202142690

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202142690 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：110102736 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 01 月 25 日

(51)Int. Cl.： *C12N15/113 (2010.01)* *A61K31/713 (2006.01)*
A61K48/00 (2006.01) *A61P25/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/01/24 美國 62/965,452
2021/01/18 美國 63/138,717

(71)申請人：艾爾妮蘭製藥公司 (美國) ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：馬克辛尼克 詹母士 D MCININCH, JAMES D. (US)；吉伯特 傑森 GILBERT, JASON (US)；克斯拓雷諾 亞當 CASTORENO, ADAM (US)；丹 藍 泰 宏 DANG,LAN THI HOANG (CA)；樂布朗 莎拉 LEBLANC, SARAH (US)；彭 海燕 PENG,HAIYAN (US)；凱特妮思 察拉藍伯斯 KAITTANIS, CHARALAMBOS (US)；桑德拉潘迪恩 曼歌拉 米納科希 SOUNDARAPANDIAN, MANGALA MEENAKSHI (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：110 項 圖式數：4 共 399 頁

(54)名稱

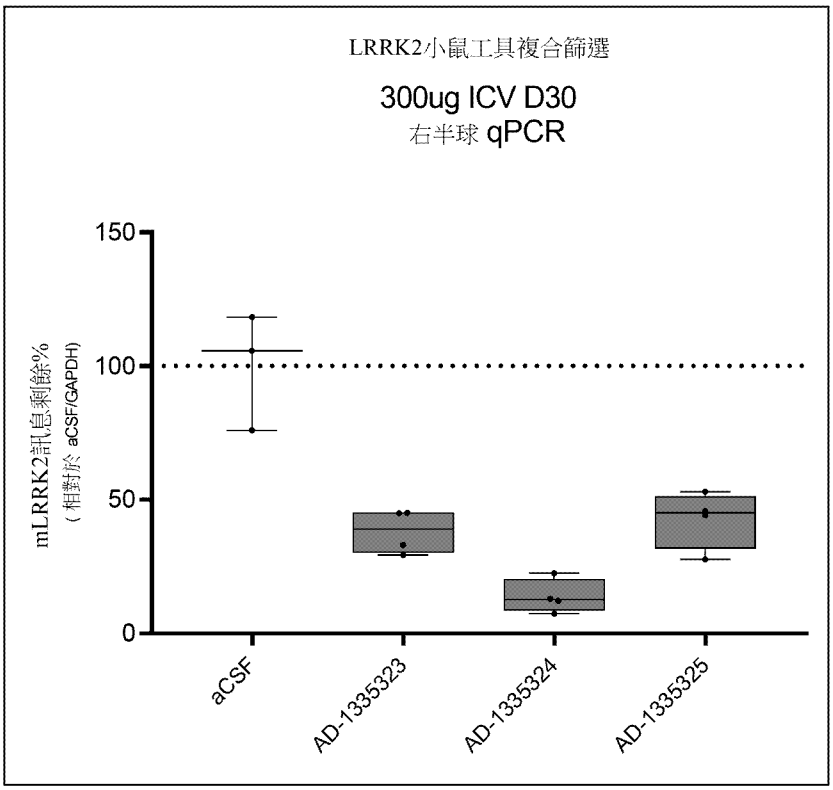
富含白胺酸之重複激酶 2(LRRK2)iRNA 藥劑組合物及其使用方法

(57)摘要

本發明係關於靶向富含白胺酸之重複激酶 2 (LRRK2)基因之雙股核糖核酸(dsRNAi)藥劑及組合物，以及使用此類 dsRNAi 藥劑及組合物抑制 LRRK2 基因表現之方法，及治療患有 LRRK2 相關疾病或病症，例如帕金森氏病之個體之方法。

The disclosure relates to double stranded ribonucleic acid (dsRNAi) agents and compositions targeting a leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) gene, as well as methods of inhibiting expression of a LRRK2 gene and methods of treating subjects having a LRRK2-associated disease or disorder,e.g.,Parkinson's disease, using such dsRNAi agents and compositions.

指定代表圖：


LRRK2小鼠工具複合篩選
300ug ICV D30
右半球 qPCR
mLRRK2訊息剩餘%
（相對於 aCSF/GAPDH）
150
100
50
0
aCSF
AD-1335323
AD-1335324
AD-1335325

【圖1】

202142690

【發明摘要】

【中文發明名稱】

富含白胺酸之重複激酶2(LRRK2)iRNA藥劑組合物及其使用方法

【英文發明名稱】

LEUCINE-RICH REPEAT KINASE 2 (LRRK2) iRNA AGENT COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明係關於靶向富含白胺酸之重複激酶2 (LRRK2)基因之雙股核糖核酸(dsRNAi)藥劑及組合物，以及使用此類dsRNAi藥劑及組合物抑制LRRK2基因表現之方法，及治療患有LRRK2相關疾病或病症，例如帕金森氏病之個體之方法。

【英文】

The disclosure relates to double stranded ribonucleic acid (dsRNAi) agents and compositions targeting a leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) gene, as well as methods of inhibiting expression of a LRRK2 gene and methods of treating subjects having a LRRK2-associated disease or disorder, *e.g.*, Parkinson's disease, using such dsRNAi agents and compositions.

【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】

富含白胺酸之重複激酶2(LRRK2)iRNA藥劑組合物及其使用方法

【英文發明名稱】

LEUCINE-RICH REPEAT KINASE 2 (LRRK2) iRNA AGENT COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 編碼蛋白質Lrrk2之富含白胺酸之重複激酶2 (LRRK2)基因位於染色體區12q11.2-q13.1中。Lrrk2屬於Ras/GTP酶超家族之Roco蛋白質家族。高度保守的Lrrk2蛋白由51個外顯子構成，具有總共2527個胺基酸，包含包括複合物之Ras (Ras of complex，ROC) GTP酶域及絲胺酸/蘇胺酸激酶域之酶域。Lrrk2蛋白中之其他蛋白相互作用域包括富含白胺酸之重複域、C端WD40重複域，及犰狳及錨蛋白重複域。

【0002】 LRRK2基因中之突變被認為係顯性遺傳形式的帕金森氏病(Parkinson's disease，PD)之誘因，帕金森氏病係一種逐漸致衰弱的神經退化性症候群。LRRK2突變已與患者中以下之表型顯現相關：額顳葉退化、皮質基底核退化、黑質緻密部(substantia nigra pars compacta，SNpc)中之多巴胺激導性神經元退化、路易體(Lewy body) (聚集α-突觸核蛋白及其他泛素化蛋白之神經元包涵體)之存在及相關運動神經元疾病。LRRK2突變亦已發現於偶發性PD病例中，該等病例具有賦予LRRK2表現增加(增加約2倍)之單核苷酸多型性(SNP)，該表現增加可能由於確立了激酶活性會增加而促成疾病病因。鑒於LRRK2相關家族性及偶發性PD之臨

床表現的類似性，LRRK2中之誤義及/或缺失突變可能在家族性及偶發性PD之疾病病因中起關鍵作用。

【0003】 目前帕金森氏病不存在治癒方法，且治療僅旨在緩解症狀且提高患者隨著疾病進展之生活品質。因此，需要可選擇性且有效地抑制LRRK2基因之表現的藥劑，使得可有效治療患有LRRK2相關病症，例如帕金森氏病之個體。

【發明內容】

【0004】 本發明提供RNAi組合物，其實現LRRK2基因之RNA轉錄物的RNA誘導型緘默化複合體(RISC)介導之裂解。LRRK2基因可位於細胞，例如個體(諸如人類)內之細胞內。使用此等iRNA能夠實現哺乳動物中之相應基因(LRRK2基因)之mRNA的靶向降解。

【0005】 本發明之iRNA已經設計以靶向LRRK2基因，例如在基因之外顯子中具有誤義及/或缺失突變且具有核苷酸修飾之組合的LRRK2基因。本發明之iRNA相對於對照含量抑制LRRK2基因之表現至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。且降低含有義股及反義股基因座之含量。不意欲受理論限制，咸信此等iRNA中之前述特性及特定目標位點或特定修飾之組合或子組合賦予本發明之iRNA提高之功效、穩定性、效能、耐久性及安全性。在一個態樣中，本發明提供用於抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，其中有義股包含與SEQ ID NO: 1之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸且反義股包含與SEQ ID NO: 2之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【0006】 在另一態樣中，本發明提供一種用於抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，其中反義股包含編碼LRRK2之mRNA的互補區，且其中互補區包含與SEQ ID NO: 2之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【0007】 在又一態樣中，本發明提供一種用於抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，其中反義股包含編碼LRRK2之mRNA的互補區，且其中互補區包含與表3-4及6-7中之任一者中的反義核苷酸序列中之任一者相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【0008】 在一個實施例中，有義股包含至少15個連續核苷酸，其與以下核苷酸序列中之任一者相差不超過三個核苷酸：SEQ ID NO: 1之核苷酸3383-3403、2105-2125、2356-2376、5413-5433、2603-2623、3563-3583、2192-2212、3088-3108、3105-3125、2203-2223、7348-7368、7097-7117、6319-6339、3886-3906、5190-5210、3964-3984、5138-5158、1254-1274、7098-7118、7048-7068、7050-7070、2764-2784、3087-3107、7526-7546、4849-4869、5272-5292、468-488、7520-7540、3720-3740、4016-4036、7792-7812、2515-2535、2286-2306、4014-4034、3721-3741、2284-2304、1896-1916、3876-3896、7788-7808、4013-4033、1275-1295、7527-7547、3606-3626、7525-7545、2356-2376、3105-3125及5413-5433，且反義股包含來自SEQ ID NO: 2之對應核苷酸序列的至少15個連續核苷酸。

【0009】 在一個實施例中，有義股包含至少15個連續核苷酸，其與

以下核苷酸序列中之任一者相差不超過三個核苷酸：SEQ ID NO: 1之核苷酸468-488、1254-1274、2105-2125、2192-2212、2203-2223、2603-2623、2764-2784、3087-3107、3088-3108、3383-3403、3563-3583、3876-3896、3886-3906、3964-3984、4849-4869、5138-5158、5190-5210、5272-5292、6319-6339、7097-7117、7098-7118及7348-7368，且反義股包含來自SEQ ID NO: 2之對應核苷酸序列的至少15個連續核苷酸。

【0010】在一個實施例中，反義股包含至少15個連續核苷酸，其與選自由以下組成之群的雙螺旋體之反義股核苷酸序列中之任一者相差不超過三個核苷酸：AD-601140.1、AD-599927.1、AD-612673.1、AD-615420.1、AD-600406.1、AD-601294.1、AD-600013.1、AD-600853.1、AD-613382.1、AD-600024.1、AD-604701.1、AD-604452.1、AD-603747.1、AD-601616.1、AD-602766.1、AD-601694.1、AD-602734.1、AD-599139.1、AD-604453.1、AD-616783.1、AD-616785.1、AD-600566.1、AD-600852.1、AD-617239.1、AD-602466.1、AD-602848.1、AD-598424.1、AD-617233.1、AD-613965.1、AD-614239.1、AD-617466.1、AD-612820.1、AD-612611.1、AD-614237.1、AD-613966.1、AD-612609.1、AD-612246.1、AD-601606.1、AD-617462.1、AD-614236.1、AD-611650.1、AD-617240.1、AD-613851.1、AD-617238.1、AD-1335323.1、AD-1335325.1及AD-1335324.1。

【0011】在一個實施例中，反義股包含至少15個連續核苷酸，其與選自由以下組成之群的雙螺旋體之反義股核苷酸序列中之任一者相差不超

過三個核苷酸：AD-1508169、AD-1508884、AD-1509672、AD-1509758、AD-1509769、AD-1510151、AD-1510311、AD-1510597、AD-1510598、AD-1510885、AD-1511039、AD-1511351、AD-1511361、AD-1511439、AD-1512211、AD-1512479、AD-1512511、AD-1512593、AD-1513492、AD-1514197、AD-1514198及AD-1514446。

【0012】在一些實施例中，有義股及反義股之核苷酸序列包含表3或4中之任一者中的有義股核苷酸序列中之任一者。

【0013】在一些實施例中，有義股及反義股之核苷酸序列包含表6或7中之任一者中的有義股核苷酸序列中之任一者。

【0014】在一個實施例中，有義股、反義股或有義股及反義股兩者與一或多個親脂性部分結合。

【0015】在一個實施例中，親脂性部分結合於dsRNA藥劑之雙股區中的一或多個內部位置。

【0016】在一個實施例中，親脂性部分經由連接體或載體結合。

【0017】在一個實施例中，藉由logKow量測之親脂性部分之親脂性超過0。

【0018】在一個實施例中，藉由雙股RNAi藥劑之血漿蛋白結合分析中之未結合部分量測的雙股RNAi藥劑之疏水性超過0.2。

【0019】在一個實施例中，血漿蛋白結合分析為使用人類血清白蛋白之電泳遷移率分析。

【0020】在一些實施例中，dsRNA藥劑包含至少一個經修飾之核苷酸。

【0021】 在一個實施例中，不超過五個有義股之核苷酸及不超過五個反義股之核苷酸為未經修飾之核苷酸。

【0022】 在一個實施例中，有義股之所有核苷酸及反義股之所有核苷酸均為經修飾之核苷酸。

【0023】 在一個實施例中，經修飾之核苷酸中之至少一者係選自以下之群：去氧-核苷酸、3'末端去氧胸苷(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾核苷酸、2'-氟修飾核苷酸、2'-去氧-修飾核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸、構形受限核苷酸、經約束乙基核苷酸、無鹼基核苷酸、2'-胺基-修飾核苷酸、2'-O-烯丙基-修飾核苷酸、2'-C-烷基-修飾核苷酸、2'-羥基-修飾核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾核苷酸、2'-O-烷基-修飾核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫哌喃修飾核苷酸、1,5-無水己糖醇修飾核苷酸、環己烯基修飾核苷酸、包含5'-硫代磷酸酯基團之核苷酸、包含5'-甲基膦酸酯基團之核苷酸、包含5'磷酸酯或5'磷酸酯模擬物之核苷酸、包含膦酸乙烯酯之核苷酸、包含腺苷-二醇核酸(GNA)之核苷酸、包含胸苷-二醇核酸(GNA) S-異構體之核苷酸、包含2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸酯之核苷酸、包含2'-去氧胸苷-3'磷酸酯之核苷酸、包含2'-去氧鳥苷-3'-磷酸酯之核苷酸及與膽固醇基衍生物及十二烷酸雙癸基醯胺基連接之末端核苷酸；及其組合。

【0024】 在一個實施例中，經修飾核苷酸選自由以下組成之群：2'-去氧-2'-氟修飾核苷酸、2'-去氧-修飾核苷酸、3'末端去氧胸苷核苷酸(dT)、鎖核苷酸、無鹼基核苷酸、2'-胺基-修飾核苷酸、2'-烷基-修飾核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯及包含非天然鹼基之核苷酸。

【0025】 在一個實施例中，經修飾之核苷酸包含3'末端去氧胸苷核

苷酸(dT)之短序列。

【0026】 在一個實施例中，核苷酸上之修飾為2'-O-甲基、GNA及2'氟修飾。

【0027】 在一些實施例中，dsRNA藥劑進一步包含至少一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【0028】 在一個實施例中，dsRNA藥劑包含6至8個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【0029】 在一個實施例中，各股之長度不超過30個核苷酸。

【0030】 在一個實施例中，至少一股包含至少1個核苷酸之3'懸垂部份。在另一實施例中，至少一股包含至少2個核苷酸之3'懸垂部份。

【0031】 雙股區可為15至30個核苷酸對長；17至23個核苷酸對長；17至25個核苷酸對長；23至27個核苷酸對長；19至21個核苷酸對長；或21至23個核苷酸對長。

【0032】 各股可具有19至30個核苷酸；19至23個核苷酸；或21至23個核苷酸。

【0033】 在一個實施例中，一或多個親脂性部分諸如經由連接體或載體結合於至少一股上之一或多個內部位置。

【0034】 在一個實施例中，內部位置包括除至少一股之各端之末端兩個位置之外的所有位置。

【0035】 在另一實施例中，內部位置包括除至少一股之各端之末端三個位置之外的所有位置。

【0036】 在一個實施例中，內部位置不包括有義股之裂解位點區域。

【0037】 在一個實施例中，內部位置包括除自有義股之5'端計數的位置9至12外之所有位置。

【0038】 在另一實施例中，內部位置包括除自有義股之3'端計數的位置11至13外之所有位置。

【0039】 在一個實施例中，內部位置不包括反義股之裂解位點區域。

【0040】 在一個實施例中，內部位置包括除自反義股之5'端計數的位置12至14外之所有位置。

【0041】 在一個實施例中，內部位置包括除自3'端計數的有義股上之位置11至13，及自5'端計數的反義股上之位置12至14外之所有位置。

【0042】 在一個實施例中，一或多個親脂性部分結合於選自由以下組成之群的內部位置中之一或多者：自各股之5'端計數的有義股上之位置4至8及13至18及反義股上之位置6至10及15至18。

【0043】 在另一實施例中，一或多個親脂性部分結合於選自由以下組成之群的內部位置中之一或多者：自各股之5'端計數的有義股上之位置5、6、7、15及17及反義股上之位置15及17。

【0044】 在一個實施例中，雙股區中之內部位置不包括有義股之裂解位點區域。

【0045】 在一個實施例中，有義股之長度為21個核苷酸，反義股之長度為23個核苷酸，且親脂性部分結合於有義股之位置21、位置20、位置15、位置1、位置7、位置6或位置2，或反義股之位置16。

【0046】 在一個實施例中，親脂性部分結合於有義股之位置21、位置20、位置15、位置1或位置7。

【0047】 在另一實施例中，親脂性部分結合於有義股之位置21、位置20或位置15。

【0048】 在又一實施例中，親脂性部分結合於有義股之位置20或位置15。

【0049】 在一個實施例中，親脂性部分結合於反義股之位置16。

【0050】 在一個實施例中，親脂性部分為脂族、脂環族或聚脂環族化合物。

【0051】 在一個實施例中，親脂性部分係選自由以下組成之群：脂質、膽固醇、視黃酸、膽酸、金剛烷乙酸、1-茋丁酸、二氫睪固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉氧基己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷腦、1,3-丙二醇、十七烷基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基或啡噁吡。

【0052】 在一個實施例中，親脂性部分含有飽和或不飽和C4-C30烴鏈及選自由羥基、胺、羧酸、磺酸酯、磷酸酯、硫醇、疊氮基及炔烴組成之群的視情況選用之官能基。

【0053】 在一個實施例中，親脂性部分含有飽和或不飽和C6-C18烴鏈。

【0054】 在一個實施例中，親脂性部分含有飽和或不飽和C16烴鏈。

【0055】 在一個實施例中，飽和或不飽和C16烴鏈結合於自股之5'端計數的位置6。

【0056】 在一個實施例中，親脂性部分經由置換一或多個內部位置或雙股區中之一或多個核苷酸的載體結合。

【0057】 在一個實施例中，載體係選自由以下組成之群的環狀基團：吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌咔基、[1,3]二氧戊環基、噁唑啶基、異噁唑啶基、嗎啉基、噻唑啶基、異噻唑啶基、喹喏啉基、噠咔酮基、四氫呋喃基及十氫萘基；或係基於絲胺醇主鏈或二乙醇胺主鏈之非環狀部分。

【0058】 在一個實施例中，親脂性部分經由含有醚、硫醚、脲、碳酸酯、胺、醯胺、順丁烯二醯亞胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺醯胺鍵、點擊反應(click reaction)之產物或胺基甲酸酯的連接基團與雙股iRNA藥劑結合。

【0059】 在一個實施例中，親脂性部分與核鹼基、糖部分或核苷間鍵結合。

【0060】 在一個實施例中，親脂性部分或靶向配位體經由選自由以下組成之群的生物可裂解連接體結合：DNA、RNA、二硫化物、醯胺；半乳胺糖、葡糖胺、葡萄糖、半乳糖、甘露糖之官能化單醣或寡醣及其組合。

【0061】 在一個實施例中，有義股之3'端經由為具有胺之環狀基團的端帽保護，該環狀基團選自由以下組成之群：吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌咔基、[1,3]二氧戊環基、噁唑啶基、異噁唑啶基、嗎啉基、噻唑啶基、異噻唑啶基、喹喏啉基、噠咔酮基、四氫呋喃基及十氫萘基。

【0062】 在一個實施例中，dsRNA藥劑進一步包含靶向肝組織之靶向配位體。

【0063】 在一個實施例中，靶向配位體為GalNAc結合物。

【0064】 在一個實施例中，dsRNA藥劑進一步包含存在於反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於有義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態或Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【0065】 在另一實施例中，dsRNA藥劑進一步包含存在於反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵及第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及存在於有義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【0066】 在又一實施例中，dsRNA藥劑進一步包含存在於反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵、第二核苷酸間鍵及第三核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及存在於有義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【0067】 在另一實施例中，dsRNA藥劑進一步包含存在於反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵及第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之3'端處的第三核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及存在於有義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之鍵聯磷原子

的末端對掌性修飾。

【0068】 在另一實施例中，dsRNA藥劑進一步包含存在於反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵及第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，存在於反義股之5'端處的第一核苷酸間鍵及第二核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及存在於有義股之5'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【0069】 在一個實施例中，dsRNA藥劑進一步包含反義股之5'端處的磷酸酯或磷酸酯模擬物。

【0070】 在一個實施例中，磷酸酯模擬物為5'-乙烯基膦酸酯(VP)。

【0071】 在一個實施例中，雙螺旋體之反義股之5'端之1號位置處之鹼基對為AU鹼基對。

【0072】 在一個實施例中，有義股具有總共21個核苷酸且反義股具有總共23個核苷酸。

【0073】 本發明亦提供包含本發明之此類dsRNA藥劑的用於抑制編碼LRRK2之基因之表現的細胞及醫藥組合物。

【0074】 在一個實施例中，dsRNA藥劑存在於未緩衝溶液，諸如生理鹽水或水中。

【0075】 在另一實施例中，dsRNA藥劑存在於緩衝溶液，諸如包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任何組合之緩衝溶液；或磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)中。

【0076】 在一個態樣中，本發明提供一種抑制細胞中LRRK2基因之表現的方法，該方法包含使細胞與本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥

組合物接觸，從而抑制細胞中LRRK2基因之表現。

【0077】 在一個實施例中，細胞在個體內。

【0078】 在一個實施例中，個體為人類。

【0079】 在一個實施例中，個體患有LRRK2相關病症。

【0080】 在一個實施例中，個體之LRRK2相關病症為神經退化性病症。在另一實施例中，個體之LRRK2相關病症為眼部病症。

【0081】 在一個實施例中，LRRK2相關病症係選自由帕金森氏病或相關病症及眼部病症組成之群。

【0082】 在一些實施例中，使細胞與dsRNA藥劑接觸相對於對照含量抑制LRRK2之表現至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。

【0083】 在一些實施例中，抑制LRRK2之表現相對於對照含量使個體血清中LRRK2蛋白質含量降低至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。

【0084】 在一個態樣中，本發明提供治療患有可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體的方法，其包含向個體投與治療有效量之本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物，由此治療患有可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體。

【0085】 在另一態樣中，本發明提供一種預防患有可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體之至少一種症狀的方法，其包含向個體投與預防有效量之本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物，由此預防患有可

因降低LRRK2表現而受益之病症之個體的至少一種症狀。

【0086】 在一個實施例中，病症為LRRK2相關病症。

【0087】 在一些實施例中，LRRK2相關病症係選自由帕金森氏病、克隆氏病(Crohn's disease)及眼部病症組成之群。

【0088】 在一個實施例中，個體為人類。

【0089】 在一個實施例中，向個體投與藥劑引起LRRK2蛋白積聚減少。

【0090】 在一個實施例中，dsRNA藥劑以約0.01 mg/kg至約50 mg/kg之劑量向個體投與。

【0091】 在一個實施例中，dsRNA藥劑向個體皮下投與。

【0092】 在另一實施例中，dsRNA藥劑向個體鞘內投與。

【0093】 在又一實施例中，dsRNA藥劑向個體腦池內投與。非限制性例示性腦池內投與包含藉由枕下穿刺注射至大池(小腦延髓池)中。

【0094】 在一個實施例中，本發明之方法進一步包含測定來自個體之一或多個樣品中之LRRK2含量。

【0095】 在一個實施例中，一或多個個體樣品中之LRRK2含量為一或多個血液、血清或腦脊髓液樣品中之LRRK2蛋白含量。

【0096】 在一個實施例中，本發明之方法進一步包含向個體投與額外治療劑。

【0097】 在一個態樣中，本發明提供一種套組，其包含本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物。

【0098】 在另一態樣中，本發明提供一種小瓶，其包含本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物。

【0099】 在又一態樣中，本發明提供一種注射器，其包含本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物。

【0100】 在另一態樣中，本發明提供一種鞘內泵，其包含本發明之dsRNA藥劑或本發明之醫藥組合物。

【圖式簡單說明】

【0101】

圖1展示描繪在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與代表性RNAi藥劑AD-1335323.1、AD-1335324.1或AD-1335325.1之後，腦(右半球)中LRRK2 mRNA之減少的圖式。結果表明相對於對照動物，投與RNAi藥劑之動物中LRRK2 mRNA含量降低。

圖2展示描繪在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與代表性RNAi藥劑AD-1335323.1、AD-1335324.1或AD-1335325.1之後，腦(右半球)、肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA之相對減少的圖式。結果展示肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA含量之降低遵循與腦(右半球)中觀測到相同的KD趨勢，但程度較低且具有更多變化。在肺及腎中未經由組織學觀測到毒理學徵象。

圖3A-3B展示在表現LRRK2之小鼠之腦中AD-1335324投與下觀測到之LRRK2 mRNA表現的劑量反應性減少。圖3A展示描繪在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與代表性RNAi藥劑AD-1335324.1之後，腦(右半球)中LRRK2 mRNA之減少的圖式。結果展示相對於對照動物，投與RNAi藥劑之動物中LRRK2 mRNA含量之劑量反應性減少。圖3B展示描繪AD-1335324.1在CNS中之IC50之圖式。絕對IC50值測定為108.5 μg。

圖4展示描繪在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與代表性RNAi藥劑AD-

1335324後，腦(右半球)、肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA之相對減少的圖式。結果展現使用未觀測到LRRK2 mRNA之劑量反應性減少的劑量之肺(左葉)中之KD顯著變化。在腎(右)中，投與10至300 μg AD-1335324之不同劑量未觀測到LRRK2 mRNA減少。

【實施方式】

【0102】

相關申請案之交叉參考

本申請案主張在2020年1月24日申請之美國臨時申請案第62/965,452號之優先權，且主張在2021年1月18日申請之美國臨時申請案第63/138,717號之權利。前述申請案之全部內容以引用的方式併入本文中。

【0103】

序列表

本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且以全文引用的方式併入本文中。在2021年1月20日創建之ASCII複本名稱為AA108868_1010WO_SL.txt且大小為170,470位元組。

【0104】 本發明提供RNAi組合物，其實現LRRK2基因之RNA轉錄物的RNA誘導型緘默化複合體(RISC)介導之裂解。LRRK2基因可位於細胞，例如個體(諸如人類)內之細胞內。使用此等iRNA能夠實現哺乳動物中之相應基因(LRRK2基因)之mRNA的靶向降解。

【0105】 本發明之iRNA已經設計以靶向LRRK2基因，例如具有或不具有核苷酸修飾之LRRK2基因。相對於對照含量，本發明之iRNA抑制LRRK2基因之表現至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%，且降

低含有義股及反義股基因座之含量。不意欲受理論限制，咸信此等iRNA中之前述特性及特定目標位點或特定修飾之組合或子組合賦予本發明之iRNA提高之功效、穩定性、效能、耐久性及安全性。

【0106】因此，本發明亦提供使用本發明之RNAi組合物抑制LRRK2基因表現或治療患有將得益於抑制或降低LRRK2基因表現之病症之個體的方法，該病症例如LRRK2相關疾病，例如神經退化性疾病，諸如帕金森氏病，或眼部病症。

【0107】本發明之RNAi藥劑包括具有長度為約30個核苷酸或更短，例如長度為15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個核苷酸之區域的RNA股(反義股)，該區域實質上與LRRK2基因，例如LRRK2外顯子之mRNA轉錄物的至少一部分互補。在某些實施例中，本發明之RNAi藥劑包括具有長度為約21至23個核苷酸之區域的RNA股(反義股)，該區域實質上與LRRK2基因之mRNA轉錄物的至少一部分互補。

【0108】在某些實施例中，本發明之RNAi藥劑包括可包括長度較長，例如長度為至多66個核苷酸，例如36-66、26-36、25-36、31-60、22-43、27-53個核苷酸，具有實質上與LRRK2基因之mRNA轉錄物的至少一部分互補之至少19個連續核苷酸的區域的RNA股(反義股)。具有較長

長度反義股之此等RNAi藥劑較佳包括長度為20至60個核苷酸之第二RNA股(有義股)，其中有義股及反義股形成18至30個連續核苷酸之雙螺旋體。

【0109】 使用此等RNAi藥劑能夠實現哺乳動物中LRRK2基因之mRNA的靶向降解及/或抑制。因此，包括此等RNAi藥劑之方法及組合物適用於治療將得益於LRRK2蛋白質之含量或活性降低的個體，諸如患有LRRK2相關疾病，諸如帕金森氏病，或眼部病症之個體。

【0110】 以下實施方式揭示如何製造及使用含有RNAi藥劑之組合物以抑制LRRK2基因之表現，以及用於治療患有將得益於基因表現之抑制或降低之疾病及病症的個體的組合物及方法。

【0111】

I. 定義

為了使本發明可更易於理解，首先對某些術語進行定義。另外，應注意，每次敍述參數之值或值範圍時，意欲所述值之中間值及範圍亦意欲為本發明的一部分。

【0112】 冠詞「一(a/an)」在本文中用於指一種或多於一種(亦即，至少一種)該冠詞之文法對象。舉例而言，「要素」意謂一個要素或多於一個要素，例如複數個要素。

【0113】 術語「包括」在本文中用於意謂片語「包括但不限於」且可與其互換使用。除非上下文另外明確指示，否則術語「或」在本文中用於意謂術語「及/或」且可與其互換使用。

【0114】 術語「約」在本文中用於意謂在此項技術中的許可差的典型範圍內。舉例而言，「約」可理解為與平均值差約2個標準差。在某些實施例中，約平均值±10%。在某些實施例中，約平均值±5%。當約存在於

一系列數或範圍之前時，應理解，「約」可修飾該系列或範圍中之數中之每一者。

【0115】 一個數或一系列數前的術語「至少」應理解為包括與術語「至少」相鄰的數及可邏輯地包括在內的所有後續數或整數，如上下文所明示。舉例而言，核酸分子中之核苷酸數目必須為整數。舉例而言，「21個核苷酸核酸分子之至少18個核苷酸」意謂18、19、20或21個核苷酸具有指定特性。當至少存在於一系列數或範圍之前時，應理解，「至少」可修飾該系列或範圍中之數中之每一者。

【0116】 如本文所用，「不超過」或「或更小」應理解為與片語相鄰的值，及上下文邏輯所示的合理較低值或整數至零。舉例而言，具有「不超過2個核苷酸」之懸垂部份的雙螺旋體具有2、1或0個核苷酸懸垂部份。當「不超過」存在於一系列數或範圍之前時，應理解，「不超過」可修飾該系列或範圍中之數中之每一者。

【0117】 如本文所用，當提及諸如參數、量及其類似值之可量測值時，術語「至少約」意欲涵蓋與指定值相差+/-20%、較佳+/-10%、更佳+/-5%且再更佳+/-1%，只要此類差值適合於在所揭示之本發明中執行。舉例而言，抑制LRRK2基因之表現「至少約25%」意指LRRK2基因之表現之抑制可經量測為所指定25%+/-20%之任何值，亦即20%、30%或20%至30%之間的任何中間值。

【0118】 如本文所用，「對照含量」係指在與表現本文所述之RNAi藥劑的細胞、組織或系統一致的未經調節之細胞、組織或系統中，基因之表現量，或RNA分子之表現量，或一或多種蛋白質或蛋白質次單元的表現量。相較於在RNAi藥劑不存在下所觀測到的，其中表現RNAi藥劑之細

胞、組織或系統具有至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、2倍、3倍、4倍、5倍或更多的上文所述之基因、RNA及/或蛋白質之表現量。可相對於對照含量計算差異%及/或倍差，例如：

$$\text{差異\%} = \frac{\text{[RNAi藥劑下之表現-無RNAi藥劑下之表現]}}{\text{無RNAi藥劑下之表現}} \times 100$$

【0119】 如本文所用，偵測方法可包括測定存在之分析物之量低於該方法之偵測含量。

【0120】 在指示之目標位點與有義股或反義股之核苷酸序列之間有衝突的情況下，所指示之序列優先。

【0121】 在化學結構與化學名稱之間存在衝突之情況下，化學結構優先。

【0122】 術語「LRRK2」基因，亦稱為「DRDN」、「RIPK7」、「PARK8」、「AURA17」、「ROCO2」及「富含白胺酸之重複激酶2」係指編碼稱為震顫素(dardarin)之蛋白質的基因。LRRK2基因在腦及整個身體中其他組織中具有活性。LRRK2表現於腦之許多區域中，包括微神經膠質細胞、寡樹突神經膠質細胞、神經元及星形膠質細胞。亦已報導先天性及後天性免疫系統之細胞中之表現。

【0123】 LRRK2編碼稱為震顫素之蛋白質，其含有多個功能域，包括富含白胺酸之重複(LRR)域、GTP酶域、激酶域及WD40域。震顫素可能充當活性GTP酶及激酶。作為具有若干不同功能性及蛋白質相互作用域之大型蛋白質，LRRK2在不同細胞類型中可具有不同結合搭配物。支持歸因於多個蛋白質相互作用域之多種功能，LRRK2已展示活體外影響自體吞噬、大自噬、腦醯胺代謝、神經突生長、囊泡遷移、細胞骨架組分及

涉及活化T細胞核因子(NFAT)、Wnt及核因子-κB之細胞信號傳導路徑之調節。震顫素蛋白質之域中之一者為富含白胺酸之區域，其呈現在需要與其他蛋白相互作用之活性，諸如傳輸信號或幫助組裝細胞之結構構架(細胞骨架)中起作用。震顫素蛋白質之其他部分亦被認為涉及蛋白-蛋白相互作用。震顫素具有激酶及GTP酶活性。具有激酶活性之蛋白質輔助磷酸酯基團(氧及磷原子之叢集)自能量分子ATP轉移至某些蛋白質中之胺基酸。此磷酸化為開始及停止許多細胞活動之必需步驟。LRRK2之激酶受質中有Rab鳥苷三磷酸酶(GTP酶)之子集，包括Rab10，其已涉及內質網之維持、囊泡遷移及自體吞噬。LRRK2誘導之Rab10磷酸化可能藉由防止結合於膜遞送及再循環所需之Rab二磷酸鳥苷(GDP)解離抑制因子來抑制其功能。異常增強之LRRK2激酶活性已與降低之Rab10及其效應子之活性有關(Maio等人，Science Translational Medicine 2018年7月25日: 第10卷，第451期, eaar5429)。震顫素之GTP酶活性與稱為ROC域之蛋白質區域相關。ROC域可有助於控制震顫素蛋白質之總體形狀。LRRK2基因中之至少20種不同突變已表明為遺傳性及偶發性帕金森氏病之病因。LRRK2中之誤義突變引起家族性帕金森氏病。另外，涉及跨越患有帕金森氏病之許多患者之基因體篩選標記物以將特定基因變異與帕金森氏病聯繫起來的全基因體關聯研究指出LRRK2基因座為帕金森氏病之風險因素。鑑別影響一或多個基因表現之基因變異的表現定量性狀基因座(eQTL)分析表明偶發性帕金森氏病中LRRK2之表現增加約2倍。

【0124】 LRRK2多型性已與克隆氏病及麻風相關，展現與免疫功能之聯繫。最近，報導在IFN-γ刺激之後單核球中LRRK2之表現增加，引起PD中之LRRK2介導之病理生理學之可能機制，其中LRRK2可作為調節神

經退化風險之發炎性及免疫反應之調節因子起作用。儘管仍在研究LRRK2介導之病變的機制，但來自PD患者之細胞中WT及/或突變LRRK2之表現增加可能引起先天性及後天性免疫系統之細胞中之功能及活化的調節異常，從而引起PD中之不合需要的發炎反應及後續神經退化。

【0125】 大鼠及小鼠中，LRRK2基因中之突變亦已與更周邊過程，諸如腎功能相關。已知斑馬魚中之LRRK2減弱會引起發育擾動，諸如軸彎曲缺陷、眼部異常及眼、晶狀體及耳囊水腫(Prabhudesai等人(2016) *Neuroscience Research* 第94卷，第8期:717-735)。

【0126】 LRRK2之例示性核苷酸及胺基酸序列可見於例如GenBank寄存編號NM_198578.4 (智人LRRK2，SEQ ID NO: 1，反向互補序列，SEQ ID NO: 2)；GenBank寄存編號：XM_015151449.2 (食蟹獼猴(Macaca fascicularis) LRRK2，SEQ ID NO: 3，反向互補序列，SEQ ID NO: 4)；GenBank寄存編號NM_025730.3 (小家鼠(Mus musculus) LRRK2，SEQ ID NO: 5；反向互補序列，SEQ ID NO: 6)；及GenBank寄存編號：NM_001191789.1 (褐家鼠(Rattus norvegicus) LRRK2，SEQ ID NO: 7，反向互補序列，SEQ ID NO: 8)。

【0127】 具有LRRK2基因之人類染色體之基因體區域的核苷酸序列可見於例如可在GenBank獲得之基因體參考聯合會(Genome Reference Consortium)人類構築體38 (亦稱為人類基因體構築體38或GRCh38)。具有LRRK2基因之人類染色體12的基因體區域之核苷酸序列亦可見於例如GenBank寄存編號NC_000012.12，對應於人類染色體12之核苷酸40196744至40369285。人類LRRK2基因之核苷酸序列可見於例如GenBank寄存編號NG_011709.1

【0128】 LRRK2序列之其他實例可見於公開可用之資料庫，例如GenBank、OMIM及UniProt中。

【0129】 關於LRRK2之額外資訊可見於例如NCBI網站，參考基因120892。如本文所用，術語LRRK2亦指LRRK2基因之變異體，包括提供於臨床變異體資料庫中之變異體，例如在NCBI臨床變異體網站，參考項目NM_198578.4。

【0130】 截至本申請案申請日期的前述GenBank寄存編號及基因資料庫編號中之每一者的全部內容以引用之方式併入本文中。

【0131】 如本文所用，「目標序列」係指在LRRK2基因轉錄期間形成之mRNA分子之核苷酸序列的連續部分，包括初級轉錄產物及作為初級轉錄產物之RNA加工產物的mRNA兩者。在一個實施例中，序列之目標部分將至少足夠長以充當在LRRK2基因轉錄期間形成之mRNA分子之核苷酸序列部分處或附近的RNAi引導之裂解的受質。

【0132】 目標序列之長度為約15至30個核苷酸。舉例而言，目標序列之長度可為約15-30個核苷酸、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個核苷酸。在某些實施例中，目標序列之長度為19至23個核苷酸，視情況長度為21至23個核苷酸。上述範圍及長度的中間範圍及長度亦考慮為本發明之一部分。

【0133】 如本文所用，術語「包含序列之股」係指包含藉由使用標準核苷酸命名法提及之序列描述的核苷酸鏈之寡核苷酸。「G」、「C」、「A」、「T」及「U」各自通常表示含有鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷及尿嘧啶作為鹼基的核苷酸，分別在經修飾或未經修飾之核苷酸的情況下。然而，應瞭解，術語「核糖核苷酸」或「核苷酸」亦可指經修飾之核苷酸，如下文進一步詳述，或可指替代置換部分(參見例如表2)。熟習此項技術者充分瞭解鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷及尿嘧啶可經其他部分置換而不實質上改變包含攜帶此類置換部分之核苷酸的寡核苷酸之鹼基配對特性。舉例而言但不限於，包含肌苷作為其鹼基之核苷酸可與含有腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶之核苷酸鹼基配對。因此，含有尿嘧啶、鳥嘌呤或腺嘌呤之核苷酸可在本發明特徵在於之dsRNA的核苷酸序列中由含有例如肌苷之核苷酸置換。在另一實例中，寡核苷酸中任何位置之腺嘌呤及胞嘧啶可分別經鳥嘌呤及尿嘧啶置換以與目標mRNA形成G-U擺動鹼基配對。含有此類置換部分之序列適用於本發明特徵在於之組合物及方法。

【0134】 如在本文中可互換使用之術語「iRNA」、「RNAi藥劑」、「iRNA藥劑」、「RNA干擾藥劑」係指如本文術語所定義，且經由RNA誘導型緘默化複合體(RISC)路徑介導RNA轉錄物之靶向裂解之含有RNA之藥劑。RNA干擾(RNAi)為一種引導mRNA之序列特異性降解的過程。RNAi調節，例如抑制LRRK2在細胞，例如個體，諸如哺乳動物個體內之細胞中之表現。

【0135】 在一個實施例中，本發明之RNAi藥劑包括單股RNAi，其與目標RNA序列，例如LRRK2目標mRNA序列相互作用以引導目標RNA之裂解。不希望受理論所束縛，咸信引入至細胞中之長雙股RNA藉由稱

為Dicer之III型核酸內切酶分解成包含有義股及反義股之雙股短干擾RNA (siRNA) (Sharp等人(2001) *Genes Dev*. 15:485)。Dicer，一種核糖核酸酶-III樣酶，將此dsRNA加工成特徵為兩個鹼基3'懸垂部份之19至23個鹼基對短干擾RNA (Bernstein等人，(2001) *Nature* 409:363)。此等siRNA接著併入RNA誘導型緘默化複合體(RISC)中，其中一或多種解螺旋酶展開siRNA雙螺旋體，使互補反義股能夠引導目標識別(Nykanen等人，(2001) *Cell* 107:309)。當結合於適當目標mRNA時，RISC內之一或多種核酸內切酶裂解目標以誘發緘默化(Elbashir等人，(2001) *Genes Dev*. 15:188)。因此，在一個態樣中，本發明係關於在細胞內產生之單股RNA (ssRNA) (siRNA雙螺旋體之反義股)，且其促進RISC複合物形成以實現目標基因，亦即LRRK2基因之緘默化。因此，術語「siRNA」亦在本文中用於指如上文所描述之RNAi。

【0136】在另一實施例中，RNAi藥劑可為引入至細胞或生物體中以抑制目標mRNA之單股RNA。單股RNAi藥劑結合於RISC核酸內切酶Argonaute 2，其隨後裂解目標mRNA。單股siRNA通常為15-30個核苷酸且經化學修飾。單股RNA之設計及測試描述於美國專利第8,101,348號及Lima等人，(2012) *Cell* 150:883-894中，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。本文所述之反義核苷酸序列中之任一者可以如本文所述用作單股siRNA或以化學方式藉由Lima等人，(2012) *Cell* 150:883-894中所述之方法修飾。

【0137】在另一實施例中，用於本發明之組合物及方法中之「RNAi藥劑」為雙股RNA且在本文中稱為「雙股RNAi藥劑」、「雙股RNA (dsRNA)分子」、「dsRNA藥劑」或「dsRNA」。術語「dsRNA」係

指核糖核酸分子複合物，其具有包含兩個反向平行及實質上互補之核酸股(稱為相對於目標RNA，亦即LRRK2基因具有「有義」及「反義」定向)的雙螺旋體結構。在本發明之一些實施例中，雙股RNA (dsRNA)經由轉錄後基因緘默化機制，在本文中稱為RNA干擾或RNAi，觸發目標RNA，例如mRNA之降解。

【0138】 一般而言，dsRNA分子可包括核糖核苷酸，但如本文中詳細描述，各股或兩股亦可包括一或多個非核糖核苷酸，例如去氧核糖核苷酸、經修飾之核苷酸。此外，如本說明書中使用，「RNAi藥劑」可包括具有化學修飾之核糖核苷酸；RNAi藥劑可包括多個核苷酸處之實質性修飾。如本文所用，術語「經修飾核苷酸」係指獨立地具有經修飾之糖部分、經修飾之核苷酸間鍵或經修飾之核鹼基的核苷酸。因此，術語經修飾之核苷酸涵蓋對於核苷間鍵、糖部分或核鹼基進行例如官能基或原子之取代、添加或移除。適用於本發明之藥劑的修飾包括本文中所揭示或此項技術中已知的所有類型之修飾。出於本說明書及申請專利範圍之目的，「RNAi藥劑」涵蓋如用於siRNA型分子之任何此類修飾。

【0139】 在本發明之某些實施例中，RNAi藥劑內若存在去氧核苷酸之包涵體，可視為構成經修飾之核苷酸。

【0140】 雙螺旋體區可具有准許所要目標RNA經由RISC路徑特異性降解的任何長度，且長度可在約15-36個鹼基對範圍內，例如長度為約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或36個鹼基對，諸如長度為約15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、

18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個鹼基對。在某些實施例中，雙螺旋體區之長度為19至21個鹼基對，例如長度為21個鹼基對。上述範圍及長度的中間範圍及長度亦考慮為本發明之一部分。

【0141】 形成雙螺旋體結構之兩股可為一個較大RNA分子之不同部分，或其可為不同RNA分子。兩股為一個較大分子之一部分時，其可藉由形成雙螺旋體結構之一股之3'端與各別另一股之5'端之間的核苷酸之不間斷鏈連接，其中連接RNA鏈稱為「髮夾環」。髮夾環可包含至少一個不成對核苷酸。在一些實施例中，髮夾環可包含至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少20、至少23或更多個不成對核苷酸或不針對dsRNA之目標位點的核苷酸。在一些實施例中，髮夾環可為10個或更少個核苷酸。在一些實施例中，髮夾環可為8個或更少個不成對核苷酸。在一些實施例中，髮夾環可為4至10個不成對核苷酸。在一些實施例中，髮夾環可為4至8個核苷酸。

【0142】 當dsRNA之兩個實質上互補股由不同RNA分子包含時，彼等分子無需，但可共價連接。在兩股藉由除形成雙螺旋體結構之一股之3'端與各別另一股之5'端之間的核苷酸之不間斷鏈外的方式共價連接的某些實施例中，連接結構稱為「連接體(linker)」(但應注意，本文別處定義之某些其他結構亦可稱為「連接基團(linker)」)。RNA股可具有相同或不同數目之核苷酸。最大鹼基對數目為dsRNA之最短股中之核苷酸數目減去存在於雙螺旋體中之任何懸垂部份。除雙螺旋體結構以外，RNAi可包含

一或多個核苷酸懸垂部份。在RNAi藥劑之一個實施例中，至少一股包含至少1個核苷酸之3'懸垂部份。在另一實施例中，至少一股包含至少2個核苷酸，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15個核苷酸之3'懸垂部份。在其他實施例中，RNAi藥劑之至少一股包含至少1個核苷酸之5'懸垂部份。在某些實施例中，至少一股包含至少2個核苷酸，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15個核苷酸之5'懸垂部份。在再其他實施例中，RNAi藥劑之一股之3'端及5'端皆包含至少1個核苷酸之懸垂部份。

【0143】 在一個實施例中，本發明之RNAi藥劑為其各股獨立地包含19至23個核苷酸的dsRNA，其與目標RNA序列，例如LRRK2目標mRNA序列相互作用，以引導目標RNA之裂解。

【0144】 在一些實施例中，本發明之iRNA為24-30個核苷酸之dsRNA，其與目標RNA序列，例如LRRK2目標mRNA序列相互作用，以引導目標RNA之裂解。

【0145】 如本文所用，術語「核苷酸懸垂部份」係指至少一個自RNAi藥劑，例如dsRNA之雙螺旋體結構突出的不成對核苷酸。舉例而言，當dsRNA之一股的3'端延伸超過另一股的5'端，或反過來時，存在核苷酸懸垂部份。dsRNA可包含具有至少一個核苷酸的懸垂部份；或者懸垂部份可包含至少兩個核苷酸、至少三個核苷酸、至少四個核苷酸、至少五個核苷酸或更多。核苷酸懸垂部份可包含核苷酸/核苷類似物或由其組成，包括去氧核苷酸/核苷。一或多個懸垂部份可在有義股、反義股或其任何組合上。此外，懸垂部份之一或多個核苷酸可存在於dsRNA之反義股或有義股的5'端、3'端或兩端上。

【0146】 在一個實施例中，dsRNA之反義股在3'端或5'端處具有1至10個核苷酸，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸的懸垂部份。在一個實施例中，dsRNA之有義股在3'端或5'端處具有1至10個核苷酸，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸的懸垂部份。在另一實施例中，懸垂部份中之核苷酸中之一或多者經硫代磷酸核苷置換。

【0147】 在某些實施例中，dsRNA之反義股在3'端或5'端處具有1至10個核苷酸，例如0至3、1至3、2至4、2至5、4至10、5至10，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸的懸垂部份。在一個實施例中，dsRNA之有義股在3'端或5'端處具有1至10個核苷酸，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸的懸垂部份。在另一實施例中，懸垂部份中之核苷酸中之一或多者經硫代磷酸核苷置換。

