaatata tattaaagtg tctgtcaata tatattatct	19560

ctttctttct tttctccttt cttcttttct ttctttcttt cttcttttct ttctttcttt	19620
ctttcttctt teettcccttc ctteettctt teettcccttc cttcttttct ttctttcttt	19680
ttttctgtct atctgtacct aaatgggtgc tcactatgca tttctgtgc tcttcgccct	19740
ttttatttaa tgtatggata tttatgctgc ttccagaatg gatctaaagc tctttgtttc	19800
taggttttct ccccatcct tctaggcatc tctcacactg tctaggccag acaccatgtc	19860
tgctgcctga atctgtagac accatttata aagcacgtac tcaccgagtt tgtatttggc	19920
ttgttctgtg tctgattaaa gggagaccat gagtccccag ggtacactga gttaccccag	19980
taccaagggg gagccttggt tgtgtctcca tggcagaagc aggcctggag ccattttggt	20040
ttcttctttg acttctctca aacacagacg cctcacttgc tcattacagg ttctcctttg	20100
ggaatgtcag cattgtcctt tgactgctgg ctgccctgga aggagcccat tagctctgtg	20160
tgagcccttg acagctactg cctctcctta ccacaggggc ctctaagata ctgttaccta	20220
gaggctcttg ggaatctgtg tctctggggg gaggaaggga ggaggaacc agaactttct	20280
tacagttttc cttgttctgt cacatgtcaa gactgaagga acaggctggg ctacgtagtg	20340
agatcctgtc tcaaaggaaa gacgagcata gccgaacccc cggtggaacc ccctctgtta	20400
cctgttcaca caagcttatt gatgagctc atgttaatgt cttgtttgta tgaagtttaa	20460
gaaaatatcg ggttgggcaa cacattctat ttattcattt tatttgaaat cttaatgcca	20520
tctcatggtg ttggattggt gtggcacttt attcttttgt gttgtgtata accataaatt	20580
ttattttgca tcagattgtc aatgtattgc attaatttaa taaatatttt tatttattaa	20640
a	20641

- <210> 5
- <211> 16
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 寡核苷酸基序

<400> 5	
taattggctc tactgc	16

<210>	6	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	6	
tcgcataaga atgact		16
<210>	7	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	7	
tgaacacaca gtcgca		16
<210>	8	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	8	
ctgaacacac agtcgc		16
<210>	9	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	9	
tctgaacaca cagtcg		16
<210>	10	

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 10
ttctgaacac acagtc 16

<210> 11
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 11
acaagtcatg ttacta 16

<210> 12
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 12
acacaagtca tgttac 16

<210> 13
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 13
cttacttaga tgctgc 16

<210> 14
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	14	
acttacttag	atgctg	16
<210>	15	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	15	
gacttactta	gatgct	16
<210>	16	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	16	
agacttactt	agatgc	16
<210>	17	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	17	
gcaggaagag	acttac	16
<210>	18	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 18
aataaattcc gttcagg 17

<210> 19
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 19
gcaaataaat tccgtt 16

<210> 20
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 20
agcaaataaa ttccgt 16

<210> 21
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 21
cagagcaaat aaattcc 17

<210> 22
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 22
tggacagagc aaataaat 18

<210> 23
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 23
atggacagag caaata 16

<210> 24
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 24
cagaatggac agagca 16

<210> 25
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 25
ttctcagaat ggacag 16

<210> 26
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 26

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

<210> 31
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 31
tagaacaatg gtacttt 17

<210> 32
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 32
gtagaacaat ggtact 16

<210> 33
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 33
aggtagaaca atggta 16

<210> 34
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 34
aagaggtaga acaatgg 17

<210> 35

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 35
gcatccacag taaatt 16

<210> 36
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 36
gaaggttatt taattc 16

<210> 37
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 37
ctaatacgaat gcagca 16

<210> 38
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 38
tacccaatatc aatcga 16

<210> 39
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 39

tagttacca atctaa 16

<210> 40

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 40

catttagtta cccaat 16

<210> 41

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 41

tcatttagtt acccaa 16

<210> 42

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 42

ttcatttagt taccca 16

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 43
gaattaattt catttagt 18

<210> 44
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 44
cagtgaggaa ttaattt 17

<210> 45
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 45
ccaacagtga ggaatt 16

<210> 46
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 46
cccaacagtg aggaat 16

<210> 47
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 47
tatacccaac agtgagg 17

<210> 48
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 48
ttatacccaa cagtga 17

<210> 49
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 49
tttataccca acagtga 17

<210> 50
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 50
cctttatacc caacag 16

<210> 51
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 51

taacctttat acccaa	16
<210> 52	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 52	
aataaccttt ataccca	17
<210> 53	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 53	
gtaaataacc ttтата	16
<210> 54	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 54	
actgtaaata acctttat	18
<210> 55	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 55	
atatatatgc aatgag	16

<210>	56	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	56	
agatatatat	gcaatg	16
<210>	57	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	57	
gagatatata	tgcaat	16
<210>	58	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	58	
ccagagatat	atatgc	16
<210>	59	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	59	
caatattcca	gagatat	17
<210>	60	

<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	60	
gcaatattcc agagata		17
<210>	61	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	61	
agcaatattc cagagat		17
<210>	62	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	62	
cagcaatatt ccagag		16
<210>	63	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	63	
aatcagcaat attccag		17
<210>	64	
<211>	17	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 64

acaatcagca atattcc 17

<210> 65

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 65

actaagtagt tacacttct 19

<210> 66

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 66

ctaagtagtt acacttc 17

<210> 67

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 67

gactaagtag ttacactt 18

<210> 68

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 68
tgactaagta gttaca 16

<210> 69
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 69
ctttgactaa gtagtta 17

<210> 70
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 70
ctctttgact aagtag 16

<210> 71
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 71
gctctttgac taagta 16

<210> 72
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 72
ccttaaatac tgttgac 17

<210> 73
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 73
cttaaatact gttgac 16

<210> 74
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 74
tccttaaata ctgttg 16

<210> 75
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 75
tctccttaaa tactgtt 17

<210> 76
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 76

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

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

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 85
gagaaaggct aagttt 16

<210> 86
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 86
gacactcttg tacatt 16

<210> 87
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 87
tgagacactc ttgtaca 17

<210> 88
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 88
tgagacactc ttgtac 16

<210> 89
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 89

ctttattaaa ctccat 16

<210> 90

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 90

accaaacttt attaaa 16

<210> 91

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 91

aaacctctac taagtg 16

<210> 92

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 92

agattaagac agttga 16

<210> 93

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 93
aagtaggagc aagaggc 17

<210> 94
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 94
aaagtaggag caagagg 17

<210> 95
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 95
gttaagcagc caggag 16

<210> 96
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 96
agggtaggat gggtag 16

<210> 97
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 97	
aagggtagga tgggta	16
<210> 98	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 98	
caagggtagg atgggt	16
<210> 99	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 99	
ccaagggtag gatggg	16
<210> 100	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 100	
tccaagggta ggatgg	16
<210> 101	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 101	

cttccaaggg taggat	16
<210> 102 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 102 atcttccaag gtagga	17
<210> 103 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 103 agaagtgatg gtcatt	17
<210> 104 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 104 aagaagtgat ggctcat	17
<210> 105 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 105 gaagaagtga tggctca	17

<210> 106
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 106
atgaaatgta aactggg 17

<210> 107
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 107
caatgaaatg taaactgg 18

<210> 108
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 108
gcaatgaaat gtaaactg 18

<210> 109
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 109
agcaatgaaa tgtaaact 18

<210> 110

<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	110	
	gagcaatgaa atgtaaac	18
<210>	111	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	111	
	tgaattccca tatccga	17
<210>	112	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	112	
	agaattatga ccatat	16
<210>	113	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	113	
	aggtagaat tatgacc	17
<210>	114	
<211>	18	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 114

tcaggtaaga attatgac 18

<210> 115

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 115

cttcaggtaa gaattatg 18

<210> 116

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 116

tcttcaggta agaatta 17

<210> 117

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 117

cttcttcagg taagaat 17

<210> 118

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 118
tcttcttcag gtaagaa 17

<210> 119
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 119
tcttcttcag gtaaga 16

<210> 120
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 120
tggctcaga gaagaag 17

<210> 121
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 121
gttggtctaa gagaag 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 122
agttggtcta agagaa 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 123
cagttggtct aagagaa 17

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 124
gcagttggtc taagagaa 18

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 125
cagttggtct aagaga 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 126

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

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

<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	135	
caaagatcat	gtaaatacac	20
<210>	136	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	136	
acaaagatca	tgtaaataca	20
<210>	137	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	137	
gaatacaaag	atcatgta	18
<210>	138	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	138	
agaatacaaa	gatcatgt	18
<210>	139	
<211>	18	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 139

cagaatacaa agatcatg 18

<210> 140

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 140

gcagaataca aagatca 17

<210> 141

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 141

aggcagaata caaagat 17

<210> 142

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 142

aaggcagaat acaaaga 17

<210> 143

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	143	
attagtgagg	gacgaa	16
<210>	144	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	144	
cattagtgag	ggacga	16
<210>	145	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	145	
gagggtgatg	gattag	16
<210>	146	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	146	
ttaggagtaa	taaagg	16
<210>	147	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 147
ttaatgaatt tggttg 16

<210> 148
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 148
ctttaatgaa tttggt 16

<210> 149
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 149
catggattac aactaa 16

<210> 150
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 150
tcatggatta caacta 16

<210> 151
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 151

gtcatggatt acaact	16
<210> 152	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 152	
cattaaatct agtcat	16
<210> 153	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 153	
gacattaaat ctagtca	17
<210> 154	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 154	
agggacatta aatcta	16
<210> 155	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 155	
caaagcatta taacca	16

<210> 156
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 156
acttactagg cagaag 16

<210> 157
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 157
cagagttaac tgtaca 16

<210> 158
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 158
ccagagttaa ctgtac 16

<210> 159
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 159
gccagagtta actgta 16

<210> 160

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	160	
tgggccagag ttaact		16
<210>	161	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	161	
cagcatctat cagact		16
<210>	162	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	162	
tgaataaca tgagtc		18
<210>	163	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	163	
gtgaataac atgagtc		17
<210>	164	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 164

tctgtttatg tcactg 16

<210> 165

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 165

gtctgtttat gtcact 16

<210> 166

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 166

tggtctgttt atgtca 16

<210> 167

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 167

ttggtctgtt tatgtc 16

<210> 168

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 168
tcacccattg tttaaa 16

<210> 169
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 169
ttcagcaaat attcgt 16

<210> 170
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 170
gtgtgttcag caaatat 17

<210> 171
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 171
tctattgtta ggtatc 16

<210> 172
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 172
attgcccac ttactg

16

<210> 173
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 173
tattgcccac ttact

16

<210> 174
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 174
aaatattgcc catctt

16

<210> 175
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 175
ataaccttat cataca

16

<210> 176
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 176

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

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

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 185
gttttagcaga ccaagt 16

<210> 186
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 186
tgacagtgat tatatt 16

<210> 187
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 187
tgtccaagat attgac 16

<210> 188
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 188
gaatataccta gattgt 16

<210> 189
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	189	
caaactgaga	atatcc	16
<210>	190	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	190	
gcaaactgag	aatatc	16
<210>	191	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	191	
tcctattaca	atcgta	16
<210>	192	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	192	
ttcctattac	aatcgt	16
<210>	193	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 193		
actaatggga	ggattt	16
<210> 194		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 194		
tagttcagag	aataag	16
<210> 195		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 195		
taacatatag	ttcaga	16
<210> 196		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 196		
ataacatata	gttcag	16
<210> 197		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		

<400> 197 cataacatat agttca	16
<210> 198 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 198 tcataacata tagttc	16
<210> 199 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 199 tagctcctaa caatca	16
<210> 200 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 200 ctccaatctt tgtata	16
<210> 201 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 201	

tctccaatct ttgtat	16
<210> 202	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 202	
tctatttcag ccaatc	16
<210> 203	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 203	
cggaagtcag agtgaa	16
<210> 204	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 204	
ttaagcatga ggaata	16
<210> 205	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 205	
tgattgagca cctctt	16

<210> 206
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 206
gactaattat ttcgtt 16

<210> 207
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 207
tgactaatta tttcgt 16

<210> 208
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 208
gtgactaatt atttcg 16

<210> 209
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 209
ctgcttgaaa tgtgac 16

<210> 210

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	210	
cctgcttgaa atgtga		16
<210>	211	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	211	
atcctgcttg aaatgt		16
<210>	212	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	212	
attataaatc tattct		16
<210>	213	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	213	
gctaaatact ttcac		16
<210>	214	
<211>	16	
<212>	DNA	

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 218
agataatatt gcacca 16

<210> 219
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 219
gccaagaaga taatat 16

<210> 220
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 220
cacagccaca taaact 16

<210> 221
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 221
ttgtaattgt ggaaac 16

<210> 222
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400>	222	
tgacttgtaa	ttgtgg	16
<210>	223	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	223	
tctaactgaa	atagtc	16
<210>	224	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	224	
gtggttctaa	ctgaaa	16
<210>	225	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	225	
caatatggga	cttggt	16
<210>	226	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	226	

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

<210> 231
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 231
aagactgctt cactta 16

<210> 232
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 232
gaatgcccta attatg 16

<210> 233
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 233
tggaatgccc taatta 16

<210> 234
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 234
gcaaatgccca gtaggt 16