【0148】 在某些實施例中，有義股或反義股上之懸垂部份可包括長於10個核苷酸，例如1至30個核苷酸、2至30個核苷酸、10至30個核苷酸或10至15個核苷酸長的延長長度。在某些實施例中，延長懸垂部份位於雙螺旋體之有義股上。在某些實施例中，延長懸垂部份存在於雙螺旋體之有義股之3'端上。在某些實施例中，延長懸垂部份存在於雙螺旋體之有義股之5'端上。在某些實施例中，延長懸垂部份位於雙螺旋體之反義股上。在某些實施例中，延長懸垂部份存在於雙螺旋體之反義股之3'端上。在某些實施例中，延長懸垂部份存在於雙螺旋體之反義股之5'端上。在某些實施例中，懸垂部份中之核苷酸中之一或多者經硫代磷酸核苷置換。在某些實施例中，懸垂部份包括自身互補部分，使得懸垂部份能夠形成在生理條件下穩定的髮夾結構。

【0149】 如本文關於dsRNA所用之術語「鈍」或「鈍端」意謂在

dsRNA之給定末端處不存在不成對核苷酸或核苷酸類似物，亦即無核苷酸懸垂部份。dsRNA之一端或兩端可為鈍端。若dsRNA之兩端皆為鈍端，則dsRNA稱為鈍端的。應明確，「鈍端」dsRNA為兩端皆鈍之dsRNA，亦即分子之任一端皆無核苷酸懸垂部份。最通常地，此類分子在其整個長度上將為雙股的。

【0150】術語「反義股」或「引導股」係指RNAi藥劑，例如dsRNA之股，其包括與目標序列，例如LRRK2 mRNA實質上互補的區域。

【0151】如本文所用，術語「互補區」係指反義股上實質上與序列，例如目標序列，例如，如本文所定義的LRRK2核苷酸序列互補的區域。在互補區與目標序列不完全互補之情況下，錯配可在分子之內部或末端區域中。一般而言，最能容許之錯配在末端區域中，例如RNAi藥劑之5'端或3'端之5個、4個、3個或2個核苷酸內。在一些實施例中，本發明之雙股RNA藥劑包括在反義股中之核苷酸錯配。在一些實施例中，本發明之雙股RNA藥劑之反義股包括不超過4個與目標mRNA的錯配，例如反義股包括4、3、2、1或0個與目標mRNA的錯配。在一些實施例中，本發明之雙股RNA藥劑之反義股包括不超過4個與有義股的錯配，例如反義股包括4、3、2、1或0個與有義股的錯配。在一些實施例中，本發明之雙股RNA藥劑包括在有義股中之核苷酸錯配。在一些實施例中，本發明之雙股RNA藥劑之有義股包括不超過4個與反義股的錯配，例如有義股包括4、3、2、1或0個與反義股的錯配。在一些實施例中，核苷酸錯配例如在自iRNA之3'端的5、4、3個核苷酸內。在另一實施例中，核苷酸錯配例如在iRNA藥劑之3'末端核苷酸中。在一些實施例中，一或多個錯配不在種

子區中。

【0152】 因此，如本文所述之RNAi藥劑可含有一或多個與目標序列的錯配。在一個實施例中，如本文所述之RNAi藥劑含有不超過3個錯配(亦即3、2、1或0個錯配)。在一個實施例中，如本文所述之RNAi藥劑含有不超過2個錯配。在一個實施例中，如本文所述之RNAi藥劑含有不超過1個錯配。在一個實施例中，如本文所述之RNAi藥劑含有0個錯配。在某些實施例中，當RNAi藥劑之反義股含有與目標序列的錯配時，則錯配可視情況受限於在互補區之5'端或3'端之最後5個核苷酸內。舉例而言，在此類實施例中，對於23個核苷酸RNAi藥劑，與LRRK2基因之區域互補的股一般不在中央13個核苷酸內含有任何錯配。本文所述之方法或此項技術中已知之方法可用於確定含有與目標序列之錯配之RNAi藥劑是否有效抑制LRRK2基因之表現。舉例而言，Jackson等人(*Nat. Biotechnol.* 2003;21: 635-637)描述表現圖譜研究，其中僅在有義股之12-18 nt與MAPK14 siRNA具有序列一致性之一小組基因的表現以類似於MAPK14之動力學下調。類似地，Lin等人(*Nucleic Acids Res.* 2005; 33(14): 4527-4535)使用qPCR及報導子分析展示siRNA與目標之間的7 nt互補足以引起目標之mRNA降解。考慮具有錯配之RNAi藥劑在抑制LRRK2基因表現方面之功效為重要的，尤其在LRRK2基因中之特定互補區已知在群體內具有多型序列變異的情況下。

【0153】 如本文所用，「實質上所有核苷酸經修飾」為大部分但未完全經修飾，且可包括不超過5、4、3、2或1個未經修飾之核苷酸。

【0154】 如本文所用，術語「有義股」或「隨從股」係指RNAi藥劑之股，其包括與如本文所定義之術語反義股之區域實質上互補的區域。

【0155】 如本文所用，術語「裂解區」係指緊鄰裂解位點定位之區域。裂解位點為目標上發生裂解之位點。在一些實施例中，裂解區包含位於裂解位點之任一端上且緊鄰該裂解位點之三個鹼基。在一些實施例中，裂解區包含位於裂解位點之任一端上且緊鄰該裂解位點之兩個鹼基。在一些實施例中，裂解位點特定存在於由反義股之核苷酸10及11所結合之位點處，且裂解區包含核苷酸11、12及13。

【0156】 如本文所用，且除非另有指示，否則如熟習此項技術者將理解，術語「互補」當用於相對於第二核苷酸序列描述第一核苷酸序列時，係指包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸在某些條件下與包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸雜交且形成雙螺旋體結構之能力。此類條件可為例如「嚴格條件」，包括但不限於400 mM NaCl、40 mM PIPES pH 6.4、1 mM EDTA、50℃或70℃持續12至16小時，隨後洗滌(參見例如「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook，等人(1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press)。如本文所用，「嚴格條件」或「嚴格雜交條件」係指反義化合物與其目標序列雜交但與最少數目之其他序列雜交的條件。嚴格條件為序列依賴性的且在不同情況下將為不同的，且反義化合物與目標序列雜交之「嚴格條件」係由反義化合物之性質及組成及對其進行研究之分析來決定。可應用其他條件，諸如可在生物體內部遇到的生理學上相關條件。熟習此項技術者將能夠根據雜交核苷酸之最終應用確定最適合於測試兩個序列之互補性的條件組。

【0157】 RNAi藥劑內，例如，如本文所述之dsRNA內的互補序列包括包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸與包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸在一個或兩個核苷酸序列的整個長度上的鹼基配對。

此類序列在本文中可稱為彼此「完全互補」。然而，在第一序列被稱為相對於本文中之第二序列「實質上互補」的情況下，兩個序列可完全互補，或其在針對至多30個鹼基對之雙螺旋體雜交後可形成一或多個，但一般不超過5、4、3或2個錯配鹼基對。在一些實施例中，本文揭示之「實質上互補」序列包含連續核苷酸序列，其在其整個長度上與目標LRRK2序列之等效區域至少約80%互補，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約99%互補。然而，兩個寡核苷酸經設計以在雜交時形成一或多個單股懸垂部份時，此類懸垂部份不應視為關於互補性判定之錯配。舉例而言，出於本文所述之目的，包含一個長度為21個核苷酸之寡核苷酸及另一個長度為23個核苷酸之寡核苷酸的dsRNA，其中較長寡核苷酸包含與較短寡核苷酸完全互補的21個核苷酸之序列，仍可稱為「完全互補」。

【0158】 如本文所用，「互補」序列亦可包括非沃森-克里克鹼基對(non-Watson-Crick base pair)或由非天然及經修飾之核苷酸形成的鹼基對或完全由該等鹼基對形成，只要滿足上文關於其雜交能力之要求。此類非沃森-克里克鹼基對包括但不限於G:U擺動或胡斯坦鹼基配對(Hoogstein base pairing)。

【0159】 如根據其使用之上下文將瞭解，本文之術語「互補」、「完全互補」及「實質上互補」可關於兩個寡核苷酸或聚核苷酸，諸如dsRNA之有義股及反義股之間，或RNAi藥劑之反義股與目標序列之間的鹼基匹配使用。

【0160】 如本文所用，與信使RNA (mRNA)「之至少一部分實質上互補」的聚核苷酸係指與相關mRNA (例如編碼LRRK2之mRNA)之連續

部分實質上互補的聚核苷酸。舉例而言，若序列與編碼LRRK2之mRNA的未間斷部分實質上互補，則聚核苷酸與LRRK2 mRNA之至少一部分互補。

【0161】 因此，在一些實施例中，本文所揭示之反義聚核苷酸與目標LRRK2序列完全互補。在其他實施例中，本文所揭示之反義聚核苷酸與目標LRRK2序列實質上互補且包含在其整個長度上與SEQ ID NO: 1、3、5及7中之任一者或SEQ ID NO: 1、3、5及7中之任一者之片段之核苷酸序列之等效區域至少80%互補的連續核苷酸序列，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約99%互補。

【0162】 在一些實施例中，本文所揭示之反義聚核苷酸與目標LRRK2序列之片段實質上互補且包含在其整個長度上與選自以下之群的SEQ ID NO: 1之片段至少80%互補的連續核苷酸序列：SEQ ID NO: 1之核苷酸3383-3403、2105-2125、2356-2376、5413-5433、2603-2623、3563-3583、2192-2212、3088-3108、3105-3125、2203-2223、7348-7368、7097-7117、6319-6339、3886-3906、5190-5210、3964-3984、5138-5158、1254-1274、7098-7118、7048-7068、7050-7070、2764-2784、3087-3107、7526-7546、4849-4869、5272-5292、468-488、7520-7540、3720-3740、4016-4036、7792-7812、2515-2535、2286-2306、4014-4034、3721-3741、2284-2304、1896-1916、3876-3896、7788-7808、4013-4033、1275-1295、7527-7547、3606-3626、7525-7545、2356-2376、3105-3125及5413-5433，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約

99%互補。上述範圍的中間範圍亦考慮為本發明之一部分。

【0163】在一些實施例中，本文所揭示之反義聚核苷酸與目標LRRK2序列之片段實質上互補且包含在其整個長度上與選自以下之群的SEQ ID NO: 1之片段至少80%互補的連續核苷酸序列：SEQ ID NO: 1之核苷酸468-488、1254-1274、2105-2125、2192-2212、2203-2223、2603-2623、2764-2784、3087-3107、3088-3108、3383-3403、3563-3583、3876-3896、3886-3906、3964-3984、4849-4869、5138-5158、5190-5210、5272-5292、6319-6339、7097-7117、7098-7118及7348-7368，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約99%互補。上述範圍的中間範圍亦考慮為本發明之一部分。

【0164】在其他實施例中，本文所揭示之反義聚核苷酸與目標LRRK2序列實質上互補且包含在其整個長度上與表3至4及6至7中之任一者中之任一者中的有義股核苷酸序列中之任一者，或表3至4及6至7中之任一者中的有義股核苷酸序列中之任一者的片段至少約80%互補的連續核苷酸序列，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%互補。

【0165】在一個實施例中，本發明之RNAi藥劑包括與反義聚核苷酸實質上互補之有義股，該反義聚核苷酸又與目標LRRK2序列相同，且其中有義股聚核苷酸包含在其整個長度上與SEQ ID NO: 1、3、5及7或SEQ ID NO: 1、3、5及7中之任一者之片段之核苷酸序列之等效區域至少約80%互補的連續核苷酸序列，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%互

補。

【0166】在一些實施例中，本發明之iRNA包括與反義聚核苷酸實質上互補之有義股，該反義聚核苷酸又與目標LRRK2序列互補，且其中有義股聚核苷酸包含在其整個長度上與表3至4及6至7中之任一者中之任一者中的反義股核苷酸序列中之任一者，或表3至4及6至7中之任一者中的反義股核苷酸序列中之任一者的片段至少約80%互補的連續核苷酸序列，諸如約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%互補。

【0167】在某些實施例中，有義股及反義股選自以下雙螺旋體中之任一者：AD-601140.1、AD-599927.1、AD-612673.1、AD-615420.1、AD-600406.1、AD-601294.1、AD-600013.1、AD-600853.1、AD-613382.1、AD-600024.1、AD-604701.1、AD-604452.1、AD-603747.1、AD-601616.1、AD-602766.1、AD-601694.1、AD-602734.1、AD-599139.1、AD-604453.1、AD-616783.1、AD-616785.1、AD-600566.1、AD-600852.1、AD-617239.1、AD-602466.1、AD-602848.1、AD-598424.1、AD-617233.1、AD-613965.1、AD-614239.1、AD-617466.1、AD-612820.1、AD-612611.1、AD-614237.1、AD-613966.1、AD-612609.1、AD-612246.1、AD-601606.1、AD-617462.1、AD-614236.1、AD-611650.1、AD-617240.1、AD-613851.1、AD-617238.1、AD-1335323.1、AD-1335325.1及AD-1335324.1。

【0168】在一個實施例中，反義股包含至少15個連續核苷酸，其與選自由以下組成之群的雙螺旋體之反義股核苷酸序列中之任一者相差不超

過三個核苷酸：AD-1508169、AD-1508884、AD-1509672、AD-1509758、AD-1509769、AD-1510151、AD-1510311、AD-1510597、AD-1510598、AD-1510885、AD-1511039、AD-1511351、AD-1511361、AD-1511439、AD-1512211、AD-1512479、AD-1512511、AD-1512593、AD-1513492、AD-1514197、AD-1514198及AD-1514446。

【0169】在一個實施例中，LRRK2基因之表現之至少部分抑制藉由相較於與第一細胞或細胞群組實質上一致，但尚未經如此處理之第二細胞或細胞群組(對照細胞)，LRRK2 mRNA，例如，有義mRNA、反義mRNA、總LRRK2 mRNA之量之減少來評估，該mRNA可分離自或偵測於其中LRRK2基因經轉錄且已經處理以使得LRRK2基因之表現被抑制之第一細胞或細胞群組中。抑制程度(例如，剩餘mRNA表現百分比)可以以下表示：

$$\frac{(\text{對照細胞中之mRNA}) - (\text{經處理細胞中之mRNA})}{(\text{對照細胞中之mRNA})} \times 100\%$$

【0170】如本文所用，片語「使細胞與RNAi藥劑，諸如dsRNA接觸」包括藉由任何可能的方式接觸細胞。使細胞與RNAi藥劑接觸包括使細胞與RNAi藥劑活體外接觸或使細胞與RNAi藥劑活體內接觸。接觸可直接地或間接地進行。因此，舉例而言，可由進行該方法之個體使RNAi藥劑與細胞實體接觸，或者，可將RNAi藥劑置於准許或使得其隨後與細胞接觸之情形中。

【0171】活體外細胞接觸可例如藉由將細胞與RNAi藥劑一起培育來進行。活體內細胞接觸可例如藉由以下進行：將RNAi藥劑注射至細胞所位於之組織中或附近，或藉由將RNAi藥劑注射至另一區域，例如中樞

神經系統(CNS)中，視情況經由鞘內、玻璃體內、腦池內或其他注射，或注射至血流(亦即靜脈內)或皮下空間，使得藥劑將隨後到達待接觸之細胞所位於之組織。舉例而言，RNAi藥劑可含有配位體或偶合至配位體，例如，如下文所描述且進一步詳述於例如以引用之方式併入本文中的PCT/US2019/031170中之一或多個親脂性部分，其在相關部位，例如CNS引導RNAi藥劑或另外穩定化RNAi藥劑。活體外及活體內接觸方法之組合亦為可能的。舉例而言，細胞亦可與RNAi藥劑活體外接觸且隨後移植至個體中。

【0172】 在一個實施例中，使細胞與RNAi藥劑接觸包括藉由促進或實現攝取或吸收至細胞中而將RNAi藥劑「引入」或「遞送」至細胞中。RNAi藥劑之攝取或吸收可經由無輔助擴散或主動細胞過程，或藉由輔助劑或裝置進行。將RNAi藥劑引入細胞中可為活體外或活體內。舉例而言，對於活體內引入，RNAi藥劑可注射至組織部位中或全身性投與。活體外引入細胞中包括此項技術中已知之方法，諸如電穿孔及脂質體轉染。其他方法描述於下文中或為此項技術中已知。

【0173】 術語「親脂體」或「親脂性部分」廣泛地指對脂質具有親和力之任何化合物或化學部分。表徵親脂性部分之親脂性的一種方式係藉由辛醇-水分配係數$\log K_{ow}$，其中K_{ow}為二相系統在平衡時化學物質在辛醇相中之濃度相對於其在水相中之濃度的比率。辛醇-水分配係數為實驗室量測之物質特性。然而，其亦可藉由使用歸因於化學物質之結構組分的係數來預測，該等係數係使用第一原理或經驗方法計算(參見例如Tetko等人，*J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 41:1407-21 (2001)，其以全文引用之方式併入本文中)。其提供物質偏好非水性或油性環境而非水之傾向的熱力學

量度(亦即其親水性/親脂性平衡)。原則上，當$\log K_{ow}$超過0時，化學物質具有親脂性特徵。通常，親脂性部分之$\log K_{ow}$超過1、超過1.5、超過2、超過3、超過4、超過5或超過10。舉例而言，預測例如6-胺基己醇之$\log K_{ow}$為大約0.7。使用相同方法，預測N-(己-6-醇)胺基甲酸膽固醇酯之$\log K_{ow}$為10.7。

【0174】 分子之親脂性可相關於其攜帶的官能基而改變。舉例而言，向親脂性部分之末端添加羥基或胺基可增加或降低親脂性部分之分配係數(例如$\log K_{ow}$)值。

【0175】 或者，與一或多個親脂性部分結合之雙股RNAi藥劑之疏水性可藉由其蛋白質結合特徵量測。舉例而言，在某些實施例中，雙股RNAi藥劑之血漿蛋白結合分析中之未結合部分可以確定為與雙股RNAi藥劑之相對疏水性正相關，該相對疏水性則可以與雙股RNAi藥劑之緘默化活性正相關。

【0176】 在一個實施例中，測定之血漿蛋白結合分析為使用人類血清白蛋白之電泳遷移率分析(EMSA)。此結合分析之例示性方案詳細說明於例如PCT/US2019/031170中。簡言之，將雙螺旋體與人類血清白蛋白一起培育且測定未結合部分。例示性分析方案包括在10 μM之儲備濃度下的雙螺旋體，在1×PBS中稀釋至含有0、20或90%血清的0.5 μM之最終濃度(20 μL總體積)。樣品可混合，離心30秒，且隨後在室溫下培育10分鐘。一旦完成培養步驟，可將4 μL 6×EMSA凝膠裝載溶液添加至各樣品中，離心30秒，且可將12 μL各樣品裝載至26孔BioRad 10%聚丙烯醯胺凝膠電泳(PAGE)上。凝膠可在100伏下運作1小時。在運作完成後，自外殼中移出凝膠且在50 mL 10% Tris鹼、硼酸及EDTA (TBE)中洗滌。一旦

洗滌完成，可將5 μL SYBR金色添加至凝膠中，其隨後在室溫下培育10分鐘，且再次在50 mL 10% TBE中洗滌凝膠。在此例示性分析中，Gel Doc XR+凝膠記錄系統可用於使用以下參數讀取凝膠：成像應用設定成SYBR金色，大小設定成Bio-Rad標準凝膠，暴露設定成自動用於劇烈條帶，強調飽和像素可變成一且顏色設定成灰色。偵測、分子量分析及輸出均可禁用。一旦獲得清晰的凝膠相片，則Image Lab 5.2可用於處理影像。可手動地設定泳道及條帶以量測條帶強度。各樣品之條帶強度可相對於PBS標準化以獲得未結合之siRNA的部分。自此量測可測定相對疏水性。藉由結合分析中未結合之siRNA的部分量測，雙股RNAi藥劑之疏水性超過0.15、超過0.2、超過0.25、超過0.3、超過0.35、超過0.4、超過0.45或超過0.5，以增強siRNA之活體內遞送。

【0177】 因此，將親脂性部分結合至雙股RNAi藥劑之一或多個內部位置提供提高的疏水性，以增強siRNA之活體內遞送。

【0178】 術語「脂質奈米粒子」或「LNP」為包含囊封醫藥活性分子，諸如核酸分子，例如rNAi藥劑，或RNAi藥劑轉錄自之質體之脂質層的囊泡。LNP描述於例如美國專利第6,858,225號、第6,815,432號、第8,158,601號及第8,058,069號中，其全部內容以引用的方式併入本文中。

【0179】 如本文所用，「個體」係動物，諸如哺乳動物，包括靈長類動物(諸如人類、非人類靈長類動物，例如猴及黑猩猩)或非靈長類動物(諸如大鼠或小鼠)。在一較佳實施例中，個體為人類，諸如針對可因降低LRRK2表現而受益之疾病、病症或病狀進行治療或評估的人類；處於可因降低LRRK2表現而受益之疾病、病症或病狀之風險下的人類；患有可因降低LRRK2表現而受益之疾病、病症或病狀的人類；或針對可因降低

LRRK2表現而受益之疾病、病症或病狀進行治療的人類，如本文所述。在一些實施例中，該個體為女性人類。在其他實施例中，該個體為男性人類。在一個實施例中，該個體為成年個體。在一個實施例中，該個體為兒科個體。在另一實施例中，該個體為幼年個體，亦即小於20歲的個體。

【0180】 如本文所用，術語「治療(treating/treatment)」係指有益或所要結果，其包括但不限於緩解或改善與LRRK2基因表現或LRRK2蛋白產生相關之一或多種病徵或症狀，例如多種LRRK2相關疾病，諸如一種LRRK2相關疾病。「治療」亦可意謂與不存在治療下之預期存活期相比延長的存活期。

【0181】 在個體中LRRK2含量或疾病標記物或症狀之情形下，術語「降低」係指此類含量在統計上顯著之減少。減少可為例如至少10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在某些實施例中，減少為至少20%。在某些實施例中，減少係疾病標記物，例如含有義股或反義股基因座之含量及/或異常二肽重複蛋白質之含量中至少50%，例如減少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些實施例中，減少係疾病標記物中至少約25%，例如LRRK2蛋白及/或基因表現量減少例如至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。在個體中LRRK2含量之情形下，「降低」較佳降至公認為無此類病症之個體之正常範圍內的含量。在某些實施例中，「降低」為罹患疾病之個體之標記物含量或症狀水準與個體公認正常範圍內之含量/水準之間的差異的減少，例如肥胖個體與具有公認正常範圍內之體重之個體之間的體重減少程

度。

【0182】如本文所用，當用於提及將得益於LRRK2基因之表現或LRRK2蛋白之產生減少的其疾病、病症或病狀時，「預防(prevention/preventing)」係指個體將罹患與此類疾病、病症或病狀相關之症狀，例如LRRK2相關疾病之症狀的可能性降低。認為未罹患疾病、病症或病狀，或與此類疾病、病症或病狀相關之症狀之發展減少(例如，在用於該疾病或病症之臨床上公認量表上減少至少約10%)，或展現所延遲之症狀延遲(例如，延遲數天、數週、數月或數年)為有效預防。

【0183】如本文所用，術語「LRRK2相關疾病」或「LRRK2相關病症」包括將得益於LRRK2之表現及/或活性降低的任何疾病或病症。例示性LRRK2相關疾病包括其中個體攜帶LRRK2基因之誤義突變及/或缺失的彼等疾病，例如神經退化性疾病，諸如帕金森氏病(PD)、克隆氏病，及眼部病症。神經退化性疾病包括但不限於帕金森氏病、肌肉萎縮性側索硬化(ALS)、阿茲海默氏症、亨汀頓氏舞蹈症(Huntington's disease)、精神分裂症、漸進肌痙攣癲癇症(昂-朗拉氏病(Unver-Richt-Lundberg Lafora disease))、霍-斯氏病(Hallervorden-Spatz Disease)、色素性視網膜炎、著色性乾皮病及黑色素相關疾病。如本文所用，「眼部病症」或「眼部系統病症」係指眼及其視覺系統(例如角膜、晶狀體及流體)之任何病症系統。眼部病症之非限制性實例包括眼、晶狀體及耳囊中之水腫。

【0184】LRRK2誤義突變，例如G2019S、A2016T，可見於患有家族性或偶發性帕金森氏病之個體中。突變可引起激酶活性增加兩倍或三倍，其可引起神經元死亡信號傳導路徑之活化。

【0185】LRRK2基因中具有誤義突變及/或缺失之個體可呈現為常

染色體顯性疾病且為家族性PD之最常見形式，佔所有PD病例之1%至2%。與PD相關之LRRK2中之常見病原性突變存在於GTP酶及激酶域中，其中激酶域中具有最普遍突變，G2019S突變。

【0186】 如本文所用，「治療有效量」意欲包括當投與患有LRRK2相關疾病之個體時足以實現疾病治療(例如藉由消減、改善或維持現有疾病或疾病之一或多種症狀)的RNAi藥劑之量。「治療有效量」可取決於RNAi藥劑、如何投與藥劑、疾病及其嚴重程度以及待治療之個體之病史、年齡、體重、家族病史、基因構成、先前或伴隨治療之類型(若存在)及其他個別特徵而變化。

【0187】 如本文所用，「預防有效量」意欲包括當投與患有LRRK2相關病症之個體時足以預防或改善疾病或疾病之一或多種症狀的RNAi藥劑之量。改善疾病包括減慢疾病之病程或降低隨後發展之疾病之嚴重程度。「預防有效量」可取決於RNAi藥劑、如何投與藥劑、疾病風險程度以及待治療之患者之病史、年齡、體重、家族病史、基因構成、先前或伴隨治療之類型(若存在)及其他個別特徵而變化。

【0188】 「治療有效量」或「預防有效量」亦包括以適用於任何治療之合理的益處/風險比率產生某一所要局部或全身作用之RNAi藥劑的量。本發明方法中所用之RNAi藥劑可以足以產生適用於此類治療之合理益處/風險比率的量投與。

【0189】 片語「醫藥學上可接受」在本文中用於指在合理醫學判斷範疇內適用於與人類個體及動物個體之組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症、與合理益處/風險比相匹配的彼等化合物、材料、組合物或劑型。

【0190】 如本文所用，片語「醫藥學上可接受之載劑」意謂醫藥學上可接受之材料、組合物或媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、製造助劑(例如潤滑劑、滑石硬脂酸鎂、硬脂酸鈣或硬脂酸鋅或硬脂酸)或溶劑囊封材料，其涉及將本發明化合物自一個器官或身體之部分攜載或運輸至另一器官或身體之部分。各載劑必須在與調配物之其他成分相容且對所治療之個體無害之意義上為「可接受的」。可充當醫藥學上可接受之載劑的材料之一些實例包括：(1)糖，諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)澱粉，諸如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；(3)纖維素及其衍生物，諸如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素及乙酸纖維素；(4)粉末狀黃蓍；(5)麥芽；(6)明膠；(7)潤滑劑，諸如硬脂酸鎂、月桂基硫酸鈉及滑石；(8)賦形劑，諸如可可脂及栓劑蠟；(9)油，諸如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；(10)二醇，諸如丙二醇；(11)多元醇，諸如丙三醇、山梨糖醇、甘露糖醇及聚乙二醇；(12)酯，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)瓊脂；(14)緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15)海藻酸；(16)無熱原質水；(17)等張生理鹽水；(18)林格氏溶液(Ringer's solution)；(19)乙醇；(20) pH緩衝溶液；(21)聚酯、聚碳酸酯或聚酸酐；(22)增積劑，諸如多肽及胺基酸(23)血清組分，諸如血清白蛋白、HDL及LDL；及(22)醫藥調配物中所用的其他無毒相容性物質。

【0191】 如本文所用，術語「樣品」包括自個體分離之類似流體、細胞或組織，以及個體內存在之流體、細胞或組織之集合。生物流體之實例包括血液、血清及漿膜液、血漿、腦脊髓液、眼液、淋巴、尿液、唾液及其類似物。組織樣品可包括來自組織、器官或局部區域之樣品。舉例而言，樣品可來源於特定器官、器官之部分或彼等器官內之流體或細胞。在

某些實施例中，樣品可來源於腦(例如全腦或某些腦區段，例如紋狀體，或腦中某些類型之細胞，諸如神經元及神經膠細胞(星形膠質細胞、寡樹突神經膠質細胞、小神經膠質細胞))。在一些實施例中，「來源於個體之樣品」係指自個體抽取之血液或來源自其之血漿或血清。在其他實施例中，「來源於個體之樣品」係指來源於個體之腦組織(或其子組分)或視網膜組織(或其子組分)。

【0192】 術語「取代」係指用包括但不限於以下的指定取代基之基團置換既定結構中之一或多個氫基：烷基、烯基、炔基、芳基、雜環基、鹵基、硫醇、烷硫基、芳基硫基、烷基硫烷基、芳基硫烷基、烷磺醯基、烷磺醯烷基、芳磺醯烷基、烷氧基、芳氧基、芳烷氧基、胺基羰基、烷胺基羰基、芳基胺基羰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、鹵烷基、胺基、三氟甲基、氰基、硝基、烷基胺基、芳基胺基、烷基胺基烷基、芳基胺基烷基、胺基烷基胺基、羥基、烷氧基烷基、羧基烷基、烷氧基羰基烷基、胺基羰基烷基、醯基、芳烷氧基羰基、羧酸、磺酸、磺醯基、膦酸、芳基、雜芳基、雜環基及脂族基。應理解，取代基可進一步經取代。

【0193】 術語「烷基」係指飽和及不飽和非芳族烴鏈，其可為含有指定數目之碳原子(此等包括但不限於丙基、烯丙基或炔丙基)的直鏈或分支鏈，其可視情況插入有N、O或S。舉例而言，「(C1-C6)烷基」意謂在直鏈或分支鏈配置中具有1至6個碳原子的基團。「(C1-C6)烷基」包括例如甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、三級丁基、戊基及己基。在某些實施例中，本發明之親脂性部分可包括C6-C18烷基烴鏈。

【0194】 術語「伸烷基」係指具有指定數目之碳原子之視情況經取代之飽和脂族分支鏈或直鏈二價烴基。舉例而言，「(C1-C6)伸烷基」意謂

在直鏈配置中具有1至6個碳原子之二價飽和脂族基團，例如[$(CH_2)_n$]，其中n為1至6之整數。「(C1-C6)伸烷基」包括亞甲基、伸乙基、伸丙基、伸丁基、伸戊基及伸己基。或者，「(C1-C6)伸烷基」意謂在分支鏈配置中具有1至6個碳原子之二價飽和基團，例如：[$(CH_2CH_2CH_2CH_2CH(CH_3)]$、[$(CH_2CH_2CH_2CH_2C(CH_3)_2]$、[$(CH_2C(CH_3)_2CH(CH_3))]$及其類似基團。術語「伸烷基二側氧基」係指結構-O-R-O-之二價物種，其中R表示伸烷基。

【0195】 術語「巰基」係指-SH基團。術語「硫代烷氧基」係指-S-烷基。

【0196】 術語「鹵基」係指氟、氯、溴或碘之任何基團。「鹵素」及「鹵基」在本文中可互換地使用。

【0197】 如本文所用，術語「環烷基」意謂除非另外規定，否則具有3至14個碳原子之飽和或不飽和非芳族烴環基團。舉例而言，「(C3-C10)環烷基」意謂(3-10)員飽和脂族環烴環之烴基。環烷基之實例包括但不限於環丙基、甲基-環丙基、2,2-二甲基-環丁基、2-乙基-環戊基、環己基等。環烷基可包括多個螺環或稠合環。環烷基視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0198】 如本文所用，術語「烯基」係指含有至少一個碳碳雙鍵且除非另有規定，否則具有2至10個碳原子之直鏈或分支鏈非芳族烴基。至多五個碳碳雙鍵可存在於此類基團中。舉例而言，「C2-C6」烯基定義為具有2至6個碳原子之烯基。烯基之實例包括但不限於乙烯基、丙烯基、丁烯基及環己烯基。烯基之直鏈、分支鏈或環狀部分可含有雙鍵且視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。術語「環烯

基」意謂具有指定數目之碳原子及至少一個碳碳雙鍵之單環烴基。

【0199】 如本文所用，術語「炔基」係指除非另有規定，否則含有2至10個碳原子且含有至少一個碳碳參鍵之直鏈或分支鏈烴基。可存在至多5個碳碳參鍵。因此，「C2-C6炔基」意謂具有2至6個碳原子之炔基。炔基之實例包括但不限於乙炔基、2-丙炔基及2-丁炔基。炔基之直鏈或分支鏈部分可含有如正常原子價所准許之參鍵，且可視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0200】 如本文所用，「烷氧基(alkoxyl/alkoxy)」係指具有經由氧橋連接之指定數目之碳原子之如上文所定義的烷基。舉例而言，「(C1-C3)烷氧基」包括甲氧基、乙氧基及丙氧基。舉例而言，「(C1-C6)烷氧基」意欲包括C1、C2、C3、C4、C5及C6烷氧基。舉例而言，「(C1-C8)烷氧基」意欲包括C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7及C8烷氧基。烷氧基之實例包括但不限於甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、二級丁氧基、三級丁氧基、正戊氧基、二級戊氧基、正庚氧基及正辛氧基。「烷硫基」意謂經由硫連接原子連接之烷基。術語「烷基胺基」或「胺基烷基」意謂經由NH鍵連接之烷基。「二烷基胺基」意謂經由氮連接原子連接之兩個烷基。胺基可未經取代、經單取代或經二取代。在一些實施例中，兩個烷基相同(例如N,N-二甲胺基)。在一些實施例中，兩個烷基不同(例如，N-乙基-N-甲基胺基)。

【0201】 如本文所用，「芳基」或「芳族」意謂各環中具有至多7個原子之任何穩定單環或多環碳環，其中至少一個環為芳族環。芳基之實例包括但不限於苯基、萘基、蒽基、四氫萘基、二氫茚基及聯二苯。在芳基取代基係雙環且一個環係非芳族環之情況下，應瞭解連接係經由芳族環。

芳基視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。術語「芳基烷基」或術語「芳烷基」係指經芳基取代之烷基。術語「芳基烷氧基」係指經芳基取代之烷氧基。

【0202】「雜」係指用至少一個選自N、S及O之雜原子置換環系統中之至少一個碳原子。「雜」亦指非環狀系統中至少一個碳原子之置換。雜環系統或雜非環系統可有例如1、2或3個碳原子被雜原子置換。

【0203】如本文所用，術語「雜芳基」表示各環中具有至多7個原子之穩定單環或多環，其中至少一個環係芳族環且含有1至4個選自由O、N及S組成之群的雜原子。雜芳基之實例包括但不限於吖啶基、咔唑基、啐啉基、喹喏啉基、吡唑基、吲哚基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并咪唑酮基、苯并噁唑酮基、喹啉基、異喹啉基、二氫異吲哚酮基、咪唑并吡啶基、異吲哚酮基、吲唑基、噁唑基、噁二唑基、異噁唑基、吲哚基、吡咯基、嗒咯基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、四氫喹啉。亦瞭解，「雜芳基」包括任何含氮雜芳基之N-氧化物衍生物。在雜芳基取代基係雙環且一個環係非芳族環或不含雜原子之情況下，應瞭解連接係經由芳族環或經由含雜原子環。雜芳基視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0204】如本文所用，術語「雜環(heterocycle/heterocyclic)」或「雜環基」意謂含有1至4個選自由O、N及S組成之群的雜原子之3至14員芳族或非芳族雜環，包括多環基團。如本文所用，術語「雜環(heterocyclic)」亦視為與術語「雜環(heterocycle)」及「雜環基」同義，且應理解為亦具有本文所闡述之相同定義。「雜環基」包括上文所提及之雜芳基以及其二氫及四氫類似物。雜環基之實例包括但不限於氮雜環丁

基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并呋啶基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、咔唑基、咔啉基、啐啉基、呋喃基、咪唑基、吲哚啉基、吲哚基、吲哚吩基、吲唑基、異苯并呋喃基、異吲哚基、異喹啉基、異噻唑基、異噁唑基、萘吡啶基、噁二唑基、側氧基噁唑啶基、噁唑基、噁唑啉、側氧基哌吩基、側氧基吡咯啶基、側氧基嗎啉基、異噁唑啉、氧雜環丁基、哌喃基、吡吩基、吡唑基、嗒吩基、吡啶并吡啶基、嗒吩基、吡啶基、吡啶酮基、嘧啶基、嘧啶酮基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、喹喏啉基、四氫哌喃基、四氫呋喃基、四氫硫哌喃基、四氫異喹啉基、四唑基、四唑并吡啶基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基、1,4-二氧雜環己烷基、六氫氮呯基、哌吩基、哌啶基、吡啶-2-酮基、吡咯啶基、嗎啉基、硫嗎啉基、二氫苯并咪唑基、二氫苯并呋喃基、二氫苯并噻吩基、二氫苯并噁唑基、二氫呋喃基、二氫咪唑基、二氫吲哚基、二氫異噁唑基、二氫異噻唑基、二氫噁二唑基、二氫噁唑基、二氫吡吩基、二氫吡唑基、二氫吡啶基、二氫嘧啶基、二氫吡咯基、二氫喹啉基、二氫四唑基、二氫噻二唑基、二氫噻唑基、二氫噻吩基、二氫三唑基、二氫氮雜環丁基、二氧離子基硫嗎啉基、亞甲基二氧基苯甲醯基、四氫呋喃基及四氫噻吩基以及其N-氧化物。雜環基取代基之連接可經由碳原子或經由雜原子進行。雜環基視情況如正常原子價所准許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0205】「雜環烷基」係指環烷基殘基，其中一至四個碳由雜原子，諸如氧、氮或硫置換。其基團為雜環基之雜環之實例包括四氫哌喃、嗎啉、吡咯啶、哌啶、噻唑啶、噁唑、噁唑啉、異噁唑、二噁烷、四氫呋喃及其類似物。

【0206】 術語「雜芳基」係指具有1至3個雜原子(若為單環)、1至6個雜原子(若為雙環)或1至9個雜原子(若為三環)之芳族5至8員單環、8至12員雙環或11至14員三環系統，該等雜原子選自O、N或S (例如若為單環、雙環或三環，則分別為碳原子及1至3、1至6或1至9個N、O或S雜原子)，其中各環之0、1、2、3或4個原子可經取代基取代。雜芳基之實例包括吡啶基、呋喃基(furyl/furanyl)、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、噻吩基(thiophenyl/thienyl)、喹啉基、吲哚基、噻唑基及其類似基團。術語「雜芳基烷基」或術語「雜芳烷基」係指經雜芳基取代之烷基。術語「雜芳基烷氧基」係指經雜芳基取代之烷氧基。

【0207】 如本文所採用之術語「環烷基」包括具有3至12個碳，例如3至8個碳，及例如3至6個碳之飽和及部分不飽和環烴基，其中環烷基額外可視情況經取代。環烷基包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環庚基及環辛基。

【0208】 術語「醯基」係指烷基羰基、環烷基羰基、芳基羰基、雜環基羰基或雜芳基羰基取代基，其中任一者可進一步經取代基取代。

【0209】 如本文所用，「酮基」係指經由羰基橋鍵連接之如本文所定義之任何烷基、烯基、炔基、環烷基、環烯基、雜環基、雜芳基或芳基。

【0210】 酮基之實例包括但不限於烷醯基(例如乙醯基、丙醯基、丁醯基、戊醯基、己醯基)、烯醯基(例如丙烯醯基)炔醯基(例如乙炔醯基、丙炔醯基、丁炔醯基、戊炔醯基、己炔醯基)、芳醯基(例如苯甲醯基)、雜芳醯基(例如吡咯醯基、咪唑醯基、喹啉醯基、吡啶醯基)。

【0211】 如本文所用，「烷氧羰基」係指經由羰基橋鍵連接之如上

文所定義之任何烷氧基(亦即-C(O)O-烷基)。烷氧羰基之實例包括但不限於甲氧羰基、乙氧羰基、異丙氧羰基、正丙氧羰基、三級丁氧羰基、苯甲氧羰基或正戊氧羰基。

【0212】 如本文所用，「芳基氧基羰基」係指經由氧基羰基橋鍵連接之如本文所定義之任何芳基(亦即，-C(O)O-芳基)。芳基氧基羰基之實例包括但不限於苯氧基羰基及萘氧羰基。

【0213】 如本文所用，「雜芳氧基羰基」係指經由氧基羰基橋鍵連接之如本文所定義之任何雜芳基(亦即-C(O)O-雜芳基)。雜芳氧基羰基之實例包括但不限於2-吡啶氧基羰基、2-噁唑氧基羰基、4-噻唑氧基羰基或嘧啶氧基羰基。

【0214】 術語「側氧基」係指氧原子，其當連接於碳時形成羰基、當連接於氮時形成N-氧化物及當連接於硫時形成亞碸或碸。

【0215】 一般熟習此項技術者將容易理解及瞭解，取決於化合物或組合物所置放的環境，本文所揭示之化合物及組合物可具有呈質子化或去質子化狀態之某些原子(例如，N、O或S原子)。因此，如本文所用，本文所揭示之結構設想某些官能基，諸如OH、SH或NH可經質子化或去質子化。本文中之揭示內容意欲涵蓋本發明化合物及組合物，不論其基於環境之pH值之質子化狀態如何，如一般熟習此項技術者可容易地理解。

【0216】

II. 本發明之RNAi藥劑

本文描述抑制LRRK2基因之表現的RNAi藥劑。在一個實施例中，RNAi藥劑包括用於抑制LRRK2基因在細胞，諸如個體，例如哺乳動物，諸如患有LRRK2相關疾病之人類內之細胞中之表現的雙股核糖核酸

(dsRNA)分子。dsRNA包括具有互補區之反義股，該互補區與在LRRK2基因之表現中形成的mRNA之至少一部分互補。互補區之長度為約15至30個核苷酸或更少。當與表現LRRK2基因之細胞接觸時，當與未與RNAi藥劑接觸或與LRRK2基因不互補之RNAi藥劑接觸的類似細胞相比時，RNAi藥劑如本文所述抑制LRRK2基因(例如，人類基因、靈長類動物基因、非靈長類動物基因)之表現至少25%或更高。LRRK2基因之表現可藉由例如基於PCR或支化DNA (bDNA)之方法或基於蛋白質之方法，諸如藉由免疫螢光分析，使用例如西方墨點法或流式細胞量測技術來分析。在一個實施例中，使用以下實例1中所提供之分析方法在人類A549中分析減弱程度。在一些實施例中，在初級小鼠肝細胞中分析減弱程度。在另一實施例中，在Cos-7中分析減弱程度。在又一實施例中，在BE(2)-C細胞中分析減弱程度。在一些實施例中，在神經-2a細胞中分析減弱程度。

【0217】 dsRNA包括兩個互補且在將使用dsRNA之條件下雜交以形成雙螺旋體結構的RNA股。dsRNA之一股(反義股)包括與目標序列實質上互補或完全互補的互補區。目標序列可衍生自LRRK2基因表現期間形成之mRNA序列。另一股(有義股)包括與反義股互補之區，使得兩股在適合條件下組合時雜交且形成雙螺旋體結構。如本文別處所描述且如此項技術中已知，與在不同寡核苷酸上相反，dsRNA之互補序列亦可作為單個核酸分子之自身互補區包含。

【0218】 一般而言，雙螺旋體結構長度為15至30個鹼基對，例如長度為15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-

28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個鹼基對。在某些實施例中，雙螺旋體結構之長度為18至25個鹼基對，例如長度為18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-25、21-24、21-23、21-22、22-25、22-24、22-23、23-25、23-24或24-25個鹼基對，例如長度為19至21個鹼基對。上述範圍及長度的中間範圍及長度亦考慮為本發明之一部分。

【0219】 類似地，目標序列之互補區長度為15至30個核苷酸，例如長度為15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個核苷酸，例如長度為19至23個核苷酸或長度為21至23個核苷酸。上述範圍及長度的中間範圍及長度亦考慮為本發明之一部分。

【0220】 在一些實施例中，雙螺旋體結構之長度為19至30個鹼基對。類似地，目標序列之互補區長度為19至30個核苷酸。

【0221】 在一些實施例中，dsRNA之長度為15至23個核苷酸、長度為19至23個核苷酸或長度為25至30個核苷酸。一般而言，dsRNA足夠長以充當Dicer酶之受質。舉例而言，此項技術中熟知長於約21至23個核苷

酸之dsRNA可充當Dicer之受質。如一般熟習此項技術者亦將認識到，靶向以裂解之RNA區域將最常為較大RNA分子，通常mRNA分子之一部分。在相關情況下，mRNA目標之「部分」為具有足夠長度以允許其為RNAi引導之裂解(亦即經由RISC路徑之裂解)的受質之mRNA目標之連續序列。

【0222】 熟習此項技術者亦將認識到雙螺旋體區為dsRNA之主要功能部分，例如約15至36個鹼基對，例如15-36、15-35、15-34、15-33、15-32、15-31、15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22個鹼基對，例如19至21個鹼基對之雙螺旋體區。因此，在一個實施例中，就其加工成靶向所要RNA以裂解的具有例如15-30個鹼基對之功能性雙螺旋體而言，雙螺旋體區大於30個鹼基對之RNA分子或RNA分子複合物為dsRNA。因此，一般熟習此項技術者將認識到在一個實施例中，miRNA為dsRNA。在另一實施例中，dsRNA不為天然存在之miRNA。在另一實施例中，可用於靶向LRRK2表現之RNAi藥劑不藉由裂解較大dsRNA而產生於目標細胞中。

【0223】 如本文所述之dsRNA可進一步包括一或多個單股核苷酸懸垂部份，例如1、2、3或4個核苷酸。核苷酸懸垂部份可包含核苷酸/核苷類似物或由其組成，包括去氧核苷酸/核苷。一或多個懸垂部份可在有義

股、反義股或其任何組合上。此外，懸垂部份之一或多個核苷酸可存在於dsRNA之反義股或有義股的5'端、3'端或兩端上。

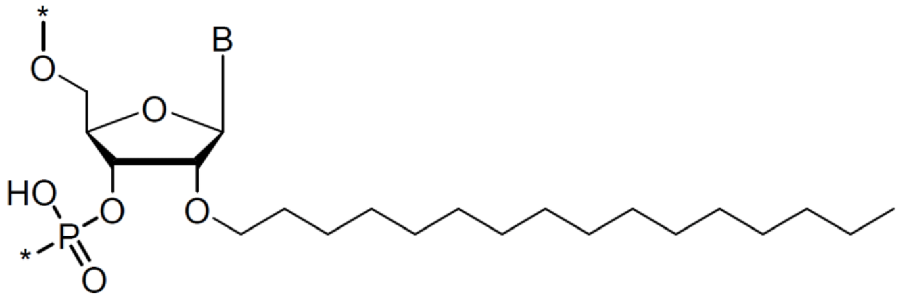
【0224】 dsRNA可藉由此項技術中已知之標準方法合成。本發明之雙股RNAi化合物可使用雙步程序製備。首先，雙股RNA分子之個別股分別製備。接著，使組件股黏接。dsRNA化合物之個別股可使用溶液相或固相有機合成或兩者製備。有機合成提供以下優勢：可容易地製備包含非天然或經修飾之核苷酸的寡核苷酸股。類似地，本發明之單股寡核苷酸可使用溶液相或固相有機合成或兩者製備。

【0225】 在一個態樣中，本發明之dsRNA包括至少兩個核苷酸序列，有義序列及反義序列。LRRK2之有義股序列可選自表3至4及6至7中之任一者中提供之序列群組，且有義股之對應反義股核苷酸序列可選自表3至4及6至7中之任一者之序列群組。在此態樣中，兩個序列中之一者與兩個序列中之另一者互補，其中序列中之一者與產生於LRRK2基因之表現中的mRNA之序列實質上互補。因此，在此態樣中，dsRNA將包括兩個寡核苷酸，其中一個寡核苷酸描述為表2至4中之任一者中的有義股(隨從股)，且第二寡核苷酸描述為表3至4及6至7中之任一者中的有義股之對應反義股(引導股)。

【0226】 在一個實施例中，dsRNA之實質上互補序列包含於不同寡核苷酸上。在另一實施例中，dsRNA之實質上互補序列包含於單一寡核苷酸上。

【0227】 應理解，儘管表3至4及6至7中之序列描述為經修飾或結合之序列，但本發明之RNAi藥劑之RNA，例如本發明之dsRNA可包含未經修飾、未經結合或與其中所述不同地修飾或結合的表3至4及6至7中之任

一者中所述的序列中之任一者。舉例而言，儘管本發明之藥劑之有義股可結合於GalNAc配位體，但此等藥劑亦可結合於引導遞送至CNS之部分，例如C16配位體，如本文所述。在一個實施例中，親脂性部分含有飽和或不飽和C16烴鏈(例如直鏈C16烷基或烯基)。親脂性配位體可包括在本申請案中提供之位置中之任一者中。在一些實施例中，親脂性部分與雙股iRNA藥劑之核鹼基、糖部分或核苷間鍵結合。舉例而言，C16配位體可經由核糖核苷酸之2'-氧結合，如以下結構中所示：



，

其中*指示連接於相鄰核苷酸之鍵，且B為核鹼基或核鹼基類似物，視情況其中B為腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。本文所提供之配位體及單體之設計及合成描述於例如PCT公開案第WO2019/217459號、第WO2020/132227號及第WO2020/257194號中，其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0228】 在一些實施例中，雙股iRNA藥劑進一步在反義股之5'端處包含磷酸酯或磷酸酯模擬物。在一個實施例中，磷酸酯模擬物為5'-乙烯基膦酸酯(VP)。在一些實施例中，雙股iRNA藥劑之反義股的5'端不含有5'-乙烯基膦酸酯(VP)。

【0229】 熟習此項技術者充分瞭解，具有約20至23個鹼基對，例如21個鹼基對之雙螺旋體結構的dsRNA已被譽為特別有效地誘導RNA干擾(Elbashir等人，(2001) *EMBO J.*, 20:6877-6888)。然而，其他人發現更