<210> 235

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	235	
ctaattggaag gatttg		16
<210>	236	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	236	
aatatagaac ctaatg		16
<210>	237	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	237	
gaaagaatag aatgtt		16
<210>	238	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	238	
atgggtaata gattat		16
<210>	239	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	239	
gaaagagcac agggtg		16
<210>	240	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	240	
ctacatagag ggaatg		16
<210>	241	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	241	
gcttcctaca tagagg		16
<210>	242	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	242	
tgcttcctac atagag		16
<210>	243	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 243
tgggcttgaa atatgt 16

<210> 244
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 244
cattatatattt aagaac 16

<210> 245
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 245
tcggttatgt tatcat 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 246
cactttatct ggtcgg 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 247
aaattggcac agcgtt 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 248
accgtgacag taaatg 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 249
tgggaaccgt gacagta 17

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 250
ccacatatag gtcctt 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 251

catattgcta ccatac	16
<210> 252	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 252	
tcatattgct accata	16
<210> 253	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 253	
caattgtcat attgct	16
<210> 254	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 254	
cattcaattg tcatattg	18
<210> 255	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 255	
tttctactgg gaatttg	17

<210>	256	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	256	
caattagtgc agccag		16
<210>	257	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	257	
gaataatgtt cttatcc		17
<210>	258	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	258	
cacaaattga ataatttct		20
<210>	259	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	259	
catgcacaaa ttgaataat		19
<210>	260	

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

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 268
tcaataaaga tcaggc 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 269
tggacttaca agaatg 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 270
atggacttac aagaat 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 271
gctcaagaaa ttggat 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400>	272	
tactgtagaa	catggc	16
<210>	273	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	273	
gcaattcatt	tgatct	16
<210>	274	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	274	
tgaaggagg	agggacac	18
<210>	275	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	275	
agtgtgaag	ggaggag	17
<210>	276	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	276	

tagtggtgaa gggaggag		18
<210>	277	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	277	
atagtggtga agggaggag		19
<210>	278	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	278	
tagtggtgaa gggagga		17
<210>	279	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	279	
atagtggtga agggagga		18
<210>	280	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	280	
tagtggtgaa gggagg		16

<210> 281
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 281
atagtgggtga agggagg 17

<210> 282
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 282
gatagtgggtg aaggagg 18

<210> 283
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 283
atagtgggtga agggag 16

<210> 284
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 284
gatagtgggtg aaggag 17

<210> 285

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 285
gagatagtgg tgaagg 16

<210> 286
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 286
catgggagat agtgg 16

<210> 287
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 287
acaaataatg gttactct 18

<210> 288
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 288
acacacaaat aatggta 18

<210> 289
<211> 18
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 289

gagggacaca caaataat 18

<210> 290

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 290

atatagagag gctcaa 16

<210> 291

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 291

ttgatataga gaggct 16

<210> 292

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 292

gcatttgata tagaga 16

<210> 293

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 293
tttgcatttg atatag 16

<210> 294
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 294
ctggaagaat aggttc 16

<210> 295
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 295
actggaagaa taggtt 16

<210> 296
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 296
tactggaaga ataggt 16

<210> 297
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 297
tggcttatcc tgtact 16

<210> 298
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 298
atggcttatc ctgtac 16

<210> 299
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 299
tatggcttat cctgta 16

<210> 300
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 300
gtatggctta tcctgt 16

<210> 301
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 301

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

<210> 306
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 306
cactcctagt tccttt 16

<210> 307
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 307
aacactccta gttcct 16

<210> 308
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 308
taacactcct agttcc 16

<210> 309
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 309
ctaacactcc tagttc 16

<210> 310

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

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 318
acaggatatg gaaggg 16

<210> 319
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 319
atttcaacag gatatgg 17

<210> 320
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 320
gagtaatttc aacagg 16

<210> 321
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 321
agggagtaat ttcaaca 17

<210> 322
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 322
attagggagt aatttca

17

<210> 323
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 323
cttactatta gggagt

16

<210> 324
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 324
cagcttacta ttaggg

16

<210> 325
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 325
tcagcttact attagg

16

<210> 326
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 326

atttcagctt actattag	18
<210> 327	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 327	
ttcagcttac tattag	16
<210> 328	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 328	
cagatttcag cttact	16
<210> 329	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 329	
gactacaact agaggg	16
<210> 330	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 330	
agactacaac tagagg	16

<210>	331	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	331	
aagactacaa	ctagag	16
<210>	332	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	332	
atgatttaat	tctagtcaaa	20
<210>	333	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	333	
tttaattcta	gtcaaa	16
<210>	334	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	334	
gatttaattc	tagtca	16
<210>	335	

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 335
atgatttaat tctagtca 18

<210> 336
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 336
gatgatttaa ttctagtca 19

<210> 337
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 337
gatttaattc tagtca 16

<210> 338
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 338
gatgatttaa ttctagtc 18

<210> 339
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	339	
tgattttaatt	ctagtc	16
<210>	340	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	340	
gagatgattt	aattcta	17
<210>	341	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	341	
gagatgattt	aattct	16
<210>	342	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	342	
cagattgatg	gtagtt	16
<210>	343	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 343
ctcagattga tggtag 16

<210> 344
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 344
gttagccctc agattg 16

<210> 345
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 345
tgtattgtta gccctc 16

<210> 346
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 346
acttgattg ttagcc 16

<210> 347
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 347
agccagtatc agggac 16

<210> 348
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 348
ttgacaatag tggcat 16

<210> 349
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 349
acaagtggta tcttct 16

<210> 350
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 350
aatctacttt acaagt 16

<210> 351
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 351

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

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

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

<213>	人工序列		
<220>			
<223>	寡核苷酸基序		
<400>	364		
aagcagaaac	ttatact	17	
<210>	365		
<211>	18		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	寡核苷酸基序		
<400>	365		
gaagcagaaa	cttatact	18	
<210>	366		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	寡核苷酸基序		
<400>	366		
tggaagcaga	aacttatact	20	
<210>	367		
<211>	19		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	寡核苷酸基序		
<400>	367		
tggaagcaga	aacttatac	19	
<210>	368		
<211>	16		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 368
aagcagaaac ttatac 16

<210> 369
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 369
tggaagcaga aacttata 18

<210> 370
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 370
aagggatatt atggag 16

<210> 371
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 371
tgccggaaga tttcct 16

<210> 372
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 372
atggattggg agtaga 16

<210> 373
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 373
agatggattg ggagta 16

<210> 374
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 374
aagatggatt gggagt 16

<210> 375
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 375
acaagatgga ttggga 16

<210> 376
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 376

agaaggttca gacttt	16
<210> 377	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 377	
gcagaaggtt cagact	16
<210> 378	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 378	
tgcagaaggt tcagac	16
<210> 379	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 379	
agtgcagaag gttcag	16
<210> 380	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 380	
aagtgcagaa ggttca	16

<210>	381	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	381	
taagtgcaga aggttc		16
<210>	382	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	382	
tctaagtgca gaaggt		16
<210>	383	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	383	
ctcaggagtt ctacttc		17
<210>	384	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	384	
ctcaggagtt ctactt		16
<210>	385	

<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	385	
atggaggtga	ctcaggag	18
<210>	386	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	386	
atggaggtga	ctcagga	17
<210>	387	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	387	
atggaggtga	ctcagg	16
<210>	388	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	388	
tatggaggtg	actcagg	17
<210>	389	
<211>	18	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 389

atatggaggt gactcagg 18

<210> 390

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 390

tatggaggtg actcag 16

<210> 391

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 391

atatggaggt gactcag 17

<210> 392

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 392

catatggagg tgactcag 18

<210> 393

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 393
atatggaggt gactca 16

<210> 394
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 394
catatggagg tgactca 17

<210> 395
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 395
catatggagg tgactc 16

<210> 396
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 396
gcatatggag gtgactc 17

<210> 397
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

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

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

<210> 406
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 406
tttgcatatg gaggtgac 18

<210> 407
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 407
tttgcatatg gaggtga 17

<210> 408
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 408
tttgcatatg gaggtg 16

<210> 409
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 409
aagtgaagtt caacagc 17

<210> 410

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 410
tgggaagtga agttca 16

<210> 411
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 411
atgggaagtg aagttc 16

<210> 412
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 412
gatgggaagt gaagtt 16

<210> 413
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 413
ctgtgatggg aagtgaa 17

<210> 414
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 414

attgagtga tccaaa 16

<210> 415

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 415

aattgagtga atccaa 16

<210> 416

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 416

gataattgag tgaatcc 17

<210> 417

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 417

gtgataattg agtgaa 16

<210> 418

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400> 418		
aagaaagtg	caataa	16
<210>	419	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400> 419		
caagaaaggt	gcaata	16
<210>	420	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400> 420		
acaagaaagg	tgcaat	16
<210>	421	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400> 421		
atttaaactc	acaaac	16
<210>	422	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 422
ctgttaggtt cagcga 16

<210> 423
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 423
tctgaatgaa catttcg 17

<210> 424
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 424
ctcattgaag gttctg 16

<210> 425
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 425
ctaattctcat tgaagg 16

<210> 426
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 426

cctaattctca ttgaag	16
<210> 427	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 427	
actttgatct ttcagc	16
<210> 428	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 428	
actatgcaac actttg	16
<210> 429	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 429	
caaatagctt tatcgg	16
<210> 430	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 430	
ccaaatagct ttatcg	16

<210>	431	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	431	
tccaaatagc tttatc		16
<210>	432	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	432	
gatccaaata gcttta		16
<210>	433	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	433	
atgatccaaa tagctt		16
<210>	434	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	434	
tatgatccaa atagct		16
<210>	435	

<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 435
taaacagggc tgggaat 17

<210> 436
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 436
acttaaacag ggctgg 16

<210> 437
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 437
aacttaaac agggct 16

<210> 438
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 438
gaacacttaa acaggg 16

<210> 439
<211> 17
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	439	
agagaacact	taaacag	17
<210>	440	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	440	
ctacagagaa	cactta	16
<210>	441	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	441	
atgctacaga	gaacact	17
<210>	442	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	442	
ataaatgcta	cagagaaca	19
<210>	443	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 443
agataaatgc tacagaga 18

<210> 444
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 444
tagagataaa tgctaca 17

<210> 445
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 445
tagatagaga taaatgct 18

<210> 446
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 446
caatatacta gatagaga 18

<210> 447
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 447
tacacaatat actagatag 19

<210> 448
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 448
ctacacaata tactag 16

<210> 449
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 449
gctacacaat atacta 16

<210> 450
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 450
atatgctaca caatatac 18

<210> 451
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 451

tgatatgcta cacaat	16
<210> 452 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 452 atgatatgat atgctac	17
<210> 453 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 453 gaggagagag acaataaa	18
<210> 454 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 454 ctaggaggag agagaca	17
<210> 455 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序 <400> 455 tattctagga ggagaga	17

<210> 456
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 456
ttatattcta ggaggag 17

<210> 457
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 457
gtttatattc taggag 16

<210> 458
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 458
tgagtttat attctagg 18

<210> 459
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 459
cgtaccacca ctctgc 16

<210> 460

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 460
tgaggaaatc attcattc 18

<210> 461
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 461
tttgaggaaa tcattcat 18

<210> 462
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 462
aggctaatacc tattttg 16

<210> 463
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 463
tttaggctaa tcctat 16

<210> 464
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	464	
tgctccagtg	taccct	16
<210>	465	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	465	
tagtagtact	cgatag	16
<210>	466	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	466	
ctaattgtag	tagtactc	18
<210>	467	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	467	
tgctaattgt	agtagt	16
<210>	468	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 468
agtgctaatt gtagta 16

<210> 469
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 469
gcaagtgcta attgta 16

<210> 470
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 470
gaggaaatga actaattta 19

<210> 471
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 471
caggaggaaa tgaacta 17

<210> 472
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 472
ccctagagtc atttcc 16

<210> 473
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 473
atcttacatg atgaagc 17

<210> 474
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 474
gacacactca gatttcag 18

<210> 475
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 475
agacacactc agatttcag 19

<210> 476
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 476

aagacacact cagatttcag 20

<210> 477
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 477
agacacactc agatttca 18

<210> 478
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 478
aagacacact cagatttca 19

<210> 479
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 479
aaagacacac tcagatttca 20

<210> 480
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 480
gaaagacaca ctcagatttc 20

<210> 481
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 481
aagacacact cagatttc 18

<210> 482
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 482
aaagacacac tcagatttc 19

<210> 483
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 483
tgaaagacac actcagattt 20

<210> 484
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 484
tgaaagacac actcagatt 19

<210> 485

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 485
tgaaagacac actcagat 18

<210> 486
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 486
attgaaagac acactca 17

<210> 487
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 487
tcattgaaag acacact 17

<210> 488
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 488
ttccatcatt gaaaga 16

<210> 489
<211> 17
<212> DNA

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 493
cttatgatac aactta 16

<210> 494
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 494
tcttatgata caactt 16

<210> 495
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 495
ttcttatgat acaact 16

<210> 496
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 496
cagtttctta tgatac 16

<210> 497
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 497 gcagttttctt atgata	16
<210> 498 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 498 tacaaatgtc tattaggtt	19
<210> 499 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 499 tgtacaaatg tctattag	18
<210> 500 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 500 agcatcacao ttagta	16
<210> 501 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 501	

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

<210> 506
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 506
aacctcaaga ttattg 16

<210> 507
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 507
cacaaacctc aagattatt 19

<210> 508
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 508
gtacttaatt agacct 16

<210> 509
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 509
agtacttaat tagacc 16

<210> 510

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 510
gtatgaggtg gtaaac 16

<210> 511
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 511
aggaaacagc agaagtg 17

<210> 512
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 512
gcacaacca gaggaa 16

<210> 513
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 513
caagcacaac ccagag 16

<210> 514
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 514

ttcaagcaca acccag 16

<210> 515

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 515

aattcaagca caaccc 16

<210> 516

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 516

taataattca agcacaacc 19

<210> 517

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 517

actaataatt caagcac 17

<210> 518

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 518
ataataactaa taattcaagc 20

<210> 519
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 519
tagatttgtg aggtaa 16

<210> 520
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 520
agccttaatt ctccat 16

<210> 521
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 521
aatgatctag agcctta 17

<210> 522
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 522
ctaattgatct agagcc 16

<210> 523
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 523
actaatgatc tagagc 16

<210> 524
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 524
cattaacatg ttcttatt 18

<210> 525
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 525
acaagtacat taacatgttc 20

<210> 526
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 526

ttacaagtac attaacatg	19
<210> 527	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 527	
gctttattca tgtttat	17
<210> 528	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 528	
gctttattca tgttta	16
<210> 529	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 529	
agagctttat tcatgttt	18
<210> 530	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 530	
ataagagctt tattcatg	18

<210> 531
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 531
cataagagct ttattca 17

<210> 532
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 532
agcataagag ctttat 16

<210> 533
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 533
tagattgttt agtgca 16

<210> 534
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 534
gtagattggt tagtgc 16

<210> 535

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

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 539

caggattaag atacgt 16

<210> 540

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 540

tcaggattaa gatacg 16

<210> 541

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 541

ttcaggatta agatac 16

<210> 542

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 542

aggaagaaag tttgattc 18

<210> 543

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 543
tcaaggaaga aagtttga 18

<210> 544
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 544
ctcaaggaag aaagtttg 18

<210> 545
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 545
tgctcaagga agaaagt 17

<210> 546
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 546
aattatgctc aaggaaga 18

<210> 547
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 547
taggatacca cattatga 18

<210> 548
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 548
cataatttat tccattcttc 20

<210> 549
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 549
tgcataattt attccat 17

<210> 550
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 550
actgcataat ttattcc 17

<210> 551
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 551

ctaaactgca taatttatt	19
<210> 552	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 552	
ataactaaac tgcata	16
<210> 553	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 553	
ttattaataa ctaaactgc	19
<210> 554	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 554	
tagtacatta ttaataact	19
<210> 555	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 555	
cataactaag gacgtt	16

<210> 556
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 556
tcataactaa ggacgt 16

<210> 557
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 557
cgtcataact aaggac 16

<210> 558
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 558
tcgtcataac taagga 16

<210> 559
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 559
atcgtcataa ctaagg 16

<210> 560

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 560
g t t a g t a t c t t a c a t t 16

<210> 561
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 561
c t c t a t t g t t a g t a t c 16

<210> 562
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 562
a g t a t a g a g t t a c t g t 16

<210> 563
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 563
t t c c t g g t g a t a c t t t 16

<210> 564
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	564	
gttcctggtg	atactt	16
<210>	565	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	565	
tgttcctggt	gatact	16
<210>	566	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	566	
ataaacatga	atctctcc	18
<210>	567	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	567	
ctttataaac	atgaatctc	19
<210>	568	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	568	
ctgtctttat aaacatg		17
<210>	569	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	569	
ttgttataaa tctgtctt		18
<210>	570	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	570	
ttaaatttat tcttggata		19
<210>	571	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	571	
cttaaattta ttcttggga		18
<210>	572	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	

<400> 572
cttcttaaatt ttattcttg 19

<210> 573
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 573
tatgtttctc agtaaag 17

<210> 574
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 574
gaattatctt taaacca 17

<210> 575
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 575
cccttaaatt tctaca 16

<210> 576
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 576

acactgctct tgtacc 16

<210> 577
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 577
tgacaacact gctctt 16

<210> 578
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 578
tacattttatt gggctc 16

<210> 579
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 579
gtacatttat tgggct 16

<210> 580
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 580
ttggtacatt tattgg 16

<210> 581
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 581
catgttggtgta catttat 17

<210> 582
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 582
aatcatgttg gtacat 16

<210> 583
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 583
aaatcatgtt ggtaca 16

<210> 584
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 584
gacaagtttg gattaa 16

<210> 585

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 585
aatgttcaga tgcctc 16

<210> 586
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 586
gcttaatgtt cagatg 16

<210> 587
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 587
cgtacatagc ttgatg 16

<210> 588
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 588
gtgaggaatt aggata 16

<210> 589
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 589

gtaacaatat ggtttg 16

<210> 590

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 590

gaaatattgt agacta 16

<210> 591

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 591

ttgaaatatt gtagac 16

<210> 592

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 592

aagtctagta atttgc 16

<210> 593

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 593
gctcagtaga ttataa 16

<210> 594
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 594
catacactgt tgctaa 16

<210> 595
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 595
atggtctcaa atcatt 16

<210> 596
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 596
caatggtctc aaatca 16

<210> 597
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 597 ttcctattga ttgact	16
<210> 598 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 598 tttctgttca caacac	16
<210> 599 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 599 aggaaccac taatct	16
<210> 600 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 600 taaatggcag gaaccc	16
<210> 601 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 601	

gtaaattggca ggaacc	16
<210> 602	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 602	
ttgtaaatgg caggaa	16
<210> 603	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 603	
ttatgagtta ggcatg	16
<210> 604	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 604	
ccaggtgaaa ctttaa	16
<210> 605	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 605	
cccttagtca gctcct	16

<210> 606
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 606
acccttagtc agctcc 16

<210> 607
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 607
cacccttagt cagctc 16

<210> 608
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 608
tctcttacta ggctcc 16

<210> 609
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 609
cctatctgtc atcatg 16

<210> 610

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 610
tcctatctgt catcat 16

<210> 611
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 611
gagaagtgatg agaagc 16

<210> 612
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 612
catccttgaa gtttag 16

<210> 613
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 613
taataagatg gctccc 16

<210> 614
<211> 16
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	614	
caaggcataa	taagat	16
<210>	615	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	615	
ccaaggcata	ataaga	16
<210>	616	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	616	
tgatccaatt	ctcacc	16
<210>	617	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	617	
atgatccaat	tctcac	16
<210>	618	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 618
cgcttcacatc tcaccc 16

<210> 619
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 619
tatgacactg catctt 16

<210> 620
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 620
gtatgacact gcatct 16

<210> 621
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 621
tgtatgacac tgcatac 16

<210> 622
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

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

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

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 631
tattggagga attatt 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 632
gtattggagg aattat 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 633
tggtatactt ctctaagtat 20

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 634
gatctcttgg tatact 16

<210> 635

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 635
cagacaactc tatacc 16

<210> 636
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 636
aacatcagac aactcta 17

<210> 637
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 637
tttaacatca gacaactc 18

<210> 638
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 638
taacatcaga caactc 16

<210> 639
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 639

atttaacatc agacaa 16

<210> 640

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 640

cctattttaac atcagac 17

<210> 641

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 641

ttcctatttta acatca 16

<210> 642

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 642

tcaacgacta ttggaat 17

<210> 643

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 643
cttatattct ggctat 16

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 644
atccttatat tctggc 16

<210> 645
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 645
gatccttata ttctgg 16

<210> 646
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 646
tgatccttat attctg 16

<210> 647
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 647 attgaaactt gatcct	16
<210> 648 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 648 actgtcattg aaactt	16
<210> 649 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 649 tcttactgtc attgaa	16
<210> 650 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 650 aggatcttac tgtcatt	17
<210> 651 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 寡核苷酸基序	
<400> 651	

gcaaatacaac tccatc		16
<210>	652	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	652	
gtgcaaataca actcca		16
<210>	653	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	653	
caattatttc ttgtgc		17
<210>	654	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	654	
tggaacaat tatttctt		18
<210>	655	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	655	
gctggcaaca attatt		16

<210> 656
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 656
atccatttct actgcc 16

<210> 657
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 657
taatatctat tgatttcta 19

<210> 658
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 658
tcaatagtgt agggca 16

<210> 659
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 659
ttcaatagtg tagggc 16

<210> 660

<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 660
aggttaatta attcaatag 19

<210> 661
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 661
catttgtaat ccctag 16

<210> 662
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 662
acatttgtaa tcccta 16

<210> 663
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 663
aacatttgta atccct 16

<210> 664
<211> 16
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 664

taaattttcaa gttctg 16

<210> 665

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 665

gtttaaattt caagttct 18

<210> 666

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 666

ccaagtttaa atttcaag 18

<210> 667

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 667

acccaagttt aaatttc 17

<210> 668

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 668
catacagtga cccaagttt 19

<210> 669
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 669
acatcccata cagtga 16

<210> 670
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 670
agcacagctc tacatc 16

<210> 671
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 671
atatagcaca gctcta 16

<210> 672
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 672
tccatatagc acagct 16

<210> 673
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 673
atttccatat agcaca 16

<210> 674
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 674
tttattttcca tatagca 17

<210> 675
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 675
tttattttcca tatagc 16

<210> 676
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 676

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

<210> 681
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 681
agaatcaatt aattatcc 18

<210> 682
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 682
tgagataccg tgcattg 16

<210> 683
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 683
aatgagatac cgtgca 16

<210> 684
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 684
ctgtggttag gctaatt 16

<210> 685

<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	685	
aagagtaagg	gtctgtggtt	20
<210>	686	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	686	
gatgggttaa	gagtaa	16
<210>	687	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	687	
agcagatggg	ttaaga	16
<210>	688	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	688	
tgtaaacatt	tgtagc	16
<210>	689	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 689

cctgcttata aatgta 16

<210> 690

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 690

tgccctgctt ataaat 16

<210> 691

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 691

tcttcttagt tcaata 16

<210> 692

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸基序

<400> 692

tggtttctaa ctacat 16

<210> 693

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 693
agtttggttt ctaacta 17

<210> 694
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 694
gaatgaaact tgcctg 16

<210> 695
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 695
attatcctta catgat 16

<210> 696
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 696
gtaccaatt atcctt 16

<210> 697
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 697
tgtaccaat ttcct 16

<210> 698
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 698
ttgtaccaa ttatcc 16

<210> 699
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 699
tttgtacca attatc 16

<210> 700
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 700
agcagcaggt tatatt 16

<210> 701
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 701

tgggaagtgg tctggg		16
<210>	702	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	702	
ctggagagtg ataata		16
<210>	703	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	703	
aatgctggat tacgtc		16
<210>	704	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	704	
caatgctgga ttacgt		16
<210>	705	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	705	
ttgttcagaa gtatcc		16

<210> 706
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 706
gatgatttgc ttggag 16

<210> 707
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 707
gaaatcattc acaacc 16

<210> 708
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 708
ttgtaacatc tactac 16

<210> 709
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 709
cattaagcag caagtt 16

<210> 710

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	710	
ttactagatg	tgagca	16
<210>	711	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	711	
tttactagat	gtgagc	16
<210>	712	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	712	
gaccaagcac	cttaca	16
<210>	713	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	713	
agaccaagca	ccttac	16
<210>	714	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	714	
atgggttaaa	taaagg	16
<210>	715	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	715	
tcaaccagag	tattaa	16
<210>	716	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	716	
gtcaaccaga	gtatta	16
<210>	717	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	717	
attgtaaagc	tgatat	16
<210>	718	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

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

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

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

<210> 731
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 731
catctgctat ataaga 16

<210> 732
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 732
cctagagcaa atactt 16

<210> 733
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 733
cagagttaat aataag 16

<210> 734
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 734
gttcaagcac aacgaa 16

<210> 735

<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	735	
agggttcaag cacaac		16
<210>	736	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	736	
tgttggagac actgtt		16
<210>	737	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	737	
aaggaggagt taggac		16
<210>	738	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	738	
ctatgccatt tacgat		16
<210>	739	
<211>	16	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	739	
tcaaatgcag	aattag	16
<210>	740	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	740	
agtgacaatc	aatgc	16
<210>	741	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	741	
aagtgacaat	caaatg	16
<210>	742	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	742	
gtgtaccaag	taacaa	16
<210>	743	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 743		
tgggatgtta	aactga	16
<210> 744		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 744		
agtttacatt	ttctgc	16
<210> 745		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 745		
tatgtgaaga	ggagag	16
<210> 746		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		
<400> 746		
cacctttaaa	acccca	16
<210> 747		
<211> 16		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 寡核苷酸基序		

<400>	747	
tcctttataa	tcacac	16
<210>	748	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	748	
acggtatttt	cacagg	16
<210>	749	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	749	
gacactacaa	tgagga	16
<210>	750	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	750	
tggtttttag	gactgt	16
<210>	751	
<211>	16	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	751	

cgacaaattc tatcct	16
<210> 752	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 752	
tgatatacaa tgctac	16
<210> 753	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 753	
tcgttgggta aattta	16
<210> 754	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 754	
tgctttataa atggtg	16
<210> 755	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 寡核苷酸基序	
<400> 755	
caagtttaca ttttctgc	18

<210> 756
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 756
catatgtgaa gaggagag 18

<210> 757
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 757
cacctttaaa acccca 16

<210> 758
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 758
catcctttat aatcacac 18

<210> 759
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 759
caacggtatt ttcacagg 18

<210> 760

<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	760	
cagacactac	aatgagga	18
<210>	761	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	761	
catggttttt	aggactgt	18
<210>	762	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	762	
cacgacaaat	tctatcct	18
<210>	763	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	寡核苷酸基序	
<400>	763	
catgatatac	aatgctac	18
<210>	764	
<211>	18	
<212>	DNA	