短或更長RNA雙螺旋體結構亦可為有效的(Chu及Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719；Kim等人(2005) *Nat Biotech* 23:222-226)。在上文所述之實施例中，由於本文提供之寡核苷酸序列之性質，本文所述之dsRNA可包括至少一個長度最小21個核苷酸之股。可合理地預期，相較於上文所述之dsRNA，減去一或兩個末端上僅少數核苷酸之較短的雙螺旋體可類似地有效。因此，具有來源於本文所提供之序列中之一者的至少15、16、17、18、19、20或更多個連續核苷酸之序列，且使用利用例如A549細胞及10 nM濃度之RNA藥劑之活體外分析及如本文實例中所提供之PCR分析，與來自包含完整序列之dsRNA的對照含量相比，抑制LRRK2基因之表現至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%的抑制能力不同的dsRNA被考慮在本發明之範疇內。在一些實施例中，使用利用初級小鼠肝細胞之活體外分析量測來自包含完整序列之dsRNA的抑制。

【0230】 另外，本文所述之RNA藥劑鑑別對RISC介導之裂解敏感的LRRK2 mRNA轉錄物中之一或多個位點。因此，本發明進一步特徵在於靶向此(等)位點內之RNAi藥劑。如本文所用，若RNAi藥劑促進mRNA轉錄物裂解於特定位點內任何位置，則稱RNAi藥劑在mRNA轉錄物之該特定位點「內靶向」。此類RNAi藥劑將通常包括來自本文提供之序列中之一者的至少約15個連續核苷酸，較佳至少19個核苷酸，其偶合至獲自與LRRK2基因中之所選序列鄰接之區域的額外核苷酸序列。

【0231】

III. 本發明之經修飾RNAi藥劑

在一個實施例中，本發明之RNAi藥劑，例如dsRNA之RNA未經修

飾，且不包含經修飾之核苷酸，例如此項技術中已知及本文所述之化學修飾或結合。在較佳實施例中，本發明之RNAi藥劑，例如dsRNA之RNA經化學修飾以增強穩定性或其他有益特徵。在本發明之某些實施例中，實質上所有本發明之RNAi藥劑之核苷酸經修飾。在本發明之其他實施例中，本發明之RNAi藥劑之所有核苷酸經修飾。其中「實質上所有核苷酸經修飾」之本發明之RNAi藥劑為大部分但未完全經修飾，且可包括不超過5、4、3、2個或未經修飾之核苷酸。在本發明之再其他實施例中，本發明之RNAi藥劑可包括不超過5、4、3、2或1個經修飾之核苷酸。

【0232】 本發明特徵在於之核酸可藉由此項技術中沿用已久的方法合成或修飾，諸如「Current protocols in nucleic acid chemistry,」Beaucage, S.L.等人(編), John Wiley & Sons公司, New York, NY, USA中所述的方法，該文獻以引用之方式併入本文中。修飾包括例如末端修飾，例如5'端修飾(磷酸化、結合、反向鍵聯)或3'端修飾(結合、DNA核苷酸、反向鍵聯等)；鹼基修飾，例如用穩定化鹼基、去穩定化鹼基或與廣泛組庫之搭配物鹼基配對之鹼基置換，移除鹼基(無鹼基核苷酸)，或結合鹼基；糖修飾(例如在2'位置或4'位置處)或糖之置換；或主鏈修飾，包括磷酸二酯鍵之修飾或置換。適用於本文所述之實施例的RNAi藥劑之特定實例包括但不限於含有經修飾之主鏈或無天然核苷間鍵之RNA。具有經修飾之主鏈之RNA尤其包括主鏈中不具有磷原子之彼等RNA。出於本說明書之目的，且如此項技術中有時提及，核苷內主鏈中不具有磷原子之經修飾之RNA亦可視為寡核苷。在一些實施例中，經修飾之RNAi藥劑將在其核苷間主鏈中具有磷原子。

【0233】 經修飾之RNA主鏈包括例如硫代磷酸酯、對掌性硫代磷酸

酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、甲基及其他烷基膦酸酯(包括3'-伸烷基膦酸酯)及對掌性膦酸酯、亞膦酸酯、胺基磷酸酯(包括3'-胺基胺基磷酸酯及胺基烷基胺基磷酸酯、硫羰基胺基磷酸酯)、硫羰基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯及具有正常3'-5'鍵之硼烷磷酸酯、此等之2'-5'連接類似物，及具有顛倒極性之彼等主鏈，其中相鄰核苷單元對為3'-5'連接於5'-3'或2'-5'連接於5'-2'。亦包括各種鹽、混合鹽及游離酸形式。在本發明之一些實施例中，本發明之dsRNA藥劑呈游離酸形式。在本發明之其他實施例中，本發明之dsRNA藥劑呈鹽形式。在一個實施例中，本發明之dsRNA藥劑呈鈉鹽形式。在某些實施例中，當本發明之dsRNA藥劑呈鈉鹽形式時，鈉離子作為對於藥劑中存在之實質上所有磷酸二酯及/或硫代磷酸酯基團的相對離子存在於藥劑中。實質上所有磷酸二酯及/或硫代磷酸酯鍵具有鈉相對離子的藥劑包括不超過5、4、3、2或1個磷酸二酯及/或硫代磷酸酯鍵不具有鈉相對離子。在一些實施例中，當本發明之dsRNA藥劑呈鈉鹽形式時，鈉離子作為對於藥劑中存在之所有磷酸二酯及/或硫代磷酸酯基團的相對離子存在於藥劑中。

【0234】 教示上述含磷鍵之製備的代表性美國專利包括但不限於美國專利第3,687,808號；第4,469,863號；第4,476,301號；第5,023,243號；第5,177,195號；第5,188,897號；第5,264,423號；第5,276,019號；第5,278,302號；第5,286,717號；第5,321,131號；第5,399,676號；第5,405,939號；第5,453,496號；第5,455,233號；第5,466,677號；第5,476,925號；第5,519,126號；第5,536,821號；第5,541,316號；第5,550,111號；第5,563,253號；第5,571,799號；第5,587,361號；第5,625,050號；第6,028,188號；第6,124,445號；第6,160,109號；第

6,169,170號；第6,172,209號；第6,239,265號；第6,277,603號；第6,326,199號；第6,346,614號；第6,444,423號；第6,531,590號；第6,534,639號；第6,608,035號；第6,683,167號；第6,858,715號；第6,867,294號；第6,878,805號；第7,015,315號；第7,041,816號；第7,273,933號；第7,321,029號；及美國專利RE39464，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0235】 其中不包括磷原子之經修飾之RNA主鏈具有由短鏈烷基或環烷基核苷間鍵、混合雜原子及烷基或環烷基核苷間鍵，或一或多個短鏈雜原子或雜環核苷間鍵形成之主鏈。此等主鏈包括具有N-嗎啉基鍵(部分由核苷之糖部分形成)之彼等主鏈；矽氧烷主鏈；硫化物、亞碸及碸主鏈；甲醯基及硫甲醯基主鏈；亞甲基甲醯基及硫甲醯基主鏈；含有烯烴之主鏈；胺基磺酸酯主鏈；亞甲基亞胺基及亞甲基肼基主鏈；磺酸酯及磺醯胺主鏈；醯胺主鏈；及具有混合N、O、S及CH_2組件部分之其他主鏈。

【0236】 教示以上寡核苷之製備之代表性美國專利包括但不限於美國專利第5,034,506號；第5,166,315號；第5,185,444號；第5,214,134號；第5,216,141號；第5,235,033號；第5,64,562號；第5,264,564號；第5,405,938號；第5,434,257號；第5,466,677號；第5,470,967號；第5,489,677號；第5,541,307號；第5,561,225號；第5,596,086號；第5,602,240號；第5,608,046號；第5,610,289號；第5,618,704號；第5,623,070號；第5,663,312號；第5,633,360號；第5,677,437號；及第5,677,439號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0237】 在其他實施例中，RNA模擬物考慮用於RNAi藥劑，其中核苷酸單元之糖及核苷間鍵，亦即主鏈均置換為替代基團。核鹼基單元經

維持以便與適當核酸目標化合物雜交。一種此類寡聚化合物，已展示具有極佳雜交特性之RNA模擬物，稱為肽核酸(PNA)。在PNA化合物中，RNA之糖主鏈置換為含有醯胺之主鏈，特定言之胺基乙基甘胺酸主鏈。保留核鹼基且直接或間接結合至主鏈之醯胺部分的氮雜氮原子。教示PNA化合物之製備之代表性美國專利包括但不限於美國專利第5,539,082號；第5,714,331號；及第5,719,262號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。適用於本發明之RNAi藥劑之額外PNA化合物描述於例如Nielsen等人，*Science*, 1991, 254, 1497-1500中。

【0238】 本發明特徵在於之一些實施例包括具有硫代磷酸酯主鏈之RNA及具有雜原子主鏈之寡核苷，且尤其上述美國專利第5,489,677號之--CH_2--NH--CH_2-、--CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--[稱為亞甲基(甲基亞胺基)或MMI主鏈]、--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--、--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2--及--N(CH_3)--CH_2--CH_2--，及上述美國專利第5,602,240號之醯胺主鏈。在一些實施例中，本文特徵在於之RNA具有上述US5,034,506之N-嗎啉基主鏈結構。原生磷酸二酯主鏈可表示為-O-P(O)(OH)-OCH_2-。

【0239】 經修飾之RNA亦可含有一或多個經取代之糖部分。本文特徵在於之RNAi藥劑，例如dsRNA可在2'位置包括以下中之一者：OH；F；O-、S-或N-烷基；O-、S-或N-烯基；O-、S-或N-炔基；或O-烷基-O-烷基，其中烷基、烯基及炔基可為經取代或未經取代之C_1至C_{10}烷基或C_2至C_{10}烯基及炔基。例示性適合修飾包括O[(CH_2)$_n$O]$_m$$CH_3$、O($CH_2$).$_n$$OCH_3$、O($CH_2$)$_n$$NH_2$、O($CH_2$)$_n$$CH_3$、O($CH_2$)$_n$$ONH_2$及O($CH_2$)$_n$ON[($CH_2$)$_n$$CH_3$)]$_2$，其中n及m為1至約10。在其他實施例中，dsRNA在2'位置處包括以下中之一者：C_1至C_{10}烷基、經取代烷基、烷芳

基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基、SH、SCH_3、OCN、Cl、Br、CN、CF_3、OCF_3、$SOCH_3$、SO_2CH_3、ONO_2、NO_2、N_3、NH_2、雜環烷基、雜環烷芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經取代之矽烷基、RNA裂解基團、報導基團、嵌入基團、改良RNAi藥劑之藥物動力學特性之基團或改良RNAi藥劑之藥效學特性之基團及具有類似特性之其他取代基。在一些實施例中，修飾包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O--$CH_2CH_2OCH_3$，亦稱為2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE) (Martin等人，*Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504)，亦即烷氧基-烷氧基。另一例示性修飾為2'-二甲基胺基氧基乙氧基，亦即$O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$基團，亦稱為2'-DMAOE，如下文中之實例中所描述，及2'-二甲基胺基乙氧基乙氧基(此項技術中亦稱為2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基或2'-DMAEOE)，亦即2'-O--CH_2--O--CH_2--$N(CH_3)_2$。其他例示性修飾包括：5'-Me-2'-F核苷酸、5'-Me-2'-OMe核苷酸、5'-Me-2'-去氧核苷酸(此等三個家族中之R及S異構體)；2'-烷氧基烷基；及2'-N-甲基乙醯胺(NMA)。

【0240】其他修飾包括2'-甲氧基(2'-OCH_3)，2'-胺基丙氧基(2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$)，2'-*O*-十六烷基及2'-氟(2'-F)。類似修飾亦可在RNAi藥劑之RNA上之其他位置處作出，尤其3'末端核苷酸上之糖之3'位置處或2'-5'連接dsRNA中及5'末端核苷酸之5'位置處。RNAi藥劑亦可具有糖模擬物，諸如環丁基部分替代呋喃戊醣基的糖。教示此類經修飾之糖結構之製備的代表性美國專利包括但不限於美國專利第4,981,957號；第5,118,800號；第5,319,080號；第5,359,044號；第5,393,878號；第5,446,137號；第5,466,786號；第5,514,785號；第5,519,134號；第5,567,811號；第5,576,427號；第5,591,722號；第5,597,909號；第5,610,300號；第

5,627,053 號 ； 第 5,639,873 號 ； 第 5,646,265 號 ； 第 5,658,873 號 ； 第 5,670,633號；及第5,700,920號，其中某些為與本申請案共同擁有。前述中之每一者之全部內容以引用的方式併入本文中。

【0241】 本發明之RNAi藥劑亦可包括核鹼基(此項技術中通常簡稱為「鹼基」)修飾或取代。如本文所用，「未經修飾」或「天然」核鹼基包括嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)，胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。經修飾之核鹼基包括其他合成及天然核鹼基，諸如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基及其他烷基衍生物、腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物、2-硫代尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶及2-硫代胞嘧啶、5-鹵基尿嘧啶及胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶及胞嘧啶、6-偶氮基尿嘧啶、胞嘧啶及胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫代尿嘧啶；經8-鹵基、8-胺基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羥基以及其他8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤；經5-鹵基(尤其5-溴)、5-三氟甲基以及其他5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤、8-氮雜鳥嘌呤及8-氮雜腺嘌呤、7-去氮雜鳥嘌呤及7-去氮雜腺嘌呤及3-去氮雜鳥嘌呤及3-去氮雜腺嘌呤。其他經修飾之核鹼基包括美國專利第3,687,808號中所揭示之核鹼基，Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. 編 Wiley-VCH, 2008中所揭示之核鹼基；The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering，第858-859頁, Kroschwitz, J. L編 John Wiley & Sons, 1990中所揭示之核鹼基，Englisch等人，(1991) *Angewandte Chemie國際版本*, 30:613所揭示之核鹼基，及Sanghvi, Y S.，第15章, dsRNA Research and Applications ，第 289-302 頁 , Crooke, S. T. 及

Lebleu, B.編, CRC Press, 1993所揭示之核鹼基。某些此等經修飾核鹼基尤其適用於提高本發明特徵在於之寡聚化合物的結合親和力。此等包括5-取代嘧啶、6-氮雜嘧啶及N-2、N-6及O-6取代嘌呤，包括2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶及5-丙炔基胞嘧啶。已展示5-甲基胞嘧啶取代可使核酸雙螺旋體穩定性提高0.6至1.2℃ (Sanghvi, Y. S.、Crooke, S. T.及Lebleu, B.編, dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993，第276-278頁)且為例示性鹼基取代，甚至更尤其與2'-O-甲氧基乙基糖修飾組合時。

【0242】 教示某些以上提及之經修飾之核鹼基以及其他經修飾之核鹼基之製備的代表性美國專利包括但不限於以上提及之美國專利第3,687,808號；第4,845,205號；第5,130,302號；第5,134,066號；第5,175,273號；第5,367,066號；第5,432,272號；第5,457,187號；第5,459,255號；第5,484,908號；第5,502,177號；第5,525,711號；第5,552,540號；第5,587,469號；第5,594,121號；第5,596,091號；第5,614,617號；第5,681,941號；第5,750,692號；第6,015,886號；第6,147,200號；第6,166,197號；第6,222,025號；第6,235,887號；第6,380,368號；第6,528,640號；第6,639,062號；第6,617,438號；第7,045,610號；第7,427,672號；及第7,495,088號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0243】 本發明之RNAi藥劑亦可經修飾以包括一或多個雙環糖部分。「雙環糖」為藉由兩個原子之橋聯修飾之呋喃醣基環。「雙環核苷」(「BNA」)為具有糖部分之核苷，該糖部分包含連接糖環之兩個碳原子的橋，由此形成雙環系統。在某些實施例中，橋連接糖環之4'-碳與2'-碳。

因此，在一些實施例中，本發明之藥劑可包括一或多個鎖核酸(LNA)。鎖核酸係具有經修飾之核糖部分之核苷酸，其中核糖部分包含連接2'及4'碳之附加橋。換言之，LNA為包含雙環糖部分之核苷酸，該雙環糖部分包含4'-CH2-O-2'橋。此結構將核糖有效地「鎖定」為3'-內結構構形。已展示將鎖核酸添加至siRNA中可增加血清中之siRNA穩定性，及減少脫靶作用(Elmen, J.等人，(2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447；Mook, OR.等人，(2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843；Grunweller, A.等人，(2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193)。用於本發明之聚核苷酸的雙環核苷之實例包括但不限於包含4'與2'核糖基環原子之間的橋的核苷。在某些實施例中，本發明之反義聚核苷酸藥劑包括一或多個包含4'至2'橋之雙環核苷。此類4'至2'橋連雙環核苷之實例包括但不限於4'-(CH_2)—O-2' (LNA)；4'-(CH_2)—S-2'；4'-(CH_2)$_2$—O-2' (ENA)；4'-CH(CH_3)—O-2' (亦稱作「經約束乙基」或「cEt」)及4'-CH(CH_2OCH_3)—O-2' (及其類似物；參見例如美國專利第7,399,845號)；4'-C(CH_3)(CH_3)—O-2' (及其類似物；參見例如美國專利第8,278,283號)；4'-CH_2—N(OCH_3)-2' (及其類似物；參見例如美國專利第8,278,425號)；4'-CH_2—O—N(CH_3)-2' (參見例如美國專利公開案第2004/0171570號)；4'-CH_2—N(R)—O-2'，其中R係H、C_1-C_{12}烷基或保護基(參見例如美國專利第7,427,672號)；4'-CH_2—C(H)(CH_3)-2' (參見例如Chattopadhyaya等人，*J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134)；及4'-CH_2—C(═CH_2)-2' (及其類似物；參見例如美國專利第8,278,426號)。前述中之每一者之全部內容以引用的方式併入本文中。

【0244】 教示鎖核酸核苷酸之製備之額外代表性美國專利及美國專

利公開案包括但不限於以下：美國專利第6,268,490號；第6,525,191號；第6,670,461號；第6,770,748號；第6,794,499號；第6,998,484號；第7,053,207號；第7,034,133號；第7,084,125號；第7,399,845號；第7,427,672號；第7,569,686號；第7,741,457號；第8,022,193號；第8,030,467號；第8,278,425號；第8,278,426號；第8,278,283號；第US 2008/0039618號；及第US 2009/0012281號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0245】 前述雙環核苷中之任一者可製備為具有一或多種立體化學糖組態，包括例如α-L-核呋喃糖及β-D-核呋喃糖(參見WO 99/14226)。

【0246】 本發明之RNAi藥劑亦可經修飾以包括一或多個經約束乙基核苷酸。如本文所用，「經約束乙基核苷酸」或「cEt」為包含雙環糖部分之鎖核酸，該雙環糖部分包含4'-CH(CH_3)-O-2'橋。在一個實施例中，經約束乙基核苷酸呈在本文中稱為「S-cEt」之S構形。

【0247】 本發明之RNAi藥劑亦可包括一或多個「構形受限核苷酸」(「CRN」)。CRN為核苷酸類似物，其具有連接核糖之C2'及C4'碳或核糖之C3及C5'碳的連接體。CRN將核糖環鎖定成穩定構形且提高對mRNA之雜交親和力。連接體具有足夠的長度以將氧置放於對於穩定性及親和力最佳之位置中，從而產生較少核糖環皺折(puckering)。

【0248】 教示某些上述CRN之製備的代表性公開案包括但不限於US 2013/0190383；及WO 2013/036868，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0249】 在一些實施例中，本發明之RNAi藥劑包含一或多個為未鎖核酸(UNA)核苷酸之單體。UNA為未鎖非環狀核酸，其中已移除糖之

鍵中之任一者，形成未鎖「糖」殘基。在一個實例中，UNA亦涵蓋C1'-C4'之間的鍵(亦即C1'與C4'碳之間的共價碳-氧-碳鍵)已經移除的單體。在另一實例中，糖之C2'-C3'鍵(亦即C2'與C3'碳之間的共價碳碳鍵)已移除(參見*Nuc. Acids Symp. Series,* 52, 133-134 (2008)及Fluiter等人，*Mol. Biosyst.,* 2009, 10, 1039，其以引用之方式併入本文中)。

【0250】教示UNA之製備的代表性美國公開案包括但不限於US8,314,227；及美國專利公開案第2013/0096289號；第2013/0011922號；及第2011/0313020號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0251】本發明之RNAi藥劑亦可包括一或多個「環己烯核酸」或(「CeNA」)。CeNA為DNA之呋喃醣部分經環己烯環置換的核苷酸類似物。將環己烯基核苷併入DNA鏈中增加DNA/RNA雜交體之穩定性。CeNA對血清中之降解穩定且CeNA/RNA雜交體能夠活化大腸桿菌(E. Coli) RNA酶H，引起RNA股之裂解。(參見Wang等人，*Am. Chem. Soc. 2000, 122, 36, 8595-8602*，其以引用之方式併入本文中)。

【0252】RNA分子末端的潛在穩定化修飾可包括N-(乙醯基胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6-NHAc)、N-(己醯基-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6)、N-(乙醯基-4-羥基脯胺醇(Hyp-NHAc)、胸苷-2'-O-去氧胸苷(醚)、N-(胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6-胺基)、2-二十二烷醯基-尿苷-3"-磷酸酯、反向鹼基dT (idT)及其他。此修飾之揭示可見於WO 2011/005861中。

【0253】本發明之RNAi藥劑之其他修飾包括5'磷酸酯或5'磷酸酯模擬物，例如RNAi藥劑之反義股上的5'末端磷酸酯或磷酸酯模擬物。適合

的磷酸酯模擬物揭示於例如US 2012/0157511中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

A. 包含本發明之模體之經修飾RNAi藥劑

【0254】 在本發明之某些態樣中，本發明之雙股RNAi藥劑包括具有化學修飾之藥劑，該等化學修飾如例如WO 2013/075035中所揭示，其全部內容以引用的方式併入本文中。如本文及WO 2013/075035中所示，三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之一或多個模體可引入RNAi藥劑之有義股或反義股中，尤其在裂解位點處或其附近。在一些實施例中，RNAi藥劑之有義股及反義股可另外經完全修飾。此等模體之引入中斷有義股或反義股之修飾模式(若存在)。RNAi藥劑可視情況與親脂性配位體，例如C16配位體結合，例如在有義股上。RNAi藥劑可視情況經(*S*)-二醇核酸(GNA)修飾，例如在反義股之一或多個殘基上經修飾。所得RNAi藥劑可呈現提高之基因緘默化活性。

【0255】 因此，本發明提供能夠活體內抑制目標基因(亦即LRRK2基因)表現之雙股RNAi藥劑。RNAi藥劑包含有義股及反義股。RNAi藥劑之各股之長度可為15至30個核苷酸。舉例而言，各股可為16-30個核苷酸長、17-30個核苷酸長、25-30個核苷酸長、27-30個核苷酸長、17-23個核苷酸長、17-21個核苷酸長、17-19個核苷酸長、19-25個核苷酸長、19-23個核苷酸長、19-21個核苷酸長、21-25個核苷酸長或21-23個核苷酸長。在某些實施例中，各股長度為19至23個核苷酸。

【0256】 有義股及反義股通常形成雙螺旋體雙股RNA(「dsRNA」)，在本文中亦稱為「RNAi藥劑」。RNAi藥劑之雙螺旋體區之長度可為15至30個核苷酸對。舉例而言，雙螺旋體區可為16-30個核苷

酸對長、17-30個核苷酸對長、27-30個核苷酸對長、17-23個核苷酸對長、17-21個核苷酸對長、17-19個核苷酸對長、19-25個核苷酸對長、19-23個核苷酸對長、19-21個核苷酸對長、21-25個核苷酸對長或21-23個核苷酸對長。在另一實例中，雙螺旋體區之長度選自15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26及27個核苷酸。在較佳實施例中，雙螺旋體區長度為19至21個核苷酸對。

【0257】 在一個實施例中，RNAi藥劑可在一股或兩股之3'端、5'端或兩個末端處含有一或多個懸垂部份區或封端基團。懸垂部份可為1至6個核苷酸長，例如2至6個核苷酸長、1至5個核苷酸長、2至5個核苷酸長、1至4個核苷酸長、2至4個核苷酸長、1至3個核苷酸長、2至3個核苷酸長或1至2個核苷酸長。在較佳實施例中，核苷酸懸垂部份區之長度為2個核苷酸。懸垂部份可為一股比另一股長之結果，或相同長度之兩股錯開之結果。懸垂部份可與目標mRNA形成錯配，或其可與所靶向之基因序列互補或可為另一序列。第一及第二股亦可接合，例如藉由額外鹼基以形成髮夾，或藉由其他非鹼基連接體。

【0258】 在一個實施例中，RNAi藥劑之懸垂部份區中之核苷酸可各自獨立地為經修飾或未經修飾之核苷酸，包括但不限於經2'-糖修飾，諸如2-F、2'-O-甲基、胸苷(T)及其任何組合。

【0259】 舉例而言，TT可為任一股上之任一末端的懸垂部份序列。懸垂部份可與目標mRNA形成錯配，或其可與所靶向之基因序列互補或可為另一序列。

【0260】 RNAi藥劑之有義股、反義股或兩股處之5'懸垂部份或3'懸垂部份可經磷酸化。在一些實施例中，一或多個懸垂部份區含有在兩個核

苷酸之間具有硫代磷酸酯的兩個核苷酸，其中兩個核苷酸可相同或不同。在一個實施例中，懸垂部份存在於有義股、反義股或兩股之3'端。在一個實施例中，此3'懸垂部份存在於反義股中。在一個實施例中，此3'懸垂部份存在於有義股中。

【0261】 RNAi藥劑可僅含有單一懸垂部份，其可增強RNAi之干擾活性而不影響其整體穩定性。舉例而言，單股懸垂部份可位於有義股之3'末端，或替代地位於反義股之3'末端。RNAi亦可具有鈍端，其位於反義股之5'端(亦即有義股之3'端)或反過來。通常，RNAi之反義股在3'端具有核苷酸懸垂部份且5'端為鈍端。儘管不希望受理論束縛，但不對稱的反義股之5'端鈍端及反義股之3'端懸垂部份有助於引導股裝載至RISC過程中。

【0262】 在一個實施例中，RNAi藥劑係雙鈍端且19個核苷酸長，其中有義股含有在自5'端之位置7、8及9處三個連續核苷酸上具有三個2'-F修飾之至少一個模體。反義股含有在自5'端之位置11、12及13處三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體。

【0263】 在另一實施例中，RNAi藥劑係雙鈍端且20個核苷酸長，其中有義股含有在自5'端之位置8、9及10處三個連續核苷酸上具有三個2'-F修飾之至少一個模體。反義股含有在自5'端之位置11、12及13處三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體。

【0264】 在又一實施例中，RNAi藥劑係雙鈍端且21個核苷酸長，其中有義股含有在自5'端之位置9、10及11處三個連續核苷酸上具有三個2'-F修飾之至少一個模體。反義股含有在自5'端之位置11、12及13處三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體。

【0265】 在一個實施例中，RNAi藥劑包含21個核苷酸有義股及23

個核苷酸反義股，其中有義股含有在自5'端之位置9、10及11處三個連續核苷酸上具有三個2'-F修飾之至少一個模體；反義股含有在自5'端之位置11、12及13處三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體，其中RNAi藥劑之一端為鈍的，而另一端包含2核苷酸懸垂部份。2核苷酸懸垂部份可在反義股之3'端。當2核苷酸懸垂部份位於反義股之3'端時，反義股之末端三個3'核苷酸之間可存在兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中三個核苷酸中之兩個為懸垂部份核苷酸，且第三個核苷酸為緊鄰懸垂部份核苷酸之配對核苷酸。在一個實施例中，RNAi藥劑額外具有有義股之5'端及反義股之5'端的末端三個核苷酸之間的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在一個實施例中，RNAi藥劑之有義股及反義股中之每個核苷酸，包括作為模體之一部分的核苷酸，為經修飾之核苷酸。在一個實施例中，各殘基獨立地經2'-O-甲基或2'-氟修飾，例如以交替模體形式。視情況，RNAi藥劑進一步包含配位體(例如親脂性配位體，視情況C16配位體)。

【0266】 在一個實施例中，RNAi藥劑包含有義股及反義股，其中有義股為25-30個核苷酸殘基長，其中自5'末端核苷酸(位置1)開始第一股之位置1至23包含至少8個核糖核苷酸；反義股為36-66個核苷酸殘基長，且自3'末端核苷酸開始，在與有義股之位置1-23配對的位置中包含至少8個核糖核苷酸以形成雙螺旋體；其中至少反義股之3'末端核苷酸與有義股未配對，且至多6個連續3'末端核苷酸與有義股未配對，從而形成1-6個核苷酸之3'單股懸垂部份；其中反義股之5'端包含10-30個與有義股未配對之連續核苷酸，從而形成10-30個核苷酸單股5'懸垂部份；其中當針對最大互補性排列有義股及反義股時，至少有義股5'末端及3'末端核苷酸與反義股之核苷酸鹼基配對，從而在有義股與反義股之間形成實質上雙螺旋區；

且當雙股核酸引入哺乳動物細胞中時，反義股與目標RNA沿著反義股的至少19個核糖核苷酸長度充分互補以減少目標基因表現；且其中有義股含有在三個連續核苷酸上具有三個2'-F修飾之至少一個模體，其中模體中之至少一者存在於裂解位點處或附近。反義股含有在裂解位點處或其附近三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體。

【0267】 在一個實施例中，RNAi藥劑包含有義股及反義股，其中RNAi藥劑包含長度為至少25且至多29個核苷酸之第一股及長度為至多30個核苷酸之第二股，該第二股具有在自5'端之位置11、12及13處三個連續核苷酸上具有三個2'-O-甲基修飾之至少一個模體；其中第一股之3'端及第二股之5'端形成鈍端且第二股在其3'端比第一股長1-4個核苷酸，其中雙螺旋體區之長度為至少25個核苷酸，且當將RNAi藥劑引入哺乳動物細胞中時，第二股與目標mRNA沿著第二股之至少19個核苷酸長度充分互補以減少目標基因表現，且其中RNAi藥劑之dicer裂解較佳產生包含第二股之3'端之siRNA，由此減少哺乳動物中目標基因之表現。視情況，RNAi藥劑進一步包含配位體。

【0268】 在一個實施例中，RNAi藥劑之有義股含有三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之至少一個模體，其中模體中之一者存在於有義股中之裂解位點處。

【0269】 在一個實施例中，RNAi藥劑之反義股亦可含有三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之至少一個模體，其中模體中之一者存在於反義股中之裂解位點處或其附近。

【0270】 對於具有長度為17至23個核苷酸之雙螺旋體區的RNAi藥劑，反義股之裂解位點通常在自5'端之10、11及12號位置周圍。因此，三

個相同修飾之模體可存在於反義股之9、10及11號位置；10、11及12號位置；11、12及13號位置；12、13及14號位置；或13、14及15號位置，計數自反義股之5'端之第1個核苷酸開始，或計數自反義股之5'端之雙螺旋體區內的第1個配對核苷酸開始。反義股中之裂解位點亦可根據自5'端之RNAi之雙螺旋體區之長度變化。

【0271】 RNAi藥劑之有義股可在該股之裂解位點處含有三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之至少一個模體；且反義股可在該股之裂解位點處或其附近具有三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之至少一個模體。當有義股及反義股形成dsRNA雙螺旋體時，有義股及反義股可經排列使得有義股上三個核苷酸之一個模體及反義股上三個核苷酸之一個模體具有至少一個核苷酸重疊，亦即有義股中模體之三個核苷酸中之至少一者與反義股中模體之三個核苷酸中之至少一者形成鹼基對。或者，至少兩個核苷酸可重疊，或所有三個核苷酸可重疊。

【0272】 在一個實施例中，RNAi藥劑之有義股可含有三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之超過一個模體。第一模體可存在於股之裂解位點處或其附近，且其他模體可為翼修飾。本文中之術語「翼修飾」係指存在於股之另一部分處之模體，其與同一股之裂解位點處或其附近的模體分開。翼修飾與第一模體相鄰或由至少一個或更多個核苷酸分隔開。當模體彼此緊鄰時，模體之化學性質彼此不同，且當模體由一或多個核苷酸分隔時，化學性質可相同或不同。可存在兩個或更多個翼修飾。舉例而言，當存在兩個翼修飾時，各翼修飾可位於相對於位於裂解位點處或其附近的第一模體之一端，或位於主要模體之任一側上。

【0273】 如同有義股，RNAi藥劑之反義股可含有三個連續核苷酸

上具有三個相同修飾之超過一個模體，其中模體中之至少一者存在於股之裂解位點處或其附近。此反義股亦可含有一或多個翼修飾，其以與可存在於有義股上之翼修飾類似的方式排列。

【0274】 在一個實施例中，RNAi藥劑之有義股或反義股上之翼修飾通常不包括股之3'端、5'端或兩端處的前一或兩個末端核苷酸。

【0275】 在另一實施例中，RNAi藥劑之有義股或反義股上之翼修飾通常不包括股之3'端、5'端或兩端處雙螺旋體區內之前一或兩個配對核苷酸。

【0276】 當RNAi藥劑之有義股及反義股各自含有至少一個翼修飾時，翼修飾可位於雙螺旋體區之同一末端上且具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊。

【0277】 當RNAi藥劑之有義股及反義股各自含有至少兩個翼修飾時，有義股及反義股可經排列使得各自來自一股之兩個修飾位於雙螺旋體區之一端上，具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊；各自來自一股之兩個修飾位於雙螺旋體區之另一端上，具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊；來自一股之兩個修飾位於主要模體之各側上，在雙螺旋體區中具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊。

【0278】 在一個實施例中，RNAi藥劑包含與目標、雙螺旋體內或其組合之一或多個錯配。錯配可存在於懸垂部份區或雙螺旋體區中。鹼基對可基於其促進解離或解鏈之傾向分級(例如基於特定配對之締合或解離之自由能，最簡單的方法為在個別對之基礎上來檢驗對，但隨後亦可使用鄰近或類似分析)。在促進解離方面，A:U優於G:C；G:U優於G:C；且I:C優於G:C (I=肌苷)。例如非典型或除典型配對以外(如本文中別處描述)的

錯配優於典型(A:T、A:U、G:C)配對；且包括通用鹼基之配對優於典型配對。

【0279】 在一個實施例中，RNAi藥劑包含自反義股之5'端之雙螺旋體區內的前1、2、3、4或5個鹼基對中之至少一者，其獨立地選自下群：A:U、G:U、I:C及錯配配對，例如非典型或除典型配對以外的配對或包括通用鹼基之配對，以促進雙螺旋體之5'端處反義股之解離。

【0280】 在一個實施例中，反義股中自5'端之雙螺旋體區內之1號位置處的核苷酸係選自由以下組成之群：A、dA、dU、U及dT。或者，反義股之自5'端之雙螺旋體區內之前1、2或3個鹼基對中之至少一者為AU鹼基對。舉例而言，反義股之自5'端之雙螺旋體區內之第一個鹼基對為AU鹼基對。

【0281】 在另一實施例中，有義股之3'端的核苷酸為去氧胸苷(dT)。在另一實施例中，反義股之3'端的核苷酸為去氧胸苷(dT)。在一個實施例中，存在去氧胸腺嘧啶核苷酸之短序列，例如有義股或反義股之3'端上之兩個dT核苷酸。

【0282】 在一個實施例中，有義股序列可由式(I)表示：

$$5'\ n_p\text{-}N_a\text{-}(X\ X\ X)_i\text{-}N_b\text{-}Y\ Y\ Y\text{-}N_b\text{-}(Z\ Z\ Z)_j\text{-}N_a\text{-}n_q\ 3' \quad (I)$$

其中：

i及j各自獨立地為0或1；

p及q各自獨立地為0至6；

各N_a獨立地表示包含0-25個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列，各序列包含至少兩個不同經修飾核苷酸；

各N_b獨立地表示包含0-10個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列；

各n_p及n_q獨立地表示懸垂部份核苷酸；

其中Nb及Y不具有相同修飾；及

XXX、YYY及ZZZ各自獨立地表示三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之一個模體。YYY較佳全部為經2'-F修飾之核苷酸。

【0283】 在一個實施例中，N_a或N_b包含交替模式之修飾。

【0284】 在一個實施例中，YYY模體存在於有義股之裂解位點處或其附近。舉例而言，當RNAi藥劑具有長度為17-23個核苷酸的雙螺旋體區時，YYY模體可存在於有義股之裂解位點處或其附近(例如可存在於位置6、7、8；7、8、9；8、9、10；9、10、11；10、11、12；或11、12、13處)，計數自5'端的第1個核苷酸開始；或視情況計數自5'端的雙螺旋體區內之第1個配對核苷酸處開始。

【0285】 在一個實施例中，i係1且j係0，或i係0且j係1，或i及j均為1。有義股可因此由下式表示：

5' n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3'　(Ib)；

5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3'　(Ic)；或

5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3'　(Id)。

【0286】 當有義股由式(Ib)表示時，N_b表示包含0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0287】 各N_a可獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0288】 當有義股表示為式(Ic)時，N_b表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a可獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0289】 當有義股表示為式(Id)時，各N_b獨立地表示包含0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。N_b較佳為0、1、2、3、4、5或6。各N_a可獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0290】 X、Y及Z中之每一者可彼此相同或不同。

【0291】 在其他實施例中，i為0且j為0，且有義股可由下式表示：

5' n_p-N_a-YYY- N_a-n_q 3'　(Ia)。

【0292】 當有義股由式(Ia)表示時，各N_a可獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0293】 在一個實施例中，RNAi之反義股序列可由式(II)表示：

5' $n_{q'}$-N_a'-(Z'Z'Z')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(X'X'X')$_l$-N'$_a$-n_p' 3'　(II)

其中：

k及l各自獨立地為0或1；

p'及q'各自獨立地為0-6；

各N_a'獨立地表示包含0-25個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列，各序列包含至少兩個不同經修飾核苷酸；

各N_b'獨立地表示包含0-10個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列；

各n_p'及n_q'獨立地表示懸垂部份核苷酸；

其中N_b'及Y'不具有相同修飾；

且X'X'X'、Y'Y'Y'及Z'Z'Z'各自獨立地表示在三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之一個模體。

【0294】 在一個實施例中，N_a'或N_b'包含交替模式之修飾。

【0295】 Y'Y'Y'模體存在於反義股之裂解位點處或其附近。舉例而

言，當RNAi藥劑具有長度為17-23個核苷酸之雙螺旋體區時，Y'Y'Y'模體可存在於反義股之位置9、10、11；10、11、12；11、12、13；12、13、14；或13、14、15處，其中計數自5'端的第1個核苷酸開始；或視情況計數自5'端的雙螺旋體區內之第1個配對核苷酸處開始。Y'Y'Y'模體較佳存在於位置11、12、13處。

【0296】 在一個實施例中，Y'Y'Y'模體全部為經2'-OMe修飾之核苷酸。

【0297】 在一個實施例中，k為1且l為0，或k為0且l為1，或k及l均為1。

【0298】 反義股可因此由下式表示：

5' $n_{q'}$-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-$n_{p'}$ 3' (IIb)；

5' $n_{q'}$-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-$n_{p'}$ 3' (IIc)；或

5' $n_{q'}$-N_a'- Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'- X'X'X'-N_a'-$n_{p'}$ 3' (IId)。

【0299】 當反義股由式(IIb)表示時，N_b'表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a'獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0300】 當反義股表示為式(IIc)時，N_b'表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a'獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0301】 當反義股表示為式(IId)時，各N_b'獨立地表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a'獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。N_b較佳為0、1、2、3、4、5或6。

【0302】 在其他實施例中，k為0且l為0，且反義股可由下式表示：

5' $n_{p'}$-$N_{a'}$-Y'Y'Y'- $N_{a'}$-$n_{q'}$ 3' (Ia)。

【0303】 當反義股表示為式(IIa)時，各N_a'獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0304】 X'、Y'及Z'中之每一者可彼此相同或不同。

【0305】 有義股及反義股之各核苷酸可獨立地經LNA、UNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羥基或2'-氟修飾。舉例而言，有義股及反義股之各核苷酸獨立地經2'-O-甲基或2'-氟修飾。各X、Y、Z、X'、Y'及Z'尤其可表示2'-O-甲基修飾或2'-氟修飾。

【0306】 在一個實施例中，當雙螺旋體區為21 nt時，RNAi藥劑之有義股可含有在該股之9、10及11號位置處存在的YYY模體，計數自5'端的第1個核苷酸開始，或視情況計數自5'端的雙螺旋體區內之第1個配對核苷酸處開始；且Y表示2'-F修飾。有義股可在雙螺旋體區之相對端額外含有XXX模體或ZZZ模體作為翼修飾；且XXX及ZZZ各自獨立地表示2'-OMe修飾或2'-F修飾。

【0307】 在一個實施例中，反義股可含有在該股之位置11、12、13處存在的Y'Y'Y'模體，計數自5'端的第1個核苷酸開始，或視情況計數自5'端的雙螺旋體區內之第1個配對核苷酸處開始；且Y'表示2'-O-甲基修飾。反義股可在雙螺旋體區之相對端額外含有X'X'X'模體或Z'Z'Z'模體作為翼修飾；且X'X'X'及Z'Z'Z'各自獨立地表示2'-OMe修飾或2'-F修飾。

【0308】 由上式(Ia)、(Ib)、(Ic)及(Id)中之任一者表示的有義股分別與由式(IIa)、(IIb)、(IIc)及(IId)中之任一者表示的反義股形成雙螺旋

體。

【0309】 因此，用於本發明方法之RNAi藥劑可包含有義股及反義股，各股具有14至30個核苷酸，RNAi雙螺旋體由式(III)表示：

有義：5' n_p -N_a-(X X X)$_i$ -N_b- Y Y Y -N_b -(Z Z Z)$_j$-N_a-n_q 3'

反義：3' n_p'-N_a'-(X'X'X')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')$_l$-N_a'-n_q' 5'　(III)

其中：

i、j、k以及l各獨立地為0或1；

p、p'、q及q'各自獨立地為0至6；

各N_a及N_a'獨立地表示包含0-25個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列，各序列包含至少兩個不同經修飾核苷酸；

各N_b及N_b'獨立地表示包含0-10個經修飾核苷酸之寡核苷酸序列；

其中

各n_p'、n_p、n_q'及n_q，其中每一者可存在或可不存在，獨立地表示懸垂部份核苷酸；及

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'及Z'Z'Z'各自獨立地表示在三個連續核苷酸上具有三個相同修飾的一個模體。

【0310】 在一個實施例中，i係0且j係0；或i係1且j係0；或i係0且j係1；或i及j均係0；或i及j均係1。在另一實施例中，k為0且l為0；或k為1且l為0；k為0且l為1；或k及l均為0；或k及l均為1。

【0311】 形成RNAi雙螺旋體之有義股及反義股之例示性組合包括下式：

5' n_p - N_a -Y Y Y -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y' -N_a'n_q' 5'　(IIIa)

5' n_p -N_a -Y Y Y -N_b -Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a'n_q' 5' (IIIb)

5' n_p-N_a- X X X -N_b -Y Y Y - N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5' (IIIc)

5' n_p -N_a -X X X -N_b-Y Y Y -N_b- Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a-n_q' 5' (IIId)

【0312】 當RNAi藥劑由式(IIIa)表示時，各N_a獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0313】 當RNAi藥劑由式(IIIb)表示時，各N_b獨立地表示包含1-10、1-7、1-5或1-4個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0314】 當RNAi藥劑表示為式(IIIc)時，各N_b、N_b'獨立地表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾核苷酸的寡核苷酸序列。

【0315】 當RNAi藥劑表示為式(IIId)時，各N_b、N_b'獨立地表示包含0-10、0-7、0-10、0-7、0-5、0-4、0-2或0個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各N_a、N_a'獨立地表示包含2-20、2-15或2-10個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。N_a、N_a'、N_b及N_b'中之每一者獨立地包含交替模式之修飾。

【0316】 在一個實施例中，當RNAi藥劑由式(IIId)表示時，N_a修飾為2'-O-甲基或2'-氟修飾。在另一實施例中，當RNAi藥劑由式(IIId)表示時，N_a修飾為2'-O-甲基或2'-氟修飾且n_p' >0且至少一個n_p'經由硫代磷酸

酯鍵連接於鄰近核苷酸。在又一實施例中，當RNAi藥劑由式(IIId)表示時，N_a修飾為2'-O-甲基或2'-氟修飾，$n_p'>0$且至少一個n_p'經由硫代磷酸酯鍵連接於鄰近核苷酸，且有義股結合於一或多個經由二價或三價分支鏈連接基團(下文所述)連接的C16 (或相關)部分。在另一實施例中，當RNAi藥劑由式(IIId)表示時，N_a修飾為2'-O-甲基或2'-氟修飾，$n_p'>0$且至少一個n_p'經由硫代磷酸酯鍵連接於鄰近核苷酸，有義股包含至少一個硫代磷酸酯鍵，且有義股結合於一或多個視情況經由二價或三價分支鏈連接基團連接的親脂性，例如C16 (或相關)部分。

【0317】 在一個實施例中，當RNAi藥劑由式(IIIa)表示時，N_a修飾為2'-O-甲基或2'-氟修飾，$n_p'>0$且至少一個n_p'經由硫代磷酸酯鍵連接於鄰近核苷酸，有義股包含至少一個硫代磷酸酯鍵，且有義股結合於一或多個經由二價或三價分支鏈連接基團連接的親脂性，例如C16 (或相關)部分。

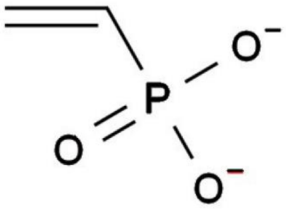
【0318】 在一個實施例中，RNAi藥劑為含有至少兩個由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(IIId)表示之雙螺旋體的多聚體，其中雙螺旋體藉由連接體連接。連接體可為可裂解或不可裂解的。視情況，多聚體進一步包含配位體。雙螺旋體中之每一者可靶向相同基因或兩個不同基因；或雙螺旋體中之每一者可靶向同一基因的兩個不同目標位點。

【0319】 在一個實施例中，RNAi藥劑為含有三個、四個、五個、六個或更多個由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(IIId)表示之雙螺旋體之多聚體，其中雙螺旋體藉由連接體連接。連接體可為可裂解或不可裂解的。視情況，多聚體進一步包含配位體。雙螺旋體中之每一者可靶向相同基因或兩個不同基因；或雙螺旋體中之每一者可靶向同一基因的兩個不同目標位點。

【0320】在一個實施例中，由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(IIId)表示之兩個RNAi藥劑在5'端彼此連接，且3'端中之一或兩者視情況結合於配位體。藥劑中之每一者可靶向相同基因或兩個不同基因；或藥劑中之每一者可靶向同一基因的兩個不同目標位點。

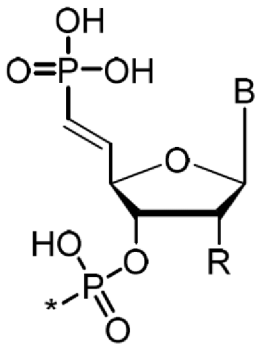
【0321】各種公開案描述可用於本發明之方法中的多聚RNAi藥劑。此類公開案包括WO2007/091269、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887及WO2011/031520；及US 7858769，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0322】在某些實施例中，本發明之組合物及方法包括如本文所述之RNAi藥劑之膦酸乙烯酯(VP)修飾。在例示性實施例中，本發明之膦酸乙烯酯具有以下結構：



【0323】本發明之膦酸乙烯酯可連接於本發明之dsRNA的反義股或有義股。在某些實施例中，本發明之膦酸乙烯酯連接於dsRNA之反義股，視情況在dsRNA之反義股的5'端。dsRNA藥劑可在有義股或反義股之5'端處包含含磷基團。5'端含磷基團可為5'端磷酸酯(5'-P)、5'端硫代磷酸酯(5'-PS)、5'端二硫代磷酸酯(5'-PS2)、5'端膦酸乙烯酯(5'-VP)、5'端甲基膦酸酯(MePhos)或5'-去氧-5'-C-丙二醯基。當5'端含磷基團為5'端膦酸乙烯酯(5'-VP)時，5'-VP可為5'-E-VP異構體(亦即，反式膦酸乙烯酯)、5'-Z-VP異構體(亦即，順式膦酸乙烯酯)或其混合物。

【0324】舉例而言，當磷酸酯模擬物為5'-E-乙烯基膦酸酯(VP)時，5'末端核苷酸可具有以下結構：

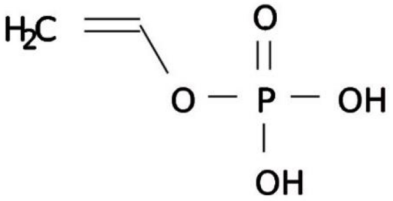


其中*指示連接相鄰核苷酸之5'位置的鍵之位置；

R為氫、羥基、甲氧基或氟(例如羥基)；及

B為核鹼基或經修飾核鹼基，視情況其中B為腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

【0325】 磷酸乙烯酯修飾亦考慮用於本發明之組合物及方法。例示性磷酸乙烯酯結構為：



【0326】

i. 熱去穩定化修飾

在某些實施例中，dsRNA分子可藉由在反義股之種子區中併入熱去穩定化修飾而針對RNA干擾進行最佳化。如本文所用，「種子區」意謂所提及股之5'端的位置2至9。舉例而言，可以將熱去穩定化修飾併入反義股的種子區中以減少或抑制脫靶基因緘默化。