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

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 768
cacctattta acatcagac 19

<210> 769
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 769
cactaattgt agtagtactc 20

<210> 770
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 770
caataaacat gaatctctcc 20

<210> 771
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸基序

<400> 771
tgatttaatt ctagtca 17

<210> 772
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶序列

<400> 772
gcagtagagc caatta

16

<210> 773
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 773

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

<210> 774
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 774

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

<210> 775
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 775

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

<210> 776
<211> 16
<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> HBV表位

<400> 776

Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser
1 5 10 15

<210> 777

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> HBV表位

<400> 777

Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile
1 5

<210> 778

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> HBV表位

<400> 778

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

<210> 779

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> HBV表位

<400> 779

Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu

15

<210> 780
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 780

Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val
15

<210> 781
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 781

Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr
151015

Val Trp Leu Ser Val
20

<210> 782
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 782

Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val
1510

<210> 783

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> HBV表位

<400> 783

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

<210> 784
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 784
ctgtgccttg ggtggcttt 19

<210> 785
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 785
aaggaaagaa gtcagaaggc aaaa 24

<210> 786
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 引子

<400> 786
ttctttataa gggtcgatgt ccatg 25

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種具式CTAattgtagtagtaCTC之反義寡核苷酸，其中大寫字母代表 β -D-氧基鎖核酸(LNA)核苷，小寫字母代表DNA核苷，所有LNA C皆為5-甲基胞嘧啶，且所有核苷間鏈接皆為硫代磷酸酯核苷間鏈接。

【請求項2】

一種反義寡核苷酸偶聯物，其包含如請求項1之寡核苷酸及共價連接至該寡核苷酸之偶聯物部分。

【請求項3】

如請求項2之反義寡核苷酸偶聯物，其中連接體存在於該寡核苷酸與該偶聯物部分之間。

【請求項4】

如請求項2或3之反義寡核苷酸偶聯物，其中該偶聯物部分為去唾液酸醣蛋白受體靶向部分。

【請求項5】

如請求項4之反義寡核苷酸偶聯物，其中該去唾液酸醣蛋白受體靶向部分為三價N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分。

【請求項6】

如請求項3之反義寡核苷酸偶聯物，其中該連接體為生理上不穩定連接體。

【請求項7】

如請求項6之反義寡核苷酸偶聯物，其中該生理上不穩定連接體為核酸酶易感連接體。

【請求項8】

如請求項6或7之反義寡核苷酸偶聯物，其中該生理上不穩定連接體包含胞苷-腺苷二核苷酸。

【請求項9】

如請求項2之反義寡核苷酸偶聯物，其中連接體存在於該寡核苷酸與該偶聯物部分之間；進一步其中該偶聯物部分為去唾液酸醣蛋白受體靶向部分，其為三價N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)部分；其中該連接體為生理上不穩定連接體；進一步其中該生理上不穩定連接體包含胞苷-腺苷二核苷酸。

【請求項10】

一種醫藥組合物，其包括如請求項1之反義寡核苷酸或如請求項2至9中任一項之反義寡核苷酸偶聯物及醫藥上可接受之稀釋劑、溶劑、載劑、鹽及/或佐劑。

【請求項11】

如請求項10之醫藥組合物，其中該醫藥上可接受之稀釋劑為無菌磷酸鹽緩衝鹽水。

【請求項12】

如請求項10或11之醫藥組合物，其中該醫藥上可接受之鹽為鈉鹽。

【請求項13】

如請求項10或11之醫藥組合物，其中該醫藥上可接受之鹽為鉀鹽。

【請求項14】

一種調節表現PD-L1之靶細胞中PD-L1表現之活體外方法，該方法包括向該細胞投與有效量之如請求項1之反義寡核苷酸、如請求項2至9中任

一項之反義寡核苷酸偶聯物或如請求項10至13中任一項之醫藥組合物。

【請求項15】

一種如請求項1之反義寡核苷酸、如請求項2至9中任一項之反義寡核苷酸偶聯物或如請求項10至13中任一項之醫藥組合物之用途，其用以製備用於調節表現PD-L1之靶細胞中PD-L1表現之醫藥品。

【請求項16】

一種如請求項1之反義寡核苷酸、如請求項2至9中任一項之反義寡核苷酸偶聯物或如請求項10至13中任一項之醫藥組合物之用途，其用以製備用於恢復針對病毒之免疫反應之醫藥品。

【請求項17】

如請求項16之用途，其中該病毒為HBV。

【請求項18】

一種如請求項1之反義寡核苷酸、如請求項2至19中任一項之反義寡核苷酸偶聯物或如請求項10至13中任一項之醫藥組合物之用途，其用以製備用於恢復針對寄生蟲之免疫反應之醫藥品。

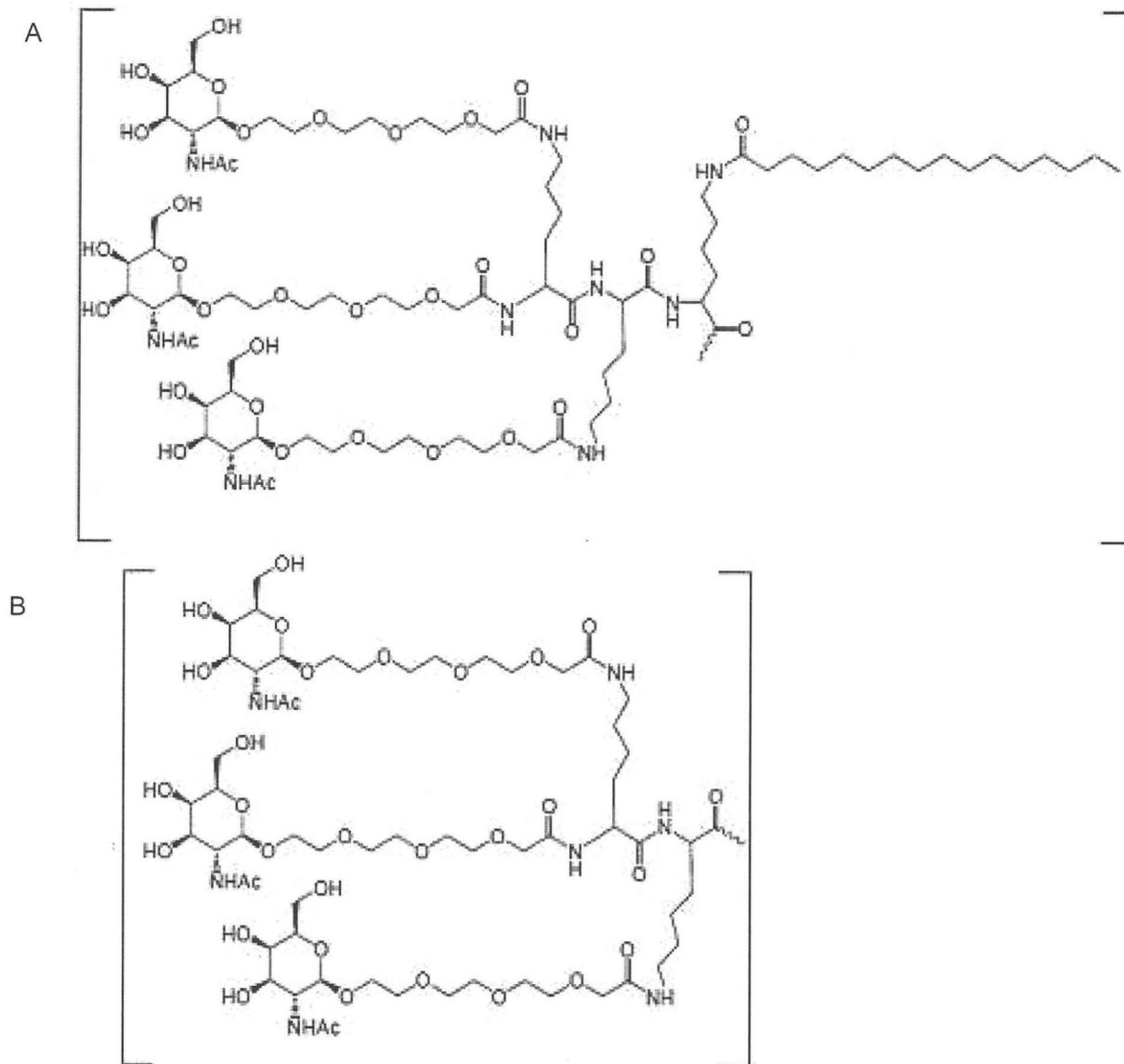
【請求項19】

如請求項16至18中任一項之用途，其中該免疫反應之恢復係在與對照相比時肝中特異性針對一或多種HBV抗原之CD8+ T細胞增加。

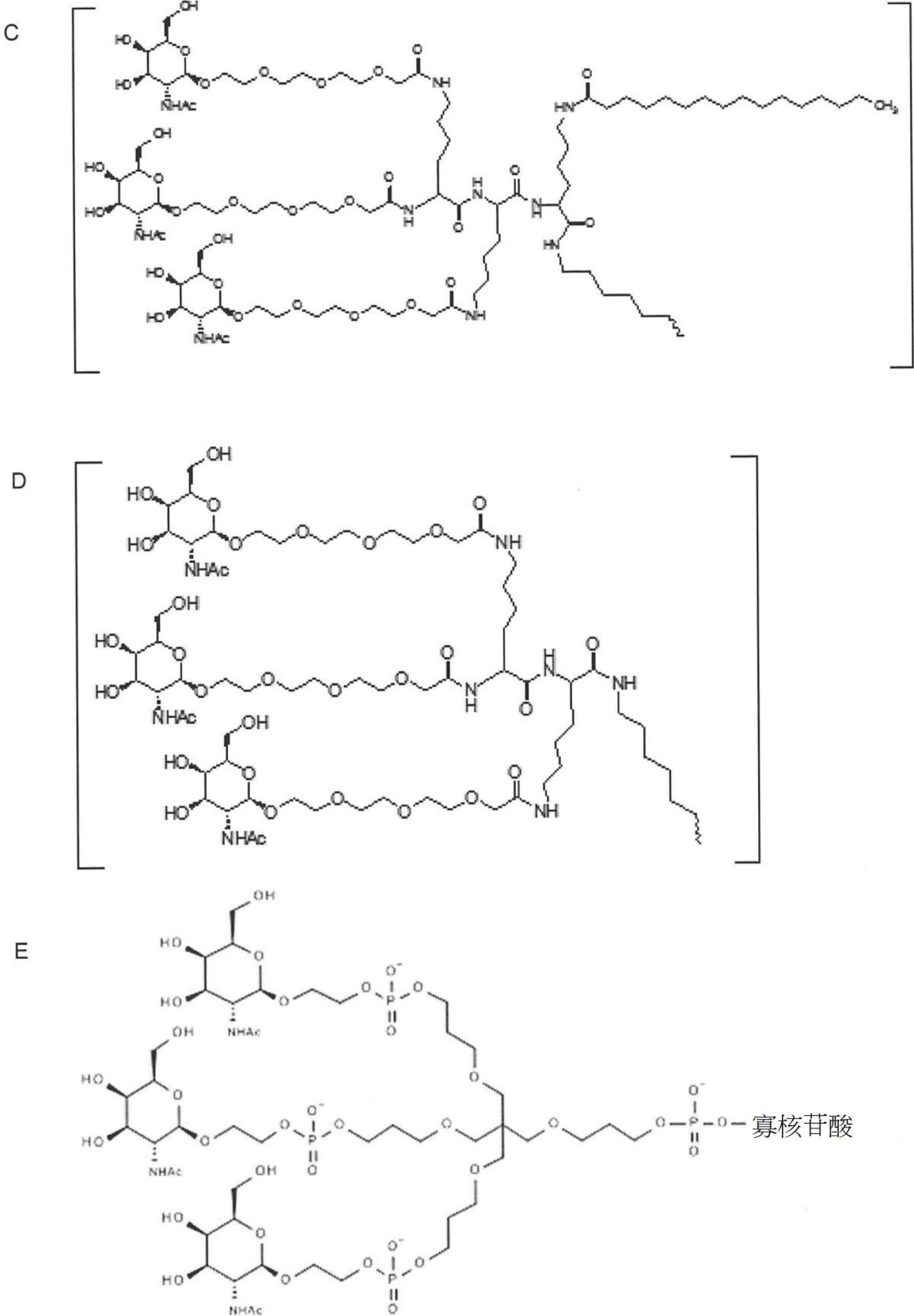
【請求項20】

一種如請求項1之反義寡核苷酸、如請求項2至9中任一項之反義寡核苷酸偶聯物或如請求項10至13中任一項之醫藥組合物之用途，其用以製備用於治療或預防HBV感染之醫藥品。