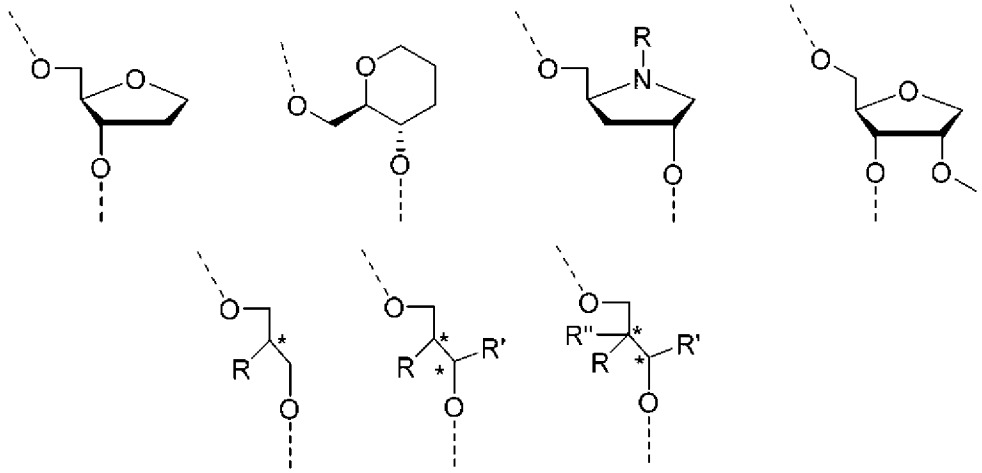
【0327】 術語「一或多個熱去穩定化修飾」包括將產生具有比不具有此類一或多個修飾之dsRNA的整體解鏈溫度(Tm)低的Tm之dsRNA的一或多個修飾。舉例而言，一或多個熱去穩定化修飾可使dsRNA之Tm降低1至4℃，諸如一、二、三或四攝氏度。且，術語「熱去穩定化核苷酸」係

指含有一或多個熱去穩定化修飾之核苷酸。

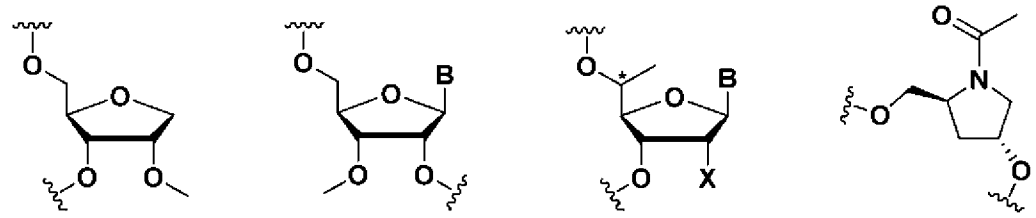
【0328】 已發現，具有在自5'端計數反義股之前9個核苷酸位置內包含雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾的反義股之dsRNA具有降低的脫靶基因緘默化活性。因此，在一些實施例中，反義股在反義股之5'區之前9個核苷酸位置內包含雙螺旋體之至少一個(例如一個、兩個、三個、四個、五個或更多個)熱去穩定化修飾。在一些實施例中，雙螺旋體之一或多個熱去穩定化修飾位於自反義股之5'端的位置2至9，諸如位置4至8。在一些其他實施例中，雙螺旋體之一或多個熱去穩定化修飾位於自反義股之5'端的位置6、7或8處。在又一些其他實施例中，雙螺旋體之熱去穩定化修飾位於自反義股之5'端的位置7處。在一些實施例中，雙螺旋體之熱去穩定化修飾位於自反義股之5'端的位置2、3、4、5或9處。

【0329】 熱去穩定化修飾可以包括但不限於無鹼基修飾；與相對股中之相對核苷酸的錯配；及糖修飾，諸如2'-去氧修飾或非環狀核苷酸，例如未鎖核酸(UNA)或二醇核酸(GNA)。

【0330】 例示性無鹼基修飾包括但不限於以下：

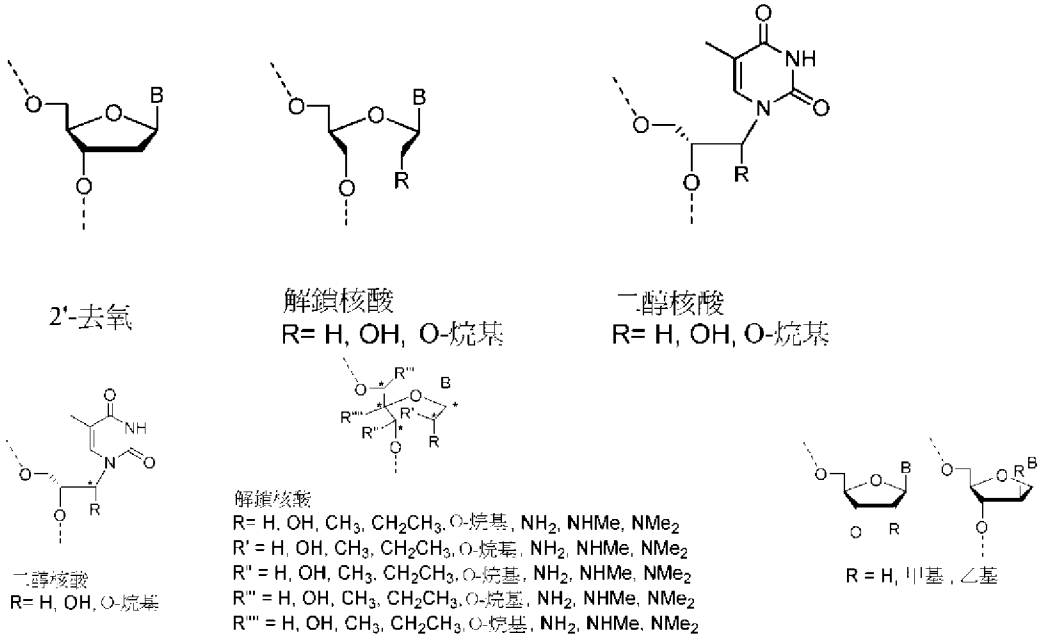


其中R=H、Me、Et或OMe；R'=H、Me、Et或OMe；R''=H、Me、Et或OMe



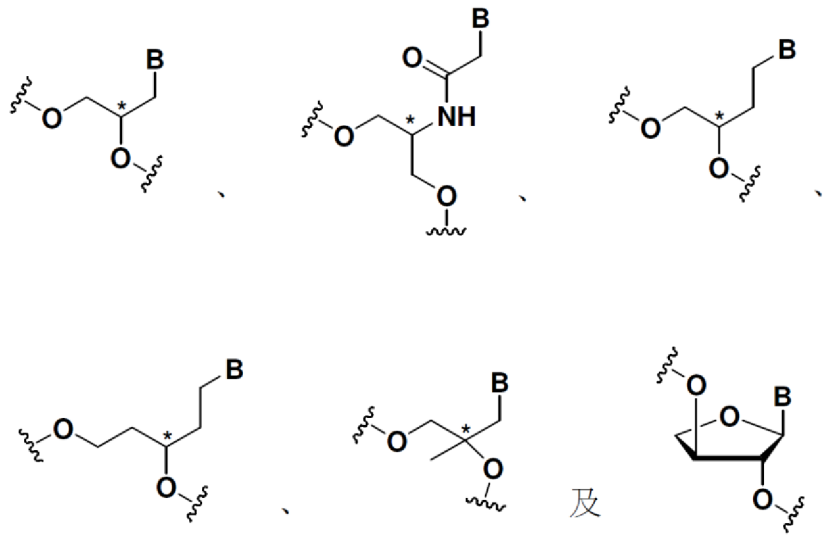
其中B為經修飾或未經修飾之核鹼基。

【0331】 例示性糖修飾包括但不限於以下：



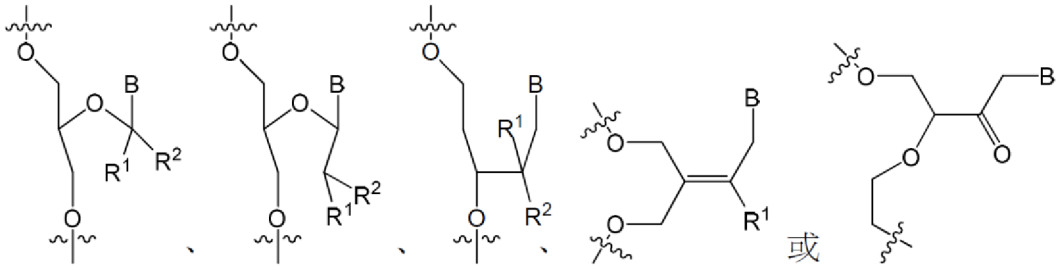
其中B為經修飾或未經修飾之核鹼基。

【0332】 在一些實施例中，雙螺旋體之熱去穩定化修飾係選自由以下組成之群：



其中B為經修飾或未經修飾之核鹼基，且各結構上之星號表示*R*、*S*或*外消旋*。

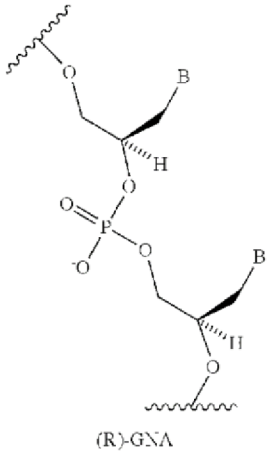
【0333】術語「非環狀核苷酸」係指具有非環狀核糖之任何核苷酸，例如，其中核糖碳之間的鍵中之任一者(例如，C1'-C2'、C2'-C3'、C3'-C4'、C4'-O4'或C1'-O4')不存在或核糖碳或氧中之至少一者(例如，C1'、C2'、C3'、C4'或O4')獨立地或組合地不存在於核苷酸中。在一些實施例中，非環狀核苷酸為



，其中B為經修飾或未經修飾之核鹼基，R^1及R^2獨立地為H、鹵素、OR_3或烷基；且R_3為H、烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖)。非環狀衍生物提供較大的主鏈可撓性而不影響沃森-克里克配對。非環狀核苷酸可經由2'-5'或3'-5'鍵連接。

【0334】術語『GNA』係指二醇核酸，其為與DNA或RNA類似，但其「主鏈」組成不同的聚合物，其由藉由磷酸二酯鍵連接之重複甘油單

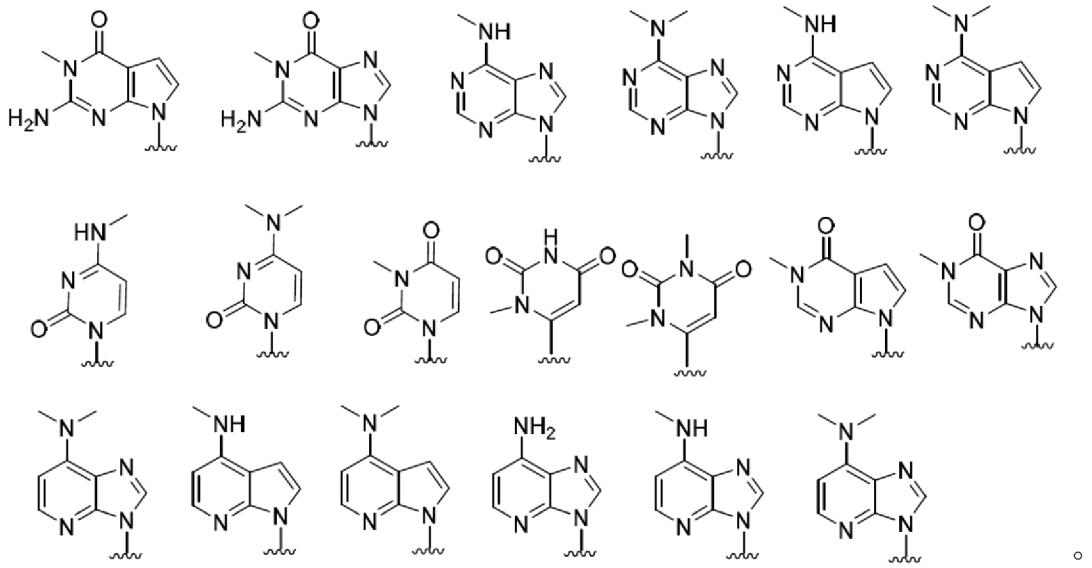
元構成：



(R)-GNA 。

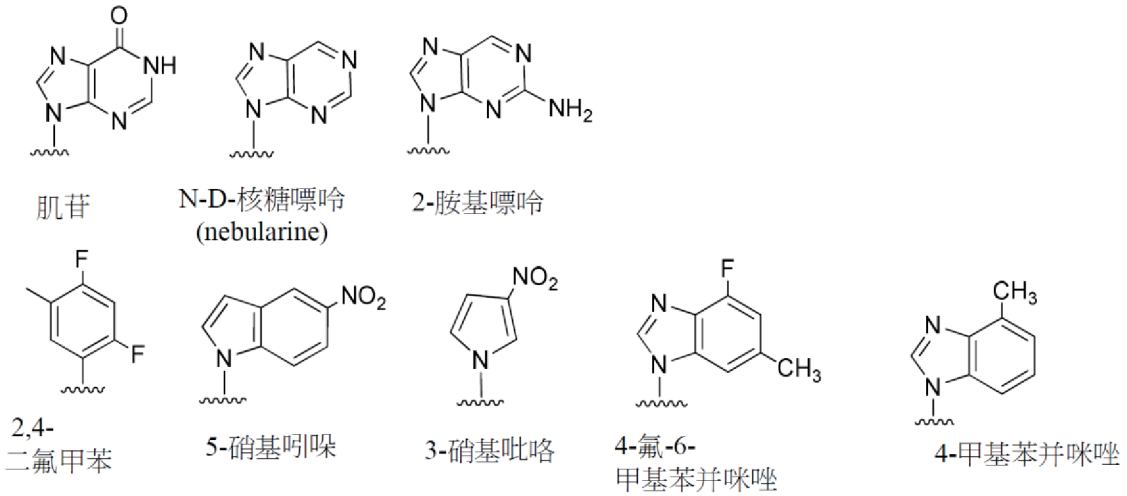
【0335】 雙螺旋體之熱去穩定化修飾可為dsRNA雙螺旋體內之熱去穩定化核苷酸與相對股中之相對核苷酸之間的錯配(亦即，非互補鹼基對)。例示性錯配鹼基對包括G:G、G:A、G:U、G:T、A:A、A:C、C:C、C:U、C:T、U:U、T:T、U:T或其組合。此項技術中已知的其他錯配鹼基對亦適合於本發明。錯配可發生在天然存在之核苷酸或經修飾之核苷酸的核苷酸之間，亦即，錯配鹼基配對可獨立於核苷酸之核糖上的修飾發生在來自各別核苷酸之核鹼基之間。在某些實施例中，dsRNA分子在錯配配對中含有至少一個為2'-去氧核鹼基的核鹼基；例如，2'-去氧核鹼基位於有義股中。

【0336】 在一些實施例中，反義股之種子區中之雙螺旋體的熱去穩定化修飾包括與目標mRNA上之互補鹼基的沃森-克里克氫鍵受損的核苷酸，諸如：



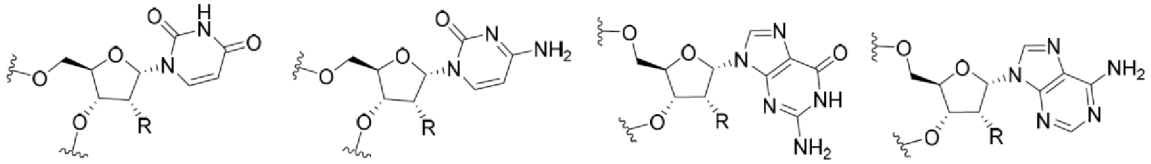
【0337】 無鹼基核苷酸、非環狀核苷酸修飾(包括UNA及GNA)及錯配修飾之更多實例已詳細描述於WO 2011/133876中，其以全文引用之方式併入本文中。熱去穩定化修飾亦可包括具有降低或消除的與相對鹼基形成氫鍵之能力的通用鹼基，以及磷酸酯修飾。

【0338】 在一些實施例中，雙螺旋體之熱去穩定化修飾包括具有非典型鹼基之核苷酸，諸如但不限於具有減弱或完全消除之與相對股中之鹼基形成氫鍵之能力的核鹼基修飾。此等核鹼基修飾已針對dsRNA雙螺旋體之中心區的去穩定化進行評價，如WO 2010/0011895中所述，其以全文引用之方式併入本文中。例示性核鹼基修飾為：



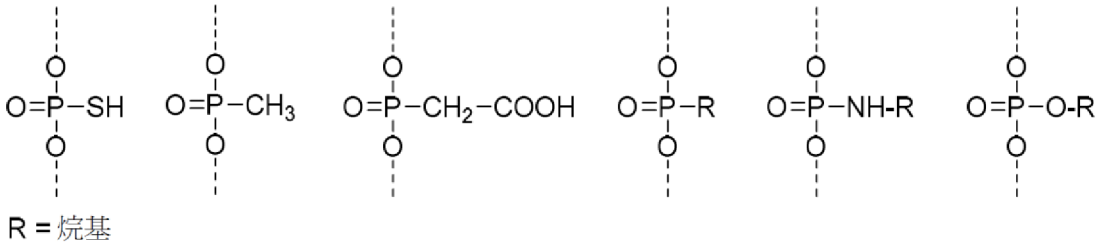
【0339】 在一些實施例中，反義股之種子區中之雙螺旋體的熱去穩

定化修飾包括一或多個與目標mRNA上之鹼基互補的α-核苷酸，諸如：



其中R為H、OH、OCH_3、F、NH_2、NHMe、NMe_2或O-烷基。

【0340】 已知與天然磷酸二酯鍵相比降低dsRNA雙螺旋體之熱穩定性的例示性磷酸酯修飾為：



【0341】 R基團之烷基可為C_1-C_6烷基。R基團之特定烷基包括但不限於甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、戊基及己基。

【0342】 如熟習此項技術者將認識到，鑒於核鹼基之功能性作用係定義本發明之RNAi藥劑之特異性，儘管核鹼基修飾可以如本文中所描述之各種方式進行，例如以將去穩定化修飾引入本發明之RNAi藥劑中，例如出於相對於脫靶作用增強中靶作用之目的，但可用於且一般而言存在於本發明之RNAi藥劑上的修飾之範圍對於非核鹼基修飾，例如聚核糖核苷酸之糖基團或磷酸酯主鏈之修飾往往要大得多。此類修飾更詳細地描述於本發明之其他部分中且明確地考慮用於本發明之RNAi藥劑，其具有原生核鹼基或如上文或本文別處所述之經修飾核鹼基。

【0343】 除包含熱去穩定化修飾之反義股以外，dsRNA亦可包含一或多個穩定化修飾。舉例而言，dsRNA可包含至少兩個(例如兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)穩定化修飾。在無限制之情況下，穩定化修飾可皆存在於一股中。在一些實施例

中，有義股及反義股兩者均包含至少兩個穩定化修飾。穩定化修飾可存在於有義股或反義股之任何核苷酸上。舉例而言，穩定化修飾可存在於有義股或反義股上之每一核苷酸上；各穩定化修飾可以交替模式存在於有義股或反義股上；或有義股或反義股包含呈交替模式之兩種穩定化修飾。有義股上之穩定化修飾之交替模式可與反義股相同或不同，且有義股上之穩定化修飾之交替模式可相對於反義股上之穩定化修飾之交替模式具有偏移。

【0344】 在一些實施例中，反義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)穩定化修飾。在無限制的情況下，反義股中之穩定化修飾可存在於任何位置。在一些實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、6、8、9、14及16處的穩定化修飾。在一些其他實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、6、14及16處的穩定化修飾。在又一些其他實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、14及16處的穩定化修飾。

【0345】 在一些實施例中，反義股包含與去穩定化修飾相鄰之至少一個穩定化修飾。舉例而言，穩定化修飾可為去穩定化修飾之5'端或3'端處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置-1或+1處的核苷酸。在一些實施例中，反義股包含在去穩定化修飾之5'端及3'端中之每一者處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置-1及+1處的穩定化修飾。

【0346】 在一些實施例中，反義股包含在去穩定化修飾之3'端處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置+1及+2處的至少兩個穩定化修飾。

【0347】 在一些實施例中，有義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)穩定化修

飾。在無限制的情況下，有義股中之穩定化修飾可存在於任何位置。在一些實施例中，有義股包含在自5'端的位置7、10及11處之穩定化修飾。在一些其他實施例中，有義股包含在自5'端之位置7、9、10及11處的穩定化修飾。在一些實施例中，有義股包含在與自反義股之5'端計數反義股之位置11、12及15相反或互補之位置處的穩定化修飾。在一些其他實施例中，有義股包含在與自反義股之5'端計數反義股之位置11、12、13及15相反或互補之位置處的穩定化修飾。在一些實施例中，有義股包含兩個、三個或四個穩定化修飾之嵌段。

【0348】 在一些實施例中，有義股不包含在與反義股中之雙螺旋體之熱去穩定化修飾相反或互補之位置中的穩定化修飾。

【0349】 例示性熱穩定化修飾包括但不限於2'-氟修飾。其他熱穩定化修飾包括但不限於LNA。

【0350】 在一些實施例中，本發明之dsRNA包含至少四個(例如四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個) 2'-氟核苷酸。在無限制之情況下，2'-氟核苷酸可皆存在於一股中。在一些實施例中，有義股及反義股兩者均包含至少兩個2'-氟核苷酸。2'-氟修飾可存在於有義股或反義股之任何核苷酸上。舉例而言，2'-氟修飾可存在於有義股或反義股上之每一核苷酸上；各2'-氟修飾可以交替模式存在於有義股或反義股上；或有義股或反義股包含呈交替模式之兩種2'-氟修飾。有義股上之2'-氟修飾之交替模式可與反義股相同或不同，且有義股上之2'-氟修飾之交替模式可相對於反義股上之2'-氟修飾之交替模式具有偏移。

【0351】 在一些實施例中，反義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個) 2'-氟核苷

酸。在無限制的情況下，反義股中之2'-氟修飾可存在於任何位置。在一些實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、6、8、9、14及16處的2'-氟核苷酸。在一些其他實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、6、14及16處的2'-氟核苷酸。在又一些其他實施例中，反義股包含在自5'端之位置2、14及16處的2'-氟核苷酸。

【0352】 在一些實施例中，反義股包含與去穩定化修飾相鄰之至少一個2'-氟核苷酸。舉例而言，2'-氟核苷酸可為去穩定化修飾之5'端或3'端處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置-1或+1處的核苷酸。在一些實施例中，反義股包含在去穩定化修飾之5'端及3'端中之每一者處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置-1及+1處的2'-氟核苷酸。

【0353】 在一些實施例中，反義股包含在去穩定化修飾之3'端處，亦即在從去穩定化修飾之位置起的位置+1及+2處的至少兩個2'-氟核苷酸。

【0354】 在一些實施例中，有義股包含至少兩個(例如兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個) 2'-氟核苷酸。在無限制的情況下，有義股中之2'-氟修飾可存在於任何位置。在一些實施例中，反義股包含在自5'端之位置7、10及11處的2'-氟核苷酸。在一些其他實施例中，有義股包含在自5'端的位置7、9、10及11處之2'-氟核苷酸。在一些實施例中，有義股包含在與自反義股之5'端計數反義股之位置11、12及15相反或互補之位置處的2'-氟核苷酸。在一些其他實施例中，有義股包含在與自反義股之5'端計數反義股之位置11、12、13及15相反或互補之位置處的2'-氟核苷酸。在一些實施例中，有義股包含兩個、三個或四個2'-氟核苷酸之嵌段。

【0355】 在一些實施例中，有義股不包含在與反義股中之雙螺旋體之熱去穩定化修飾相反或互補之位置中的2'-氟核苷酸。

【0356】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含21個核苷酸(nt)有義股及23個核苷酸(nt)反義股，其中反義股含有至少一個熱去穩定化核苷酸，其中至少一個熱去穩定化核苷酸存在於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)，其中dsRNA之一端係鈍端，而另一端包含2 nt懸垂部份，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者或所有七者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)反義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(iii)有義股與配位體結合；(iv)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(v)有義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(vi) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；及(vii) dsRNA在反義股之5'端處包含鈍端。較佳地，2 nt懸垂部份位於反義股之3'端。

【0357】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含有義股及反義股，其中：有義股為25-30個核苷酸殘基長，其中自5'末端核苷酸(位置1)開始該有義股之位置1至23包含至少8個核糖核苷酸；反義股為36-66個核苷酸殘基長，且自3'末端核苷酸開始，在與有義股之位置1-23配對的位置中包含至少8個核糖核苷酸以形成雙螺旋體；其中至少反義股之3'末端核苷酸與有義股未配對，且至多6個連續3'末端核苷酸與有義股未配對，從而形成1-6個核苷酸之3'單股懸垂部份；其中反義股之5'端包含10-30個與有義股未配對之連續核苷酸，從而形成10-30個核苷酸單股5'懸垂部份；其中當針對最大互補性排列有義股及反義股時，至少有義股5'末端及3'末端核苷酸與反義股之核苷酸鹼基配對，從而在有義股與反義股之間形成實

質上雙螺旋區；且當該雙股核酸引入哺乳動物細胞中時，反義股與目標RNA沿著反義股的至少19個核糖核苷酸長度充分互補以減少目標基因表現；且其中反義股含有至少一個熱去穩定化核苷酸，其中至少一個熱去穩定化核苷酸位於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)。舉例而言，熱去穩定化核苷酸存在於與有義股之5'端的位置14至17相反或互補的位置之間，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者或所有七者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)反義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(iii)有義股與配位體結合；(iv)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(v)有義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；及(vi) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；及(vii) dsRNA包含長度為12至30個核苷酸對的雙螺旋體區。

【0358】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含有義股及反義股，其中該dsRNA分子包含長度為至少25且至多29個核苷酸之有義股及長度為至多30個核苷酸之反義股，其中有義股在自5'端位置11處包含對酶降解敏感的經修飾之核苷酸，其中該有義股之3'端及該反義股之5'端形成鈍端且該反義股在其3'端比有義股長1-4個核苷酸，其中雙螺旋體區之長度為至少25個核苷酸，且當將該dsRNA分子引入哺乳動物細胞中時，該反義股與目標mRNA沿著該反義股之至少19 nt長度充分互補以減少目標基因表現，且其中該dsRNA之dicer裂解較佳產生包含該反義股之該3'端之siRNA，由此減少哺乳動物中目標基因之表現，其中反義股含有至少一個熱去穩定化核苷酸，其中至少一個熱去穩定化核苷酸位於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)，且其中dsRNA視情況進一步具

有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者或所有七者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)反義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(iii)有義股與配位體結合；(iv)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(v)有義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；及(vi) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；及(vii) dsRNA具有長度為12至29個核苷酸對的雙螺旋體區。

【0359】 在一些實施例中，dsRNA分子之有義股及反義股中之每一個核苷酸可經修飾。各核苷酸可經相同或不同修飾來修飾，修飾可包括非連接磷酸酯氧中之一或兩者或連接磷酸酯氧中之一或多者之一或多種變化；核糖之組分，例如核糖上2'羥基之變化；磷酸酯部分由「去磷」連接體批量置換；天然存在之鹼基之修飾或置換；及核糖-磷酸酯主鏈之置換或修飾。

【0360】 由於核酸為次單元之聚合物，許多修飾存在於核酸內重複之位置，例如鹼基或磷酸酯部分或磷酸酯部分之非連接O之修飾。在一些情況下，修飾將存在於核酸中之所有目標位置，但在許多情況下並非如此。舉例而言，修飾可僅存在於3'或5'末端位置，可僅存在於末端區域，例如在末端核苷酸上之位置處或在股之最後2、3、4、5或10個核苷酸中。修飾可存在於雙股區域、單股區域或這兩者中。修飾可僅存在於RNA之雙股區域中或可僅存在於RNA之單股區域中。舉例而言，非連接O位置處之硫代磷酸酯修飾可僅存在於一個或兩個末端處，可僅存在於末端區域，例如在末端核苷酸上之位置處或在股之最後2、3、4、5或10個核苷酸中，或可存在於雙股及單股區域中，尤其在末端。5'端可經磷酸化。

【0361】 其可能例如為了增強穩定性，在懸垂部份中包括特定鹼基

或在單股懸垂部份中，例如在5'或3'懸垂部份或兩者中包括經修飾之核苷酸或核苷酸代替物。舉例而言，可能需要在懸垂部份中包括嘌呤核苷酸。在一些實施例中，3'或5'懸垂部份中之所有或一些鹼基可經修飾，例如經本文中所描述之修飾來修飾。修飾可包括例如使用此項技術中已知之修飾在核糖之2'位置處進行修飾，例如使用去氧核糖核苷酸，經2'-去氧-2'-氟(2'-F)或2'-O-甲基修飾置換核鹼基之核糖；及磷酸酯基中之修飾，例如硫代磷酸酯修飾。懸垂部份無需與目標序列同源。

【0362】 在一些實施例中，有義股及反義股之各殘基獨立地經鎖核酸(LNA)、未鎖核酸(UNA)、環己烯核酸(CeNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-去氧或2'-氟修飾。股可含有超過一個修飾。在一些實施例中，有義股及反義股之各殘基獨立地經2'-O-甲基或2'-氟修飾。應理解，此等修飾為除反義股中存在之雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾之外的修飾。

【0363】 有義股及反義股上通常存在至少兩個不同修飾。彼等兩個修飾可為2'-去氧、2'-O-甲基或2'-氟修飾、非環狀核苷酸或其他修飾。在一些實施例中，有義股及反義股各自包含兩個選自2'-O-甲基或2'-去氧的不同修飾之核苷酸。在一些實施例中，有義股及反義股之各殘基獨立地經2'-O-甲基核苷酸、2'-去氧核苷酸、2'-去氧-2'-氟核苷酸、2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)核苷酸、2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)核苷酸、2'-O-胺基丙基(2'-O-AP)核苷酸或2'-氮雜-F核苷酸修飾。同樣，應理解，此等修飾為除存在於反義股中之雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾之外的修飾。

【0364】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含交替模式之修

飾，特定言之在B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、B4'區域中。如本文所用，術語「交替模體」或「交替模式」係指具有一或多個修飾，各修飾存在於一股之交替核苷酸上之模體。交替核苷酸可指每隔一個核苷酸有一個或每三個核苷酸有一個，或類似模式。舉例而言，若A、B及C各自表示對核苷酸之一種修飾，則交替模體可為「ABABABABABAB…」、「AABBAABBAABB…」、「AABAABAABAAB…」、「AAABAAABAAAB…」、「AAABBBAAABBB…」或「ABCABCABCABC…」等。

【0365】交替模體中所含之修飾類型可相同或不同。舉例而言，若A、B、C、D各自表示核苷酸上之一種修飾，則交替模式，亦即每隔一個核苷酸上之修飾可相同，但有義股或反義股中之每一者可選自諸如「ABABAB…」、「ACACAC…」、「BDBDBD…」或「CDCDCD…」等的交替模體內之若干修飾可能性。

【0366】在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含相對於反義股上交替模體之修飾模式偏移的有義股上交替模體的修飾模式。偏移可使得有義股之核苷酸之經修飾群組對應於反義股之核苷酸之經不同修飾群組，且反之亦然。舉例而言，有義股在與dsRNA雙螺旋體中之反義股配對時，雙螺旋體區內有義股中之交替模體可以自股之5'-3'之「ABABAB」開始，且反義股中之交替模體可以自股之3'-5'之「BABABA」開始。作為另一實例，雙螺旋體區內有義股中之交替模體可以自股之5'-3'之「AABBAABB」開始且反義股中之交替模體可以自股之3'-5'之「BBAABBAA」開始，使得在有義股與反義股之間存在修飾模式之完全或部分偏移。

【0367】 本發明之dsRNA分子可進一步包含至少一個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵。硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾可存在於股之任何位置中之有義股或反義股或兩股之任何核苷酸上。舉例而言，核苷酸間鍵修飾可存在於有義股或反義股上之每一核苷酸上；各核苷酸間鍵修飾可以交替模式存在於有義股或反義股上；或有義股或反義股包含呈交替模式之兩種核苷酸間鍵修飾。有義股上之核苷酸間鍵修飾之交替模式可與反義股相同或不同，且有義股上之核苷酸間鍵修飾之交替模式可相對於反義股上之核苷酸間鍵修飾之交替模式具有偏移。

【0368】 在一些實施例中，dsRNA分子在懸垂部份區中包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾。舉例而言，懸垂部份區包含兩個核苷酸，在兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵。亦可進行核苷酸間鍵修飾以將懸垂部份核苷酸與雙螺旋體區內之末端配對核苷酸連接。舉例而言，至少2、3、4個或所有懸垂部份核苷酸可經由硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵連接，且視情況可存在連接懸垂部份核苷酸與緊靠懸垂部份核苷酸之配對核苷酸的額外硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵。舉例來說，末端三個核苷酸之間可存在至少兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中三個核苷酸中之兩個為懸垂部份核苷酸，且第三個為緊靠懸垂部份核苷酸之配對核苷酸。較佳地，此等末端三個核苷酸可處於反義股之3'端。

【0369】 在一些實施例中，dsRNA分子之有義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有二至十個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的1至10個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列

中之任何位置處，且該有義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的反義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0370】 在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有兩個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0371】 在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有三個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0372】 在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有四個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0373】在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有五個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0374】在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有六個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0375】在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5、6、7或8個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有七個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0376】在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3、4、5或6個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有八個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基

膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0377】 在一些實施例中，dsRNA分子之反義股包含由1、2、3或4個磷酸酯核苷酸間鍵隔開的具有九個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵的兩個嵌段，其中硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵中之一者位於寡核苷酸序列中之任何位置處，且該反義股與包含硫代磷酸酯、甲基膦酸酯及磷酸酯核苷酸間鍵之任何組合的有義股或包含硫代磷酸酯或甲基膦酸酯或磷酸酯鍵之反義股配對。

【0378】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步在有義股或反義股之1至10個末端位置內包含一或多個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾。舉例而言，至少2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸可經由硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵在有義股或反義股之一端或兩端連接。

【0379】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步在有義股或反義股中之每一者之雙螺旋體之內部區域之1至10個核苷酸內包含一或多個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾。舉例而言，至少2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸可經由硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵在自有義股之5'端計數雙螺旋體區之位置8至16處連接；dsRNA分子可視情況在末端位置之1至10個核苷酸內進一步包含一或多個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0380】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的一至五個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一至五個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的一至五個硫代磷酸酯

或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一至五個。

【0381】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0382】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0383】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0384】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0385】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置

18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0386】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0387】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0388】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0389】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0390】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置

18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0391】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1至5內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1或2處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置18至23內的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0392】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置20及21處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個。

【0393】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置20及21處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0394】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21及22處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0395】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'

端計數)有義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21及22處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0396】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置22及23處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0397】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子進一步包含在(自5'端計數)有義股之位置1處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置21處的一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及在(自5'端計數)反義股之位置1及2處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾，及位置23及23處的兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾。

【0398】 在一些實施例中，本發明化合物包含主鏈對掌性中心模式。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少5個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少6個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少7個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少8個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少9個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少10個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少11個核苷酸間鍵。

在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少12個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少13個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少14個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少15個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少16個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少17個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少18個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少19個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過8個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過7個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過6個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過5個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過4個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過3個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過2個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Rp組態之不超過1個核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過8個非對掌性核苷酸間鍵(作為非限制性實例，磷酸二酯)。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過7個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過6個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含

不超過5個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過4個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過3個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過2個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含不超過1個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少10個核苷酸間鍵及不超過8個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少11個核苷酸間鍵及不超過7個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少12個核苷酸間鍵及不超過6個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少13個核苷酸間鍵及不超過6個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少14個核苷酸間鍵及不超過5個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，常見主鏈對掌性中心模式包含呈Sp組態之至少15個核苷酸間鍵及不超過4個非對掌性核苷酸間鍵。在一些實施例中，呈Sp組態之核苷酸間鍵為視情況連續或不連續的。在一些實施例中，呈Rp組態之核苷酸間鍵為視情況連續或不連續的。在一些實施例中，非對掌性核苷酸間鍵為視情況連續或不連續的。

【0399】 在一些實施例中，本發明化合物包含嵌段，其為立體化學嵌段。在一些實施例中，嵌段為Rp嵌段，因為該嵌段之各核苷酸間鍵為Rp。在一些實施例中，5'嵌段為Rp嵌段。在一些實施例中，3'嵌段為Rp嵌段。在一些實施例中，嵌段為Sp嵌段，因為該嵌段之各核苷酸間鍵為Sp。在一些實施例中，5'嵌段為Sp嵌段。在一些實施例中，3'嵌段為Sp嵌

段。在一些實施例中，所提供之寡核苷酸包含Rp及Sp嵌段兩者。在一些實施例中，所提供之寡核苷酸包含一或多個Rp但無Sp嵌段。在一些實施例中，所提供之寡核苷酸包含一或多個Sp但無Rp嵌段。在一些實施例中，所提供之寡核苷酸包含一或多個PO嵌段，其中各核苷酸間鍵為天然磷酸酯鍵。

【0400】在一些實施例中，本發明之化合物包含係Sp嵌段的5'嵌段，其中各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，5'嵌段為Sp嵌段，其中核苷酸間鍵中之每一者為經修飾之核苷酸間鍵且各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，5'嵌段為Sp嵌段，其中核苷酸間鍵中之每一者為硫代磷酸酯鍵且各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，5'嵌段包含4個或更多個核苷單元。在一些實施例中，5'嵌段包含5個或更多個核苷單元。在一些實施例中，5'嵌段包含6個或更多個核苷單元。在一些實施例中，5'嵌段包含7個或更多個核苷單元。在一些實施例中，3'嵌段為Sp嵌段，其中各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，3'嵌段為Sp嵌段，其中核苷酸間鍵中之每一者為經修飾之核苷酸間鍵且各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，3'嵌段為Sp嵌段，其中核苷酸間鍵中之每一者為硫代磷酸酯鍵且各糖部分包含2'-F修飾。在一些實施例中，3'嵌段包含4個或更多個核苷單元。在一些實施例中，3'嵌段包含5個或更多個核苷單元。在一些實施例中，3'嵌段包含6個或更多個核苷單元。在一些實施例中，3'嵌段包含7個或更多個核苷單元。

【0401】在一些實施例中，本發明化合物包含區域或寡核苷酸中一種類型之核苷之後為特定類型之核苷酸間鍵，例如天然磷酸酯鍵、經修飾之核苷酸間鍵、Rp對掌性核苷酸間鍵、Sp對掌性核苷酸間鍵等。在一些

實施例中，A之後為Sp。在一些實施例中，A之後為Rp。在一些實施例中，A之後為天然磷酸酯鍵(PO)。在一些實施例中，U之後為Sp。在一些實施例中，U之後為Rp。在一些實施例中，U之後為天然磷酸酯鍵(PO)。在一些實施例中，C之後為Sp。在一些實施例中，C之後為Rp。在一些實施例中，C之後為天然磷酸酯鍵(PO)。在一些實施例中，G之後為Sp。在一些實施例中，G之後為Rp。在一些實施例中，G之後為天然磷酸酯鍵(PO)。在一些實施例中，C及U之後為Sp。在一些實施例中，C及U之後為Rp。在一些實施例中，C及U之後為天然磷酸酯鍵(PO)。在一些實施例中，A及G之後為Sp。在一些實施例中，A及G之後為Rp。

【0402】 在一些實施例中，反義股在核苷酸位置21與22之間且在核苷酸位置22與23之間包含硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中反義股含有位於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)的雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或所有八者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)反義股包含3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(iii)有義股與配位體結合；(iv)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(v)有義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(vi) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；(vii) dsRNA包含長度為12至40個核苷酸對的雙螺旋體區；及(viii) dsRNA在反義股之5'端處具有鈍端。

【0403】 在一些實施例中，反義股在核苷酸位置1與2之間、在核苷酸位置2與3之間、在核苷酸位置21與22之間及在核苷酸位置22與23之間包含硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中反義股含有位於反義股之種子區中(亦

即，在反義股之5'端的位置2至9處)的雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或所有八者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)有義股與配位體結合；(iii)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(iv)有義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(v) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；(vi) dsRNA包含長度為12至40個核苷酸對的雙螺旋體區；(vii) dsRNA包含長度為12至40個核苷酸對的雙螺旋體區；及(viii) dsRNA在反義股之5'端處具有鈍端。

【0404】 在一些實施例中，有義股在核苷酸位置1與2之間且在核苷酸位置2與3之間包含硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中反義股含有位於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)的雙螺旋體之至少一個熱去穩定化修飾，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或所有八者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)反義股包含1、2、3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(iii)有義股與配位體結合；(iv)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(v)有義股包含3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(vi) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；(vii) dsRNA包含長度為12至40個核苷酸對的雙螺旋體區；及(viii) dsRNA在反義股之5'端處具有鈍端。

【0405】 在一些實施例中，有義股在核苷酸位置1與2之間且在核苷酸位置2與3之間包含硫代磷酸酯核苷酸間鍵，反義股在核苷酸位置1與2之間、在核苷酸位置2與3之間、在核苷酸位置21與22之間及在核苷酸位置22與23之間包含硫代磷酸酯核苷酸間鍵，其中反義股含有位於反義股之種子區中(亦即，在反義股之5'端的位置2至9處)的雙螺旋體之至少一個

熱去穩定化修飾，且其中dsRNA視情況進一步具有以下特徵中之至少一者(例如一者、兩者、三者、四者、五者、六者或所有七者)：(i)反義股包含2、3、4、5或6個2'-氟修飾；(ii)有義股與配位體結合；(iii)有義股包含2、3、4或5個2'-氟修飾；(iv)有義股包含3、4或5個硫代磷酸酯核苷酸間鍵；(v) dsRNA包含至少四個2'-氟修飾；(vi) dsRNA包含長度為12至40個核苷酸對的雙螺旋體區；及(vii) dsRNA在反義股之5'端處具有鈍端。

【0406】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含與目標、雙螺旋體內或其組合之一或多個錯配。錯配可存在於懸垂部份區或雙螺旋體區中。鹼基對可基於其促進解離或解鏈之傾向分級(例如基於特定配對之締合或解離之自由能，最簡單的方法為在個別對之基礎上來檢驗對，但隨後亦可使用鄰近或類似分析)。在促進解離方面，A:U優於G:C；G:U優於G:C；且I:C優於G:C (I=肌苷)。例如非典型或除典型配對以外(如本文中別處描述)的錯配優於典型(A:T、A:U、G:C)配對；且包括通用鹼基之配對優於典型配對。

【0407】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子包含自反義股之5'端之雙螺旋體區內的前1、2、3、4或5個鹼基對中之至少一者，其可獨立地選自下群：A:U、G:U、I:C及錯配配對，例如非典型或除典型配對以外的配對或包括通用鹼基之配對，以促進雙螺旋體之5'端處反義股之解離。

【0408】 在一些實施例中，反義股中自5'端之雙螺旋體區內之1號位置處的核苷酸係選自由以下組成之群：A、dA、dU、U及dT。或者，反義股之自5'端之雙螺旋體區內之前1、2或3個鹼基對中之至少一者為AU鹼基對。舉例而言，反義股之自5'端之雙螺旋體區內之第一個鹼基對為AU鹼基對。

【0409】 發現，在單股或雙股寡核苷酸之任何位置處將經4'修飾之或5'修飾之核苷酸引入二核苷酸之磷酸二酯(PO)、硫代磷酸酯(PS)或二硫代磷酸酯(PS2)鍵之3'端可對核苷酸間鍵發揮空間作用，且因此針對核酸酶保護或穩定化該核苷酸間鍵。在一些實施例中，將經4'修飾之或5'修飾之核苷酸引入二核苷酸之PO、PS或PS2鍵之3'端修飾二核苷酸對中之第二核苷酸。在其他實施例中，將經4'修飾之或5'修飾之核苷酸引入二核苷酸之PO、PS或PS2鍵之3'端修飾二核苷酸對之3'端處之核苷酸。

【0410】 在一些實施例中，經5'修飾之核苷酸在單股或雙股siRNA之任何位置引入二核苷酸之3'端。舉例而言，5'烷基化核苷酸可在單股或雙股siRNA之任何位置引入二核苷酸之3'端。核糖之5'位置處之烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性5'烷基化之核苷酸為5'-甲基核苷酸。5'-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。

【0411】 在一些實施例中，經4'修飾之核苷酸在單股或雙股siRNA之任何位置引入二核苷酸之3'端。舉例而言，4'烷基化核苷酸可在單股或雙股siRNA之任何位置引入二核苷酸之3'端。核糖之4'位置處之烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性4'烷基化之核苷酸為4'-甲基核苷酸。4'-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。或者，4'-*O*-烷基化核苷酸可在單股或雙股siRNA之任何位置引入二核苷酸之3'端。核糖之4'-*O*-烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性4'-*O*-烷基化之核苷酸為4'-*O*-甲基核苷酸。4'-*O*-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。

【0412】 在一些實施例中，5'烷基化核苷酸引入dsRNA之有義股或反義股上的任何位置，且此類修飾維持或提高dsRNA之效能。5'-烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性5'烷基化之核苷酸為5'-甲基核苷

酸。5'-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。

【0413】 在一些實施例中，4'烷基化核苷酸引入dsRNA之有義股或反義股上的任何位置，且此類修飾維持或提高dsRNA之效能。4'-烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性4'烷基化之核苷酸為4'-甲基核苷酸。4'-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。

【0414】 在一些實施例中，4'-*O*-烷基化核苷酸引入dsRNA之有義股或反義股上的任何位置，且此類修飾維持或提高dsRNA之效能。5'-烷基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。例示性4'-*O*-烷基化之核苷酸為4'-*O*-甲基核苷酸。4'-*O*-甲基可為外消旋或對掌性純*R*或*S*異構體。

【0415】 在一些實施例中，本發明之dsRNA分子可包含2'-5'鍵(具有2'-H、2'-OH及2'-OMe，且具有P=O或P=S)。舉例而言，2'-5'鍵修飾可用於促進核酸酶抗性或抑制有義股與反義股之結合，或可用在有義股之5'端以避免藉由RISC之有義股活化。

【0416】 在另一實施例中，本發明之dsRNA分子可包含L-糖(例如L-核糖、L-阿拉伯糖，具有2'-H、2'-OH及2'-OMe)。舉例而言，此等L糖修飾可用於促進核酸酶抗性或抑制有義股與反義股之結合，或可用在有義股之5'端以避免藉由RISC之有義股活化。

【0417】 各種公開案描述全部可與本發明之dsRNA一起使用的多聚siRNA。此類公開案包括WO2007/091269、US 7858769、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887及WO2011/031520，其全文併入本文中。

【0418】 如下文更詳細地描述，含有一或多個碳水化合物部分與RNAi藥劑之結合的RNAi藥劑可改良RNAi藥劑之一或多種特性。在許多

情況下，碳水化合物部分將連接於RNAi藥劑之經修飾之次單元。舉例而言，dsRNA藥劑之一或多個核糖核苷酸次單元之核糖可由另一部分，例如連接有碳水化合物配位體之非碳水化合物(例如環狀)載體置換。其中次單元之核糖已如此置換之核糖核苷酸次單元在本文中稱為核糖置換修飾次單元(RRMS)。環狀載體可為碳環系統，亦即所有環原子均為碳原子；或雜環系統，亦即一或多個環原子可為雜原子，例如氮、氧、硫。環狀載體可為單環系統，或可含有兩個或更多個環，例如稠合環。環狀載體可為完全飽和環系統，或其可含有一或多個雙鍵。

【0419】 配位體可經由載體連接於聚核苷酸。載體包括(i)至少一個「主鏈連接點」，諸如兩個「主鏈連接點」及(ii)至少一個「繫鏈連接點」。如本文所用，「主鏈連接點」係指可用於且適用於將載體併入主鏈中的官能基，例如羥基，或一般而言鍵，例如磷酸酯，或經修飾之磷酸酯；例如核糖核酸之含硫主鏈。在一些實施例中，「繫鏈連接點」(TAP)係指環狀載體之組成環原子，例如碳原子或雜原子(與提供主鏈連接點之原子不同)，其連接選定部分。部分可為例如碳水化合物，例如單醣、雙醣、三醣、四醣、寡醣及多醣。視情況，選定部分藉由介入繫鏈連接於環狀載體。因此，環狀載體將通常包括官能基，例如胺基，或一般而言提供鍵，其適於將另一化學個體，例如配位體併入或繫栓至組成環。

【0420】 RNAi藥劑可經由載體與配位體結合，其中載體可為環狀基團或非環狀基團。環狀基團可選自吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌咁基、[1,3]二氧雜環戊烷、噁唑啶基、異噁唑啶基、嗎啉基、噻唑啶基、異噻唑啶基、喹喏啉基、噠咁酮基、四氫呋喃基及十氫萘基。非環狀基團可選自絲胺醇主鏈或二乙醇胺主鏈。

【0421】在某些特定實施例中，用於本發明之方法中之RNAi藥劑為選自表3至9中之任一者中列舉之藥劑之群的藥劑。此等藥劑可進一步包含配位體。

【0422】

IV. 與配位體結合之iRNA

本發明之iRNA之RNA的另一修飾涉及將增強iRNA之活性、細胞分佈或細胞吸收例如至細胞中的一或多個配位體、部分或結合物化學連接於iRNA。此類部分包括但不限於脂質部分，諸如膽固醇部分(Letsinger等人，*Proc. Natl. Acid. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556)；膽酸(Manoharan等人，*Biorg. Med. Chem. Let.*, 1994, 4:1053-1060)；硫醚，例如綠柱石-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人，*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309；Manoharan等人，*Biorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765-2770)；硫代膽固醇(Oberhauser等人，*Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538)；脂族鏈，例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras等人，*EMBO J*, 1991, 10:1111-1118；Kabanov等人，*FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330；Svinarchuk等人，*Biochimie*, 1993, 75:49-54)；磷脂，例如二-十六烷基-rac-甘油1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-膦酸酯或1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-膦酸三乙銨(Manoharan等人，*Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654；Shea等人，*Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783)；多元胺或聚乙二醇鏈(Manoharan等人，*Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973)；或金剛烷乙酸(Manoharan等人，*Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654)；棕櫚基部分(Mishra等人，*Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237)；或十八烷基胺或己基胺基-羰羥膽固醇部分(Crooke等

人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937)。

【0423】 在某些實施例中，配位體改變其所併入之iRNA藥劑的分佈、靶向或使用壽命。在一些實施例中，例如與不存在此類配位體之物種相比，配位體提供增強之對所選擇的目標，例如分子、細胞或細胞類型；隔室，例如細胞或器官隔室；身體之組織、器官或區域之親和力。典型配位體將不參與雙螺旋核酸中之雙螺旋體配對。

【0424】 配位體可包括天然存在之物質，諸如蛋白質(例如人類血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白(LDL)或球蛋白)；碳水化合物(例如聚葡萄糖、普魯蘭(pullulan)、幾丁質、聚葡萄胺糖、菊糖、環糊精或玻尿酸)；或脂質。配位體亦可為重組或合成分子，諸如合成聚合物，例如合成聚胺基酸。聚胺基酸之實例包括聚胺基酸為聚離胺酸(PLL)、聚L-天冬胺酸、聚L-麩胺酸、苯乙烯-順丁烯二酸酐共聚物、聚(L-丙交酯-共-乙交酯)共聚物、二乙烯醚-順丁烯二酸酐共聚物、N-(2-羥基丙基)甲基丙烯醯胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)、聚胺基甲酸酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-異丙基丙烯醯胺聚合物或聚磷腈(polyphosphazine)。多元胺之實例包括：聚乙烯亞胺、聚離胺酸(PLL)、精胺、亞精胺、多元胺、偽肽-多元胺、肽模擬物多元胺、樹狀體多元胺、精胺酸、脒、魚精蛋白、陽離子脂質、陽離子卟啉、多元胺之四級鹽或α螺旋肽。

【0425】 配位體亦可包括靶向基團，例如細胞或組織靶向劑，例如凝集素、糖蛋白、脂質或蛋白質，例如抗體，其結合於特定細胞類型，諸如腎細胞。靶向基團可為促甲狀腺素、促黑素、凝集素、糖蛋白、界面活性劑蛋白A、黏蛋白碳水化合物、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯基-半乳胺糖、N-乙醯基-葡糖胺多價甘露糖、多價海藻糖、糖基化聚胺基酸、

多價半乳糖、運鐵蛋白、雙膦酸酯、聚麩胺酸酯、聚天冬胺酸酯、脂質、膽固醇、類固醇、膽酸、葉酸、維生素B12、生物素或RGD肽或RGD肽模擬物。在某些實施例中，配位體為多價半乳糖，例如N-乙醯基-半乳胺糖。

【0426】 配位體之其他實例包括染料、插入劑(例如吖啶)、交叉連接體(例如補骨脂素、絲裂黴素C)、卟啉(TPPC4、德卟啉(texaphyrin)、賽卟啉(Sapphyrin))、多環芳族烴(例如啡吩、二氫啡吩)、人工核酸內切酶(例如EDTA)、親脂性分子，例如膽固醇、膽酸、金剛烷乙酸、1-芘丁酸、二氫睾固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉基氧基己基、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基或啡噁吩)及肽結合物(例如觸足肽(antennapedia peptide)、Tat肽)、烷基化劑、磷酸酯、胺基、巰基、PEG (例如PEG-40K)、mPEG、$[mPEG]_2$、聚胺基、烷基、經取代烷基、放射性標記之標記物、酶、半抗原(例如生物素)、輸送/吸收促進劑(例如阿司匹靈(aspirin)、維生素E、葉酸)、合成核糖核酸酶(例如咪唑、雙咪唑、組織胺、咪唑簇、吖啶-咪唑結合物、四氮雜大環之Eu(3+)複合物)、二硝基苯基、HRP或AP。

【0427】 配位體可為蛋白質，例如糖蛋白；或肽，例如對共配位體具有特異性親和力之分子；或抗體，例如結合於特定細胞類型，諸如癌細胞、內皮細胞或骨細胞之抗體。配位體亦可包括激素及激素受體。其亦可包括非肽物種，諸如脂質、凝集素、碳水化合物、維生素、輔因子、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯基-半乳胺糖、N-乙醯基-葡糖胺、多價甘露糖或多價海藻糖。配位體可為例如脂多醣、p38 MAP激酶之活化劑或NF-κB

之活化劑。

【0428】 配位體可為例如藥物之物質，其可例如藉由破壞細胞之細胞骨架，例如藉由破壞細胞之微管、微絲或中間絲(intermediate filament)提高iRNA藥劑向細胞中之吸收。藥物可為例如紫杉醇(taxol)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、細胞遲緩素、諾考達唑(nocodazole)、傑普肯立德(japlakinolide)、拉春庫林A (latrunculin A)、毒傘素(phalloidin)、斯文霍立德A (swinholide A)、引達哚新(indanocine)或美瑟文(myoservin)。

【0429】 在一些實施例中，如本文所述之與iRNA連接之配位體充當藥物動力學調節劑(PK調節劑)。PK調節劑包括親脂體、膽酸、類固醇、磷脂類似物、肽、蛋白質結合劑、聚乙二醇(PEG)、維生素等。例示性PK調節劑包括但不限於膽固醇、脂肪酸、膽酸、石膽酸、二烷基甘油酯、二醯基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生(naproxen)、布洛芬(ibuprofen)、維生素E、生物素等。包含多個硫代磷酸酯鍵之寡核苷酸亦已知結合於血清蛋白質，因此主鏈中包含多個硫代磷酸酯鍵之短寡核苷酸，例如約5個鹼基、10個鹼基、15個鹼基或20個鹼基之寡核苷酸亦適合作為本發明之配位體(例如作為PK調節配位體)。此外，結合血清組分(例如血清蛋白質)之適體亦適用作本文所述之實施例中的PK調節配位體。

【0430】 本發明之配位體結合之iRNA可藉由使用具有側位反應性官能基之寡核苷酸合成，該官能基諸如衍生自連接分子連接於寡核苷酸上(下文所述)。此反應性寡核苷酸可與市售配位體、合成為具有多種保護基中之任一者的配位體或連接有連接部分之配位體直接反應。

【0431】 本發明之結合物中所用之寡核苷酸可經由熟知固相合成技

術方便地且常規地製造。用於此類合成之設備由若干供應商，包括例如Applied Biosystems® (Foster City, Calif.)出售。可另外或替代地採用此項技術中已知用於此類合成之任何其他方式。亦已知使用類似技術製備其他寡核苷酸，諸如硫代磷酸酯及烷基化衍生物。

【0432】 在本發明之配位體結合寡核苷酸及具有配位體分子之序列特異性連接核苷中，寡核苷酸及寡核苷可利用標準核苷酸或核苷前驅體，或已具有連接部分之核苷酸或核苷結合物前驅體、已具有配位體分子之配位體-核苷酸或核苷-結合物前驅體，或具有非核苷配位體之建構嵌段，在適合DNA合成器上組裝。

【0433】 當使用已具有連接部分之核苷酸-結合物前驅體時，通常完成序列特異性連接核苷的合成，且配位體分子隨後與連接部分反應以形成配位體結合寡核苷酸。在一些實施例中，藉由自動化合成器使用除了市售且常規用於寡核苷酸合成之標準胺基磷酸酯及非標準胺基磷酸酯之外的配位體-核苷結合物衍生之胺基磷酸酯合成本發明之寡核苷酸或連接核苷。

【0434】

A. 脂質結合物

在某些實施例中，配位體或結合物為脂質或基於脂質之分子。此類脂質或基於脂質之分子通常可結合血清蛋白質，諸如人類血清白蛋白(HSA)。HSA結合配位體允許將結合物分佈於目標組織，例如身體之非腎目標組織。舉例而言，目標組織可為肝，包括肝之實質細胞。可結合HSA之其他分子亦可用作配位體。舉例而言，可使用萘普生或阿司匹靈。脂質或基於脂質之配位體可(a)提高結合物之降解抗性，(b)提高至目標細胞或細胞膜中之靶向或輸送，或(c)可用於調節與血清蛋白質，例如HSA之結

合。

【0435】 基於脂質之配位體可用於調節，例如控制(例如抑制)結合物與目標組織之結合。舉例而言，更牢固結合於HSA之脂質或基於脂質之配位體將較不可能被靶向至腎且因此較不可能被自身體清除。較不牢固結合於HSA之脂質或基於脂質之配位體可用於將結合物靶向至腎。

【0436】 在某些實施例中，基於脂質之配位體結合HSA。舉例而言，配位體可以充分親和力結合HSA以使得結合物至非腎組織之分佈得以增強。然而，親和力通常沒有強到HSA-配位體結合不可逆轉之程度。

【0437】 在某些實施例中，基於脂質之配位體與HSA之結合較弱或根本不結合，使得結合物至腎之分佈得以增強。靶向腎細胞之其他部分亦可用於代替基於脂質之配位體或與基於脂質之配位體一起使用。

【0438】 在另一態樣中，配位體為例如維生素之部分，其由例如增殖細胞之目標細胞吸收。其尤其適用於治療特徵在於例如惡性或非惡性類型，例如癌細胞的不合需要細胞增殖之病症。例示性維生素包括維生素A、E及K。其他例示性維生素包括B族維生素，例如葉酸、B12、核黃素、生物素、吡哆醛或癌細胞吸收之其他維生素或養分。亦包括HSA及低密度脂蛋白(LDL)。

【0439】

B. 細胞滲透劑

在另一態樣中，配位體為細胞滲透劑，諸如螺旋細胞滲透劑。在某些實施例中，試劑係兩性的。例示性試劑為肽，諸如tat或觸足肽。若試劑為肽，則其可經修飾，包括肽模擬物、反演體(invertomer)、非肽或假肽鍵，及使用D-胺基酸。螺旋試劑通常為α-螺旋試劑且可具有親脂及疏油

相。

【0440】 配位體可為肽或肽模擬物。肽模擬物(在本文中亦稱為寡肽模擬物)為能夠摺疊成與天然肽類似之經界定三維結構的分子。肽及肽模擬物與iRNA藥劑之連接可諸如藉由增強細胞識別及吸收影響iRNA之藥物動力學分佈。肽或肽模擬物部分長度可為約5-50個胺基酸，例如長度為約5、10、15、20、25、30、35、40、45或50個胺基酸。

【0441】 肽或肽模擬物可為例如細胞滲透肽、陽離子肽、兩性肽或疏水性肽(例如主要由Tyr、Trp或Phe組成)。肽部分可為樹狀體肽、經約束肽或交聯肽。在另一替代方案中，肽部分可包括疏水性膜易位序列(MTS)。例示性含有疏水性MTS之肽為具有胺基酸序列AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO:9)之RFGF。含有疏水性MTS之RFGF類似物(例如胺基酸序列AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:10))亦可為靶向部分。肽部分可為「遞送」肽，其可攜帶大型極性分子，包括肽、寡核苷酸及蛋白質穿過細胞膜。舉例而言，已發現來自HIV Tat蛋白質(GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO: 353))及果蠅(*Drosophila*)觸足蛋白質(RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 354))之序列能夠充當遞送肽。肽或肽模擬物可藉由隨機DNA序列編碼，諸如自噬菌體呈現庫或一珠粒一化合物(OBOC)組合庫鑑別之肽(Lam等人，*Nature*, 354:82-84, 1991)。通常，經由併入之單體單元繫栓至dsRNA藥劑之肽或肽模擬物為細胞靶向肽，諸如精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸(RGD)肽或RGD模擬物。肽部分之長度可在約5個胺基酸至約40個胺基酸的範圍內。肽部分可具有結構修飾，諸如以提高穩定性或引導構形特性。可利用下文所述之結構修飾中之任一者。

【0442】 用於本發明之組合物及方法中的RGD肽可為線性或環狀肽，且可經修飾，例如糖基化或甲基化，以促進靶向至一或多個特定組織。含有RGD之肽及肽模擬物可包括D-胺基酸，以及合成RGD模擬物。除RGD以外，可使用靶向整合素配位體之其他部分。此配位體之較佳結合物靶向PECAM-1或VEGF。

【0443】 RGD肽部分可用於靶向特定細胞類型，例如腫瘤細胞，諸如內皮腫瘤細胞或乳癌腫瘤細胞(Zitzmann等人，*Cancer Res.*, 62:5139-43, 2002)。RGD肽可促進dsRNA藥劑靶向至多種其他組織，包括肺、腎、脾或肝之腫瘤(Aoki等人，*Cancer Gene Therapy* 8:783-787, 2001)。通常，RGD肽將促進iRNA藥劑靶向至腎。RGD肽可為線性或環狀肽，且可經修飾，例如糖基化或甲基化，以促進靶向至特定組織。舉例而言，糖基化RGD肽可將iRNA藥劑遞送至表現$\alpha_v\beta_3$之腫瘤細胞(Haubner等人，*Jour. Nucl. Med.*, 42:326-336, 2001)。

【0444】 「細胞滲透肽」能夠滲透細胞，例如微生物細胞，諸如細菌或真菌細胞，或哺乳動物細胞，諸如人類細胞。微生物細胞滲透肽可為，例如α-螺旋線性肽(例如LL-37或Ceropin P1)、含有二硫鍵之肽(例如α-防禦素、β-防禦素或牛抗菌肽(bactenecin))，或僅含有一或兩個主要胺基酸之肽(例如PR-39或肽抗生素(indolicidin))。細胞滲透肽亦可包括核定位信號(NLS)。舉例而言，細胞滲透肽可為二分兩性肽，諸如MPG，其衍生自HIV-1 gp41之融合肽域及SV40大T抗原之NLS (Simeoni等人，*Nucl. Acids Res.* 31:2717-2724, 2003)。

【0445】

C. 碳水化合物結合物

在本發明之組合物及方法之一些實施例中，iRNA進一步包含碳水化合物。如本文所述，碳水化合物結合之iRNA有利於核酸以及適用於活體內治療用途之組合物的活體內遞送。如本文所用，「碳水化合物」係指為本身由一或多個具有至少6個碳原子(其可為直鏈、分支鏈或環狀)及鍵結於各碳原子之氧、氮或硫原子之單醣單元製成的碳水化合物之化合物；或具有由一或多個各自具有至少六個碳原子(其可為直鏈、分支鏈或環狀)及鍵結於各碳原子之氧、氮或硫原子之單醣單元製成的碳水化合物部分作為其一部分之化合物。代表性碳水化合物包括糖(含有約4、5、6、7、8或9個單醣單元之單醣、雙醣、三醣及寡醣)及多醣，諸如澱粉、肝糖、纖維素及多醣膠。特定單醣包括C5及以上(例如C5、C6、C7或C8)糖；雙醣及三醣，包括具有兩個或三個單醣單元之糖(例如C5、C6、C7或C8)。

【0446】 在某些實施例中，碳水化合物結合物包含單醣。在某些實施例中，單醣為N-乙醯基半乳胺糖(GalNAc)。包含一或多種N-乙醯基半乳胺糖(GalNAc)衍生物之GalNAc結合物描述於例如US 8,106,022中，其全部內容以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，GalNAc結合物充當使iRNA靶向至特定細胞的配位體。在一些實施例中，GalNAc結合物例如藉由充當肝臟細胞(例如肝細胞)之去唾液酸醣蛋白受體之配位體來使iRNA靶向至肝臟細胞。

【0447】 在一些實施例中，碳水化合物結合物包含一或多個GalNAc衍生物。GalNAc衍生物可經由連接基團，例如二價或三價分支鏈連接基團連接。在一些實施例中，GalNAc結合物結合於有義股之3'端。在一些實施例中，GalNAc結合物經由連接基團，例如，如本文所述之連接基團結合於iRNA藥劑(例如結合於有義股之3'端)。在一些實施例中，

GalNAc結合物結合於有義股之5'端。在一些實施例中，GalNAc結合物經由連接基團，例如，如本文所述之連接基團結合於iRNA藥劑(例如結合於有義股之5'端)。

【0448】 在本發明之某些實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由單價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。在一些實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由二價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。在本發明之又其他實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由三價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。在本發明之其他實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由四價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。

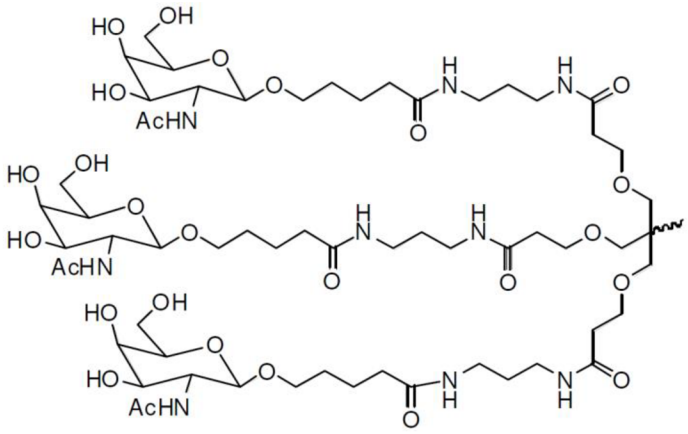
【0449】 在某些實施例中，本發明之雙股RNAi藥劑包含連接於iRNA藥劑之一個GalNAc或GalNAc衍生物。在某些實施例中，本發明之雙股RNAi藥劑包含複數個(例如2、3、4、5或6個) GalNAc或GalNAc衍生物，其各自獨立地經由複數個單價連接基團連接於雙股RNAi藥劑的複數個核苷酸。

【0450】 在一些實施例中，舉例而言，當本發明之iRNA藥劑之兩股為藉由形成包含複數個不成對核苷酸的髮夾環的一股之3'端與各別另一股之5'端之間的核苷酸之不間斷鏈連接的一個較大分子之一部分時，髮夾環內之各不成對核苷酸可獨立地包含經由單價連接基團連接的GalNAc或GalNAc衍生物。髮夾環亦可藉由雙螺旋體之一股中之延長懸垂部份形成。

【0451】 在一些實施例中，舉例而言，當本發明之iRNA藥劑之兩股為藉由形成包含複數個不成對核苷酸的髮夾環的一股之3'端與各別另一股之5'端之間的核苷酸之不間斷鏈連接的一個較大分子之一部分時，髮夾

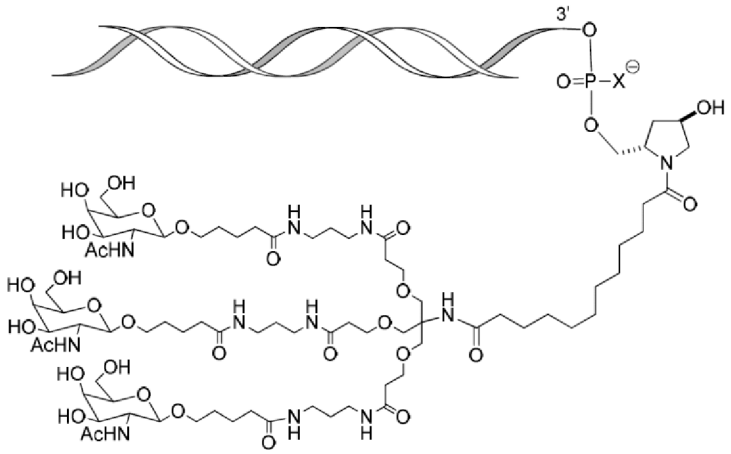
環內之各不成對核苷酸可獨立地包含經由單價連接基團連接的GalNAc或GalNAc衍生物。髮夾環亦可藉由雙螺旋體之一股中之延長懸垂部份形成。

【0452】 在一些實施例中，GalNAc結合物為



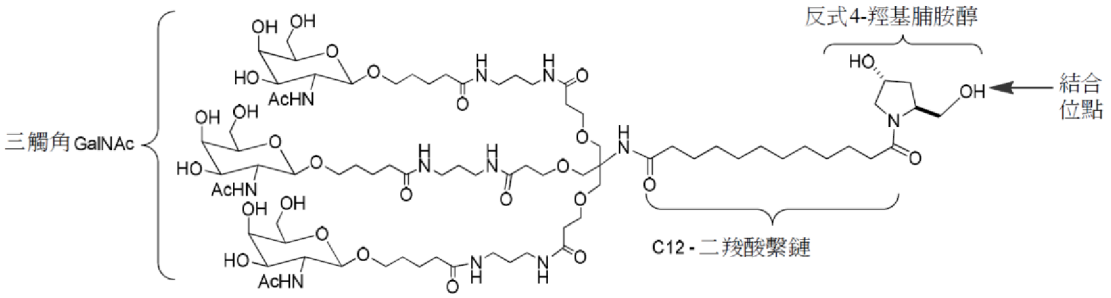
式II。

【0453】 在一些實施例中，RNAi藥劑經由如以下示意圖中所示之連接基團連接於碳水化合物結合物，其中X為O或S：



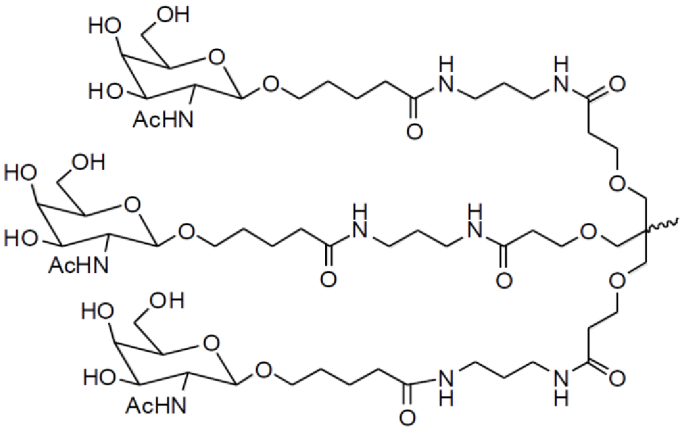
。

【0454】 在一些實施例中，RNAi藥劑結合於如表2中所定義之L96且展示如下：

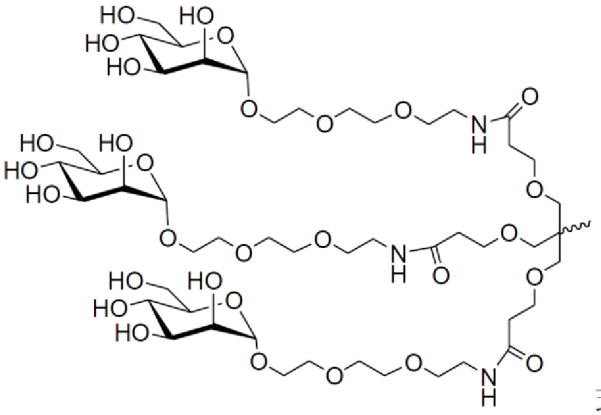


。

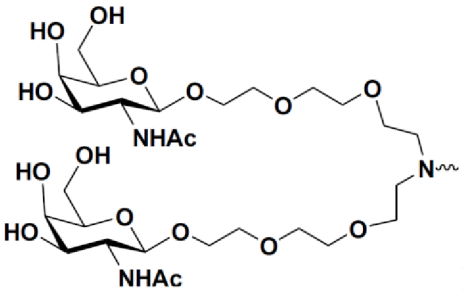
【0455】 在某些實施例中，用於本發明之組合物及方法中之碳水化合物結合物係選自由以下組成之群：



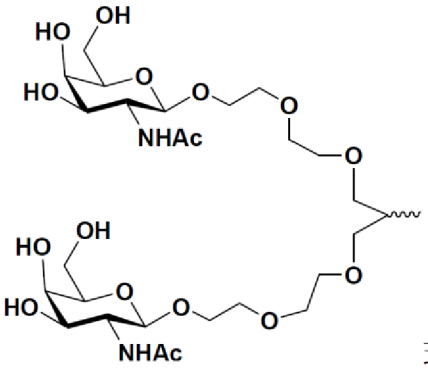
式 II、



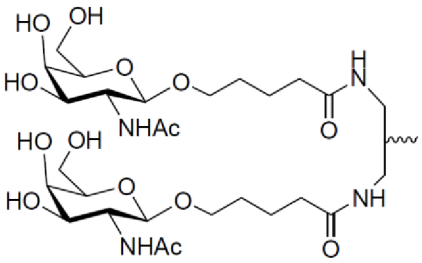
式 III、



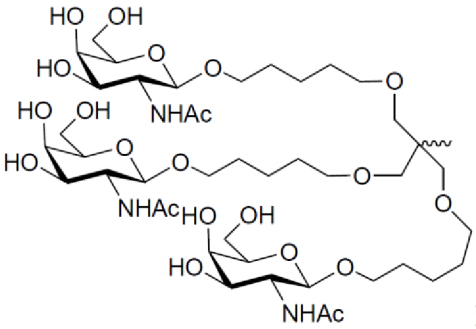
式 IV、



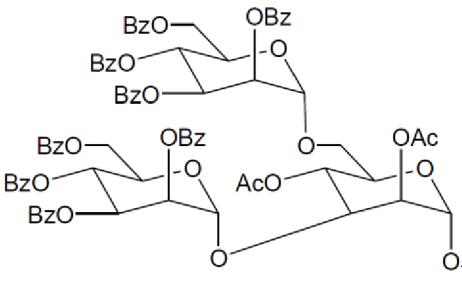
式 V、



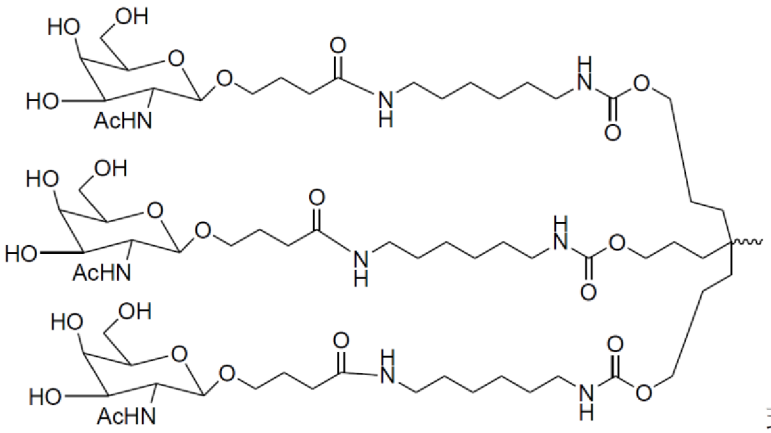
式 VI、



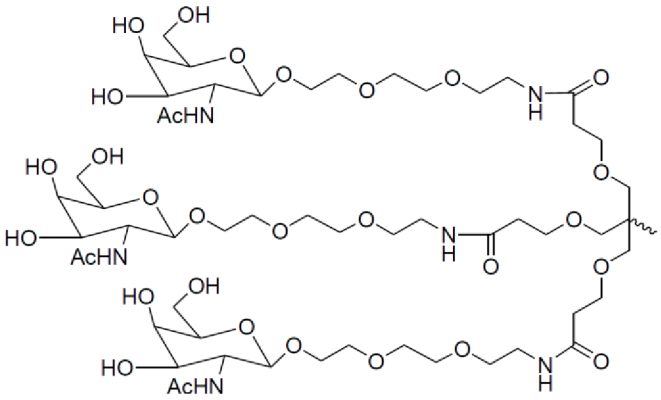
式 VII、



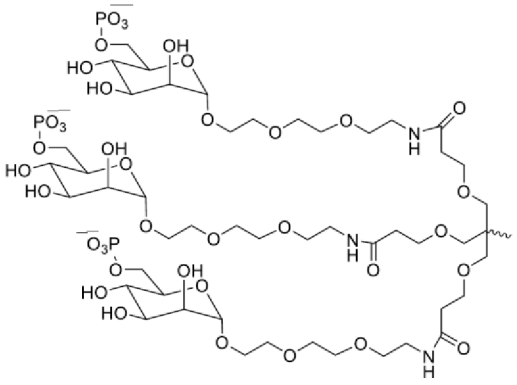
式 VIII、



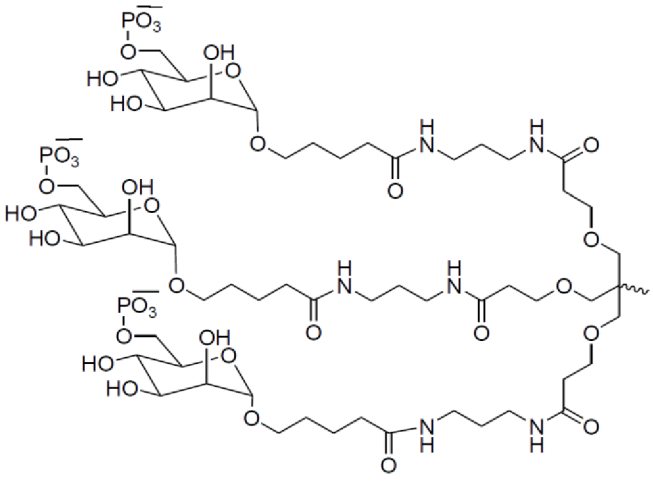
式 IX、



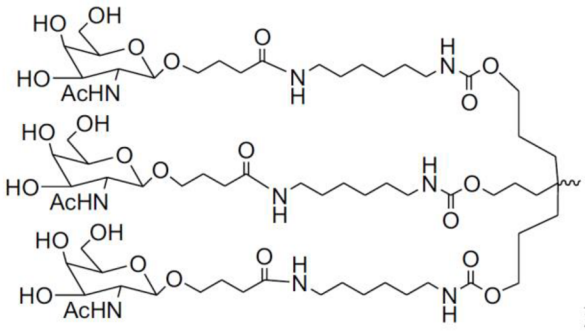
式 X、



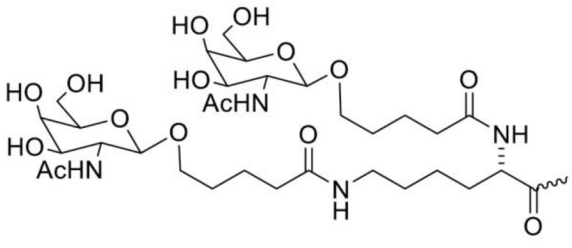
式 XI、



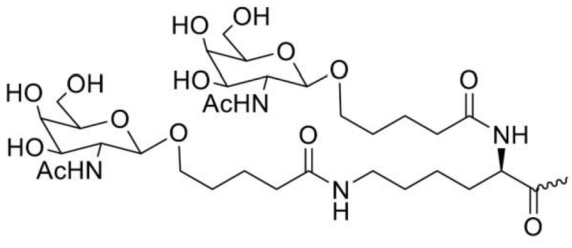
式 XII、



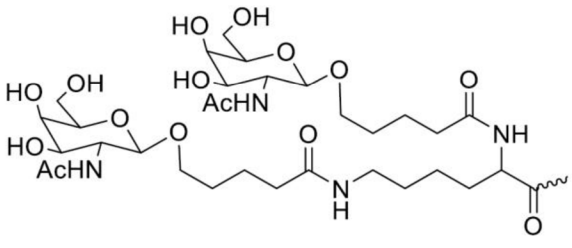
式 XIII、



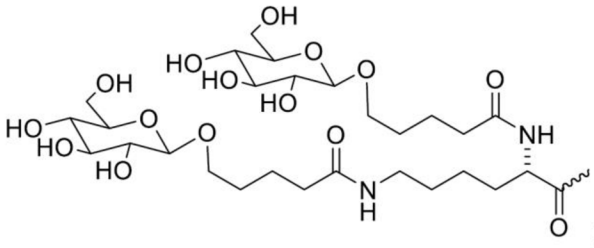
式 XIV、



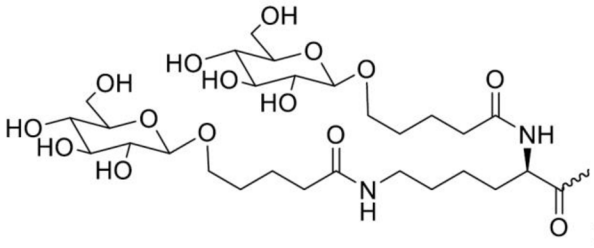
式 XV、



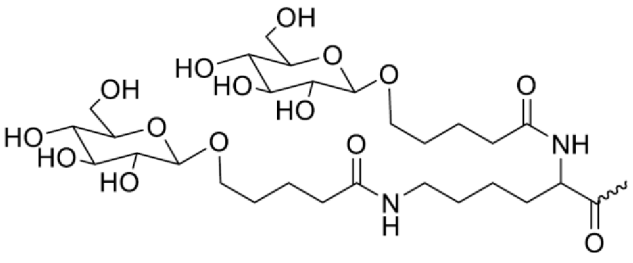
式 XVI、



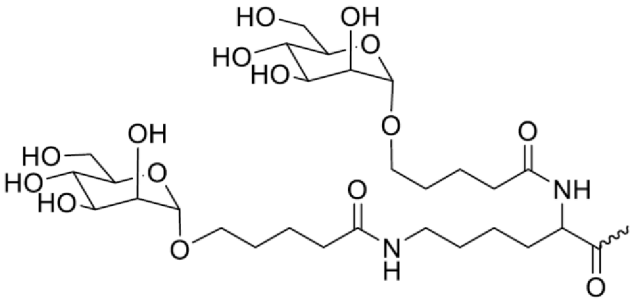
式 XVII、



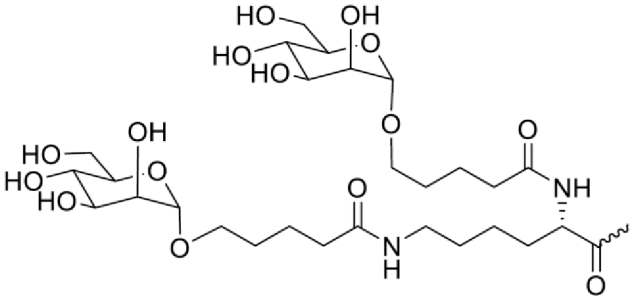
式 XVIII、



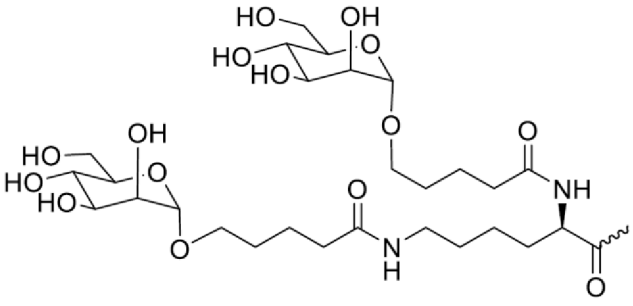
式 XIX、



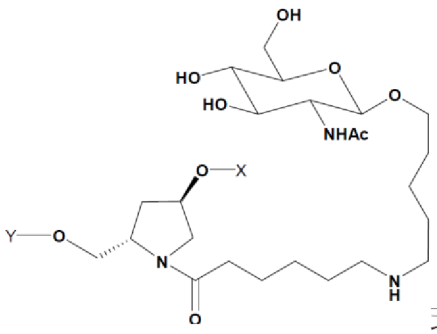
式 XX、



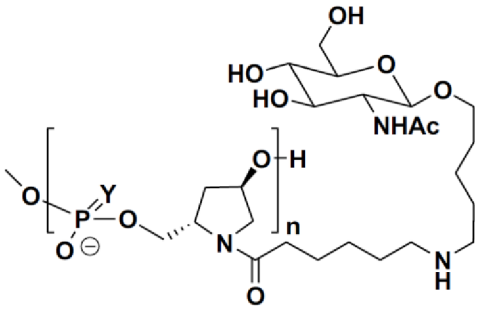
式 XXI、



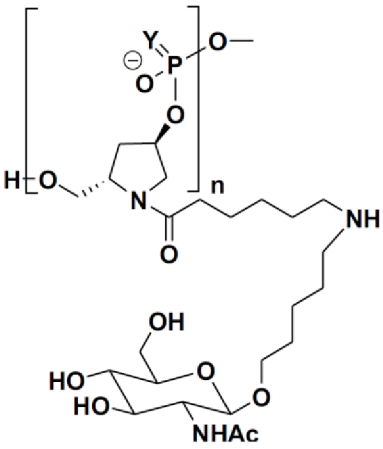
式 XXII、



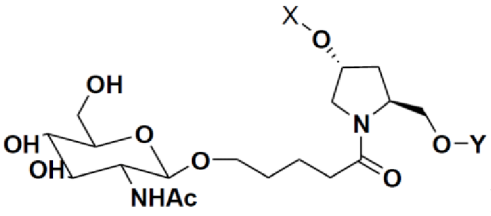
式 XXIII ；



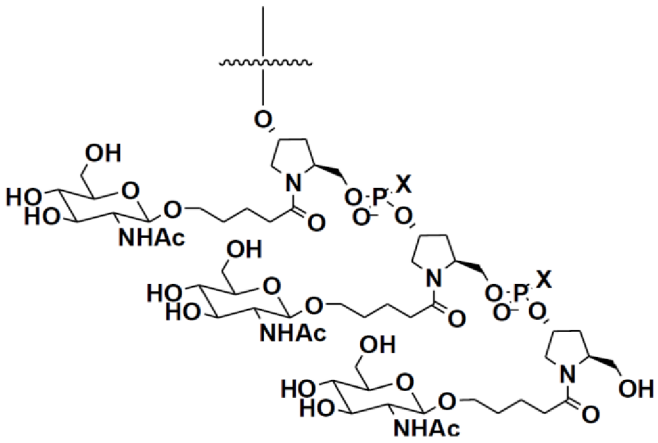
，其中Y為O或S且n為3至6 (式XXIV)；



，其中Y為O或S且n為3至6 (式XXV)；

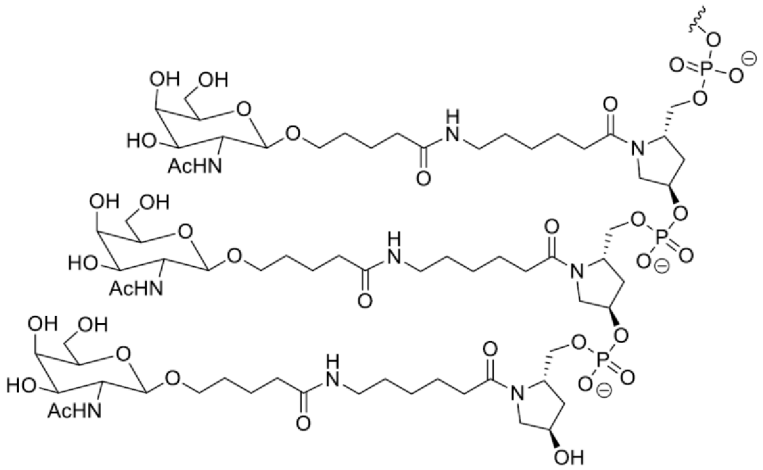


式XXVI；

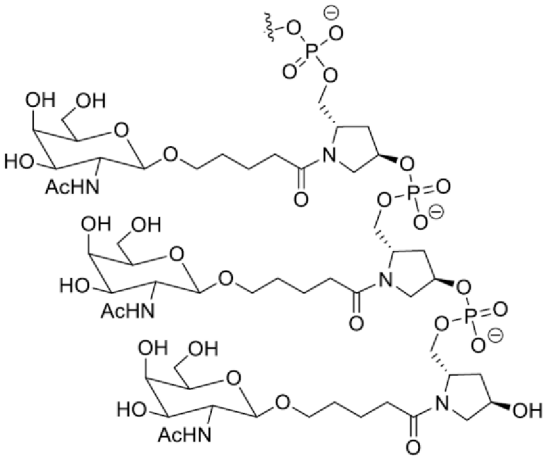


，其中X為O或S (式XXVII)；

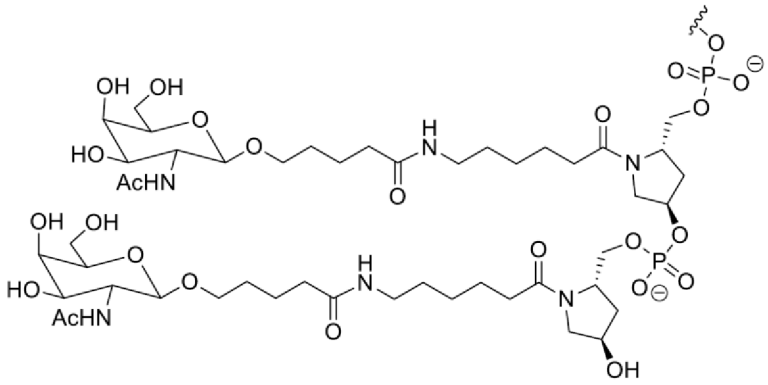
式XXVII；式XXIX；



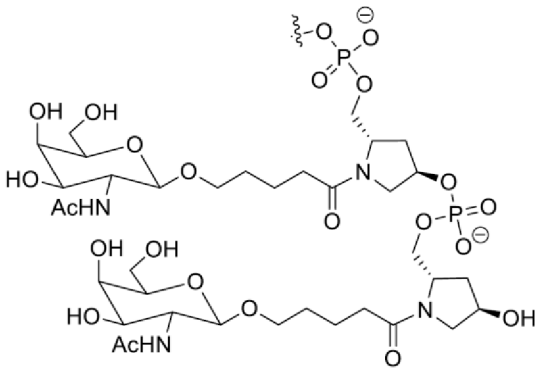
式XXVII；



式XXIX；



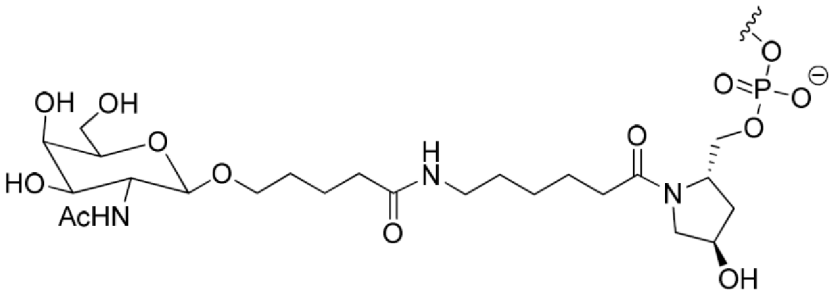
式XXX；



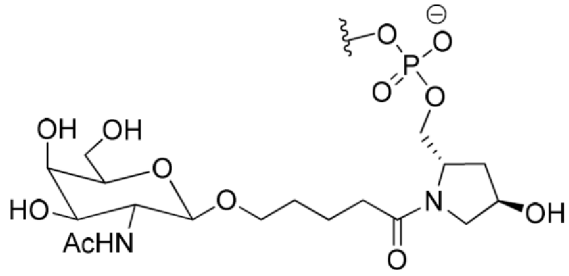
式XXXI

；

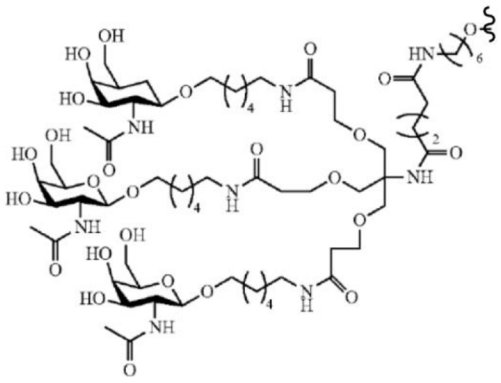
式XXXII；



及

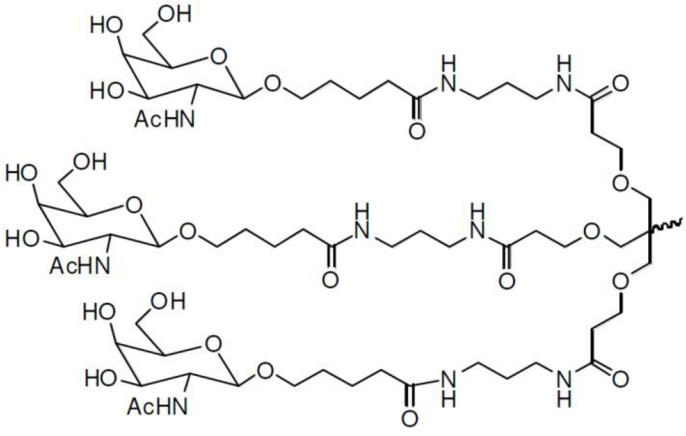


式 XXXIII 。



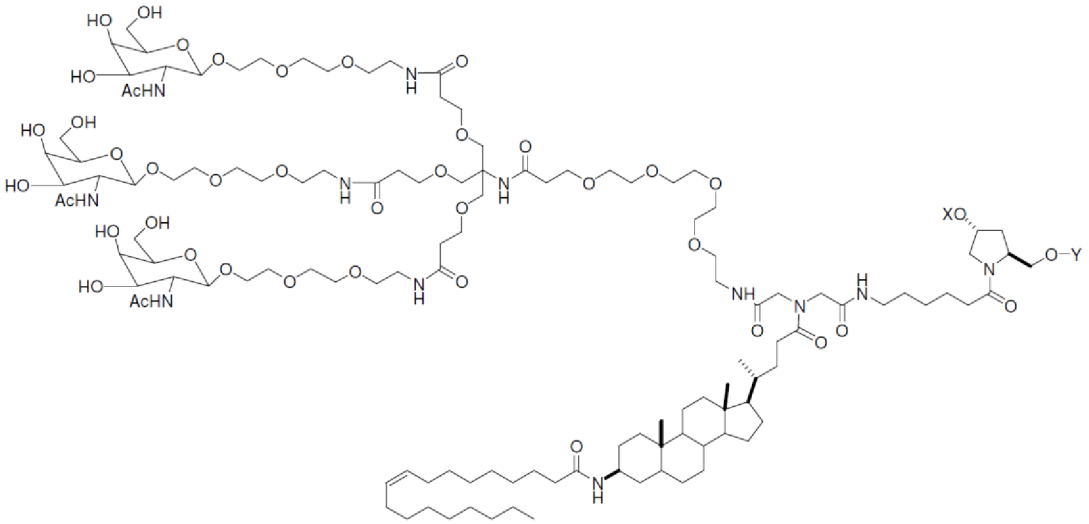
(式XXXIV)

【0456】 在某些實施例中，用於本發明之組合物及方法中之碳水化合物結合物為單醣。在某些實施例中，單醣為N-乙醯基半乳胺糖，諸如：



式II。

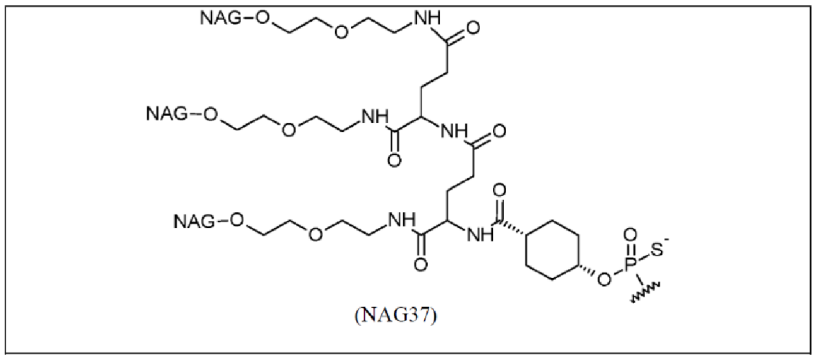
【0457】 用於本文所述實施例中之另一代表性碳水化合物結合物包括但不限於：



(式XXXVI)，

當X或Y中之一者為寡核苷酸時，另一者為氫。

【0458】 在一些實施例中，適合的配位體為WO 2019/055633中所揭示之配位體，其全部內容以引用之方式併入本文中。在一個實施例中，配位體包含以下結構：



【0459】 在某些實施例中，本發明之RNAi藥劑可包括GalNAc配位體，即使此類GalNAc配位體目前預計對於本發明之較佳一或多種鞘內/CNS遞送途徑價值有限。

【0460】 在本發明之某些實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由單價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。在一些實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由二價連接基團連接於本發明之iRNA藥劑。在本發明之又其他實施例中，GalNAc或GalNAc衍生物經由三價連接基團連接於本發

明之iRNA藥劑。

【0461】 在一個實施例中，本發明之雙股RNAi藥劑包含連接於iRNA藥劑之一或多個GalNAc或GalNAc衍生物。GalNAc可經由有義股或反義股上之連接基團連接於任何核苷酸。GalNac可連接於有義股之5'端、有義股之3'端、反義股之5'端或反義股之3'端。在一個實施例中，GalNAc例如經由三價連接基團連接於有義股之3'端。

【0462】 在其他實施例中，本發明之雙股RNAi藥劑包含複數個(例如2、3、4、5或6個) GalNAc或GalNAc衍生物，其各自獨立地經由複數個連接基團，例如單價連接基團連接於雙股RNAi藥劑的複數個核苷酸。

【0463】 在一些實施例中，舉例而言，當本發明之iRNA藥劑之兩股為藉由形成包含複數個不成對核苷酸的髮夾環的一股之3'端與各別另一股之5'端之間的核苷酸之不間斷鏈連接的一個較大分子之一部分時，髮夾環內之各不成對核苷酸可獨立地包含經由單價連接基團連接的GalNAc或GalNAc衍生物。

【0464】 在一些實施例中，碳水化合物結合物進一步包含一或多個如上文所描述之額外配位體，諸如但不限於PK調節劑或細胞滲透肽。

【0465】 適用於本發明之額外碳水化合物結合物及連接基團包括WO 2014/179620及WO 2014/179627中所描述之彼等碳水化合物結合物及連接基團，該等文獻中之每一者的全部內容以引用之方式併入本文中。