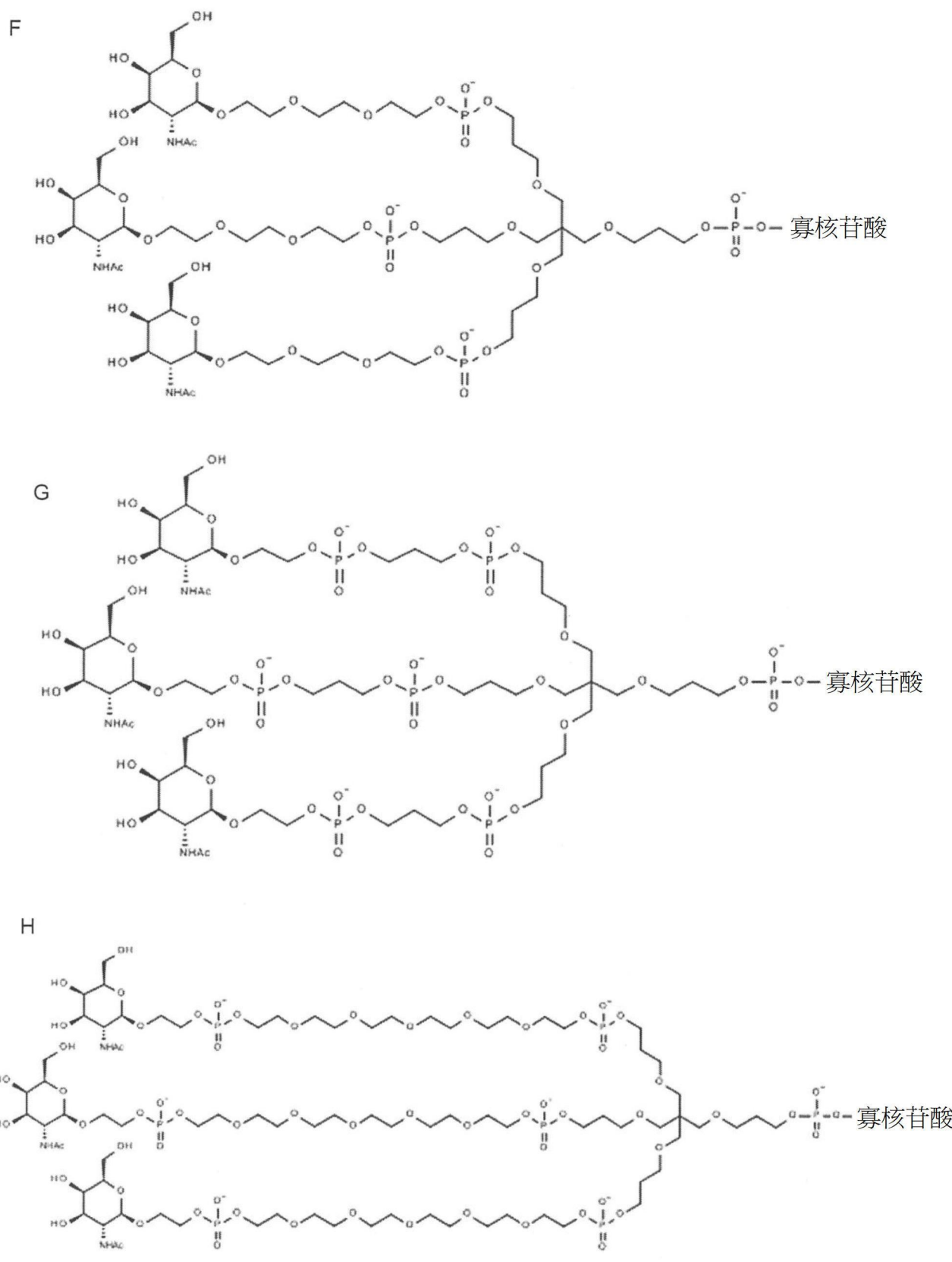
【發明圖式】



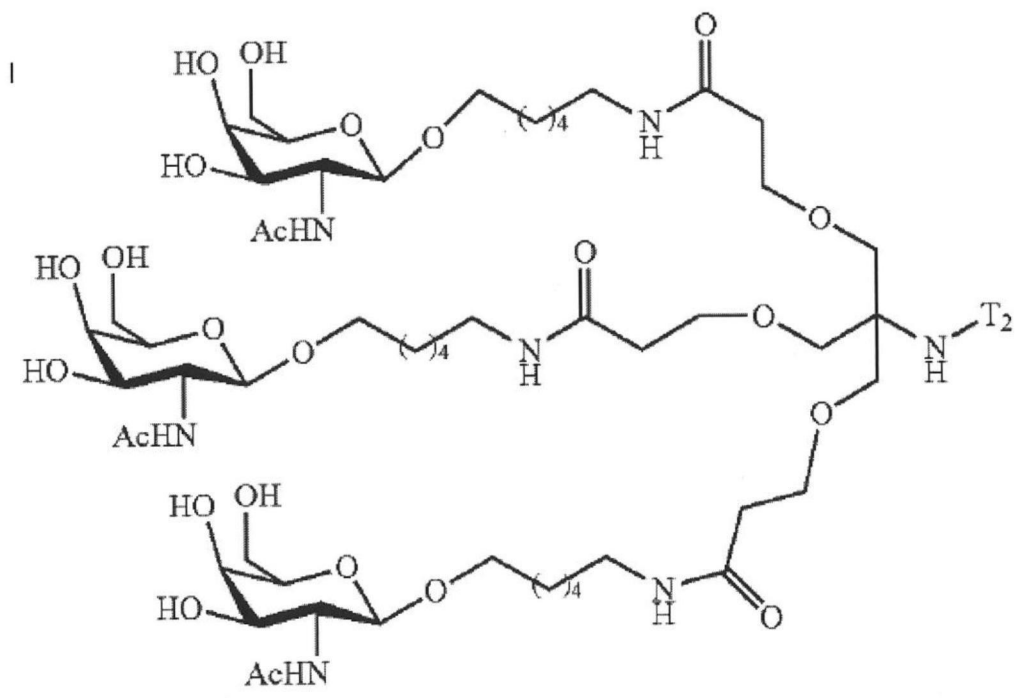
【圖1】



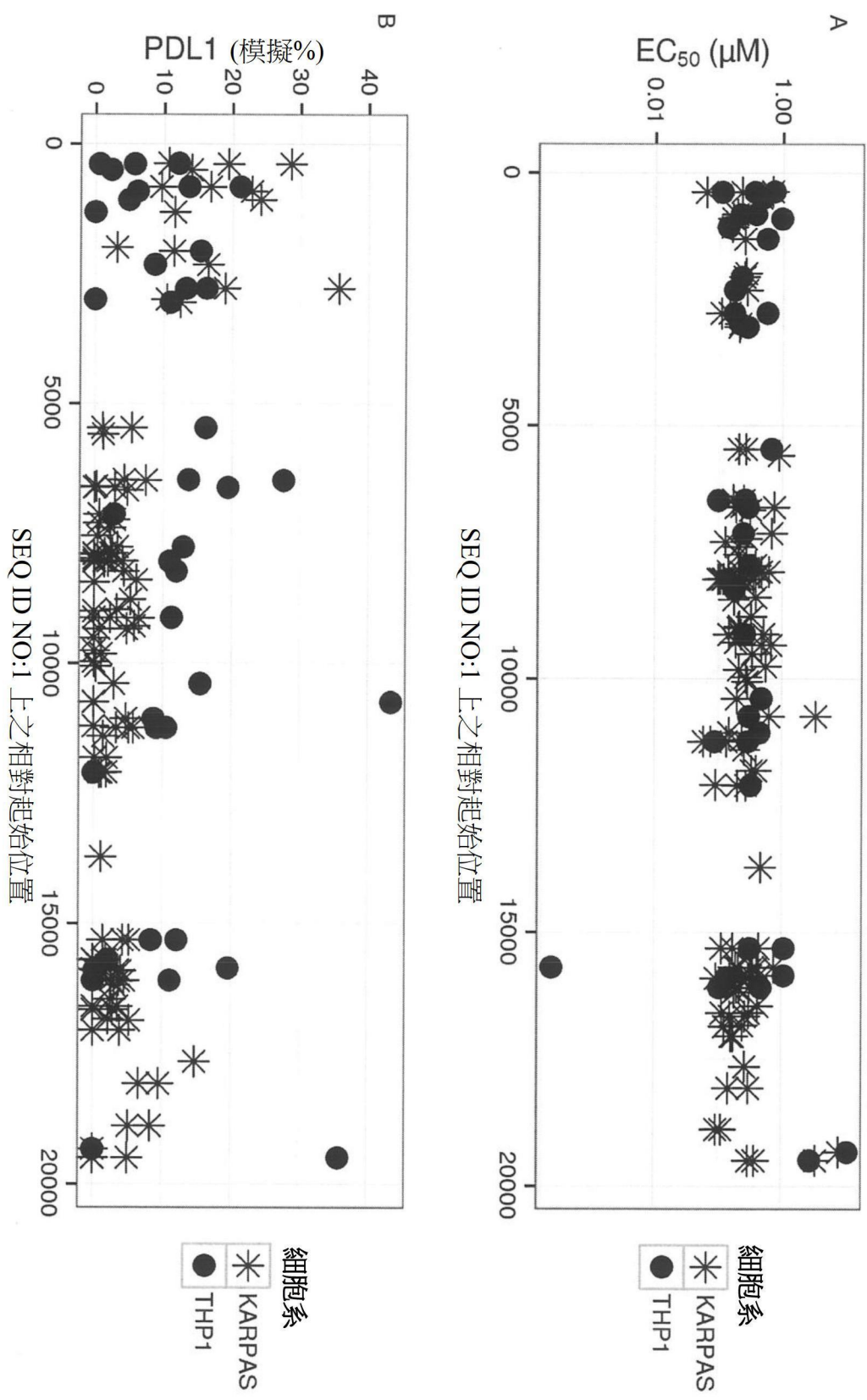
【圖 1】(續)



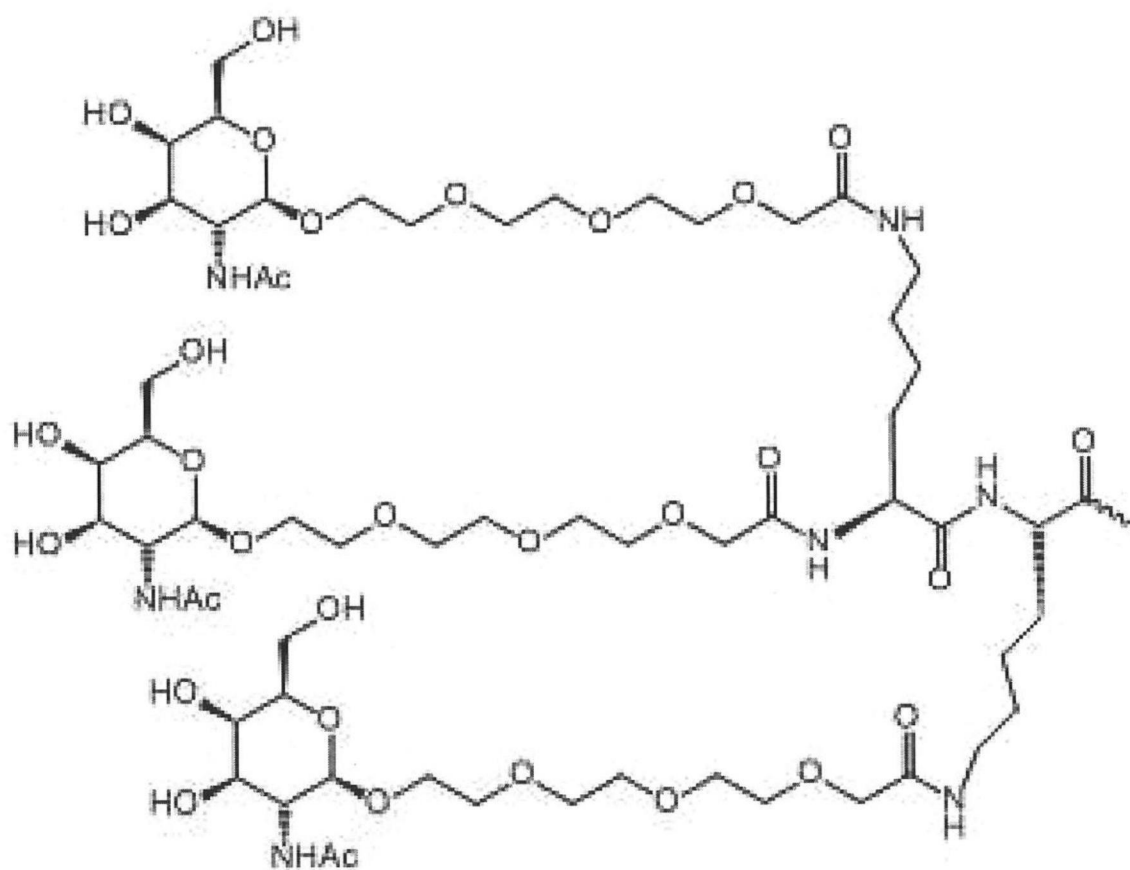
【圖 1】(續)



【圖 1】(續)