【0466】

D. 連接基團

在一些實施例中，本文所述之結合物或配位體可藉由各種可為可裂解或不可裂解之連接基團連接於iRNA寡核苷酸。

【0467】術語「連接基團(linker/linking group)」意謂連接化合物之兩個部分，例如共價連接化合物之兩個部分的有機部分。連接基團通常包含直接鍵或諸如氧或硫之原子、諸如NR8、C(O)、C(O)NH、SO、SO_2、SO_2NH之單元或諸如但不限於以下之原子鏈：經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、雜芳基烷基、雜芳基烯基、雜芳基炔基、雜環基烷基、雜環基烯基、雜環基炔基、芳基、雜芳基、雜環基、環烷基、環烯基、烷基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基炔基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、烯基芳基炔基、炔基芳基烷基、炔基芳基烯基、炔基芳基炔基、烷基雜芳基烷基、烷基雜芳基烯基、烷基雜芳基炔基、烯基雜芳基烷基、烯基雜芳基烯基、烯基雜芳基炔基、炔基雜芳基烷基、炔基雜芳基烯基、炔基雜芳基炔基、烷基雜環基烷基、烷基雜環基烯基、烷基雜環基炔基、烯基雜環基烷基、烯基雜環基烯基、烯基雜環基炔基、炔基雜環基烷基、炔基雜環基烯基、炔基雜環基炔基、烷基芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基雜芳基、烯基雜芳基、炔基雜芳基，該一或多個亞甲基可間雜有O、S、S(O)、SO_2、N(R8)、C(O)、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環或經其封端；其中R8為氫、醯基、脂族或經取代脂族。在某些實施例中，連接基團在約1至24個原子、2至24、3至24、4至24、5至24、6至24、6至18、7至18、8至18個原子、7至17、8至17、6至16、7至16或8至16個原子之間。

【0468】可裂解連接基團為在細胞外部充分穩定，但進入目標細胞時裂解以釋放連接基團固持在一起之兩個部分的連接基團。在一較佳實施例中，可裂解連接基團在目標細胞中或在第一參考條件(其可例如經選擇

以模擬或表示細胞內條件)下比在個體血液中或在第二參考條件(其可例如經選擇以模擬或表示血液或血清中存在之條件)下裂解快至少約10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或更多，或快至少約100倍。

【0469】 可裂解連接基團對裂解因子，例如pH值、氧化還原電位或降解分子之存在敏感。一般而言，裂解因子在細胞內部比在血清或血液中更普遍存在或以較高含量或活性存在。此類降解因子之實例包括：選擇用於特定受質或不具有受質特異性之氧化還原因子，包括例如細胞中存在之氧化或還原酶或還原因子，諸如硫醇，其可藉由還原降解氧化還原可裂解連接基團；酯酶；可建立酸性環境之胞內體或因子，例如產生五或更低之pH值者；可藉由充當通用酸、肽酶(其可為受質特異性的)及磷酸酶來水解或降解酸可裂解連接基團之酶。

【0470】 可裂解鍵聯基團，諸如二硫鍵可對pH值敏感。人類血清之pH值為7.4，而平均細胞內pH值略低，在約7.1-7.3範圍內。胞內體具有更酸性之pH值，在5.5-6.0範圍內，且溶酶體具有甚至更酸性之pH值，為約5.0。一些連接基團將具有在較佳pH值下裂解之可裂解連接基團，藉此在細胞內部自配位體釋放陽離子脂質或釋放至細胞之所要隔室中。

【0471】 連接基團可包括可由特定酶裂解之可裂解連接基團。併入連接基團中之可裂解連接基團之類型可視待靶向細胞而定。舉例而言，靶向肝之配位體可經由包括酯基之連接基團連接於陽離子脂質。肝細胞富含酯酶，且因此連接基團在肝細胞中將比在不富含酯酶之細胞類型中更有效裂解。富含酯酶之其他細胞類型包括肺、腎皮質及睾丸之細胞。

【0472】 當靶向富含肽酶之細胞類型，諸如肝細胞及滑膜細胞時，

可使用含有肽鍵之連接基團。

【0473】 一般而言，可藉由測試降解因子(或條件)裂解候選連接基團之能力來評價候選可裂解連接基團之適合性。亦將需要亦測試候選可裂解連接基團在血液中或與其他非目標組織接觸時的抗裂解能力。因此，可判斷第一及第二條件之間的相對裂解敏感性，其中選擇第一條件以指示目標細胞中之裂解且選擇第二條件以指示其他組織或生物流體，例如血液或血清中之裂解。評價可在無細胞系統、細胞、細胞培養物、器官或組織培養物或整個動物中進行。其可適用於在無細胞或培養條件中進行初始評價及藉由在整個動物中進一步評價來確認。在較佳實施例中，適用候選化合物在細胞中(或在經選擇以模擬細胞內條件之活體外條件下)比在血液或血清中(或在經選擇以模擬細胞外條件之活體外條件下)裂解快至少約2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或約100倍。

【0474】

i. 氧化還原可裂解連接基團

在某些實施例中，可裂解連接基團為在還原或氧化下裂解之氧化還原可裂解連接基團。還原可裂解連接基團之實例為二硫化物連接基團(-S-S-)。為了確定候選可裂解連接基團是否為適合之「還原可裂解連接基團」或例如是否適合與特定iRNA部分及特定靶向劑一起使用，可參看本文所述之方法。舉例而言，候選物可藉由使用此項技術中已知的試劑，與二硫蘇糖醇(DTT)或其他還原劑一起培育來評價，其模擬將在細胞，例如目標細胞中觀測到的裂解速率。候選物亦可在經選擇以模擬血液或血清條件之條件下進行評價。在一個條件下，候選化合物在血液中裂解至多約

10%。在其他實施例中，適用候選化合物在細胞中(或在經選擇以模擬細胞內條件之活體外條件下)比在血液中(或在經選擇以模擬細胞外條件之活體外條件下)降解快至少約2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或約100倍。候選化合物之裂解速率可使用標準酶動力學分析在經選擇以模擬細胞內介質之條件下測定且與經選擇以模擬細胞外介質之條件比較。

【0475】

ii. 基於磷酸酯之可裂解連接基團

在某些實施例中，可裂解連接基團包含基於磷酸酯之可裂解連接基團。基於磷酸酯之可裂解連接基團藉由降解或水解磷酸酯基之因子裂解。細胞中裂解磷酸酯基之因子的實例為細胞中之酶，諸如磷酸酶。基於磷酸酯之連接基團之實例為-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-。例示性實施例為-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-，其中Rk在每次出現時可獨立地為C1-C20烷基、C1-C20鹵烷基、C6-C10芳基或C7-C12芳烷基。在某些實施例中，基於磷酸酯之連接基團為-O-P(O)(OH)-O-。此等候選物可使用類似於上文所描述之方法的方法評價。

【0476】

iii. 酸可裂解連接基團

在某些實施例中，可裂解連接基團包含酸可裂解連接基團。酸可裂解連接基團為在酸性條件下裂解之連接基團。在某些實施例中，酸可裂解連接基團在pH值為約6.5或更低(例如約6.0、5.75、5.5、5.25、5.0或更低)之酸性環境中裂解或藉由可充當通用酸之諸如酶的因子裂解。在細胞中，特定的低pH值細胞器，諸如胞內體及溶酶體，可為酸可裂解連接基團提供裂解環境。酸可裂解連接基團之實例包括但不限於腙、酯及胺基酸之酯。酸可裂解基團可具有通式-C=NN-、C(O)O或-OC(O)。當碳連接於酯之氧(烷氧基)時，一個例示性實施例為芳基、經取代之烷基或三級烷基，諸如二甲基戊基或三級丁基。此等候選物可使用類似於上文所描述之方法的方法評價。

【0477】

iv. 基於酯之可裂解連接基團

在某些實施例中，可裂解連接基團包含基於酯之可裂解連接基團。基於酯之可裂解連接基團藉由細胞中之諸如酯酶及醯胺酶的酶裂解。基於酯之可裂解連接基團的實例包括但不限於伸烷基、伸烯基及伸炔基之酯。酯可裂解連接基團具有通式-C(O)O-或-OC(O)-。此等候選物可使用類似於上文所描述之方法的方法評價。

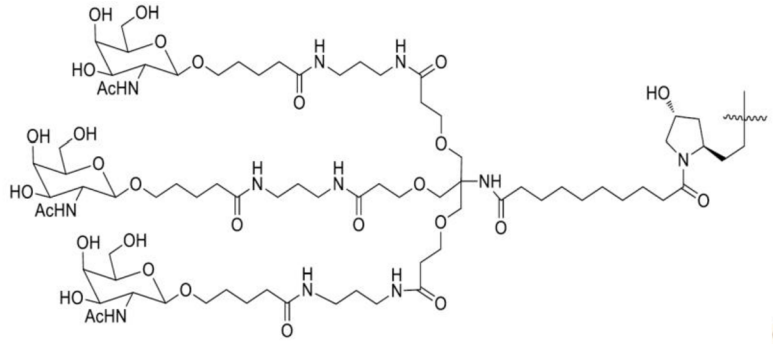
【0478】

v. 基於肽之可裂解連接基團

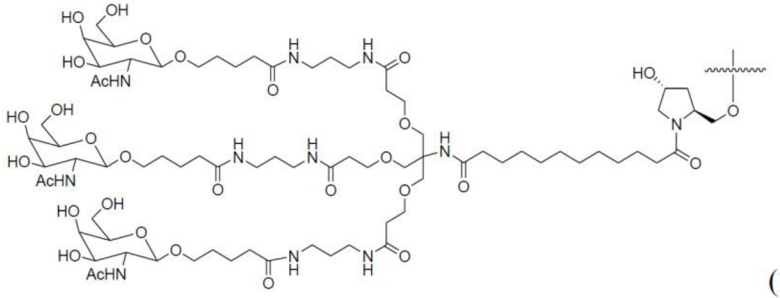
在又一實施例中，可裂解連接基團包含基於肽之可裂解連接基團。基於肽之可裂解連接基團藉由細胞中之諸如肽酶及蛋白酶的酶裂解。基於肽之可裂解連接基團為胺基酸之間形成以獲得寡肽(例如二肽、三肽等)及

多肽的肽鍵。基於肽之可裂解基團不包括醯胺基(-C(O)NH-)。醯胺基可在任何伸烷基、伸烯基或伸炔基之間形成。肽鍵為在胺基酸之間形成以產生肽及蛋白質的特殊類型的醯胺鍵。基於肽之裂解基團一般限於胺基酸之間形成以產生肽及蛋白質的肽鍵(亦即醯胺鍵)且不包括整個醯胺官能基。基於肽之可裂解連接基團具有通式- $NHCHR^{A}C(O)NHCHR^{B}C(O)-$，其中$R^{A}$及$R^{B}$為兩個相鄰胺基酸之R基團。此等候選物可使用類似於上文所描述之方法的方法評價。

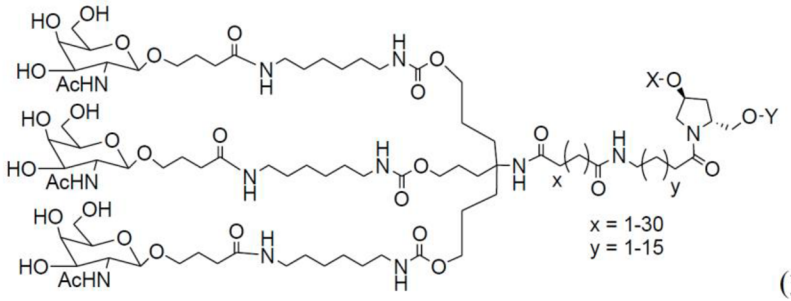
【0479】 在一些實施例中，本發明之iRNA經由連接基團結合於碳水化合物。具有本發明之組合物及方法之連接基團的iRNA碳水化合物結合物之非限制性實例包括但不限於：



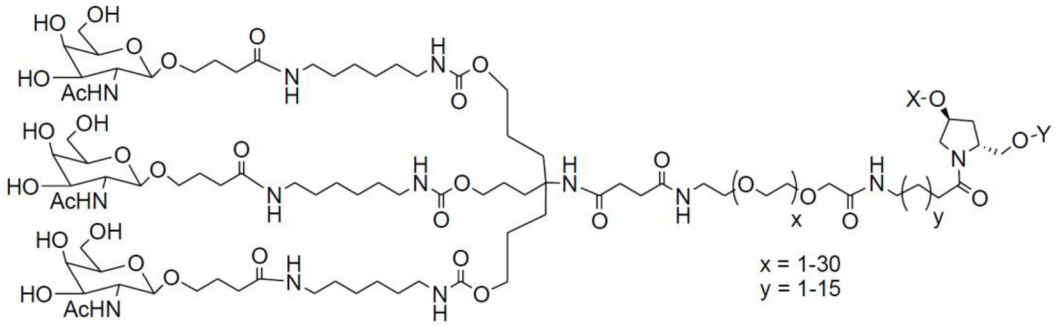
(式 XXXVII)、



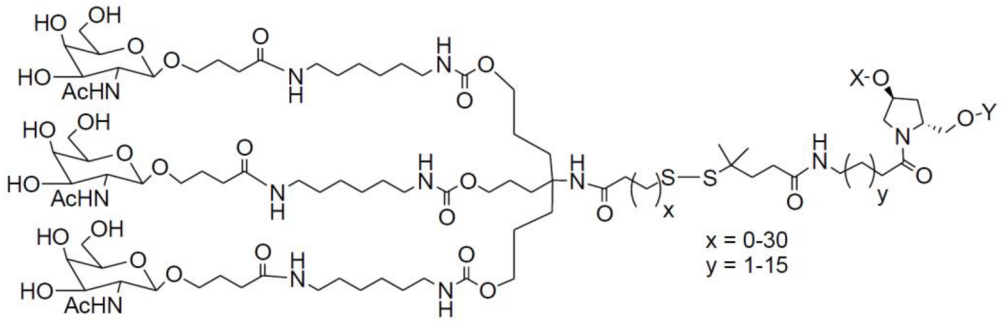
(式 XXXVIII)、



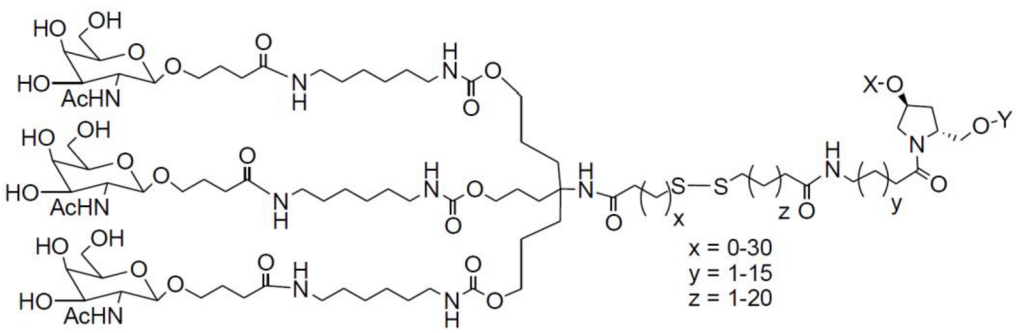
(式 XXXIX)、



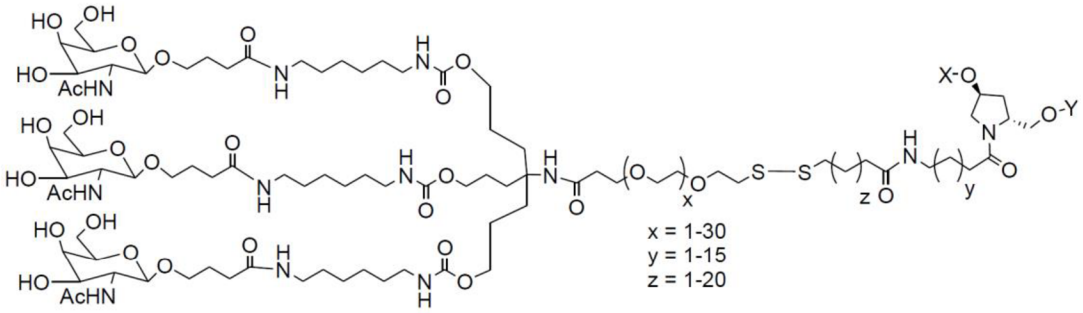
(式 XL)、



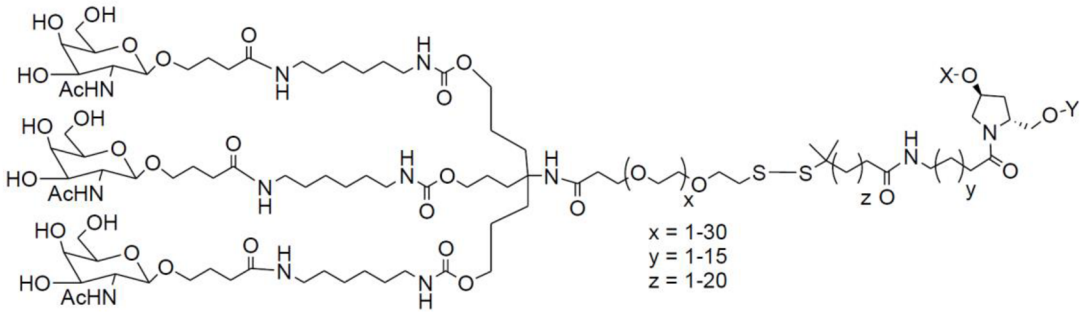
(式 XLI)、



(式 XLII)、



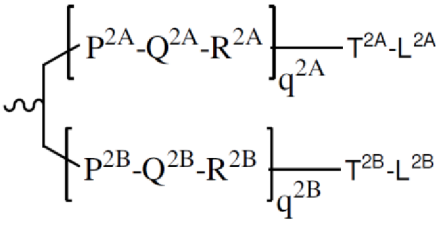
(式 XLIII) 及



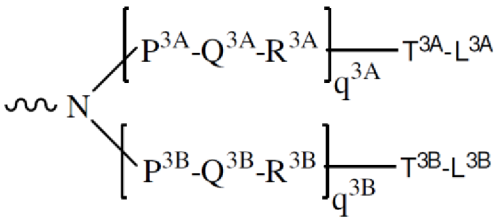
(式XLIV)，當X或Y中之一者為寡核苷酸時，另一者為氫。

【0480】 在本發明之組合物及方法之某些實施例中，配位體為經由二價或三價分支鏈連接基團連接之一或多個「GalNAc」 (N-乙醯基半乳胺糖)衍生物。

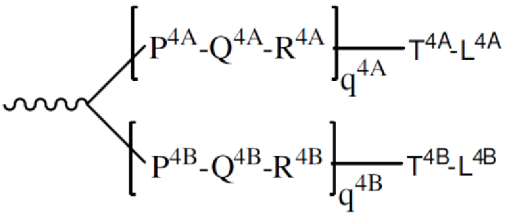
【0481】 在某些實施例中，本發明之dsRNA結合於選自式(XLV)-(XLVI)中任一者中所示之結構的群的二價或三價分支鏈連接基團：

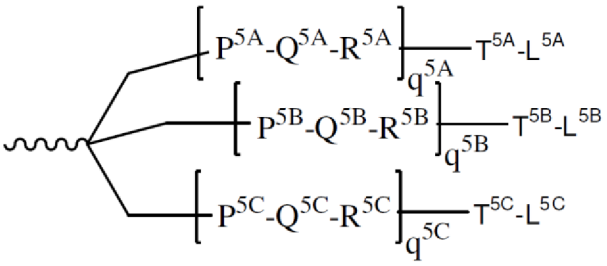


式 XLV 、



式 XLVI 、





或

式 XLVII

式 XLVIII

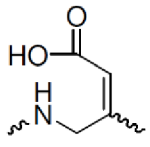
其中：

q2A、q2B、q3A、q3B、q4A、q4B、q5A、q5B及q5C每次出現時獨立地表示0-20且其中重複單元可相同或不同；

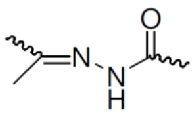
P^{2A}、P^{2B}、P^{3A}、P^{3B}、P^{4A}、P^{4B}、P^{5A}、P^{5B}、P^{5C}、T^{2A}、T^{2B}、T^{3A}、T^{3B}、T^{4A}、T^{4B}、T^{4A}、T^{5B}、T^{5C}每次出現時各自獨立地為不存在、CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、CH_2、CH_2NH或CH_2O；

Q^{2A}、Q^{2B}、Q^{3A}、Q^{3B}、Q^{4A}、Q^{4B}、Q^{5A}、Q^{5B}、Q^{5C}每次出現時獨立地為不存在、伸烷基、經取代之伸烷基，其中一或多個亞甲基可間雜有O、S、S(O)、SO_2、$N(R^N)$、C(R')=C(R'')、C≡C或C(O)中之一或多者或經其封端；

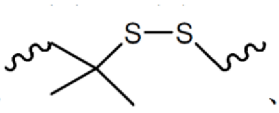
R^{2A}、R^{2B}、R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}、R^{4B}、R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}每次出現時各自獨立地為不存在、NH、O、S、CH_2、C(O)O、C(O)NH、$NHCH(R^a)C(O)$、$-C(O)-CH(R^a)-NH-$、CO、CH=N-O、



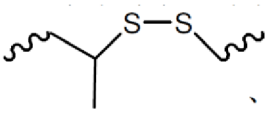
、



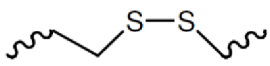
、



、

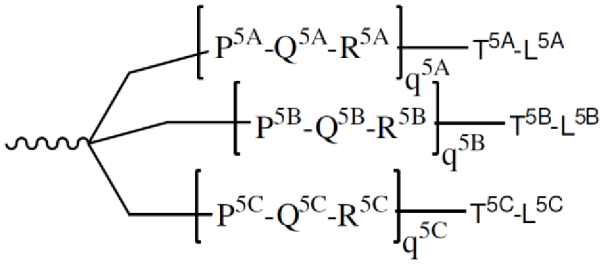


、



或雜環基；

L^{2A}、L^{2B}、L^{3A}、L^{3B}、L^{4A}、L^{4B}、L^{5A}、L^{5B}及L^{5C}表示配位體；亦即在每次出現時各自獨立地為單醣(諸如GalNAc)、雙醣、三醣、四醣、寡醣或多醣；且R^a係H或胺基酸側鏈。三價結合GalNAc衍生物尤其適於與RNAi藥劑一起使用以抑制目標基因之表現，諸如式(XLIX)之衍生物：



(式XLIX)，

其中L^{5A}、L^{5B}及L^{5C}表示單醣，諸如GalNAc衍生物。

【0482】 結合GalNAc衍生物之適合二價及三價分支鏈連接基團之實例包括但不限於上文列舉為式II、VII、XI、X及XIII之結構。

【0483】 教示RNA結合物之製備的代表性美國專利包括但不限於美國專利第4,828,979號；第4,948,882號；第5,218,105號；第5,525,465號；第5,541,313號；第5,545,730號；第5,552,538號；第5,578,717號；第5,580,731號；第5,591,584號；第5,109,124號；第5,118,802號；第5,138,045號；第5,414,077號；第5,486,603號；第5,512,439號；第5,578,718號；第5,608,046號；第4,587,044號；第4,605,735號；第4,667,025號；第4,762,779號；第4,789,737號；第4,824,941號；第4,835,263號；第4,876,335號；第4,904,582號；第4,958,013號；第5,082,830號；第5,112,963號；第5,214,136號；第5,082,830號；第5,112,963號；第5,214,136號；第5,245,022號；第5,254,469號；第5,258,506號；第5,262,536號；第5,272,250號；第5,292,873號；第5,317,098號；第5,371,241號；第5,391,723號；第5,416,203號；第5,451,463號；第5,510,475號；第5,512,667號；第5,514,785號；第

5,565,552號；第5,567,810號；第5,574,142號；第5,585,481號；第5,587,371號；第5,595,726號；第5,597,696號；第5,599,923號；第5,599,928號；第5,688,941號；第6,294,664號；第6,320,017號；第6,576,752號；第6,783,931號；第6,900,297號；第7,037,646號；及第8,106,022號，其中每一者之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0484】 不需要給定化合物中之所有位置都一致地經修飾，且實際上前述修飾中之多於一者可併入單個化合物中或甚至iRNA內之單個核苷處。本發明亦包括為嵌合化合物之iRNA化合物。

【0485】 在本發明的上下文中，「嵌合」iRNA化合物或「嵌合體」為含有兩個或更多個化學上獨特的區域之iRNA化合物，較佳dsRNA藥劑，該等區域各自由至少一個單體單元，亦即在dsRNA化合物之情況下核苷酸構成。此等iRNA通常含有其中RNA經修飾以賦予iRNA提高之核酸酶降解抗性、提高之細胞吸收或提高之對目標核酸的結合親和力之至少一個區。iRNA之額外區可充當能夠裂解RNA:DNA或RNA:RNA共溶體之酶的受質。舉例而言，RNA酶H為細胞核酸內切酶，其裂解RNA:DNA雙螺旋體之RNA股。因此，RNA酶H之活化使得RNA目標裂解，藉此大大增強iRNA抑制基因表現之效率。因此，當使用嵌合dsRNA時，相較於雜交至相同目標區域之硫代磷酸酯去氧dsRNA，通常可使用更短iRNA獲得相當之結果。RNA目標之裂解可藉由凝膠電泳，且必要時此項技術中已知之相關核酸雜交技術常規地偵測。

【0486】 在某些情況下，iRNA之RNA可經非配位體基團修飾。多種非配位體分子已結合於iRNA以增強iRNA之活性、細胞分佈或細胞吸收，且進行此類結合之程序可在科學文獻中獲得。此類非配位體部分包括

脂質部分，諸如膽固醇(Kubo, T.等人，*Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61；Letsinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553)；膽酸(Manoharan等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053)；硫醚，例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人，*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306；Manoharan等人，*Bioorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765)；硫代膽固醇(Oberhauser等人，*Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533)；脂族鏈，例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras等人，*EMBO J.*, 1991, 10:111；Kabanov等人，*FEBS Lett.*, 1990, 259:327；Svinarchuk等人，*Biochimie*, 1993, 75:49)；磷脂，例如二-十六烷基-rac-甘油1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-H-膦酸酯或1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-H-膦酸三乙銨(Manoharan等人，*Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651；Shea等人，*Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777)；多元胺或聚乙二醇鏈(Manoharan等人，*Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969)；或金剛烷乙酸(Manoharan等人，*Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651)；棕櫚基部分(Mishra等人，*Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229)；或十八烷基胺或己基胺基-羰基-羥膽固醇部分(Crooke等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923)。教示此類RNA結合物之製備的代表性美國專利已列於上文中。典型結合方案涉及在序列之一或多個位置帶有胺基連接基團之RNA的合成。胺基隨後使用適當偶合或活化試劑與所結合之分子反應。結合反應可在溶液相中在RNA仍結合於固體支撐物之情況下或在RNA裂解後進行。藉由HPLC純化RNA結合物通常得到純結合物。

【0487】

V. 本發明之RNAi藥劑之遞送

本發明之RNAi藥劑至細胞，例如個體，諸如人類個體(例如有需要之個體，諸如患有LRRK2相關病症，例如LRRK2相關疾病之個體)內之細胞之遞送可以多種不同方式實現。舉例而言，遞送可藉由使細胞與本發明之RNAi藥劑活體外或活體內接觸來進行。活體內遞送亦可藉由向個體投與包含RNAi藥劑，例如dsRNA之組合物直接進行。或者，活體內遞送可藉由投與一或多種編碼及引導RNAi藥劑表現之載體間接進行。此等替代方案在下文中進一步論述。

【0488】 一般而言，遞送核酸分子(活體外或活體內)之任何方法可適應用於本發明之RNAi藥劑(參見例如Akhtar S.及Julian RL., (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144及WO94/02595，其以全文引用之方式併入本文中)。關於活體內遞送，為了遞送RNAi藥劑所考慮之因素包括例如所遞送之藥劑之生物穩定性、防止非特異性作用及所遞送之藥劑在目標組織中之積聚。RNAi藥劑之非特異性作用可藉由局部投與來最小化，例如藉由直接注射或植入組織中或局部投與製劑。向治療部位局部投與使藥劑之局部濃度最大化，限制藥劑暴露於可另外受藥劑損害或可降解藥劑之全身組織，及准許待投與之RNAi藥劑的較低總劑量。若干研究已展示當局部投與RNAi藥劑時成功減弱基因產物之表現。舉例而言，藉由在食蟹獼猴中玻璃體內注射(Tolentino, MJ.等人，(2004) *Retina* 24:132-138)及在小鼠中視網膜下注射(Reich, SJ.等人(2003) *Mol. Vis.* 9:210-216)眼內遞送VEGF dsRNA皆展示為在年齡相關之黃斑變性之實驗模型中預防新血管生成。另外，小鼠中直接瘤內注射dsRNA減少腫瘤體積(Pille, J.等人(2005) *Mol. Ther.* 11:267-274)且可延長負載腫瘤小鼠之存活期(Kim, WJ.

等人，(2006) *Mol. Ther.* 14:343-350；Li, S.等人，(2007) *Mol. Ther.* 15:515-523)。RNA干擾亦已展示藉由直接注射局部遞送至CNS(Dorn, G.等人，(2004) *Nucleic Acids* 32:e49；Tan, PH.等人(2005) *Gene Ther.* 12:59-66；Makimura, H.等人(2002) *BMC Neurosci.* 3:18；Shishkina, GT.等人(2004) *Neuroscience* 129:521-528；Thakker, ER.等人(2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275；Akaneya,Y.等人(2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602)及藉由鼻內投與局部遞送至肺(Howard, KA.等人，(2006) *Mol. Ther.* 14:476-484；Zhang, X.等人，(2004) *J. Biol. Chem.* 279:10677-10684；Bitko, V.等人，(2005) *Nat. Med.* 11:50-55)成功進行。對於全身性投與RNAi藥劑以治療疾病，RNA可經修飾或替代地使用藥物遞送系統遞送；兩種方法均用於藉由活體內之內核酸酶及外核酸酶防止dsRNA之快速降解。RNA或醫藥載劑之修飾亦可准許RNAi藥劑靶向至目標組織且避免不合需要之脫靶作用(例如，不希望受理論束縛，已鑑別如本文所述之GNA之使用使dsRNA之種子區去穩定化，引起相對於脫靶作用此類dsRNA對於中靶有效性之偏好增強，因為此類脫靶作用藉由此類種子區去穩定化而顯著減弱)。RNAi藥劑可藉由與親脂性基團，諸如膽固醇之化學結合而經修飾以增強細胞吸收及防止降解。舉例而言，將針對ApoB的結合於親脂性膽固醇部分之RNAi藥劑全身注射至小鼠中且引起肝及空腸中之apoB mRNA之減弱(Soutschek, J.等人，(2004) *Nature* 432:173-178)。RNAi藥劑結合於適體已展示在前列腺癌小鼠模型中抑制腫瘤生長及介導腫瘤消退(McNamara, JO.等人，(2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015)。在一替代實施例中，RNAi藥劑可使用藥物遞送系統，諸如奈米粒子、樹狀體、聚合物、脂質體或陽離子遞送系統遞送。帶正電陽

離子遞送系統促進分子RNAi藥劑(帶負電)之結合且亦增強帶負電細胞膜處之相互作用，以准許細胞有效吸收RNAi藥劑。陽離子脂質、樹狀體或聚合物可結合至RNAi藥劑或經誘導形成包覆RNAi藥劑之囊泡或微胞(參見例如Kim SH.等人，(2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116)。當全身投與時，囊泡或微胞之形成進一步防止RNAi藥劑降解。用於製造及投與陽離子-RNAi藥劑複合物之方法完全在熟習此項技術者之能力內(參見例如Sorensen, DR.等人(2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766；Verma, UN.等人，(2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300；Arnold, AS等人(2007) *J. Hypertens.* 25:197-205，其以全文引用之方式併入本文中)。適用於全身遞送RNAi藥劑之藥物遞送系統之一些非限制性實例包括DOTAP (Sorensen, DR.等人(2003)，同上；Verma, UN.等人(2003)，同上)；寡非他命(Oligofectamine)，「固體核酸脂質粒子」 (Zimmermann, TS.等人(2006) *Nature* 441:111-114)；心磷脂(Chien, PY.等人(2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328；Pal, A.等人(2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091)；聚乙烯亞胺(Bonnet ME.等人(2008) *Pharm. Res.* 8月16日，印刷前Epub；Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659)；Arg-Gly-Asp (RGD)肽(Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487)；及聚醯胺基胺(Tomalia, DA.等人(2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67；Yoo, H.等人(1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804)。在一些實施例中，RNAi藥劑與環糊精形成用於全身性投與之複合物。RNAi藥劑及環糊精之投與方法及醫藥組合物可見於美國專利第7,427,605號中，其以全文引用之方式併入本文中。

【0489】 本發明之某些態樣係關於降低細胞中LRRK2目標基因之表

現的方法，其包含使該細胞與本發明之雙股RNAi藥劑接觸。在一個實施例中，細胞為肝外細胞，視情況為CNS細胞，諸如腦細胞。在其他實施例中，細胞為肝外細胞，視情況為眼細胞。

【0490】 本發明之另一態樣係關於降低個體中LRRK2目標基因之表現的方法，其包含向該個體投與本發明之雙股RNAi藥劑。

【0491】 本發明之另一態樣係關於治療患有CNS病症(神經退化性病症)之個體的方法，其包含向該個體投與治療有效量之本發明之雙股LRRK2靶向RNAi藥劑，從而治療該個體。可藉由本發明方法治療的例示性CNS病症包括LRRK2相關疾病CNS病症，諸如帕金森氏病。

【0492】 本發明之另一態樣係關於治療患有眼部系統病症之個體的方法，其包含向該個體投與治療有效量之本發明之雙股LRRK2靶向RNAi藥劑，藉此治療該個體。可藉由本發明方法治療之例示性眼部病症包括LRRK2相關眼部疾病，諸如眼睛、晶狀體及耳囊水腫。

【0493】 在一個實施例中，雙股RNAi藥劑係鞘內投與。藉由鞘內投與雙股RNAi藥劑，該方法可降低腦(例如紋狀體)或脊椎組織(例如皮質、小腦、頸椎、腰椎及胸椎)、免疫細胞(諸如單核球及T細胞)中LRRK2目標基因之表現。

【0494】 為了便於說明，此部分中之調配物、組合物及方法主要針對經修飾之siRNA化合物加以論述。然而，可理解，此等調配物、組合物及方法可用其他siRNA化合物，例如，未經修飾之siRNA化合物實踐，且此類實踐在本發明內。包括RNAi藥劑之組合物可藉由多種途徑遞送至個體。例示性途徑包括：鞘內、靜脈內、局部、經直腸、經肛門、經陰道、經鼻、經肺及經眼。

【0495】 本發明之RNAi藥劑可併入適用於投與之醫藥組合物中。此類組合物通常包括一或多種RNAi藥劑物種及醫藥學上可接受之載劑。如本文所用，措辭「醫藥學上可接受之載劑」意欲包括與醫藥投與相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。此類介質及試劑用於醫藥活性物質之用途為此項技術中所熟知。除非任何習知介質或試劑與活性化合物不相容，否則考慮將其用於組合物中。補充活性化合物亦可併入至組合物中。

【0496】 本發明之醫藥組合物可以多種方式投與，此視需要局部抑或全身性治療及所治療之區域而定。投與可為局部(包括經眼、經陰道、經直腸、鼻內、經皮)、鞘內、經口或非經腸。非經腸投與包括靜脈內滴注、皮下、腹膜內或肌肉內注射，或鞘內或室內投與。

【0497】 可選擇投與途徑及部位以增強靶向。舉例而言，為靶向神經或脊椎組織，鞘內注射將為合理選擇。肺細胞可藉由以氣溶膠形式投與RNAi藥劑靶向。血管內皮細胞可藉由用RNAi藥劑塗佈氣球導管且以機械方式引入RNA靶向。

【0498】 用於局部投與之調配物可包括經皮貼片、軟膏、乳劑、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及散劑。習知醫藥載劑、水性、粉末或油性基劑、增稠劑及其類似物可為必需或合乎需要的。經塗佈之保險套、手套及其類似物亦可為有用的。

【0499】 用於經口投與之組合物包括粉末或顆粒、於水、糖漿、酏劑或非水性介質中之懸浮液或溶液、錠劑、膠囊、口含錠或糖衣錠。在錠劑之情況下，可使用之載劑包括乳糖、檸檬酸鈉及磷酸鹽。各種崩解劑(諸如澱粉)及潤滑劑(諸如硬脂酸鎂、月桂基硫酸鈉及滑石)常用於錠劑

中。對於膠囊形式之經口投與，有用的稀釋劑為乳糖及高分子量聚乙二醇。當經口使用需要水性懸浮液時，核酸組合物可與乳化劑及懸浮劑組合。若需要，可添加某些甜味劑或調味劑。

【0500】 用於鞘內或室內投與之組合物可包括無菌水性溶液，其亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適合之添加劑。

【0501】 用於非經腸投與之調配物可包括無菌水性溶液，其亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適合的添加劑。室內注射可藉由例如連接於儲集器之室內導管進行。對於靜脈內使用，可控制溶質之總濃度以使得製劑等張。

【0502】 在一個實施例中，siRNA化合物，例如雙股siRNA化合物，或ssiRNA化合物、組合物之投與為非經腸，例如靜脈內(例如以推注形式或以可擴散輸注形式)、皮內、腹膜內、肌肉內、鞘內、室內、顱內、皮下、經黏膜、經頰、舌下、內窺鏡、經直腸、經口、經陰道、局部、經肺、鼻內、經尿道或經眼。投與可由個體或另一人，例如健康照護提供者提供。藥品可以量測劑量或以遞送定量劑量之配送器提供。下文更詳細地論述所選遞送模式。

【0503】

A. 鞘內投與.

在一個實施例中，雙股RNAi藥劑係藉由鞘內注射(亦即注射至浸泡著腦及脊髓組織之脊髓液中)遞送。將RNAi藥劑鞘內注射至脊髓液中可以推注注射形式或經由微型泵來進行，該等微型泵可植入皮膚下方，從而使siRNA規律且恆定遞送至脊髓液中。脊髓液自產生其之脈絡叢開始循環，向下環繞脊髓及背根神經節且隨後向上經過小腦及經過皮質達到蜘蛛膜顆

粒，在此處脊髓液可離開CNS，這使得視所注射之化合物的大小、穩定性及溶解度而定，鞘內遞送之分子可擊中整個CNS中的目標。

【0504】 在一些實施例中，鞘內投與係經由泵。泵可為以手術方式植入之滲透泵。在一個實施例中，滲透泵被植入脊椎管之蜘蛛膜下空間中以促進鞘內投與。

【0505】 在一些實施例中，鞘內投與係經由醫藥鞘內遞送系統，其包括含有一定體積藥劑的儲集器及經組態以遞送儲集器中所含之藥劑的一部分的泵。關於此鞘內遞送系統之更多細節可見於WO 2015/116658中，其以全文引用的方式併入本文中。

【0506】 鞘內注射之RNAi藥劑之量可在一種目標基因與另一目標基因間變化，且可必須針對各目標基因個別地確定必須施用的適當量。通常，此量在10 μg至2 mg，較佳50 μg至1500 μg，更佳100 μg至1000 μg範圍內。

【0507】

B. 載體編碼的本發明之RNAi藥劑

靶向LRRK2基因之RNAi藥劑可自插入至DNA或RNA載體中之轉錄單元表現(參見例如Couture, A等人，*TIG.* (1996), 12:5-10；WO 00/22113、WO 00/22114及US 6,054,299)。視所用特定構築體及目標組織或細胞類型而定，表現較佳為持續的(數月或更長)。此等轉殖基因可以線性構築體、環形質體或病毒載體形式引入，該載體可以為整合或非整合載體。轉殖基因亦可經構築以准許其以染色體外質體形式遺傳(Gassmann等人，(1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:1292)。

【0508】 RNAi藥劑之個別一或多股可以自表現載體上之啟動子轉

錄。當待表現兩個個別股以產生例如dsRNA時，兩個個別表現載體可共同引入(例如藉由轉染或感染)至目標細胞中。或者，dsRNA之各個別股可藉由均位於相同表現質體上之兩個啟動子轉錄。在一個實施例中，dsRNA表現為由連接體聚核苷酸序列接合之反向重複聚核苷酸，使得dsRNA具有主幹及環結構。

【0509】 RNAi藥劑表現載體一般為DNA質體或病毒載體。與真核細胞相容之表現載體，較佳與脊椎動物細胞相容之表現載體可用於產生用於表現如本文中所描述之RNAi藥劑的重組構築體。表現RNAi藥劑之載體的遞送可為全身性的，諸如藉由靜脈內或肌肉內投與，藉由投與至自患者外植接著再引入患者中之目標細胞，或藉由允許引入所要目標細胞中之任何其他方式。

【0510】 可與本文中所描述之方法及組合物一起利用之病毒載體系統包括但不限於：(a)腺病毒載體；(b)反轉錄病毒載體，包括但不限於慢病毒載體、莫洛尼鼠類白血病病毒(moloney murine leukemia virus)等；(c)腺相關病毒載體；(d)單純疱疹病毒載體；(e) SV 40載體；(f)多瘤病毒載體；(g)乳頭狀瘤病毒載體；(h)小RNA病毒載體；(i)痘病毒載體，諸如正痘(orthopox)，例如痘瘡病毒載體或鳥類痘，例如金絲雀痘或家禽痘；及(j)輔助病毒依賴型或無腸腺病毒。複製缺陷型病毒亦可為有利的。不同載體將或將不併入至細胞基因體中。若需要，構築體可包括用於轉染之病毒序列。或者，構築體可併入能夠游離型複製之載體，例如EPV及EBV載體中。用於RNAi藥劑之重組表現之構築體將一般需要調節元件，例如啟動子、強化子等，以確保RNAi藥劑在目標細胞中之表現。考慮載體及構築體之其他態樣為此項技術中已知的。

【0511】

VI. 本發明之醫藥組合物

本發明亦包括醫藥組合物及調配物，其包括本發明之RNAi藥劑。在一個實施例中，本文中提供醫藥組合物，其含有如本文中所描述之RNAi藥劑及醫藥學上可接受之載劑。含有RNAi藥劑之醫藥組合物適用於治療與LRRK2之表現或活性相關之疾病或病症，例如LRRK2相關疾病。

【0512】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物為無菌的。在另一實施例中，本發明之醫藥組合物不含熱原質。

【0513】 此類醫藥組合物係基於遞送模式調配。一個實例為經調配用於經由非經腸遞送，例如藉由靜脈內(IV)、肌肉內(IM)全身投與或皮下(subQ)遞送的組合物。另一實例為經調配以直接遞送至CNS中的組合物，例如藉由鞘內或玻璃體內注射途徑，視情況藉由輸注至腦(例如紋狀體)中，諸如藉由連續泵輸注。

【0514】 本發明之醫藥組合物可以足以抑制LRRK2基因表現之劑量投與。一般而言，本發明之RNAi藥劑之適合劑量將在每天每公斤接受體體重約0.001至約200.0毫克範圍內，通常在每天每公斤體重約1至50 mg範圍內。

【0515】 重複給藥方案可包括定期投與治療量之RNAi藥劑，諸如每月至每六個月一次。在某些實施例中，RNAi藥劑約每季度一次(亦即約每三個月一次)至約每年兩次投與。

【0516】 在初始治療方案(例如起始劑量)之後，治療可較不頻繁地投與。

【0517】 在其他實施例中，單次劑量之醫藥組合物可為持久的，使

得後續劑量以不超過1、2、3或4個月或更多個月的時間間隔投與。在本發明之一些實施例中，每月一次投與單次劑量之本發明之醫藥組合物。在本發明之其他實施例中，每季度一次至每年兩次投與單次劑量之本發明之醫藥組合物。

【0518】 熟習此項技術者應瞭解某些因素可影響有效治療個體所需之劑量及時間安排，該等因素包括但不限於疾病或病症之嚴重程度、先前治療、個體之一般健康狀況或年齡及存在之其他疾病。此外，用治療有效量之組合物治療個體可包括單一治療或一系列治療。

【0519】 小鼠遺傳學之進展已產生多個用於研究各種人類疾病，諸如將得益於LRRK2表現減少之ALS及FTD的小鼠模型。此類模型可用於RNAi藥劑之活體內測試，以及用於確定治療有效劑量。適合嚙齒動物模型為此項技術中已知的且包括舉例而言例如Cepeda等人(*ASN Neuro* (2010) 2(2):e00033)及Pouladi等人(*Nat Reviews* (2013) 14:708)中所述之彼等模型。

【0520】 本發明之醫藥組合物可以多種方式投與，此視需要局部抑或全身性治療及所治療之區域而定。投與可為局部(例如藉由經皮貼片)、經肺(例如藉由吸入或吹入粉末或氣溶膠，包括藉由噴霧器)、氣管內、鼻內、表皮及經皮、經口或非經腸。非經腸投與包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；皮下，例如經由植入裝置；或顱內，例如藉由實質內、鞘內或室內投與。

【0521】 RNAi藥劑可以靶向特定組織，諸如CNS (例如腦之神經元、神經膠質或血管組織)之方式遞送。

【0522】 用於局部投與之醫藥組合物及調配物可包括經皮貼片、軟

膏、乳劑、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及散劑。習知醫藥載劑、水性、粉末或油性基劑、增稠劑及其類似物可為必需或合乎需要的。經塗佈之保險套、手套及其類似物亦可適用。適合的局部調配物包括其中本發明特徵在於之RNAi藥劑與局部遞送劑，諸如脂質、脂質體、脂肪酸、脂肪酸酯、類固醇、螯合劑及界面活性劑混雜的調配物。適合的脂質及脂質體包括中性(例如二油醯基磷脂醯DOPE乙醇胺、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼DMPC、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼)、陰離子型(例如二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油DMPG)及陽離子型(例如二油醯基四甲基胺基丙基DOTAP及二油醯基磷脂醯乙醇胺DOTMA)。本發明特徵在於之RNAi藥劑可囊封於脂質體內或可與其形成複合物，尤其與陽離子脂質體。或者，RNAi藥劑可與脂質，尤其陽離子脂質複合。適合脂肪酸及酯包括但不限於花生四烯酸、油酸、花生酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼或C_{1-20}烷基酯(例如異丙基肉豆蔻酸酯IPM)、單甘油酯、二甘油酯或其醫藥學上可接受之鹽。局部調配物詳細描述於US 6,747,014中，其以引用之方式併入本文中。

【0523】

A. 包含膜性分子組裝體之RNAi藥劑調配物

用於本發明之組合物及方法中的RNAi藥劑可經調配以在膜性分子組裝體，例如脂質體或微胞中遞送。如本文所用，術語「脂質體」係指由以至少一個雙層，例如一個雙層或複數個雙層形式佈置之兩親媒性脂質構成的囊泡。脂質體包括單層及多層囊泡，其具有由親脂性材料及水性內部物

質形成之膜。水性部分含有RNAi藥劑組合物。親脂性材料分離水性內部物質與水性外部物質，該水性外部物質通常不包括RNAi藥劑組合物，但在一些實例中其可包括。脂質體適用於將活性成分轉移及遞送至作用部位。因為脂質體膜在結構上與生物膜類似，當脂質體施加到組織時，脂質體雙層與細胞膜之雙層融合。隨著脂質體及細胞之合併進展，包括RNAi藥劑之內部水性內容物遞送至細胞中，在此RNAi藥劑可特異性結合於目標RNA且可介導RNAi。在一些實施例中，脂質體亦特異性靶向，例如以引導RNAi藥劑至特定細胞類型。

【0524】 含有RNAi藥劑之脂質體可藉由多種方法製備。在一個實例中，脂質體之脂質組分溶解於清潔劑中以使得由脂質組分形成微胞。舉例而言，脂質組分可為兩性陽離子脂質或脂質結合物。清潔劑可具有高臨界微胞濃度且可為非離子性的。例示性清潔劑包括膽酸鹽、CHAPS、辛基葡糖苷、去氧膽酸鹽及月桂醯基肌胺酸。隨後將RNAi藥劑製備物添加至包括脂質組分之微胞中。脂質上之陽離子基團與RNAi藥劑相互作用且在RNAi藥劑周圍縮合以形成脂質體。在縮合之後，例如藉由透析移除清潔劑，以產生RNAi藥劑之脂質體製備物。

【0525】 必要時，可在縮合反應期間添加幫助縮合之載體化合物，例如藉由受控添加。舉例而言，載體化合物可為除核酸以外的聚合物(例如精胺或亞精胺)。亦可調節pH值以促進縮合。

【0526】 用於產生穩定聚核苷酸遞送媒劑(其併入聚核苷酸/陽離子脂質複合物作為遞送媒劑之結構組分)之方法進一步描述於例如WO 96/37194中，其全部內容以引用之方式併入本文中。脂質體形成亦可包括以下中所述之例示性方法之一或多個態樣：Felgner, P. L.等人，(1987)

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:7413-7417；美國專利第4,897,355號；美國專利第5,171,678號；Bangham等人，(1965) *M. Mol. Biol.* 23:238；Olson等人，(1979) *Biochim. Biophys. Acta* 557:9；Szoka等人，(1978) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75: 4194；Mayhew等人，(1984) *Biochim. Biophys. Acta* 775:169；Kim等人，(1983) *Biochim. Biophys. Acta* 728:339；及Fukunaga等人，(1984) *Endocrinol.* 115:757。用於製備適用作遞送媒劑之具有適當大小之脂質聚集體的常用技術包括音波處理及凍融加擠塑(參見例如Mayer等人，(1986) *Biochim. Biophys. Acta* 858:161。當需要始終較小(50至200 nm)且相對均勻的聚集體時可使用微流體化(Mayhew等人，(1984) *Biochim. Biophys. Acta* 775:169。此等方法容易地適應於將RNAi藥劑製備物封裝至脂質體中。