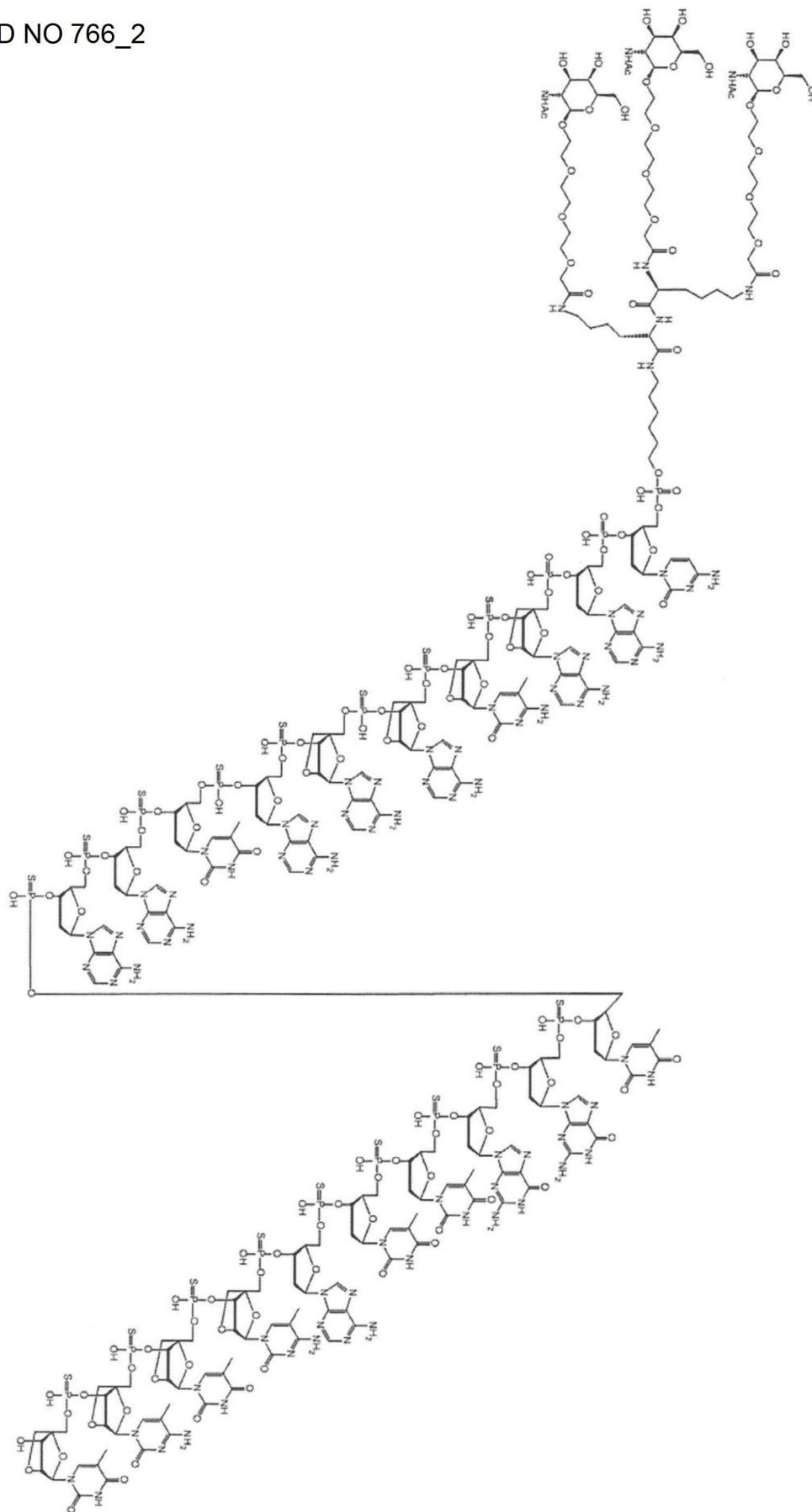


【圖 2】



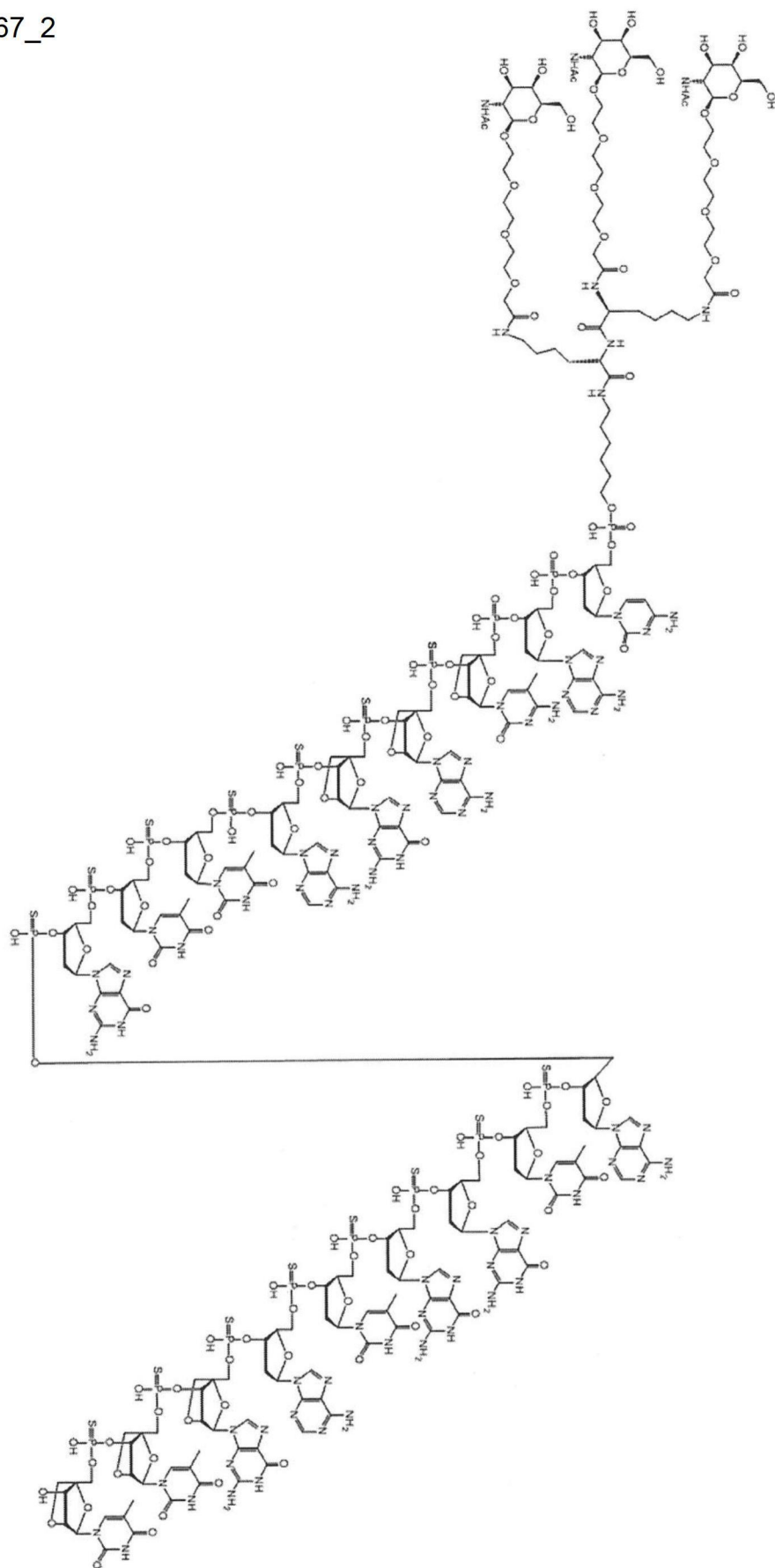
【圖 3】

CMP ID NO 766_2



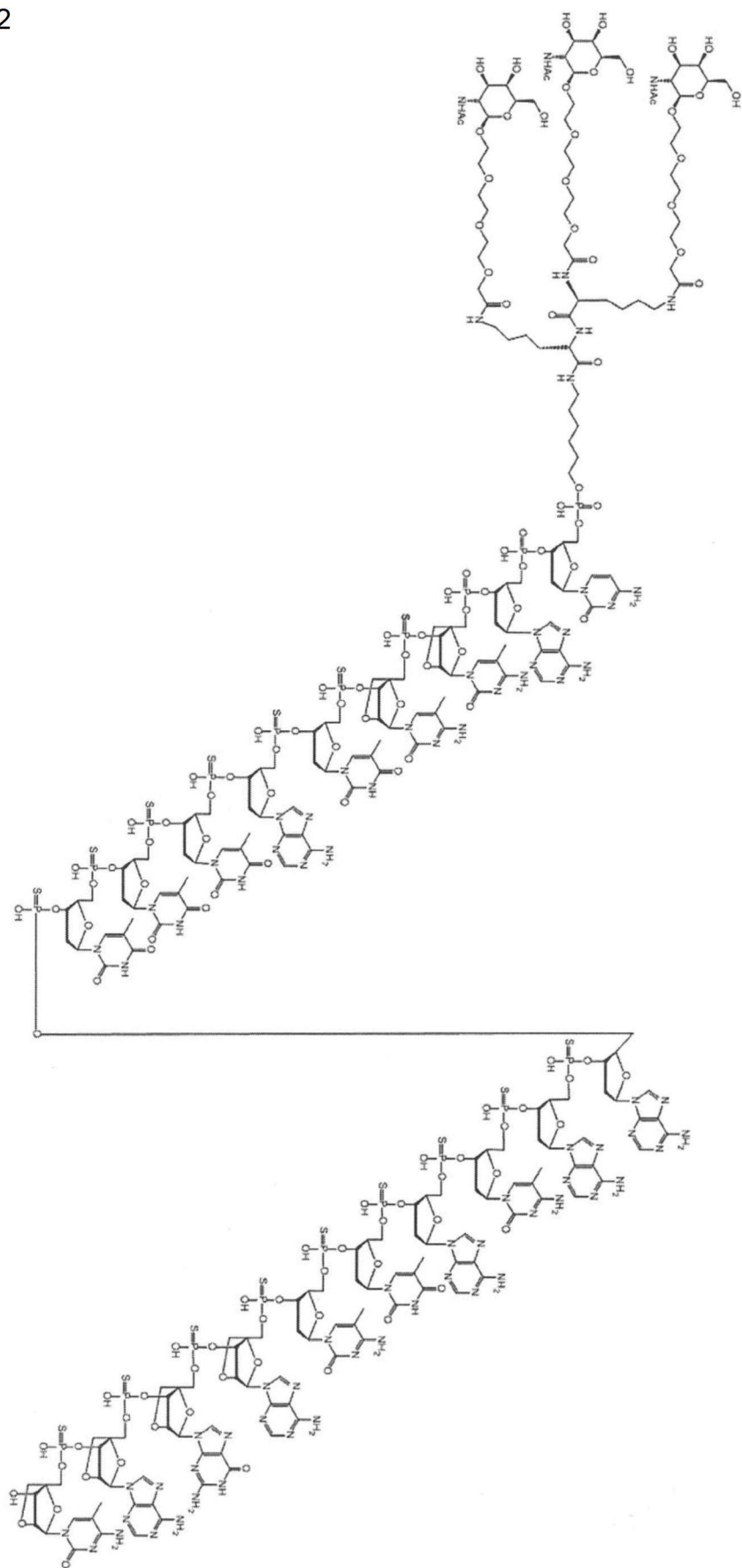
【圖 4】

CMP ID NO 767_2



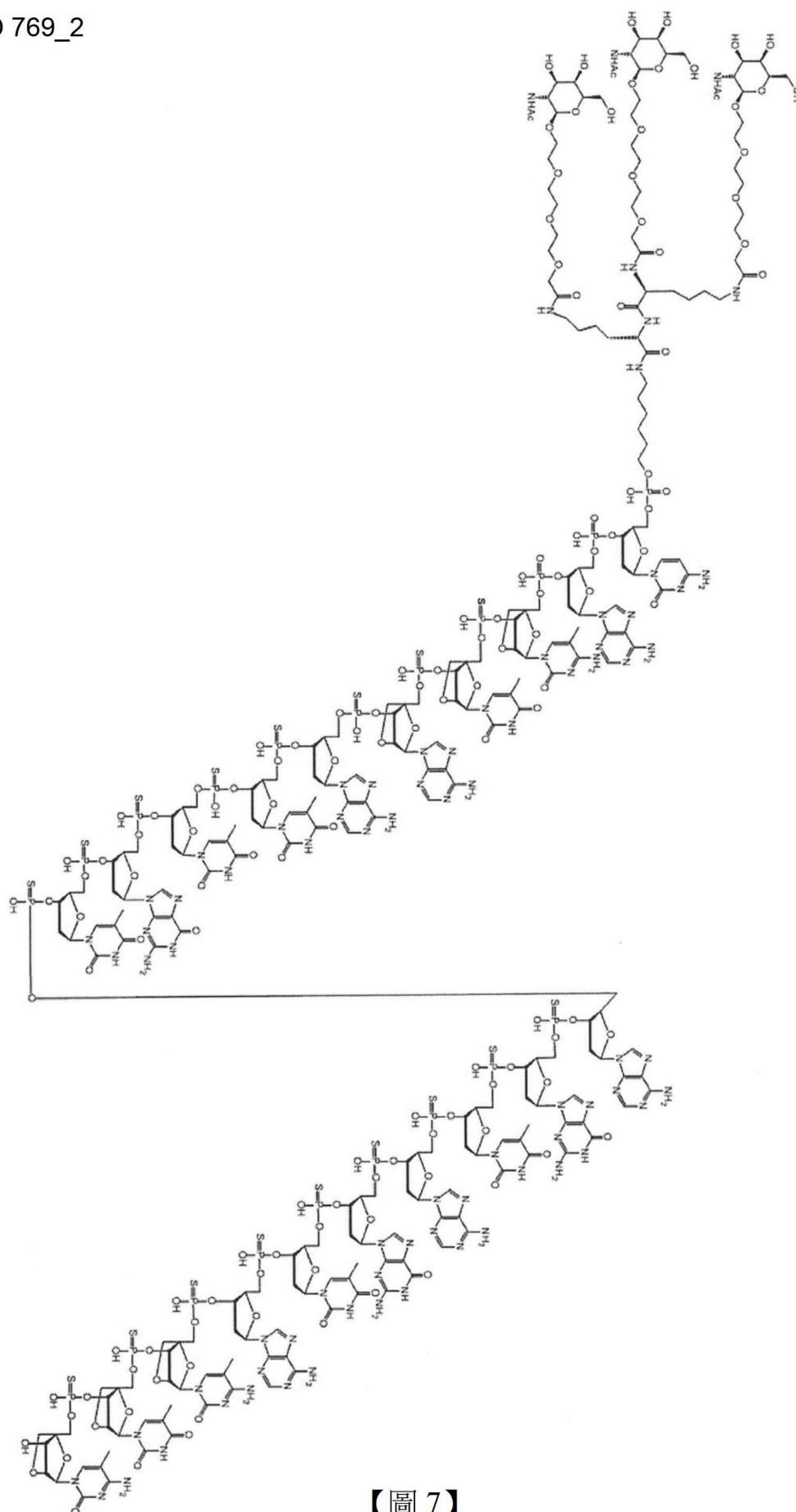
【圖 5】

CMP ID NO 768_2



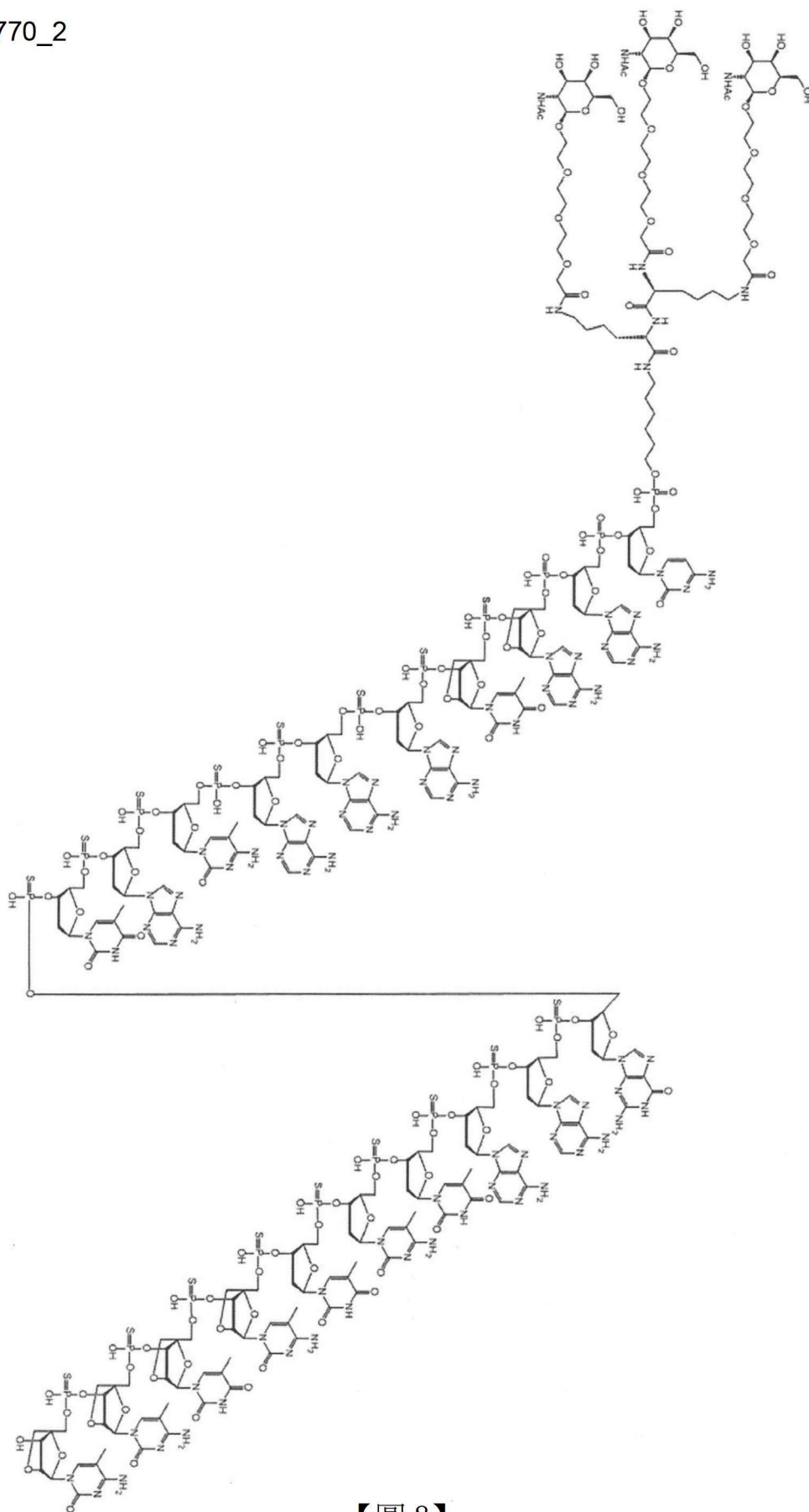
【圖 6】

CMP ID NO 769_2

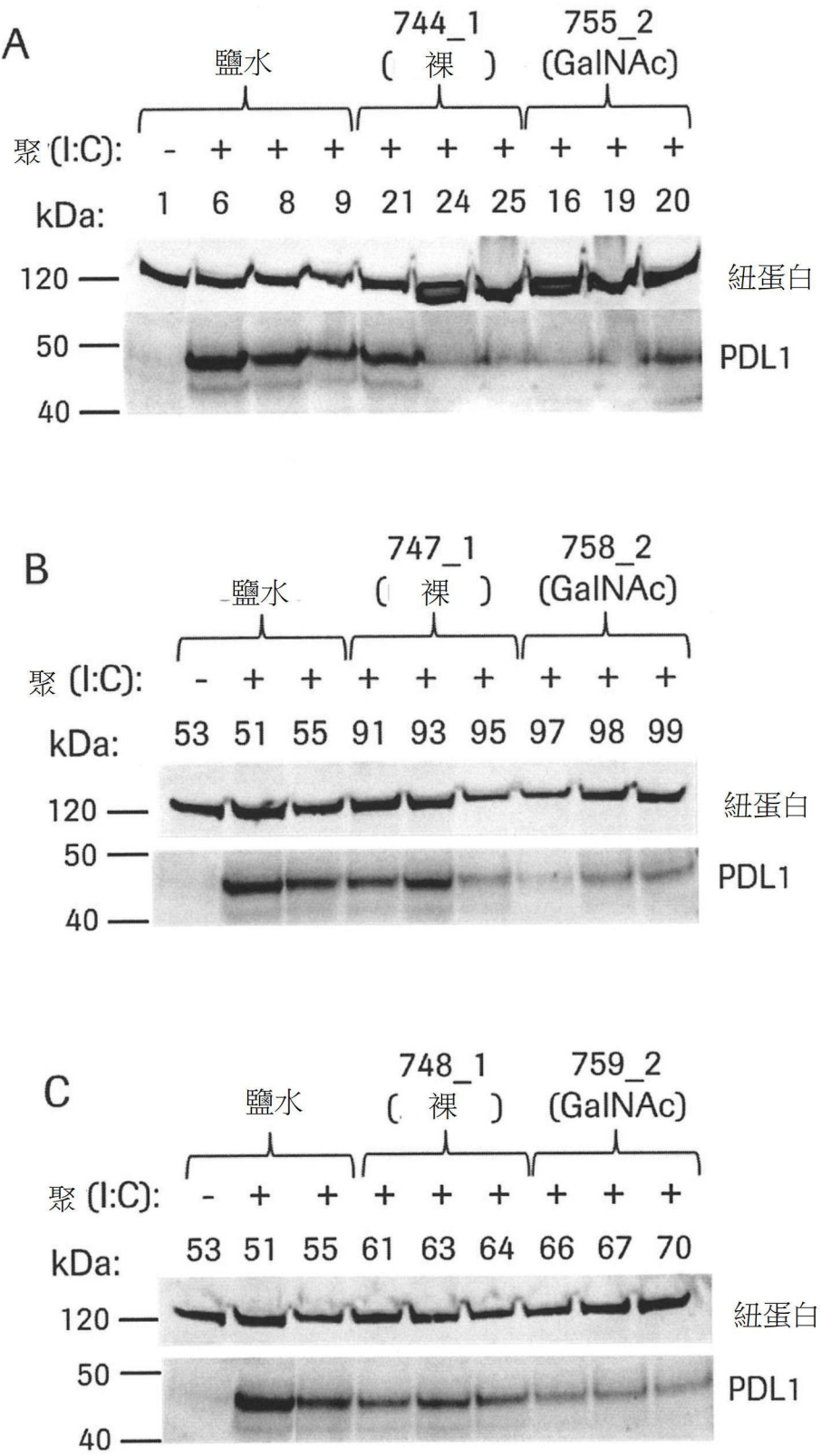


【圖 7】

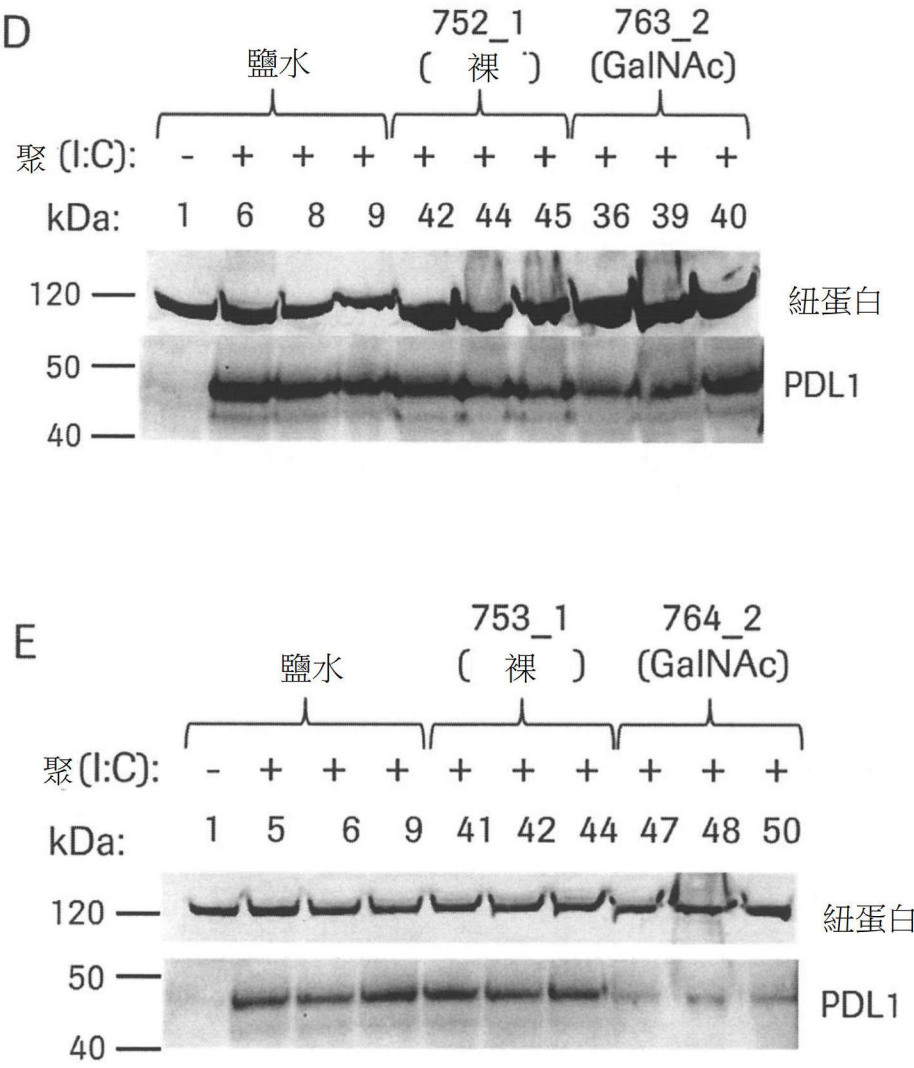
CMP ID NO 770_2



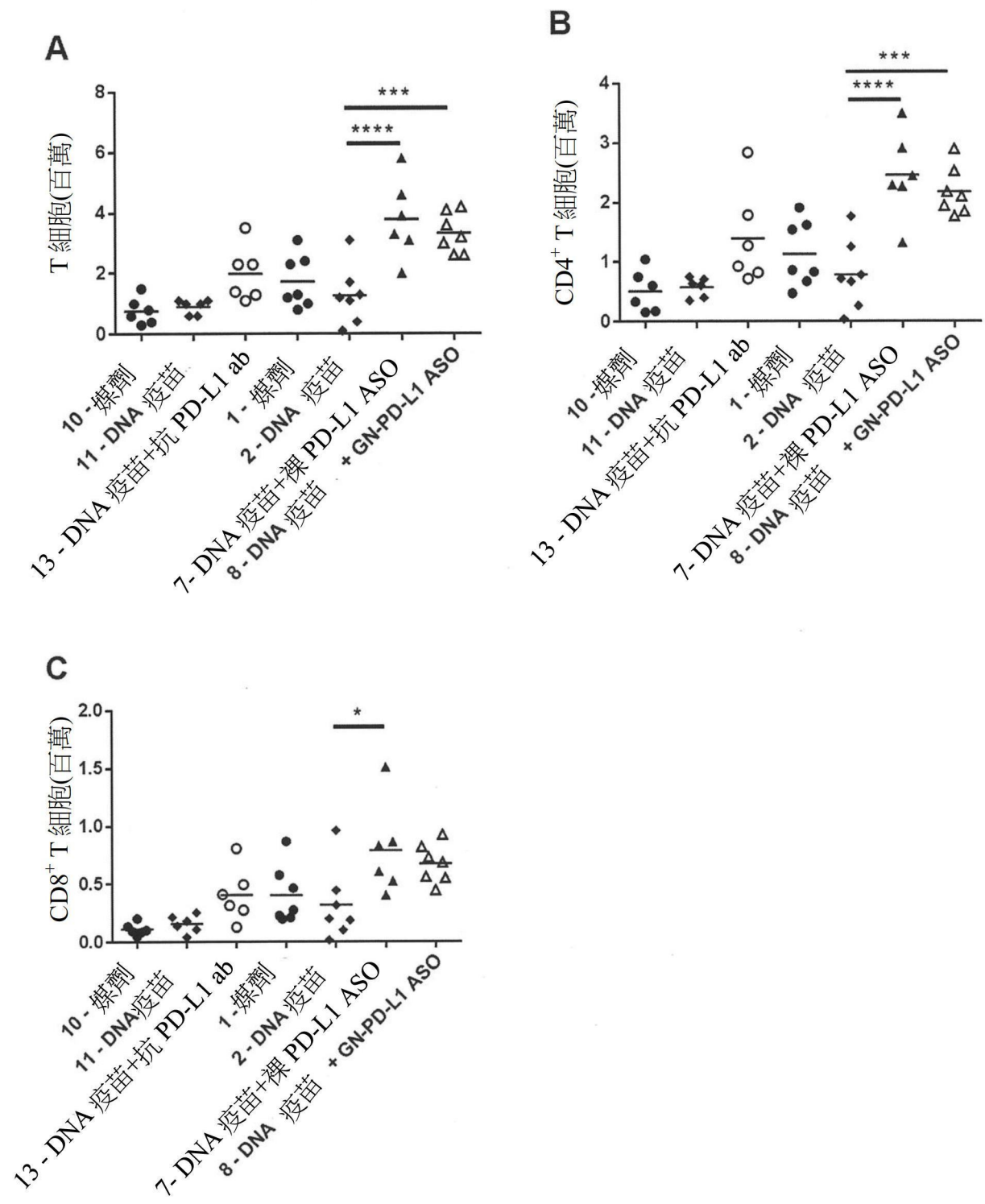
【圖 8】