【0527】 脂質體分為兩大類。陽離子脂質體為帶正電脂質體，其與帶負電核酸分子相互作用形成穩定複合物。帶正電核酸/脂質體複合物結合於帶負電細胞表面且在內體中內化。由於內體內之酸性pH值，脂質體破裂，將其內容物釋放至細胞質中(Wang等人(1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 147:980-985)。

【0528】 對pH值敏感或帶負電之脂質體截留核酸而非與其複合。因為核酸及脂質皆帶類似電荷，發生排斥而非形成複合物。儘管如此，一些核酸截留在此等脂質體之水性內部物質內。對pH值敏感之脂質體已用於向培養物中之細胞單層遞送編碼胸苷激酶基因之核酸。在目標細胞中偵測到外源基因之表現(Zhou等人(1992) *Journal of Controlled Release*, 19:269-274)。

【0529】 一種主要類型之脂質體組合物包括除天然衍生之磷脂醯膽

鹼以外的磷脂。舉例而言，中性脂質體組合物可由二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)或二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)形成。陰離子脂質體組合物一般由二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油形成，而陰離子促融脂質體主要由二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)形成。另一類型之脂質體組合物由磷脂醯膽鹼(PC)，諸如大豆PC及蛋PC形成。另一類型由磷脂或磷脂醯膽鹼或膽固醇之混合物形成。

【0530】 將脂質體引入活體外及活體內細胞中之其他方法之實例包括美國專利第5,283,185號；美國專利第5,171,678號；WO 94/00569；WO 93/24640；WO 91/16024；Felgner, (1994) *J. Biol. Chem.* 269:2550；Nabel, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:11307；Nabel, (1992) *Human Gene Ther.* 3:649；Gershon, (1993) *Biochem.* 32:7143；及Strauss, (1992) *EMBO J.* 11:417。

【0531】 亦檢驗非離子脂質體系統以測定其在遞送藥物至皮膚中之效用，尤其包含非離子界面活性劑及膽固醇之系統。包含Novasome™ I (二月桂酸甘油酯/膽固醇/聚氧化乙烯-10-硬脂基醚)及Novasome™ II (二硬脂酸甘油酯/膽固醇/聚氧化乙烯-10-硬脂基醚)之非離子脂質體調配物用於向小鼠皮膚之真皮中遞送環孢素-A。結果指示此類非離子脂質體系統有效促進環孢素A沈積至皮膚之不同層中(Hu等人，(1994) *S.T.P.Pharma. Sci.*, 4(6):466)。

【0532】 脂質體亦包括「空間穩定化」脂質體，該術語如本文所用係指包含一或多種在併入脂質體中時使得循環壽命相對於不具有此類特殊化脂質之脂質體延長的特殊化脂質之脂質體。空間穩定化脂質體之實例為其中脂質體之囊泡形成脂質部分的一部分(A)包含一或多種糖脂，諸如單

唾液酸神經節苷脂G_{M1}；或(B)經一或多種親水性聚合物，諸如聚乙二醇(PEG)部分衍生之脂質體。儘管不希望受任何特定理論束縛，但此項技術中認為至少對於含有神經節苷脂、鞘磷脂或PEG衍生之脂質的空間穩定化脂質體，此等空間穩定化脂質體的延長之循環半衰期源於至網狀內皮系統(RES)之細胞中的吸收減少(Allen等人，(1987) *FEBS Letters*, 223:42；Wu等人，(1993) *Cancer Research*, 53:3765)。

【0533】 包含一或多種糖脂之多種脂質體為此項技術中已知。Papahadjopoulos等人(*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, (1987), 507:64)報導單唾液酸神經節苷脂G_{M1}、半乳糖腦苷脂硫酸酯及磷脂醯環己六醇改良脂質體之血液半衰期之能力。此等結果由Gabizon等人(*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, (1988), 85:6949)詳細說明。Allen等人之美國專利第4,837,028號及WO 88/04924揭示包含(1)鞘磷脂及(2)神經節苷脂G_{M1}或半乳糖腦苷脂硫酸酯之脂質體。美國專利第5,543,152號(Webb等人)揭示包含鞘磷脂之脂質體。包含1,2-sn-二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼之脂質體揭示於WO 97/13499 (Lim等人)中。

【0534】 在一個實施例中，使用陽離子脂質體。陽離子脂質體具有能夠與細胞膜融合之優勢。非陽離子脂質體，儘管不能與質膜同樣有效地融合，由活體內巨噬細胞吸收且可用於將RNAi藥劑遞送至巨噬細胞。

【0535】 脂質體之其他優勢包括：獲自天然磷脂之脂質體為生物相容且生物可降解的；脂質體可併入廣泛範圍的水及脂質可溶性藥物中；脂質體可在其內部隔室中保護囊封RNAi藥劑免於代謝及降解(Rosoff,「Pharmaceutical Dosage Forms,」 Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988，第1卷，第245頁)。製備脂質體調配物之重要考慮因素為脂質體之

脂質表面電荷、囊泡大小及水性體積。

【0536】 帶正電的合成陽離子脂質氯化N-[1-(2,3-二油烯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲銨(DOTMA)可用於形成小型脂質體，其自發地與核酸相互作用以形成脂質-核酸複合物，其能夠與組織培養細胞之細胞膜之帶負電脂質融合，使得遞送RNAi藥劑(關於DOTMA之說明及其與DNA之使用，參見例如Felgner, P. L.等人，(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:7413-7417，及美國專利第4,897,355號)。

【0537】 DOTMA類似物1,2-雙(油醯基氧基)-3-(三甲基氨)丙烷(DOTAP)可與磷脂組合使用以形成DNA複合囊泡。Lipofectin™ (Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg, Md.)為用於將高度陰離子性核酸遞送至活組織培養細胞中之有效藥劑，該藥劑包含自發地與帶負電聚核苷酸相互作用以形成複合物之帶正電DOTMA脂質體。當使用足夠的帶正電脂質體時，所得複合物上之淨電荷亦為正的。以此方式製備之帶正電複合物自發地連接於帶負電細胞表面，與質膜融合且將功能性核酸有效遞送至例如組織培養細胞中。另一市售陽離子脂質1,2-雙(油醯基氧基)-3,3-(三甲基氨)丙烷(「DOTAP」) (Boehringer Mannheim, Indianapolis, Indiana)與DOTMA之不同之處在於油醯基部分由酯而非醚鍵連接。

【0538】 其他報導之陽離子脂質化合物包括已結合於多種部分之化合物，該等部分包括例如羧基精胺，其已結合於兩種類型之脂質中之一者，且包括諸如5-羧基精胺基甘胺酸二(十八烷基)油醯基醯胺(「DOGS」) (Transfectam™, Promega, Madison, Wisconsin)及二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺5-羧基精胺基-醯胺(「DPPES」) (參見例如美國專利第5,171,678號)的化合物。

【0539】 另一陽離子脂質結合物包括脂質與膽固醇(「DC-Chol」)之衍生作用，其已與DOPE組合調配為脂質體(參見Gao, X.及Huang, L., (1991) *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 179:280)。已報導藉由使聚離胺酸與DOPE結合而製得之脂聚賴胺酸可有效用於在血清存在下之轉染(Zhou, X.等人，(1991) *Biochim. Biophys. Acta* 1065:8)。對於某些細胞株，此等含有結合之陽離子脂質之脂質體據稱與含有DOTMA之組合物相比呈現更低毒性且提供更有效的轉染。其他市售陽離子脂質產物包括DMRIE及DMRIE-HP (Vical, La Jolla, California)及脂染胺(DOSPA) (Life Technology公司, Gaithersburg, Maryland)。其他適用於寡核苷酸之遞送的陽離子脂質描述於WO 98/39359及WO 96/37194中。

【0540】 脂質調配物尤其適合於局部投與，脂質體與其他調配物相比呈現若干優勢。此類優勢包括降低與所投與之藥物之高度全身吸收有關之副作用、增加所要目標處所投與之藥物之積聚及將RNAi藥劑投與至皮膚中之能力。在一些實施方式中，脂質體用於將RNAi藥劑遞送至表皮細胞以及增強RNAi藥劑穿透至皮膚組織，例如皮膚中。舉例而言，脂質體可局部施用。已記錄調配為脂質體之藥物至皮膚之局部遞送(參見例如Weiner等人，(1992) *Journal of Drug Targeting*，第2卷,405-410，及du Plessis等人，(1992) *Antiviral Research*, 18:259-265；Mannino, R. J.及Fould-Fogerite, S., (1998) *Biotechniques* 6:682-690；Itani, T.等人，(1987) *Gene* 56:267-276；Nicolau, C.等人(1987) *Meth. Enzymol.* 149:157-176；Straubinger, R. M.及Papahadjopoulos, D. (1983) *Meth. Enzymol.* 101:512-527；Wang, C. Y.及Huang, L., (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:7851-7855)。

【0541】 亦檢驗非離子脂質體系統以測定其在遞送藥物至皮膚中之效用，尤其包含非離子界面活性劑及膽固醇之系統。使用包含Novasome I (二月桂酸甘油酯/膽固醇/聚氧化乙烯-10-硬脂基醚)及Novasome II (二硬脂酸甘油酯/膽固醇/聚氧化乙烯-10-硬脂基醚)之非離子脂質體調配物將藥物遞送至小鼠皮膚之真皮中。具有RNAi藥劑之此類調配物適用於治療皮膚病症。

【0542】 包括RNAi藥劑之脂質體可製成高度可變形的。此類變形性可使脂質體能夠穿過小於脂質體之平均半徑的孔。舉例而言，轉移體係一種類型之可變形脂質體。轉移體可藉由將表面邊緣活化劑，通常界面活性劑添加至標準脂質體組合物中而製得。包括RNAi藥劑之轉移體可例如藉由感染來皮下遞送，以便將RNAi藥劑遞送至皮膚中之角質細胞。為了穿過完整哺乳動物皮膚，脂質囊泡必須在適合的經皮梯度影響下穿過各自直徑小於50 nm的一連串細孔。此外，由於脂質特性，此等轉移體可自行最佳化(適應例如皮膚中孔之形狀)、自行修復且通常可到達其目標而不片段化，且通常自行裝載。

【0543】 適合於本發明之其他調配物描述於2008年1月2日申請之美國臨時申請案序列號61/018,616；2008年1月2日申請之61/018,611；2008年3月26日申請之61/039,748；2008年4月22日申請之61/047,087及2008年5月8日申請之61/051,528中。2007年10月3日申請之PCT申請案第PCT/US2007/080331號亦描述適合於本發明之調配物。

【0544】 轉移體，又一類型之脂質體，為高度可變形脂質聚集物，其為藥物遞送媒劑之有吸引力的候選物。轉移體可描述為脂質微滴，其高度可變形使得其能夠容易地穿過小於微滴之孔。轉移體可適應於其使用環

境，例如其自行最佳化(適應皮膚中孔之形狀)、自行修復、通常到達其目標而不片段化，且通常自行裝載。為了製備轉移體，可向標準脂質體組合物添加表面邊緣活化劑，通常界面活性劑。轉移體已用於向皮膚遞送血清白蛋白。轉移體介導之血清白蛋白遞送已展示為與皮下注射含有血清白蛋白之溶液一樣有效。

【0545】 界面活性劑可廣泛地應用於調配物中，諸如本文所述之彼等調配物，尤其乳液(包括微乳液)及脂質體中。許多不同類型之界面活性劑(天然及合成)之特性的最常見分類及分級方式係藉由使用親水/親油平衡(HLB)。親水性基團(亦稱為「頭(head)」)之性質提供調配物中所用不同界面活性劑之最適用分類方式(Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker公司, New York, N.Y., 1988，第285頁)。

【0546】 若界面活性劑分子未經離子化，則其分類為非離子界面活性劑。非離子界面活性劑在醫藥及化妝產品中有廣泛應用且可在廣泛pH值範圍下使用。一般而言，視其結構而定，其HLB值在2至約18範圍內。非離子界面活性劑包括非離子酯，諸如乙二醇酯、丙二醇酯、甘油酯、聚甘油酯、脫水山梨糖醇酯、蔗糖酯及乙氧化酯。此類別中亦包括非離子烷醇醯胺及醚，諸如脂肪醇乙氧化物、丙氧化醇及乙氧化/丙氧化嵌段聚合物。聚氧化乙烯界面活性劑為非離子界面活性劑類別之最常用成員。

【0547】 若界面活性劑分子當其溶解或分散於水中時攜帶負電荷，則界面活性劑分類為陰離子型。陰離子界面活性劑包括羧酸酯，諸如皂類；乳酸醯基酯；胺基酸之醯胺；硫酸酯，諸如硫酸烷基酯及硫酸乙氧化烷基酯；磺酸酯，諸如烷基苯磺酸酯、羥乙基磺酸醯基酯、牛磺酸醯基酯及磺基丁二酸醯基酯；及磷酸酯。陰離子界面活性劑類別之最重要成員為

硫酸烷基酯及皂類。

【0548】 若界面活性劑分子當其溶解或分散於水中時攜帶正電荷，則界面活性劑分類為陽離子型。陽離子界面活性劑包括四級銨鹽及乙氧化胺。四級銨鹽為此類別之最常用成員。

【0549】 若界面活性劑分子能夠攜帶正電荷或負電荷，則界面活性劑分類為兩性型。兩性界面活性劑包括丙烯酸衍生物、經取代之烷基醯胺、N-烷基甜菜鹼及磷脂。

【0550】 已綜述藥品、調配物及乳液中界面活性劑之用途(Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker公司, New York, N.Y., 1988，第285頁)。

【0551】 用於本發明之方法中的RNAi藥劑亦可以微胞調配物形式提供。「微胞」在本文中定義為特定類型之分子組裝體，其中兩性分子以球形結構佈置以使得分子之所有疏水性部分被引導向內，留下親水性部分與周圍水相接觸。若環境為疏水性的，則存在相反配置。

【0552】 適用於經由經皮膜遞送之混合微胞調配物可藉由混合siRNA組合物之水性溶液、鹼金屬C_8至C_{22}烷基硫酸鹽及微胞形成化合物來製備。例示性微胞形成化合物包括卵磷脂、玻尿酸、玻尿酸之醫藥學上可接受之鹽、乙醇酸、乳酸、甘菊提取物、胡瓜提取物、油酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、單油酸甘油酯、單油酸酯、單月桂酸酯、琉璃苣油、月見草油、薄荷腦、三羥基側氧基膽鹼基甘胺酸及其醫藥學上可接受之鹽、丙三醇、聚丙三醇、離胺酸、聚離胺酸、三油酸甘油酯、聚氧化乙烯醚及其類似物、聚醚醇烷基醚及其類似物、鵝去氧膽酸鹽、去氧膽酸鹽及其混合物。微胞形成化合物可與鹼金屬烷基硫酸鹽同時添加或在其之後添加。

可藉由實質上任何種類之混合成分形成混合微胞，但進行劇烈混合以提供較小尺寸微胞。

【0553】 在一種方法中，製備第一微胞組合物，其含有siRNA組合物及至少鹼金屬烷基硫酸鹽。隨後使第一微胞組合物與至少三種微胞形成化合物混合以形成混合微胞組合物。在另一方法中，藉由混合siRNA組合物、鹼金屬烷基硫酸鹽及微胞形成化合物中之至少一者，接著添加剩餘的微胞形成化合物且劇烈混合來製備微胞組合物。

【0554】 酚或間甲酚可添加至混合微胞組合物中以使調配物穩定化且防止細菌生長。或者，酚或間甲酚可與微胞形成成分一起添加。亦可在形成混合微胞組合物之後添加等張劑，諸如丙三醇。

【0555】 以噴霧形式遞送微胞調配物時，可將調配物置入氣溶膠配送器中且將推進劑裝入配送器。在壓力下之推進劑在配送器中呈液體形式。調整成分之比率，使得水相及推進劑相變成一個相，亦即呈一個相。若呈兩個相，則必須在例如經由定量閥配送一部分內容物之前搖動配送器。配送之藥物劑量則從定量閥呈精細噴霧形式推出。

【0556】 推進劑可包括含氫之氯氟碳化物、含氫之氟碳化物、二甲醚及二乙醚。在某些實施例中，可使用HFA 134a (1,1,1,2四氟乙烷)。

【0557】 基本成分之特定濃度可藉由相當簡單的實驗確定。對於經由口腔吸收，其劑量通常需要比經由注射或經由胃腸道投與時增加，例如至少兩倍或三倍之劑量。

【0558】

B. 脂質粒子

RNAi藥劑，例如本發明中之dsRNA可完全囊封於脂質調配物，例如

LNP，或其他核酸-脂質粒子中。

【0559】 如本文所用，術語「LNP」係指穩定之核酸-脂質粒子。LNP通常含有陽離子脂質、非陽離子脂質及防止粒子(例如PEG-脂質結合物)聚集之脂質。LNP極適用於全身施用，因為其在靜脈內(i.v.)注射後呈現較長循環壽命且積聚在遠端部位(例如與投與部位實體上分開之部位)。LNP包括「pSPLP」，其包括如WO 00/03683中所述之囊封縮合劑-核酸複合物。本發明之粒子通常具有約50 nm至約150 nm，更通常約60 nm至約130 nm，更通常約70 nm至約110 nm，最通常約70 nm至約90 nm之平均直徑且實質上無毒。此外，核酸當存在於本發明之核酸-脂質粒子中時，在水性溶液中對核酸酶降解具有抗性。核酸-脂質粒子及其製備方法揭示於例如美國專利第5,976,567號；第5,981,501號；第6,534,484號；第6,586,410號；第6,815,432號；美國專利公開案第2010/0324120號及WO 96/40964中。

【0560】 在一個實施例中，脂質相對於藥物比率(質量/質量比) (例如脂質相對於dsRNA比率)將在約1:1至約50:1、約1:1至約25:1、約3:1至約15:1、約4:1至約10:1、約5:1至約9:1或約6:1至約9:1範圍內。上述範圍的中間範圍亦考慮為本發明之一部分。

【0561】 用於遞送RNAi藥劑之某些特定LNP調配物已描述於此項技術中，包括例如，如例如WO 2008/042973中所描述之「LNP01」調配物，該文獻以引用之方式併入本文中。

【0562】 額外例示性脂質-dsRNA調配物鑑別於下表1中。

表1

	可電離/陽離子脂質	陽離子脂質/非陽離子脂質/膽固醇/PEG-脂質結合物 脂質:siRNA比率
SNALP-1	1,2-二次亞麻氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/膽固醇/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂質:siRNA約7:1
2-XTC	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DPPC/膽固醇/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂質:siRNA約7:1
LNP05	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA約6:1
LNP06	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA約11:1
LNP07	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5， 脂質:siRNA約6:1
LNP08	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5， 脂質:siRNA約11:1
LNP09	2,2-二亞麻-4-二甲胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯基)四氫-3aH-環戊并[d][1,3]二氧雜環戊烯-5-胺(ALN100)	ALN100/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP11	4-(二甲基胺基)丁酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七烷-6,9,28,31-四烯-19-基酯(MC3)	MC-3/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基氮烷二基)二十二烷-2-醇(Tech G1)	Tech G1/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 脂質:siRNA：11:1

LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂質:siRNA：11:1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：7:1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：10:1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 脂質:siRNA：8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA：10:1

【0563】 包含DSPC：二硬脂醯基磷脂醯膽鹼；DPPC：二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼；PEG-DMG：PEG-二二肉豆蔻醯基甘油(C14-PEG或PEG-C14) (平均莫耳重量為2000之PEG)；PEG-DSG：PEG-二苯乙烯基甘油(C18-PEG或PEG-C18) (平均莫耳重量為2000之PEG)；PEG-cDMA：PEG-胺甲醯基-1,2-二肉豆蔻氧基丙胺(平均莫耳重量為2000之PEG)及SNALP (1,2-二次亞麻氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA))之調配物描述於WO 2009/127060中，其以引用之方式併入本文中。

【0564】 包含XTC之調配物描述於WO 2010/088537中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

【0565】 包含MC3之調配物描述於例如美國專利公開案第2010/0324120號中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

【0566】 包含ALNY-100之調配物描述於WO 2010/054406中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

【0567】 包含C12-200之調配物描述於WO 2010/129709中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

【0568】 用於經口投與之組合物及調配物包括粉末或顆粒、微粒、奈米微粒、水或非水性介質中之懸浮液或溶液、膠囊、凝膠膠囊、藥囊、錠劑或微錠劑。可能需要增稠劑、調味劑、稀釋劑、乳化劑、分散助劑或黏合劑。在一些實施例中，經口調配物為其中本發明特徵在於之dsRNA與一或多種穿透增強界面活性劑及螯合劑結合投與的調配物。適合界面活性劑包括脂肪酸或其酯或鹽、膽酸或其鹽。適合的膽酸/鹽包括鵝去氧膽酸(CDCA)及熊去氧鵝去氧膽酸(UDCA)、膽酸、去氫膽酸、去氧膽酸、穀胺膽酸、甘胺膽酸、甘胺去氧膽酸、牛膽酸、牛去氧膽酸、牛磺酸-24,25-二氫-褐酶酸鈉及二醇-二氫褐酶酸鈉(sodium glyco-dihydrofusidate)。適合的脂肪酸包括花生四烯酸、十一烷酸、油酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼或單甘油酯、二甘油酯或其醫藥學上可接受之鹽(例如鈉)。在一些實施例中，使用穿透增強劑之組合，例如脂肪酸/鹽與膽酸/鹽之組合。一個例示性組合為月桂酸、癸酸及UDCA之鈉鹽。其他穿透增強劑包括聚氧化乙烯-9-月桂基醚、聚氧化乙烯-20-鯨蠟基醚。本發明特徵在於之dsRNA可以包括噴霧乾燥之粒子的顆粒形式或複合形成微米或奈米粒子之顆粒形式經口遞送。dsRNA複合劑包括聚胺基酸；聚亞胺；聚丙烯酸酯；聚烷基丙烯酸酯、

聚氧雜環丁烷、聚烷基氰基丙烯酸酯；陽離子化明膠、白蛋白、澱粉、丙烯酸酯、聚乙二醇(PEG)及澱粉；聚烷基氰基丙烯酸酯；DEAE衍生之聚亞胺、短梗黴多糖(pollulan)、纖維素及澱粉。適合複合劑包括聚葡萄胺糖、N-三甲基聚葡萄胺糖、聚-L-離胺酸、聚組胺酸、聚鳥胺酸、聚精胺、魚精蛋白、聚乙烯吡啶、聚硫代二乙基胺基甲基乙烯P (TDAE)、聚胺基苯乙烯(例如對胺基)、聚(甲基氰基丙烯酸酯)、聚(乙基氰基丙烯酸酯)、聚(丁基氰基丙烯酸酯)、聚(異丁基氰基丙烯酸酯)、聚(異己基氰基丙烯酸酯)、DEAE-甲基丙烯酸脂、DEAE-丙烯酸己酯、DEAE-丙烯醯胺、DEAE-白蛋白及DEAE-聚葡萄糖、聚丙烯酸甲酯、聚丙烯酸己酯、聚(D,L-乳酸)、聚(DL-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)、海藻酸酯及聚乙二醇(PEG)。dsRNA之經口調配物及其製備詳細描述於美國專利6,887,906、美國2003/0027780及美國專利第6,747,014號中，其中每一者以引用之方式併入本文中。

【0569】 用於非經腸、實質內(至腦中)、鞘內、室內或肝內投與之組合物及調配物可包括無菌水性溶液，其亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適合的添加劑，諸如但不限於穿透增強劑、載體化合物及其他醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【0570】 本發明之醫藥組合物包括但不限於溶液、乳液及含有脂質體之調配物。此等組合物可由多種組分，包括但不限於預形成液體、自乳化固體及自乳化半固體產生。尤其較佳為當治療LRRK2相關疾病或病症時靶向腦之調配物。

【0571】 可適宜地以單位劑型呈現之本發明之醫藥調配物可根據醫藥行業中熟知之習知技術製備。此類技術包括使活性成分與一或多種醫藥

載劑或一或多種賦形劑結合之步驟。一般而言，藉由使活性成分與液體載劑或細粉狀固體載劑或兩者均勻且緊密結合且隨後必要時使產物成形來製備調配物。

【0572】 本發明之組合物可調配成許多可能劑型中之任一者，諸如但不限於錠劑、膠囊、凝膠膠囊、液體糖漿、軟凝膠、栓劑及灌腸劑。本發明之組合物亦可調配為水性、非水性或混合介質中之懸浮液。水性懸浮液可進一步含有提高懸浮液黏度之物質，包括例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或聚葡萄糖。懸浮液亦可含有穩定劑。

【0573】

C. 額外調配物

i. 乳液

本發明之組合物可製備及調配為乳液。乳液通常為一種液體以直徑通常超過0.1 μm之微滴形式分散於另一液體中之非均質系統(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第199頁；Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第245頁；Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第2卷，第335頁；Higuchi等人，Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing公司, Easton, Pa., 1985，第301頁)。乳液通常

為包含兩個彼此緊密混合及分散的不可混溶之液相的兩相系統。一般而言，乳液可為油包水(w/o)或水包油(o/w)種類。當水相細分成微小液滴且作為微小液滴分散至主體油相中時，所得組合物稱為油包水(w/o)乳液。或者，當油相細分成微小液滴且作為微小液滴分散至主體水相中時，所得組合物稱為水包油(o/w)乳液。乳液可含有除分散相以外的額外組分，及可在水相、油相中或本身呈單獨相以溶液的形式存在的活性藥物。乳液中亦可視需要存在諸如乳化劑、穩定劑、染料及抗氧化劑之醫藥賦形劑。醫藥學乳液亦可為許多包含超過兩個相之乳液，例如在油包水包油(o/w/o)及水包油包水(w/o/w)乳液之情況下。此類複雜調配物通常提供簡單二元乳液不能提供之某些優勢。其中o/w乳液之個別小油滴圍封小水滴的多種乳液構成w/o/w乳液。同樣，小油滴圍封於油性連續相中穩定化的水液珠中之系統提供o/w/o乳液。

【0574】 乳液之特徵在於熱力學穩定性極低或無熱力學穩定性。通常，乳液之分散相或不連續相良好分散於外部或連續相中且藉助於乳化劑或調配物之黏度維持此形式。如乳液式軟膏基劑及乳膏之情形下，乳液之任一相可為半固體或固體。其他穩定化乳液之方式需要使用可併入中乳液中之任一相中的乳化劑。乳化劑可大致分為四個類別：合成界面活性劑、天然存在之乳化劑、吸收基劑及精細分散固體(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第199頁)。

【0575】 合成界面活性劑，亦稱為表面活性劑，在乳液調配中具有廣泛適用性且已綜述於文獻中(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第285頁；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), Marcel Dekker公司, New York, N.Y., 1988，第1卷，第199頁)。界面活性劑通常為兩親媒性的且包含親水性及疏水性部分。界面活性劑之親水性/疏水性比率被稱為親水/親油平衡(HLB)且為調配物製備中分類及選擇界面活性劑的重要工具。界面活性劑可基於親水性基團之性質分為不同類別：非離子、陰離子、陽離子及兩性(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第285頁)。

【0576】 乳液調配物中所用之天然存在之乳化劑包括羊毛脂、蜂蠟、磷脂、卵磷脂及阿拉伯膠。吸收基劑具有親水性特性使得其可吸取水以形成w/o乳液，但仍保留其半固體稠度，諸如無水羊毛脂及親水性石蠟脂。細粉狀固體亦已用作良好乳化劑，尤其與界面活性劑組合及在黏稠製備物中。此等包括極性無機固體，諸如重金屬氫氧化物；不膨脹黏土，諸如膨潤土、綠坡縷石、鋰皂石、高嶺土、蒙脫石、膠態矽酸鋁及膠態矽酸鎂鋁；顏料及非極性固體，諸如碳或三硬脂酸甘油酯。

【0577】 乳液調配物中亦包括多種非乳化材料且該等材料有助於乳液之特性。此等材料包括脂肪、油、蠟、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、保濕劑、親水性膠體、防腐劑及抗氧化劑(Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第335頁；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第199頁)。

【0578】 親水性膠體或親水膠體包括天然存在之膠及合成聚合物，諸如多醣(例如阿拉伯膠、瓊脂、海藻酸、角叉菜膠、瓜爾膠、加拉亞膠(karaya gum)及黃蓍膠)、纖維素衍生物(例如羧基甲基纖維素及羧甲基丙基纖維素)，及合成聚合物(例如卡波姆(carbomer)、纖維素醚及羧基乙烯基聚合物)。此等膠體在水中分散或膨脹以形成膠態溶液，其藉由在分散相微滴周圍形成強界面膜且藉由提高外相之黏度穩定化乳液。

【0579】 因為乳液通常含有許多可容易地支持微生物生長之成分，諸如碳水化合物、蛋白質、固醇及磷脂，所以此等調配物通常併入有防腐劑。乳液調配物中包括的常用防腐劑包括對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、四級銨鹽、氯化苯甲烴銨、對羥基苯甲酸酯及硼酸。亦通常向乳液調配物中添加抗氧化劑以防止調配物變質。所用抗氧化劑可為自由基清除劑，諸如生育酚、沒食子酸烷基酯、丁基化羥基大茴香醚、丁基化羥基甲苯或還原劑(諸如抗壞血酸及偏亞硫酸氫鈉)，及抗氧化性增效劑(諸如檸檬酸、酒石酸及卵磷脂)。

【0580】 經由皮膚、經口及非經腸途徑施用乳液調配物及其製造方法已綜述於文獻中(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and

Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第199頁)。用於經口遞送之乳液調配物由於易於調配以及吸收及生物可用性角度之功效而得到極廣泛使用(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第245頁；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第199頁)。通常作為o/w乳液經口投與之材料中有礦物油基輕瀉劑、油溶性維生素及高脂肪營養製劑。

【0581】

ii. 微乳液

在本發明之一個實施例中，將RNAi藥劑及核酸之組合物調配成微乳液。微乳液可定義為水、油及兩親分子之系統，其為單一光學等向性及熱力學上穩定之液體溶液(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第245頁)。通常，微乳液

為藉由首先將油分散於水性界面活性劑溶液中且隨後添加足量第四組分(通常為中等鏈長之醇)以形成透明系統而製備的系統。因此，微乳液亦描述為兩種不可混溶液體之熱力學上穩定的等向性澄清之分散液，其藉由表面活性分子之界面膜穩定化(Leung及Shah, Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M.編, 1989, VCH Publishers, New York，第185頁-第215頁)。微乳液通常經由組合包括油、水、界面活性劑、輔助界面活性劑及電解質的三至五種組分製備。微乳液取決於所用油及界面活性劑之特性以及界面活性劑分子之極性頭及烴尾的結構及幾何封裝，為油包水(w/o)或水包油(o/w)類型(Schott, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing公司, Easton, Pa., 1985，第271頁)。

【0582】 已廣泛研究利用相圖之現象方法，且熟習此項技術者已獲得如何調配微乳液之綜合知識(參見例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.、Popovich NG.及Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第8版), New York, NY；Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第245頁；Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman、Rieger及Banker (編), 1988, Marcel Dekker公司, New York, N.Y.，第1卷，第335頁)。相較於習知乳液，微乳液提供使水不溶性藥物溶解於自發形成之熱力學穩定微滴之調配物中的優勢。

【0583】 用於製備微乳液之界面活性劑包括但不限於單獨或與輔助界面活性劑組合之離子界面活性劑、非離子界面活性劑、Brij 96、聚氧化

乙烯油醚、聚脂肪酸甘油酯、單月桂酸四甘油酯(ML310)、單油酸四甘油酯(MO310)、單油酸六甘油酯(PO310)、五油酸六甘油酯(PO500)、單癸酸十甘油酯(MCA750)、單油酸十甘油酯(MO750)、倍半油酸十甘油酯(SO750)、十油酸十甘油酯(DAO750)。輔助界面活性劑通常為短鏈醇，諸如乙醇、1-丙醇及1-丁醇，其用於藉由穿透至界面活性劑膜中且因此因為在界面活性劑分子當中產生空隙產生無序膜而提高界面流動性。然而，微乳液可不使用輔助界面活性劑製備且無醇自乳化微乳液系統為此項技術中已知。水相通常可為但不限於水、藥物水性溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚丙三醇、丙二醇及乙二醇衍生物。油相可包括但不限於諸如Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯、中鏈(C8-C12)單甘油酯、二甘油酯及三甘油酯、聚氧乙基化甘油基脂肪酸酯、脂肪醇、聚乙二醇化甘油酯、飽和聚乙二醇化C8-C10甘油酯、植物油及聚矽氧油之材料。

【0584】 自藥物溶解及提高藥物吸收之角度，尤其關注微乳液。已提出基於脂質之微乳劑(o/w及w/o)以增強藥物之經口生物可用性，包括肽(參見例如美國專利第6,191,105號；第7,063,860號；第7,070,802號；第7,157,099號；Constantinides等人，Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385-1390；Ritschel, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205)。微乳液提供藥物溶解性改良、保護藥物免於酶促水解、可能由於膜流動性及滲透率之界面活性劑誘導之改變而藥物吸收增強、容易製備、比固體劑型容易經口投與、臨床效能提高及毒性降低之優勢(參見例如美國專利第6,191,105號；第7,063,860號；第7,070,802號；第7,157,099號；Constantinides等人，Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385；Ho等

人，J. Pharm. Sci., 1996, 85, 138-143)。當在環境溫度下將微乳液組分置於一起時，微乳液通常可自發地形成。當調配不耐熱性藥物、肽或RNAi藥劑時，此可為尤其有利的。微乳液亦在化妝品及醫藥應用兩者中有效地經皮遞送活性組分。預期本發明之微乳劑組合物及調配物將促進RNAi藥劑及核酸自胃腸道之全身性吸收增加，以及改良RNAi藥劑及核酸之局部細胞吸收。

【0585】 本發明之微乳液亦可含有額外組分及添加劑，諸如脫水山梨糖醇單硬脂酸酯(Grill 3)、拉巴索(Labrasol)及穿透增強劑，以改良調配物特性及增強本發明之RNAi藥劑及核酸的吸收。本發明微乳液中所用之穿透增強劑可分類為屬於五種廣泛類別中之一者：界面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑及非螯合非界面活性劑(Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁)。上文已論述此等類別中之每一者。

【0586】

iii. 微粒

本發明之RNAi藥劑可併入粒子，例如微粒中。微粒可藉由噴霧乾燥產生，但亦可藉由其他方法產生，包括凍乾、蒸發、流化床乾燥、真空乾燥或此等技術之組合。

【0587】

iv. 穿透增強劑

在一個實施例中，本發明採用各種穿透增強劑來實現核酸，尤其RNAi藥劑向動物皮膚之有效遞送。大多數藥物以離子化及非離子化形式存在於溶液中。然而，一般僅脂質可溶性或親脂性藥物容易穿過細胞膜。

已發現若待穿過之膜經穿透增強劑處理，則即使非親脂性藥物亦可穿過細胞膜。除了幫助非親脂性藥物擴散穿過細胞膜之外，穿透增強劑亦提高親脂性藥物之滲透率。

【0588】 穿透增強劑可分類為屬於五種廣泛類別，亦即界面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑及非螯合非界面活性劑中之一者(參見例如Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁)。上文所提及之類別的穿透增強劑中之每一者更詳細地描述於下文中。

【0589】 界面活性劑(或「表面活性劑」)為化學實體，其在溶解於水性溶液中時降低溶液之表面張力或水性溶液與另一液體之間的界面張力，使得經由黏膜之RNAi藥劑吸收得到增強。除膽汁鹽及脂肪酸以外，此等穿透增強劑包括例如月桂基硫酸鈉、聚氧化乙烯-9-月桂基醚及聚氧化乙烯-20-鯨蠟基醚(參見例如Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁)；及全氟化學乳液，諸如FC-43，Takahashi等人，J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252)。

【0590】 用作穿透增強劑之各種脂肪酸及其衍生物包括例如油酸、月桂酸、癸酸(正癸酸)、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯(1-單油醯基-rac-甘油)、二月桂酸甘油酯、辛酸、花生四烯酸、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、其C_{1-20}烷基酯(例如甲基、異丙基及三級丁

基)及其單甘油酯及二甘油酯(亦即油酸酯、月桂酸酯、癸酸酯、肉豆蔻酸酯、棕櫚酸酯、硬脂酸酯、亞麻油酸酯等) (參見例如Touitou, E.等人，Enhancement in Drug Delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006；Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁；Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33；El Hariri等人，J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654)。

【0591】 膽汁之生理學作用包括促進脂質及脂溶性維生素的分散及吸收(參見例如Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Brunton, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics，第9版，第38章, Hardman等人編, McGraw-Hill, New York, 1996，第934頁-第935頁)。各種天然膽汁鹽及其合成衍生物充當穿透增強劑。因此，術語「膽汁鹽」包括膽汁之天然存在之組分中之任一者以及其合成衍生物中之任一者。適合膽汁鹽包括例如膽酸(或其醫藥學上可接受之鈉鹽，膽酸鈉)、去氫膽酸(去氫膽酸鈉)、去氧膽酸(去氧膽酸鈉)、穀胺膽酸(穀胺膽酸鈉)、甘胺膽酸(甘胺膽酸鈉)、甘胺去氧膽酸(甘胺去氧膽酸鈉)、牛膽酸(牛膽酸鈉)、牛去氧膽酸(牛去氧膽酸鈉)、鵝去氧膽酸(鵝去氧膽酸鈉)、熊去氧膽酸(UDCA)、牛磺酸-24,25-二氫-褐酶酸鈉(STDHF)、糖二氫褐酶酸鈉(sodium glycodihydrofusidate)及聚氧化乙烯-9-月桂基醚(POE) (參見例如Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁；Swinyard,

Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，第39章，Gennaro編，Mack Publishing公司, Easton, Pa., 1990，第782頁-第783頁；Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33；Yamamoto等人，J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25；Yamashita等人，J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583)。

【0592】 如結合本發明使用之螯合劑可定義為藉由與金屬離子形成錯合物而自溶液移除金屬離子的化合物，使得經由黏膜之RNAi藥劑吸收得到增強。關於其在本發明中作為穿透增強劑之用途，螯合劑具有亦充當DNA酶抑制劑之附加優勢，因為大多數所表徵之DNA核酸酶需要二價金屬離子來催化且因此由螯合劑抑制(Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339)。適合螯合劑包括但不限於乙二胺四乙酸二鈉(EDTA)、檸檬酸、水楊酸鹽(例如水楊酸鈉、5-甲氧基水楊酸鹽及均香蘭酸鹽)、膠原蛋白之N-醯基衍生物、月桂醇醚-9及β-二酮之N-胺基醯基衍生物(烯胺) (參見例如Katdare, A.等人，Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006；Lee等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁；Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33；Buur等人，J. Control Rel., 1990, 14, 43-51)。

【0593】 如本文所用，非螯合非界面活性劑型穿透增強化合物可定義為不作為螯合劑或界面活性劑展現顯著活性，但仍然增強經由消化黏膜之RNAi藥劑吸收的化合物(參見例如Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33)。此類穿透增強劑包括例如不飽和環脲、1-烷基-烷酮及1-烯基氮雜環-烷酮衍生物(Lee等人，

Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991，第92頁)；及非類固醇消炎劑，諸如雙氯芬酸鈉、吲哚美辛(indomethacin)及苯基丁氮酮(Yamashita等人，J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626)。

【0594】 增強細胞層級RNAi藥劑之吸收的試劑亦可添加至本發明之醫藥組合物及其他組合物中。舉例而言，亦已知陽離子脂質，諸如脂質體(Junichi等人，美國專利第5,705,188號)、陽離子甘油衍生物及聚陽離子分子，諸如聚離胺酸(WO 97/30731)增強dsRNA之細胞吸收。

【0595】 可用於增強所投與核酸之穿透的其他試劑包括二醇，諸如乙二醇及丙二醇；吡咯，諸如2-吡咯；氮酮；及萜類，諸如檸檬烯及薄荷酮。

【0596】

v. 賦形劑

與載體化合物相比，「醫藥載劑」或「賦形劑」為用於向動物遞送一或多種核酸的醫藥學上可接受之溶劑、懸浮劑或任何其他藥理學惰性媒劑。賦形劑可為液體或固體且考慮到所規劃之投與方式進行選擇，以便在與核酸及給定醫藥組合物之其他組分組合時提供所要主體、稠度等。典型醫藥載劑包括但不限於黏合劑(例如預膠凝玉米澱粉、聚乙烯吡咯啶酮或羥基丙基甲基纖維素等)；填充劑(例如乳糖及其他糖、微晶纖維素、果膠、明膠、硫酸鈣、乙基纖維素、聚丙烯酸酯或磷酸氫鈣等)；潤滑劑(例如硬脂酸鎂、滑石、二氧化矽、膠態二氧化矽、硬脂酸、金屬硬脂酸鹽、氫化植物油、玉米澱粉、聚乙二醇、苯甲酸鈉、乙酸鈉等)；崩解劑(例如澱粉、羥基乙酸澱粉鈉等)；及潤濕劑(例如月桂基硫酸鈉等)。

【0597】 適於非非經腸投與且不與核酸發生有害反應的醫藥學上可

接受之有機或無機賦形劑亦可用於調配本發明之組合物。適合的醫藥學上可接受之載劑包括但不限於水、鹽溶液、醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏稠石蠟、羥基甲基纖維素、聚乙烯吡咯啶酮及其類似物。

【0598】 用於核酸局部投與之調配物可包括常用溶劑(諸如醇)中之無菌及非無菌水性溶液、非水性溶液或核酸於液體或固體油基劑中之溶液。溶液亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適合的添加劑。可使用適於非非經腸投與且不與核酸發生有害反應的醫藥學上可接受之有機或無機賦形劑。

【0599】 適合的醫藥學上可接受之賦形劑包括但不限於水、鹽溶液、醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏稠石蠟、羥基甲基纖維素、聚乙烯吡咯啶酮及其類似物。

【0600】

vi. 其他組分

本發明之組合物可額外含有技術上確定使用含量之醫藥組合物中習知存在之其他佐劑組分。因此，舉例而言，組合物可含有額外相容的醫藥學上活性材料，諸如止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑，或可含有適用於物理調配本發明組合物之多種劑型的額外材料，諸如染料、調味劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑及穩定劑。然而，此類材料在添加時不應不恰當地干擾本發明組合物之組分的生物活性。調配物可經滅菌，且需要時與例如潤滑劑、防腐劑、穩定劑、潤濕劑、乳化劑、用於影響滲透壓之鹽、緩衝劑、著色劑、調味劑或芳族物質及其類似物的輔助劑混合，該等輔助劑不會與調配物之一或多種核酸有害地相互作用。

【0601】 水性懸浮液可含有提高懸浮液黏度之物質，包括例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或聚葡萄糖。懸浮液亦可含有穩定劑。

【0602】 在一些實施例中，本發明特徵在於之醫藥組合物包括(a)一或多種RNAi藥劑，及(b)一或多種藥劑，其藉由非RNAi機制發揮作用且適用於治療LRRK2相關病症。此類藥劑之實例包括但不限於單胺抑制劑、蛇根素鹼、抗驚厥劑、抗精神病劑及抗抑鬱劑。

【0603】 此類化合物之毒性及治療功效可藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中測定，例如以測定LD_{50} (致死50%群體之劑量)及ED_{50} (在50%群體中治療有效的劑量)。毒性作用與治療作用之間的劑量比率為治療指數且其可表示為比率LD_{50}/ED_{50}。呈現高治療指數之化合物較佳。

【0604】 自細胞培養分析及動物研究獲得之資料可用於調配一系列用於人類的劑量。本發明特徵在於之組合物的劑量通常在包括幾乎不具有毒性或不具有毒性之ED_{50}的循環濃度範圍內。劑量可視所用劑型及所用投與途徑而定在此範圍內變化。對於本發明特徵在於之方法中所用的任何化合物，可自細胞培養分析初始估算治療有效劑量。劑量可在動物模型中調配以達成化合物之循環血漿濃度範圍，或當適合時，達成目標序列之多肽產物之循環血漿濃度範圍(例如達成降低之多肽濃度)，其包括如細胞培養物中測定之IC_{50} (亦即實現半最大症狀抑制之測試化合物之濃度)。此類資訊可用於更準確地判定適用於人類之劑量。血漿中之含量可例如藉由高效液相層析量測。

【0605】 除其如上文所論述的投與以外，本發明特徵在於之RNAi藥劑可與可有效治療由核苷酸重複表現介導之病理過程的其他已知藥劑組

合投與。在任何情況下，投與醫師可根據使用此項技術中已知或本文所述之標準功效度量所觀測到的結果調節RNAi藥劑投與的量及時間安排。

【0606】

VII. 套組

在某些態樣中，本發明提供包括適合容器之套組，該容器含有siRNA化合物，例如雙股siRNA化合物或ssiRNA化合物(例如前驅體，例如可加工成ssiRNA化合物之較大siRNA化合物，或編碼siRNA化合物，例如雙股siRNA化合物或ssiRNA化合物或其前驅體之DNA)之醫藥調配物。

【0607】 此類套組包括一或多種dsRNA藥劑及使用說明書，例如投與預防或治療有效量之一或多種dsRNA藥劑的說明書。dsRNA藥劑可在小瓶或預填充注射器中。套組可視情況進一步包含用於投與dsRNA藥劑之構件(例如注射裝置，諸如預填充注射器或輸內泵)，或量測C3之抑制的構件(例如用於量測LRRK2 mRNA、LRRK2蛋白及/或LRRK2活性之抑制的構件)。用於量測LRRK2之抑制的此類構件可包含用於自個體獲得樣品，諸如CSF及/或血漿樣品之構件。本發明之套組可視情況進一步包含用於確定治療有效量或預防有效量的構件。

【0608】 在某些實施例中，醫藥調配物之個別組分可提供於一個容器中。或者，可能需要分別在兩個或更多個容器中提供醫藥調配物之組分，例如一個容器用於siRNA化合物製劑，且至少另一個容器用於載體化合物。套組可以多種不同組態封裝，諸如一或多個容器在單個盒中。不同組分可例如根據套組提供之說明書組合。組分可根據本文所描述之方法組合，例如用以製備及投與醫藥組合物。套組亦可包括遞送裝置。

【0609】

VIII. 抑制LRRK2表現的方法

本發明亦提供抑制LRRK2基因在細胞中之表現的方法。方法包括使細胞與可有效抑制細胞中LRRK2之表現及/或活性的量之RNAi藥劑，例如雙股RNAi藥劑接觸，從而抑制細胞中LRRK2之表現及/或活性。在本發明之某些實施例中，LRRK2表現及/或活性較佳地在CNS (例如，腦)細胞中被抑制至少30%。在特定實施例中，LRRK2表現及/或活性抑制至少30%。在本發明之其他實施例中，在眼部(例如眼)細胞中LRRK2表現及/或活性較佳地抑制至少30%。在本發明之某些其他實施例中，LRRK2表現及/或活性較佳地在肝細胞中被抑制至少30%。

【0610】 細胞與RNAi藥劑，例如雙股RNAi藥劑之接觸可在活體外或活體內進行。活體內細胞與RNAi藥劑接觸包括使個體，例如人類個體內之細胞或細胞群組與RNAi藥劑接觸。活體外及活體內接觸細胞方法之組合亦為可能的。

【0611】 如上文所論述，接觸細胞可為直接或間接的。此外，接觸細胞可經由靶向配位體，包括本文所描述或此項技術中已知之任何配位體實現。在一些實施例中，靶向配位體為碳水化合物部分，例如GalNAc配位體，或將RNAi藥劑引導至相關部位之任何其他配位體。

【0612】 如本文所用，術語「抑制」可與「降低」、「緘默化」、「下調」、「遏制」及其他類似術語互換使用，且包括任何水準之抑制。在某些實施例中，例如本發明之RNAi藥劑之抑制水準可在細胞培養條件下評估，例如其中細胞培養物中之細胞經由Lipofectamine™介導之轉染以10 nM或更小、1 nM或更小等細胞附近之濃度轉染。給定RNAi藥劑之減弱

可經由比較細胞培養物中之處理前水準與細胞培養物中之處理後水準來確定，視情況亦相對於用擾碼或其他形式之對照RNAi藥劑並行處理之細胞進行比較。細胞培養物中例如至少約30%之減弱可由此鑑別為指示已發生「抑制」或「降低」、「下調」或「遏制」等。明確考慮到，所靶向mRNA或所編碼蛋白質含量(且因此由本發明之RNAi藥劑引起的「抑制」等之程度)之評估亦可在本發明之RNAi藥劑的活體內系統中在如此項技術中所述之經適當控制的條件下評估。

【0613】 如本文所用，片語「抑制LRRK2」、「抑制LRRK2基因之表現」或「抑制LRRK2表現」包括抑制任何LRRK2基因(諸如小鼠LRRK2基因、大鼠LRRK2基因、猴LRRK2基因或人類LRRK2基因)以及編碼LRRK2蛋白之LRRK2基因之變異體或突變體的表現。因此，LRRK2基因在基因操縱細胞、細胞群組或生物體之情形下可為野生型LRRK2基因、突變LRRK2基因或轉殖LRRK2基因。

【0614】 「抑制LRRK2基因之表現」包括對LRRK2基因的任何水準之抑制，例如對LRRK2基因之表現的至少部分抑制，諸如抑制至少約25%。在某些實施例中，抑制相對於對照含量為至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%或至少約99%。LRRK2抑制可使用活體外分析藉由例如A549細胞及10 nM濃度之RNA藥劑來量測，且如本文實例中所提供之PCR分析考慮在本發明之範疇內。在一些實施例中，LRRK2抑制可使用活體外分析藉由初級小鼠肝細胞來量測。在另一實施例中，LRRK2抑制可使用活體外分析藉由Cos-7 (雙螢光素酶psiCHECK2載體)來量測。在又一實施例中，LRRK2抑制可使用活體外分析藉由BE(2)-C細