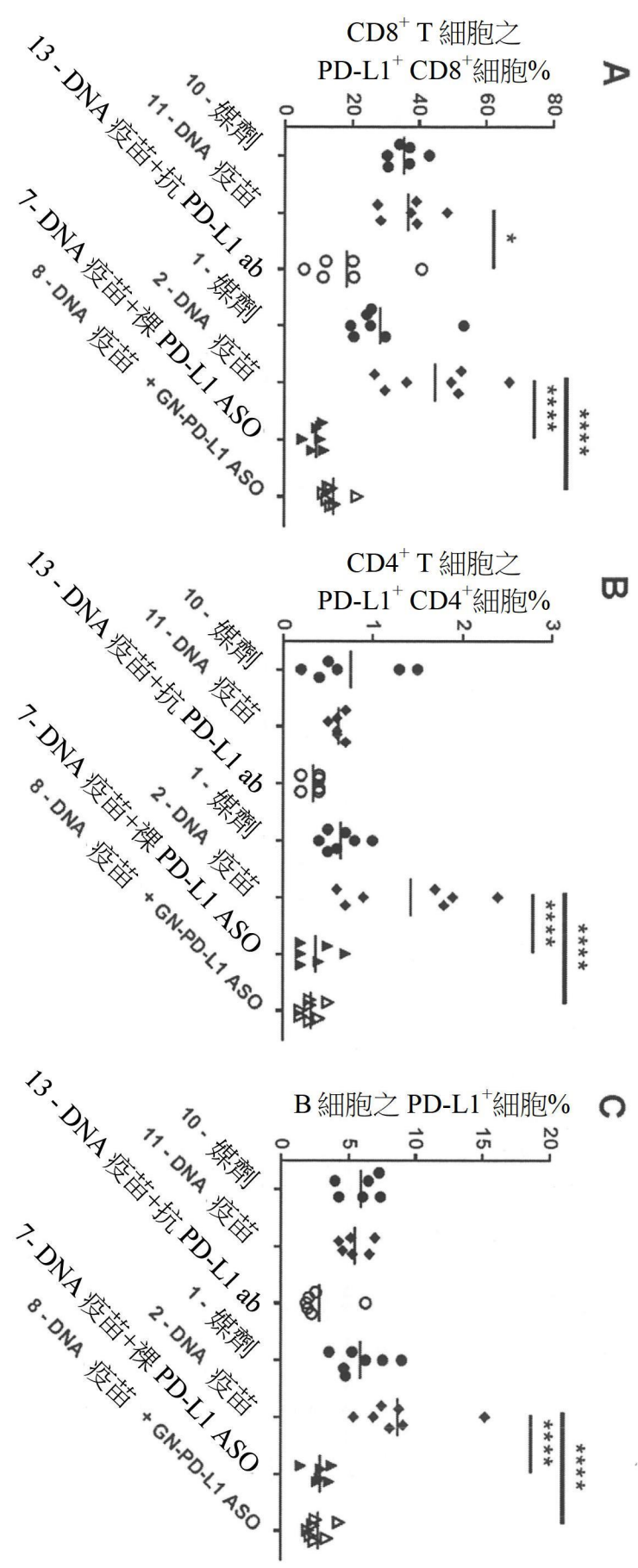
【圖 9】



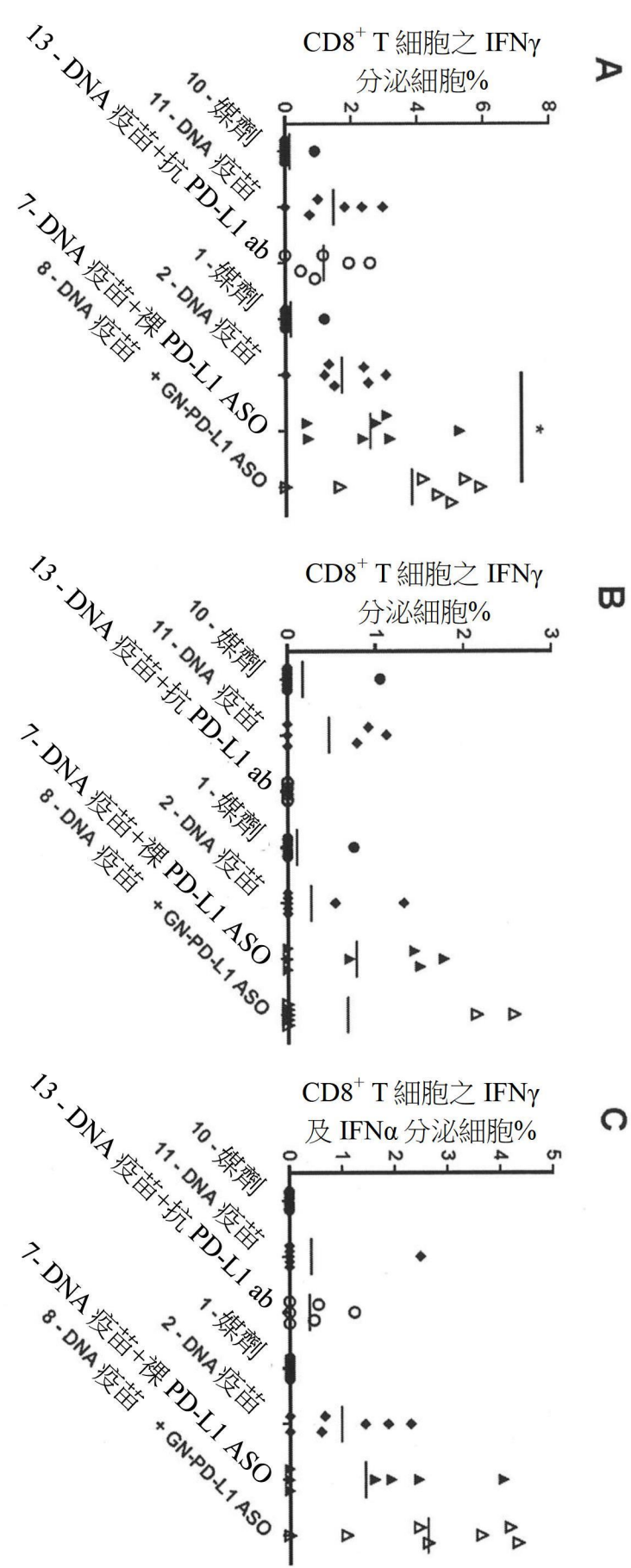
【圖 9】(續)



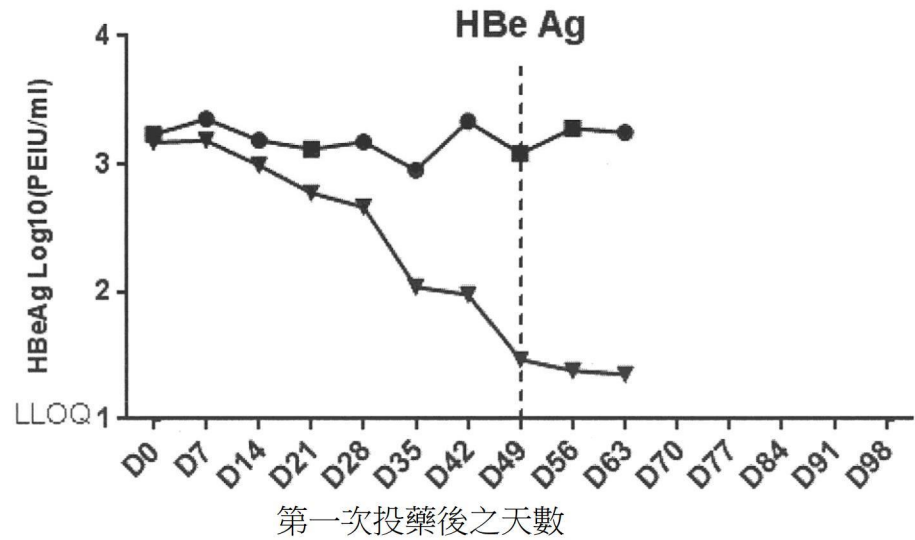
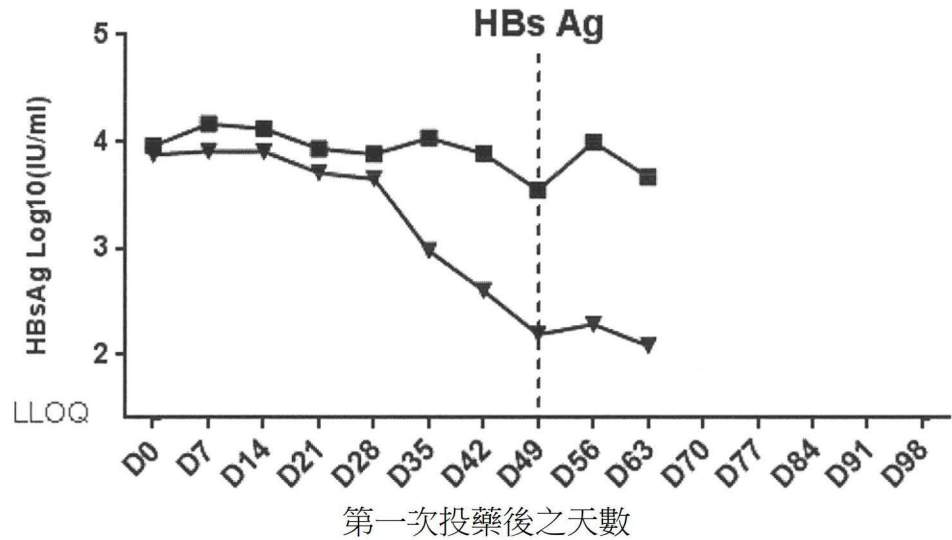
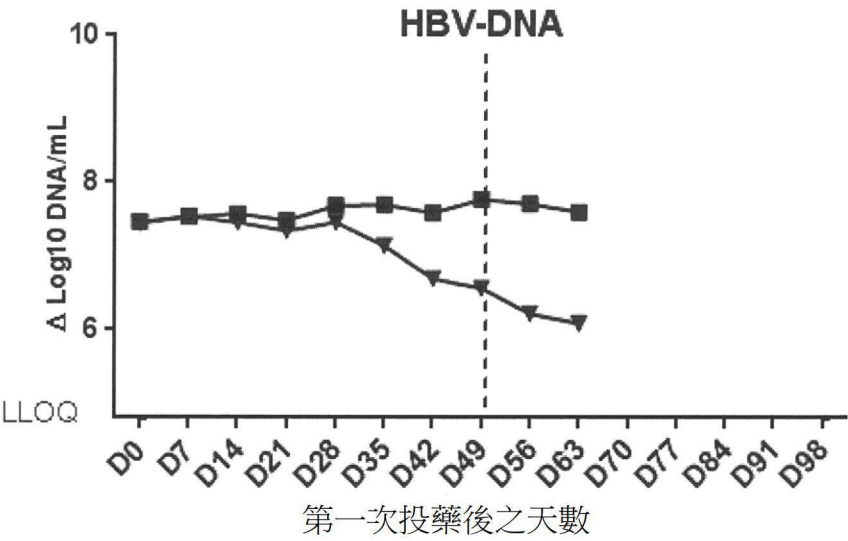
【圖 10】



【圖 11】



【圖 12】



【圖 13】