胞來量測。在一些實施例中，LRRK2抑制可使用活體外分析藉由神經-2a細胞來量測。

【0615】 LRRK2基因之表現可基於與LRRK2基因表現相關之任何變數之含量評估，該變數例如LRRK2 mRNA含量(例如有義mRNA、反義mRNA、總LRRK2 mRNA、有義含LRRK2重複序列之mRNA及/或反義含LRRK2重複序列之mRNA)或LRRK2蛋白質含量(例如總LRRK2蛋白質、野生型LRRK2蛋白質或含擴增重複序列之蛋白質)或例如含有義股或反義股基因座之含量及/或異常二肽重複蛋白質之含量。

【0616】 抑制可藉由與對照含量相比，此等變數中之一或多者之絕對或相對含量的降低來評估。對照含量可為此項技術中所用之任何類型之對照含量，例如給藥前基線含量，或自未經處理或用對照物(諸如僅緩衝劑對照物或非活性藥劑對照物)處理之類似個體、細胞或樣品測定之含量。

【0617】 舉例而言，在本發明之方法之一些實施例中，相對於對照含量，LRRK2基因之表現(例如，如藉由含有義股或反義股基因座及/或異常二肽重複蛋白質含量評估)被抑制至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%或95%，或低於分析之偵測含量。在本發明之方法之其他實施例中，相對於對照含量，LRRK2基因之表現(例如，如藉由mRNA或蛋白質表現量評估)被抑制至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。在某些實施例中，方法包括LRRK2之表現之臨床相關抑制，例如，如藉由用藥劑治療個體以減少LRRK2之表現之後的臨床相關結果所表明。

【0618】 LRRK2基因之表現之抑制可藉由其中LRRK2基因經轉錄且已經處理(例如，藉由使一或多個細胞與本發明之RNAi藥劑接觸或藉由向其中存在該等細胞之個體投與本發明之RNAi藥劑)以使得LRRK2基因之表現受到抑制的第一細胞或細胞群組(此類細胞可存在於例如來源於個體之樣品中)表現之mRNA之量與實質上與第一細胞或細胞群組相同但尚未如此處理(一或多個對照細胞未用RNAi藥劑處理或未用靶向相關基因之RNAi藥劑處理)的第二細胞或細胞群組相比的降低來表明。抑制程度可以以下來表示：

$$\frac{(\text{對照細胞中之mRNA}) - (\text{經處理細胞中之mRNA})}{(\text{對照細胞中之mRNA})} \text{X100\%}$$

【0619】 在其他實施例中，LRRK2基因之表現之抑制可依據在功能上與LRRK2基因表現相關之參數，例如LRRK2蛋白表現、含有義股或反義股基因座及/或異常二肽重複蛋白質之含量的降低進行評估。LRRK2基因緘默化可在自表現構築體表現內源或異源LRRK2之任何細胞中，且藉由此項技術中已知之任何分析測定。

【0620】 LRRK2蛋白之表現之抑制可由細胞或細胞群組表現之LRRK2蛋白(或功能性參數，例如激酶及/或GTP酶活性)之含量(例如，來源於個體之樣品中表現之蛋白質含量)的減少顯現。如上文關於mRNA抑制之評估所說明，經處理之細胞或細胞群組中蛋白質表現量之抑制可類似地表示為對照細胞或細胞群組中之蛋白質含量之百分比。在一些實施例中，片語「抑制LRRK2」亦可指對LRRK2激酶及/或GTP酶活性之抑制，例如對LRRK2激酶及/或GTP酶活性之至少部分抑制，諸如抑制至少約25%。在某些實施例中，LRRK2激酶及/或GTP酶活性之抑制相對於對照含量為至少約25%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約

60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、或至少約95%、或至少約99%。LRRK2激酶活性可使用活體外分析用例如(Smith等人(2006) *Nature Neuroscience* 9(10):1231-3)中所描述的分析量測。LRRK2 GTP酶活性可使用活體外分析用例如(Xiong等人(2010) *Plos Genet* 6(4): e1000902)中所描述的分析量測。

【0621】 可用於評估LRRK2基因之表現之抑制的對照細胞或細胞群組包括尚未與本發明之RNAi藥劑接觸的細胞或細胞群組。舉例而言，對照細胞或細胞群組可在用RNAi藥劑治療個體之前來源於個別個體(例如人類或動物個體)。

【0622】 由細胞或細胞群組表現之LRRK2 mRNA之含量可使用此項技術中已知用於評估mRNA表現之任何方法測定。在一個實施例中，樣品中LRRK2之表現量係藉由偵測經轉錄聚核苷酸或其部分，例如LRRK2基因之mRNA測定。可使用RNA提取技術自細胞提取RNA，包括例如使用酸酚/異硫氰酸胍提取(RNAzol B；Biogenesis)、RNeasy™ RNA製備套組(Qiagen®)或PAXgene (PreAnalytix, Switzerland)。利用核糖核酸雜交之典型分析形式包括細胞核連續運作分析(nuclear run-on assay)、RT-PCR、RNA酶保護分析、北方墨點法、原位雜交及微陣列分析。可以使用例如Jiang等人(見上文)、Lagier-Tourenne等人(同上)及Jiang等人(同上)中所述的定量RT-PCR及或液滴數位PCR方法偵測股特異性LRRK2 mRNA。可使用WO2012/177906中所描述之方法偵測循環LRRK2 mRNA，該文獻之全部內容以引用之方式併入本文中。

【0623】 在一些實施例中，使用核酸探針測定LRRK2之表現量。如本文所用，術語「探針」係指能夠選擇性結合於特定LRRK2核酸或蛋白

質或其片段之任何分子。探針可由熟習此項技術者合成，或來源於適合的生物製劑。探針可經特定設計以經標記。可用作探針之分子之實例包括但不限於RNA、DNA、蛋白質、抗體及有機分子。

【0624】 經分離之mRNA可用於雜交或擴增分析中，包括但不限於南方或北方分析、聚合酶鏈反應(PCR)分析及探針陣列。一種用於測定mRNA含量之方法涉及使經分離之mRNA與可與LRRK2 mRNA雜交之核酸分子(探針)接觸。在一個實施例中，將mRNA固定於固體表面上且使其與探針接觸，例如藉由在瓊脂糖凝膠上操作經分離mRNA且將mRNA自凝膠轉移至膜(諸如硝化纖維)上。在替代性實施例中，一或多個探針固定於固體表面上且mRNA與一或多個探針，例如在Affymetrix®基因晶片陣列中接觸。熟習此項技術者可容易地調適已知mRNA偵測方法以用於測定LRRK2 mRNA之含量。

【0625】 用於測定樣品中LRRK2之表現量之替代性方法涉及例如藉由RT-PCR (Mullis, 1987，美國專利第4,683,202號中所闡述之實驗實施例)、連接酶鏈反應(Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193)、自持續序列複製(Guatelli等人(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878)、轉錄擴增系統(Kwoh等人(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177)、Q-β複製酶(Lizardi等人(1988) *Bio/Technology* 6:1197)、滾環複製(Lizardi等人，美國專利第5,854,033號)或任何其他核酸擴增方法的樣品中例如mRNA之核酸擴增或逆轉錄酶(以製備cDNA)，接著使用熟習此項技術者熟知的技術偵測經擴增之分子的過程。若核酸分子以極低數目存在，則此等偵測流程尤其適用於偵測此類分子。在本發明之特定態樣中，LRRK2之表現量係藉由定量螢光RT-PCR (亦即，

TaqMan™系統)、藉由Dual-Glo®螢光素酶分析或藉由用於量測LRRK2表現或mRNA含量之其他此項技術中公認的方法測定。

【0626】 LRRK2 mRNA之表現量可使用膜印跡(諸如用於雜交分析，諸如北方、南方、墨點及其類似分析)或微孔、樣品管、凝膠、珠粒或纖維(或包含結合核酸之任何固體支撐物)監測。參見美國專利第5,770,722號、第5,874,219號、第5,744,305號、第5,677,195號及第5,445,934號，其以引用之方式併入本文中。LRRK2表現量之測定亦可包含在溶液中使用核酸探針。

【0627】 在一些實施例中，mRNA表現量係使用分支鏈DNA (bDNA)分析或即時PCR (qPCR)評估。此PCR方法之用途描述及例示於本文中所呈現之實例中。此類方法亦可用於偵測LRRK2核酸。

【0628】 LRRK2蛋白表現量可使用此項技術中已知用於量測蛋白質含量之任何方法測定。此類方法包括例如電泳、毛細電泳、高效液相層析(HPLC)、薄層層析(TLC)、超擴散層析、流體或凝膠沈澱素反應、吸收光譜法、比色分析、分光光度分析、流式細胞量測術、免疫擴散(單一或雙重)、免疫電泳、西方墨點法、放射免疫分析(RIA)、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、免疫螢光分析、電化學發光分析及其類似方法。此類分析亦可用於偵測指示LRRK2蛋白質之存在或複製的蛋白質。

【0629】 可使用一般熟習此項技術者熟知之方法，包括例如螢光原位雜交(FISH)、免疫組織化學及免疫分析(參見例如Jiang等人，同上)評估含有義股或反義股基因座之含量及異常二肽重複蛋白質之含量。在一些實施例中，本發明之方法在治療LRRK2相關疾病中之功效係藉由LRRK2 mRNA含量之降低評估(例如，藉由腦活檢或以其他方式針對LRRK2含量

評估CSF樣品及/或血漿樣品)。

【0630】 在本發明之方法之一些實施例中，向個體投與RNAi藥劑使得RNAi藥劑遞送至個體內之特定部位。LRRK2表現之抑制可使用來源於個體內特定部位之樣品(例如CNS細胞、眼細胞)中LRRK2 mRNA (例如，有義mRNA、反義mRNA、總LRRK2 mRNA)、LRRK2蛋白(例如，總LRRK2蛋白、野生型LRRK2蛋白)、含有義股基因座、含反義股基因座、異常二肽重複蛋白質之含量或含量變化的量測結果來評估。在某些實施例中，方法包括LRRK2之表現之臨床相關抑制，例如，如藉由用藥劑治療個體以減少LRRK2之表現之後的臨床相關結果，諸如尾核萎縮之穩定化或抑制(例如，如藉由容積MRI (vMRI)所評估)、來自個體之CSF樣品中之神經纖毛輕鏈(Nfl)含量之穩定化或減少、突變LRRK2 mRNA或裂解突變LRRK2蛋白，例如全長突變LRRK2 mRNA或蛋白質及裂解突變LRRK2 mRNA或蛋白質之減少，以及統一LRRK2相關疾病評級量表(UHDRS)評分之穩定化或改良所表明。

【0631】 如本文所用，術語偵測或測定分析物含量應理解為意謂進行步驟以確定材料，例如蛋白質、RNA是否存在。如本文所用，偵測或測定方法包括偵測或測定低於所使用方法之偵測含量的分析物含量。

【0632】

IX. 治療或預防LRRK2相關疾病之方法

本發明亦提供使用本發明之RNAi藥劑或含有本發明之RNAi藥劑的組合物來降低或抑制細胞中之LRRK2表現的方法。該等方法包括使細胞與本發明之dsRNA接觸且維持細胞持續足以達成LRRK2基因之mRNA轉錄物之降解的時間，從而抑制LRRK2基因在細胞中之表現。

【0633】 另外，本發明亦提供使用本發明之RNAi藥劑或含有本發明之RNAi藥劑之組合物來降低細胞中含有義股及反義股基因座之含量及/或抑制其形成的方法。該等方法包括使細胞與本發明之dsRNA接觸，從而降低細胞中含LRRK2有義股及反義股基因座之含量。

【0634】 本發明亦提供使用本發明之RNAi藥劑或含有本發明之RNAi藥劑之組合物來降低細胞中異常二肽重複蛋白質之含量及/或抑制其形成的方法。該等方法包括使細胞與本發明之dsRNA接觸，從而降低細胞中異常二肽重複蛋白質之含量。

【0635】 基因表現、含LRRK2有義股及反義股基因座及/或異常二肽重複蛋白質之含量的減少可藉由此項技術中已知之任何方法評估。舉例而言，LRRK2之表現之降低可藉由使用一般熟習此項技術者常規之方法，例如北方墨點法，qRT-PCR測定LRRK2之mRNA表現量；藉由使用一般熟習此項技術者常規之方法，諸如西方墨點法、免疫技術測定LRRK2之蛋白質含量來測定。

【0636】 在本發明之方法中，細胞可活體外或活體內接觸，亦即細胞可在個體內。

【0637】 適用於使用本發明之方法治療之細胞可為表現LRRK2基因之任何細胞。適用於本發明方法之細胞可為哺乳動物細胞，例如靈長類動物細胞(諸如人類細胞或非人類靈長類動物細胞，例如猴細胞或黑猩猩細胞)、非靈長類動物細胞(諸如大鼠細胞或小鼠細胞)。在一個實施例中，細胞為人類細胞，例如人類CNS細胞，或人類眼細胞。

【0638】 相對於對照細胞中之表現，LRRK2表現(例如，如藉由有義mRNA、反義mRNA、總LRRK2 mRNA、總LRRK2蛋白評估)在細胞

中抑制約20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%。在某些實施例中，LRRK2表現相對於對照含量抑制至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%。

【0639】 抑制(如藉由含有義股或反義股基因座及/或異常二肽重複蛋白質含量評估)係在細胞中抑制至少20%、30%、40%，較佳至少50%、60%、70%、80%、85%、90%或95%，或低於分析之偵測含量。

【0640】 本發明之活體內方法可包括向個體投與含有RNAi藥劑之組合物，其中RNAi藥劑包括與待治療之哺乳動物之LRRK2基因之RNA轉錄物的至少一部分互補的核苷酸序列。當待治療之生物體為哺乳動物，諸如人類時，組合物可藉由此項技術中已知之任何手段投與，包括但不限於經口、腹膜內或非經腸途徑，包括顱內(例如室內、實質內及鞘內)、靜脈內、肌肉內、玻璃體內、皮下、經皮、呼吸道(霧劑)、經鼻、經直腸及局部(包括經頰及舌下)投與。在某些實施例中，組合物藉由靜脈內輸注或注射投與。在某些實施例中，組合物藉由皮下注射投與。在某些實施例中，組合物藉由鞘內注射投與。

【0641】 在一些實施例中，投與係經由積存注射。積存注射可經長時間段以恆定方式釋放RNAi藥劑。因此，積存注射可降低為獲得所要作用，例如，LRRK2之所要抑制，或治療或預防作用所需的給藥頻率。積存注射亦可提供更恆定的血清濃度。積存注射可包括皮下注射或肌肉內注射。在較佳實施例中，積存注射為皮下注射。

【0642】 在一些實施例中，投與係經由泵。泵可為外部泵或以手術方式植入之泵。在某些實施例中，泵係皮下植入之滲透泵。在其他實施例中，泵係輸注泵。輸注泵可用於顱內、靜脈內、皮下、動脈或硬膜外輸

注。在較佳實施例中，輸注泵為皮下輸注泵。在其他實施例中，泵係以手術方式植入之泵，其將RNAi藥劑遞送至CNS。

【0643】 可基於需要局部抑或全身性治療及所治療之區域來選擇投與模式。可選擇投與途徑及部位以增強靶向。

【0644】 在一個態樣中，本發明亦提供抑制哺乳動物中LRRK2基因之表現的方法。該等方法包括向哺乳動物投與包含靶向哺乳動物細胞中LRRK2基因之dsRNA的組合物，從而抑制該細胞中LRRK2基因之表現。基因表現之減少可藉由此項技術已知之任何方法及藉由本文所述之方法，例如qRT-PCR評估。蛋白質產生之減少可藉由此項技術中已知之任何方法及藉由本文所述之方法，例如ELISA評估。在一個實施例中，CNS活檢樣品或腦脊髓液(CSF)樣品充當用於監測LRRK2基因或蛋白質表現(或其代理物)之減少的組織材料。

【0645】 本發明進一步提供治療有需要之個體之方法。本發明之治療方法包括以靶向LRRK2基因之RNAi藥劑或包含靶向LRRK2基因之RNAi藥劑的醫藥組合物的治療有效量向個體，例如，將得益於LRRK2表現之抑制的個體，諸如具有LRRK2基因中之誤義及/或缺失突變的個體投與本發明之RNAi藥劑。

【0646】 此外，本發明提供預防、治療個體的LRRK2相關疾病或病症(例如，LRRK2相關病症)或抑制其進展的方法。該等方法包括向個體投與治療有效量之本文所提供之RNAi藥劑，例如dsRNA藥劑，或醫藥組合物中之任一者，藉此預防、治療個體的LRRK2相關疾病或病症或抑制其進展。

【0647】 本發明之RNAi藥劑可以「游離RNAi藥劑」形式投與。游

離RNAi藥劑在無醫藥組合物存在下投與。裸RNAi藥劑可在適合之緩衝溶液中。緩衝溶液可包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任何組合。在一個實施例中，緩衝溶液為磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)。可調節含有RNAi藥劑之緩衝溶液之pH值及容積滲透濃度以使得其適用於向個體投與。

【0648】 或者，本發明之RNAi藥劑可以醫藥組合物形式投與，諸如dsRNA脂質體調配物。

【0649】 將得益於LRRK2基因表現之減少或抑制的個體為患有LRRK2相關疾病，例如LRRK2相關疾病之個體。例示性LRRK2相關疾病包括但不限於PD、克隆氏病、免疫病症及眼部病症。

【0650】 本發明進一步提供使用RNAi藥劑或其醫藥組合物，例如用於治療將得益於LRRK2表現之減少或抑制之個體，例如患有LRRK2相關病症之個體，與其他藥品或其他治療方法，例如與已知藥品或已知治療方法，諸如當前用於治療此等病症之彼等藥品或治療方法組合之方法。舉例而言，在某些實施例中，靶向LRRK2之RNAi藥劑與例如如本文別處所述或如此項技術中另外已知適用於治療LRRK2相關病症之藥劑組合投與。舉例而言，適合於治療將得益於LRRK2表現之降低的個體，例如患有LRRK2相關病症之個體之額外藥劑可包括當前用於治療LRRK2相關疾病之症狀的藥劑。RNAi藥劑及額外治療劑可同時或在同一組合中投與，例如靜內投與，或額外治療劑可作為不同組合物之一部分或在不同時間或藉由此項技術中已知或本文所描述之另一方法投與。

【0651】 例示性額外治療劑包括例如單胺抑制劑，例如四苯那嗪(tetrabenazine)（仙那嗪(Xenazine)）、氘代丁苯那嗪(deutetrabenazine)

(奧斯都(Austedo))及蛇根素鹼；抗驚厥劑，例如丙戊酸(帝拔癲(Depakote)、德巴金(Depakene)、德巴空(Depacon))及可那氮平(clonazepam)(克隆諾平(Klonopin))；抗精神病劑，例如利培酮(risperidone)(理斯必妥(Risperdal))及氟哌啶醇(haloperidol)(哈多耳(Haldol))；及抗抑鬱劑，例如帕羅西汀(paroxetine)(帕西耳(Paxil))。

【0652】在一個實施例中，該方法包括投與本文特徵在於之組合物以使得目標LRRK2基因之表現減少至少一個月。在較佳實施例中，表現減少至少2個月、3個月或6個月。

【0653】較佳地，適用於本文特徵在於之方法及組合物的RNAi藥劑特異性地靶向目標LRRK2基因之RNA(初級或經加工RNA)。使用RNAi藥劑抑制此等基因之表現的組合物及方法可如本文所描述製備及進行。

【0654】根據本發明之方法投與dsRNA可使得患有LRRK2相關病症之患者之此類疾病或病症之嚴重程度、病徵、症狀或標記物減少。在此上下文中，「減少」意謂此類水準統計學上顯著或臨床上顯著的降低。減少可為例如相對於對照含量至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%或約100%。

【0655】疾病之治療或預防之功效可例如藉由量測疾病進展、疾病緩解、症狀嚴重程度、疼痛減少、生活品質、維持治療作用所需之藥品劑量、疾病標記物之含量或任何其他適合於所治療或被靶向以預防之給定疾

病的可量測參數來評估。藉由量測此類參數中之任一者或任何參數組合來監測治療或預防功效完全在熟習此項技術者之能力範圍內。舉例而言，LRRK2相關病症之治療功效可例如藉由週期性監測個體來評估。後續讀數與初始讀數之比較提供給醫師治療是否有效之指示。藉由量測此類參數中之任一者或任何參數組合來監測治療或預防功效完全在熟習此項技術者之能力範圍內。關於靶向LRRK2之RNAi藥劑或其醫藥組合物之投與，「針對LRRK2相關病症有效」指示以臨床上適當之方式投與對至少統計學上顯著部分之患者產生有益功效，諸如症狀改良、治癒、疾病減少、壽命延長、生活品質提高或一般由熟悉LRRK2相關病症治療及相關病因之醫生認為係積極的其他功效。

【0656】 當疾病狀態之一或多個參數存在統計學上顯著之改良，或未惡化或未罹患另外預期將會罹患之症狀時，治療或預防作用為明顯的。舉例而言，疾病之可量測參數至少10%且較佳至少20%、30%、40%、50%或更多的有利變化可指示有效治療。給定RNAi藥劑藥物或該藥物之調配物的功效亦可使用此項技術中已知用於給定疾病之實驗動物模型來判定。當使用實驗動物模型時，當觀測到標記物或症狀之統計學上顯著之減少時證明具有治療功效。

【0657】 或者，功效可藉由疾病之嚴重程度之降低量測，如由熟習診斷技術者基於臨床上公認之疾病嚴重程度定級量表來確定。使用適當量表量測之引起例如疾病嚴重程度減輕的任何積極變化表示使用如本文所述之RNAi藥劑或RNAi藥劑調配物的適當治療。

【0658】 在某些實施例中，可向個體投與治療量之dsRNA，諸如約0.01 mg/kg至約200 mg/kg。在其他實施例中，可向個體投與治療量之

dsRNA，諸如約0.01 mg/kg至約500 mg/kg。在又其他實施例中，可向個體投與約500 mg/kg或更多的治療量之dsRNA。

【0659】 RNAi藥劑可定期鞘內投與、經由玻璃體內注射或經一段時間靜脈內輸注投與。在某些實施例中，在初始治療方案之後，治療可以較低頻率投與。RNAi藥劑之投與可降低例如患者之細胞、組織、血液、CSF樣品或其他隔室中之LRRK2含量。在一個實施例中，RNAi藥劑之投與可使例如患者之細胞、組織、血液、CSF樣品或其他隔室中之LRRK2含量相對於對照含量降低至少約25%，諸如約25%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或約95%。

【0660】 在投與RNAi藥劑之全部劑量之前，可向患者投與較小劑量，諸如5%輸注反應，且監測不利作用，諸如過敏性反應。在另一實例中，可監測患者之不合需要之免疫刺激作用，諸如細胞介素(例如TNF-α或INF-α)含量升高。

【0661】 或者，RNAi藥劑可皮下投與，亦即藉由皮下注射投與。一或多次注射可用於向個體遞送所要，例如每月劑量之RNAi藥劑。可在一段時間內重複注射。可定期重複投與。在某些實施例中，在初始治療方案之後，治療可以較低頻率投與。重複劑量方案可包括定期投與治療量之RNAi藥劑，諸如每月或延長至每季度一次、每年兩次，每年一次。在某些實施例中，RNAi藥劑約每月一次至約每季度一次(亦即約每三個月一次)投與。

【0662】 除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語均具有與一般熟習本發明所屬技術者通常所理解相同之含義。儘管類似或等效於本文所描述之方法及材料的方法及材料可用於實踐或測試本發明特

徵在於之RNAi藥劑及方法，但下文描述適合之方法及材料。本文所提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用的方式併入本文中。在有衝突之情況下，將以本說明書(包括定義)為準。另外，材料、方法及實例僅為說明性的且並不意欲為限制性的。

【0663】 非正式序列表與此一起進行申請且形成申請之本說明書的一部分。

【0664】

實例

實例1. RNAi藥劑設計、合成、選擇及活體外評價

試劑來源

當本文未特定給出試劑來源時，此類試劑可以分子生物學應用的品質/純度標準獲自任何分子生物學試劑供應商。

【0665】

生物資訊

靶向人類LRRK2轉錄物(智人富含白胺酸之重複激酶2 (LRRK2) mRNA，NCBI refseqID NG_011709.1；NCBI GeneID: 120892)之siRNA使用定製R及Python腳本設計。人類NM_198578.4 mRNA具有9239個鹼基之長度。

【0666】 未經修飾之LRRK2有義股及反義股核苷酸序列之詳細清單展示於表3及6中。經修飾之LRRK2有義股及反義股核苷酸序列之詳細清單展示於表4及7中。

【0667】 應理解，在整個申請案中，無小數點之雙螺旋體名稱等效於有小數點之雙螺旋體名稱，小數點後數字僅指雙螺旋體之批號。舉例而

言，AD-601140等效於AD-601140.1。

【0668】

活體外A549篩選

i. 細胞培養及轉染：

藉由在384孔盤中向每孔5 μl siRNA雙螺旋體添加每孔5 μl 1 ng/μl稀釋於Opti-MEM中的LRRK2 psiCHECK2載體(Blue Heron Biotechnology)、4.9 μl Opti-MEM加0.1 μl脂染胺2000 (Invitrogen, Carlsbad CA.，目錄號11668-019)，其中各siRNA雙螺旋體有4個複本，且在室溫下培育15分鐘，轉染人類肺上皮細胞A549 (ATCC)。隨後將含有約5×10^3個細胞之35 μl達爾伯克氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle Medium) (ThermoFisher)添加至siRNA混合物中。細胞培育48小時，接著進行螢火蟲(轉染對照)及海腎(融合至目標序列)螢光素酶量測。以10 nM、1 nM及0.1 nM進行三個劑量實驗。

【0669】

ii. 細胞培養及轉染：

藉由在384孔盤中向每孔5 μl siRNA雙螺旋體添加每孔5 μl 1 ng/μl稀釋於Opti-MEM中的LRRK2 psiCHECK2載體(Blue Heron Biotechnology)、4.9 μl Opti-MEM加0.1 μl脂染胺2000 (Invitrogen, Carlsbad CA.，目錄號11668-019)，其中各siRNA雙螺旋體有4個複本，且在室溫下培育15分鐘，轉染初級小鼠肝細胞。隨後將含有約5×10^3個細胞之35 μl達爾伯克氏改良伊格爾培養基(ThermoFisher)添加至siRNA混合物中。細胞培育48小時，接著進行螢火蟲(轉染對照)及海腎(融合至目標序列)螢光素酶量測。以10 nM、1 nM及0.1 nM進行三個劑量實驗。

【0670】

iii. **使用DYNABEADS mRNA分離套組之總RNA分離：**

在BioTek-EL406平台上使用DYNABEADs (Invitrogen，目錄號61012)使用自動化方案分離RNA簡言之，將含有3 μl磁性珠粒之70 μl溶解/結合緩衝液及10 μl溶解緩衝液添加至具有細胞的盤中。盤在室溫下在電磁振盪器上培育10分鐘，且隨後捕捉磁性珠粒且移除上清液。結合珠粒的RNA隨後用150 μl洗滌緩衝液A洗滌2次，且用洗滌緩衝液B洗滌一次。珠粒隨後用150 μl溶離緩衝液洗滌，再捕捉且移除上清液。

【0671】

iv. **使用ABI高容量cDNA反轉錄套組(Applied Biosystems, Foster City, CA，目錄號4368813)之cDNA合成：**

向以上分離之RNA中添加每反應物10 μl含有1 μl 10×緩衝液、0.4 μl 25× dNTP、1 μl 10×隨機引子、0.5 μl逆轉錄酶、0.5 μl RNA酶抑制劑及6.6 μl H2O的基本混合物。將盤密封，混合，且在電磁振盪器上在室溫下培育10分鐘，隨後在37℃下培育2小時。

【0672】

v. **即時PCR：**

在384孔盤(Roche目錄號04887301001)中每孔將2 μl cDNA及5 μl Lightcycler 480探針基本混合物(Roche目錄號04887301001)添加至0.5 μl人類GAPDH TaqMan探針(4326317E)及0.5 μl人類LRRK2探針(Hs01115057_m1, Thermo)或0.5 μl小鼠GAPDH TaqMan探針(4352339E)及0.5 μl小鼠LRRK2探針(Mm00481934_m1, Thermo)中。在LightCycler480即時PCR系統(Roche)中進行即時PCR。各雙螺旋體測試

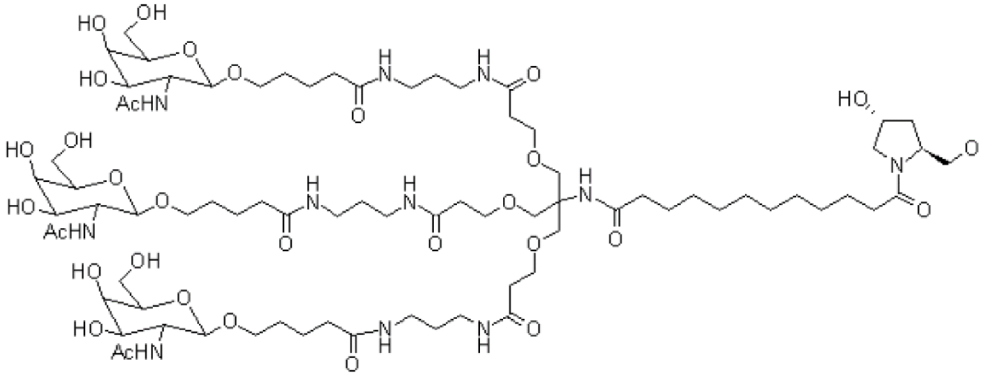
至少兩次且將資料相對於經非靶向對照siRNA轉染之細胞標準化。為了計算相對倍數變化，即時資料使用ΔΔCt方法分析且相對於用非靶向對照siRNA轉染之細胞進行之分析標準化。

【0673】 A549細胞中表3及4中所列之dsRNA藥劑之篩選的結果展示於表5中。

【0674】

表2. 核酸序列表示中所用之核苷酸單體之縮寫. 應理解，此等單體當存在於寡核苷酸中時藉由5'-3'-磷酸二酯鍵互相連接；且應理解，當核苷酸含有2'-氟修飾時，則氟置換親本核苷酸之該位置處的羥基(亦即，其為2'-去氧-2'-氟核苷酸)。

簡寫	**核苷酸**
A	腺苷-3'-磷酸酯
Ab	β-L-腺苷-3`-磷酸酯
Abs	β-L-腺苷-3`-硫代磷酸酯
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸酯
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸酯
As	腺苷-3'-硫代磷酸酯
C	胞嘧啶核苷-3'-磷酸酯
Cb	β-L-胞嘧啶核苷-3`-磷酸酯
Cbs	β-L-胞嘧啶核苷-3'-硫代磷酸酯
Cf	2'-氟胞嘧啶核苷-3'-磷酸酯
Cfs	2'-氟胞嘧啶核苷-3'-硫代磷酸酯
Cs	胞嘧啶核苷-3'-硫代磷酸酯
G	鳥苷-3'-磷酸酯
Gb	β-L-鳥苷-3`-磷酸酯
Gbs	β-L-鳥苷-3`-硫代磷酸酯
Gf	2'-氟鳥苷-3'-磷酸酯
Gfs	2'-氟鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gs	鳥苷-3'-硫代磷酸酯
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸酯
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
Tfs	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
U	尿苷-3'-磷酸酯

簡寫	核苷酸
Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸酯
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯
Us	尿苷-3'-硫代磷酸酯
N	任何經修飾或未經修飾之核苷酸
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸酯
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯
c	2'-O-甲基胞嘧啶核苷-3'-磷酸酯
cs	2'-O-甲基胞嘧啶核苷-3'-硫代磷酸酯
g	2'-O-甲基鳥苷-3'-磷酸酯
gs	2'-O-甲基鳥苷-3'-硫代磷酸酯
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸酯
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
s	硫代磷酸酯鍵
L96	N-[參(GalNAc-烷基)-醯胺基-十二醯基)]-4-羥基脯胺醇 [Hyp-(GalNAc-烷基)$_3$] 
(Agn)	腺苷-二醇核酸(GNA)
(Cgn)	胞嘧啶核苷-二醇核酸(GNA)
(Ggn)	鳥苷-二醇核酸(GNA)
(Tgn)	胸苷-二醇核酸(GNA) S-異構體
P	磷酸酯
VP	膦酸乙烯酯
dA	2`-去氧腺苷-3`-磷酸酯
dAs	2`-去氧腺苷-3`-硫代磷酸酯
dC	2`-去氧胞嘧啶核苷-3`-磷酸酯
dCs	2`-去氧胞嘧啶核苷-3`-硫代磷酸酯
dG	2`-去氧鳥苷-3`-磷酸酯
dGs	2`-去氧鳥苷-3`-硫代磷酸酯
dT	2`-去氧胸苷-3`-磷酸酯
dTs	2`-去氧胸苷-3`-硫代磷酸酯
dU	2`-去氧尿苷

簡寫	核苷酸
dUs	2`-去氧尿苷-3`-硫代磷酸酯
(Ahd)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸酯
(Ahds)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-硫代磷酸酯
(Chd)	2'-O-十六烷基-胞嘧啶核苷-3'-磷酸酯
(Chds)	2'-O-十六烷基-胞嘧啶核苷-3'-硫代磷酸酯
(Ghd)	2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸酯
(Ghds)	2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-硫代磷酸酯
(Uhd)	2'-O-十六烷基-尿苷-3'-磷酸酯
(Uhds)	2'-O-十六烷基-尿苷-3'-硫代磷酸酯

表3. LRRK2 dsRNA藥劑之未經修飾之有義股及反義股序列

雙螺旋體名稱	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	NM_198578.4 中之範圍	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	NM_198578.4 中之範圍
AD-601140.1	CAACUCUGAAACAGUUUAACA	11	3383-3403	UGUUAAACUGUUUCAGAGUUGGA	55	3381-3403
AD-599927.1	AAUUGUCAGCAUCUUUUUCUA	12	2105-2125	UAGAAAAAGAUGCUGACAAUUUG	56	2103-2125
AD-612673.1	CGUGAACAAGAUGUACGGAAA	13	2356-2376	UUUCCGUACAUCUUGUUCACGAC	57	2354-2376
AD-615420.1	UCACUCAUGGAAGAAUGGUUA	14	5413-5433	UAACCAUUCUUCCAUGAGUGAGU	58	5411-5433
AD-600406.1	CAGAUAAGACUUCUAAUUUAA	15	2603-2623	UUAAAUUAGAAGUCUUAUCUGGA	59	2601-2623
AD-601294.1	CCCUAUCAGAGAACUUUCUUA	16	3563-3583	UAAGAAAGUUCUCUGAUAGGGAU	60	3561-3583
AD-600013.1	AAAAGGAUCAACAGUUUCUAA	17	2192-2212	UUAGAAACUGUUGAUCCUUUUGU	61	2190-2212
AD-600853.1	ACAUCACUAGACCUUUCAGCA	18	3088-3108	UGCUGAAAGGUCUAGUGAUGUAA	62	3086-3108
AD-613382.1	GGAACUUCACCAGAAUUCACA	19	3105-3125	UGUGAAUUCUGGUGAAGUUCCAG	63	3103-3125
AD-600024.1	CAGUUUCUAAACCUCUGUUGA	20	2203-2223	UCAACAGAGGUUUAGAAACUGUU	64	2201-2223
AD-604701.1	AAACACAAAAUGUCUUAUUCA	21	7348-7368	UGAAUAAGACAUUUUGUGUUUUG	65	7346-7368
AD-604452.1	CAAAGAUUUUCUCCUUUUCUA	22	7097-7117	UAGAAAAGGAGAAAAUCUUUGUG	66	7095-7117
AD-603747.1	CUACUCUAUGACAUUUUGACA	23	6319-6339	UGUCAAAAUGUCAUAGAGUAGUA	67	6317-6339
AD-601616.1	CAUCUUUCUCACAAUAAACUA	24	3886-3906	UAGUUUAUUGUGAGAAAGAUGCA	68	3884-3906
AD-602766.1	UGAGAACUCUGAAAUUAUCAA	25	5190-5210	UUGAUAAUUUCAGAGUUCUCACA	69	5188-5210
AD-601694.1	UACAACUUGGAACUAAGAUCA	26	3964-3984	UGAUCUUAGUUCCAAGUUGUAAC	70	3962-3984
AD-602734.1	UGGUUCCAAGCAGUUUGUCUA	27	5138-5158	UAGACAAACUGCUUGGAACCAGC	71	5136-5158
AD-599139.1	ACUAAAUAAUCUCCUUAUGUA	28	1254-1274	UACAUAAGGAGAUUAUUUAGUGC	72	1252-1274

AD-604453.1	AAAGAUUUUCU CCUUUUCUAA	29	7098-7118	UUAGAAAAGGAG AAAAUCUUUGU	73	7096-7118
AD-616783.1	ACCAUUCAGAA ACUCAUCGAA	30	7048-7068	UUCGAUGAGUUU CUGAAUGGUGA	74	7046-7068
AD-616785.1	CAUUCAGAAAC UCAUCGAGAA	31	7050-7070	UUCUCGAUGAGU UUCUGAAUGGU	75	7048-7070
AD-600566.1	UUUAUUCCUGA CUCUUCUAUA	32	2764-2784	UAUAGAAGAGUC AGGAAUAAAGG	76	2762-2784
AD-600852.1	UACAUCACUAG ACCUUUCAGA	33	3087-3107	UCUGAAAGGUCU AGUGAUGUAAU	77	3085-3107
AD-617239.1	AAUCUUGUUUG UCUAUUUGGA	34	7526-7546	UCCAAAUAGACA AACAAGAUUGU	78	7524-7546
AD-602466.1	GCAGUUCACUU UCUAAAUGAA	35	4849-4869	UUCAUUUAGAAA GUGAACUGCGU	79	4847-4869
AD-602848.1	CUUGAGAUUUC ACCUUACAUA	36	5272-5292	UAUGUAAGGUGA AAUCUCAAGUA	80	5270-5292
AD-598424.1	CCUUGGUGUUC ACCAAUUGAA	37	468-488	UUCAAUUGGUGA ACACCAAGGAC	81	466-488
AD-617233.1	AGAUACAAUCU UGUUUGUCUA	38	7520-7540	UAGACAAACAAG AUUGUAUCUCU	82	7518-7540
AD-613965.1	CUUAAGGGAAC UCAUUUUUAA	39	3720-3740	UUAAAAAUGAGU UCCCUUAAGUU	83	3718-3740
AD-614239.1	GGUUUCUACAA CAACGUCUGA	40	4016-4036	UCAGACGUUGUU GUAGAAACCUU	84	4014-4036
AD-617466.1	AGUAUGCCUAU UCUUUACAAA	41	7792-7812	UUUGUAAAGAAU AGGCAUACUCU	85	7790-7812
AD-612820.1	CCUUUAUUUCC AGAUAAGUCA	42	2515-2535	UGACUUAUCUGG AAAUAAAGGAC	86	2513-2535
AD-612611.1	UUUAAUCUAUC AGGUAUGUGA	43	2286-2306	UCACAUACCUGA UAGAUUAAAGA	87	2284-2306
AD-614237.1	AAGGUUUCUAC AACAACGUCA	44	4014-4034	UGACGUUGUUGU AGAAACCUUAU	88	4012-4034
AD-613966.1	UUAAGGGAACU CAUUUUUAGA	45	3721-3741	UCUAAAAAUGAG UUCCCUUAAGU	89	3719-3741
AD-612609.1	UCUUUAAUCUA UCAGGUAUGA	46	2284-2304	UCAUACCUGAUA GAUUAAAGAAG	90	2282-2304
AD-612246.1	GAUGACAAAGA AGAAUUUCUA	47	1896-1916	UAGAAAUUCUUC UUUGUCAUCAA	91	1894-1916
AD-601606.1	AGAGAAACUGC AUCUUUCUCA	48	3876-3896	UGAGAAAGAUGC AGUUUCUCUAC	92	3874-3896
AD-617462.1	AAAGAGUAUGC CUAUUCUUUA	49	7788-7808	UAAAGAAUAGGC AUACUCUUUUC	93	7786-7808
AD-614236.1	UAAGGUUUCUA CAACAACGUA	50	4013-4033	UACGUUGUUGUA GAAACCUUAUG	94	4011-4033
AD-611650.1	UAUGCUGAUGC ACUCUUCUUA	51	1275-1295	UAAGAAGAGUGC AUCAGCAUAGA	95	1273-1295
AD-617240.1	AUCUUGUUUGU CUAUUUGGGA	52	7527-7547	UCCCAAAUAGAC AAACAAGAUUG	96	7525-7547
AD-613851.1	CUCUUUCACGU GCAUUCCAGA	53	3606-3626	UCUGGAAUGCAC GUGAAAGAGUU	97	3604-3626
AD-617238.1	CAAUCUUGUUU GUCUAUUUGA	54	7525-7545	UCAAAUAGACAA ACAAGAUUGUA	98	7523-7545
AD-1335323.1	CGUGAACAAGA UGUACGGAAA	341	2356-2376	UUUCCGUACAUC UUGUUCACGAC	344	NM_025730.3_ 2354-2376_C1A_as
AD-1335324.1	GGAACUUCACC AGAAUUCACA	342	3105-3125	UGUGAAUUCUGG UGAAGUUCCAG	345	NM_025730.3_ 3103-3125_as

AD-1335325.1	UCACUCAUGGA AGAAUGGUUA	343	5413-5433	UAACCAUUCUUC CAUGAGUGAGU	346	NM_025730.3_ 5411-5433_as

表4. LRRK2 dsRNA藥劑之經修飾之有義股及反義股序列

雙螺旋體ID	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA目標序列 5'至3'	SEQ ID NO:
AD-601140.1	csasacu(Chd)UfgAfAfAfcaguuuaacaL96	99	VPusGfsuuaAfaCfUfguuuCfaGfaguugsgsa	143	UCCAACUCUGAAACAGUUUAACC	187
AD-599927.1	asasuug(Uhd)CfaGfCfAfucuuuuucuaL96	100	VPusAfsgaaAfaAfGfaugcUfgAfcaauususg	144	CAAAUUGUCAGCAUCUUUUUCUA	188
AD-612673.1	csgsuga(Ahd)CfaAfGfAfuguacggaaaL96	101	VPusUfsuccGfuAfCfaucuUfgUfucacgsasc	145	GUCGUGAACAAGAUGUACGGAAG	189
AD-615420.1	uscsacu(Chd)AfuGfGfAfagaaugguuaL96	102	VPusAfsaccAfuUfCfuuccAfuGfagugasgsu	146	ACUCACUCAUGGAAGAAUGGUUU	190
AD-600406.1	csasgau(Ahd)AfgAfCfUfucuaaauuuaaL96	103	VPusUfsaaaUfuAfGfaaguCfuUfaucugsgsa	147	UCCAGAUAAGACUUCUAAUUUAA	191
AD-601294.1	cscscua(Uhd)CfaGfAfGfaacuuucuuaL96	104	VPusAfsagaAfaGfUfucucUfgAfuagggsasu	148	AUCCCUAUCAGAGAACUUUCUUG	192
AD-600013.1	asasaag(Ghd)AfuCfAfAfcaguuucuaaL96	105	VPusUfsagaAfaCfUfguugAfuCfcuuuusgsu	149	ACAAAAGGAUCAACAGUUUCUAA	193
AD-600853.1	ascsauc(Ahd)CfuAfGfAfccuuucagcaL96	106	VPusGfscugAfaAfGfgucuAfgUfgaugusasa	150	UUACAUCACUAGACCUUUCAGCA	194
AD-613382.1	gsgsaac(Uhd)UfcAfCfCfagaauucacaL96	107	VPusGfsugaAfuUfCfugguGfaAfguuccsasg	151	CUGGAACUUCACCAGAAUUCACU	195
AD-600024.1	csasguu(Uhd)CfuAfAfAfccucuguugaL96	108	VPusCfsaacAfgAfGfguuuAfgAfaacgsusu	152	AACAGUUUCUAAACCUCUGUUGC	196
AD-604701.1	asasaca(Chd)AfaAfAfUfgucuuauucaL96	109	VPusGfsaauAfaGfAfcauuUfuGfguuususg	153	CAAAACACAAAAUGUCUUAUUCU	197
AD-604452.1	csasaag(Ahd)UfuUfUfCfuccuuuucuaL96	110	VPusAfsgaaAfaGfGfagaaAfaUfcuuugsusg	154	CACAAAGAUUUUCUCCUUUUCUA	198
AD-603747.1	csusacu(Chd)UfaUfGfAfcauuuugacaL96	111	VPusGfsucaAfaAfUfgucaUfaGfaguagsusa	155	UACUACUCUAUGACAUUUUGACA	199
AD-601616.1	csasucu(Uhd)UfcUfCfAfcaauaaacuaL96	112	VPusAfsguuUfaUfUfgugaGfaAfagaugscsa	156	UGCAUCUUUCUCACAAUAAACUG	200
AD-602766.1	usgsaga(Ahd)CfuCfUfGfaaauuaucaaL96	113	VPusUfsgauAfaUfUfucagAfgUfucucascsa	157	UGUGAGAACUCUGAAAUUAUCAU	201
AD-601694.1	usascaa(Chd)UfuGfGfAfacuaagaucaL96	114	VPusGfsaucUfuAfGfuuccAfaGfuuguasasc	158	GUUACAACUUGGAACUAAGAUCC	202

雙螺旋體ID	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA目標序列 5'至3'	SEQ ID NO:
AD-602734.1	usgsguu(Chd)CfaAfGfCfaguuuguc uaL96	115	VPusAfsgacAfaAfCfugcuUfgGfaaccasgsc	159	GCUGGUUCCAAGCAGUUUGUCUG	203
AD-599139.1	ascsuaa(Ahd)UfaAfUfCfuccuuaugguaL96	116	VPusAfscauAfaGfGfagauUfaUfuuagusgsc	160	GCACUAAAUAAUCUCCUUAUGUA	204
AD-604453.1	asasaga(Uhd)UfuUfCfUfccuuuucuaaL96	117	VPusUfsagaAfaAfGfgagaAfaAfucuuusgsu	161	ACAAAGAUUUUCUCCUUUUCUAA	205
AD-616783.1	ascscau(Uhd)CfaGfAfAfacucaucgaaL96	118	VPusUfscgaUfgAfGfuuucUfgAfauggusgsa	162	UCACCAUUCAGAAACUCAUCGAG	206
AD-616785.1	csasuuc(Ahd)GfaAfAfCfucaucgagaaL96	119	VPusUfscucGfaUfGfaguuUfcUfgaaugsgsu	163	ACCAUUCAGAAACUCAUCGAGAC	207
AD-600566.1	ususuau(Uhd)CfcUfGfAfcucuucuauaL96	120	VPusAfsuagAfaGfAfgucaGfgAfauaaasgsg	164	CCUUUAUUCCUGACUCUUCUAUG	208
AD-600852.1	usascau(Chd)AfcUfAfGfaccuuucagaL96	121	VPusCfsugaAfaGfGfucuaGfuGfauguasasu	165	AUUACAUCACUAGACCUUUCAGC	209
AD-617239.1	asasucu(Uhd)GfuUfUfGfucuauuuggaL96	122	VPusCfscaaAfuAfGfacaaAfcAfagauusgsu	166	ACAAUCUUGUUUGUCUAUUUGGG	210
AD-602466.1	gscsagu(Uhd)CfaCfUfUfucuaaaugaaL96	123	VPusUfscauUfuAfGfaaagUfgAfacugcsgsu	167	ACGCAGUUCACUUUCUAAAUGAA	211
AD-602848.1	csusuga(Ghd)AfuUfUfCfaccuuacauaL96	124	VPusAfsuguAfaGfGfugaaAfuCfucaagsusa	168	UACUUGAGAUUUCACCUUACAUG	212
AD-598424.1	cscsuug(Ghd)UfgUfUfCfaccaauugaaL96	125	VPusUfscaaUfuGfGfugaaCfaCfcaaggsasc	169	GUCCUUGGUGUUCACCAAUUGAU	213
AD-617233.1	asgsaua(Chd)AfaUfCfUfuguuugucuaL96	126	VPusAfsgacAfaAfCfaagaUfuGfuaucuscsu	170	AGAGAUACAAUCUUGUUUGUCUA	214
AD-613965.1	csusuaa(Ghd)GfgAfAfCfucauuuuuaaL96	127	VPusUfsaaaAfaUfGfaguuCfcCfuuaagsusu	171	AACUUAAGGGAACUCAUUUUUAG	215
AD-614239.1	gsgsuuu(Chd)UfaCfAfAfcaacgucugaL96	128	VPusCfsagaCfgUfUfguugUfaGfaaaccsusu	172	AAGGUUUCUACAACAACGUCUGA	216
AD-617466.1	asgsuau(Ghd)CfcUfAfUfucuuuacaaaL96	129	VPusUfsuguAfaAfGfaauaGfgCfauacuscsu	173	AGAGUAUGCCUAUUCUUUACAAA	217
AD-612820.1	cscsuuu(Ahd)UfuUfCfCfagauaagucaL96	130	VPusGfsacuUfaUfCfuggaAfaUfaaaggsasc	174	GUCCUUUAUUUCCAGAUAAGUCA	218
AD-612611.1	ususuaa(Uhd)CfuAfUfCfagguauggaL96	131	VPusCfsacaUfaCfCfugauAfgAfuuaaasgsa	175	UCUUUAAUCUAUCAGGUAUGUGA	219
AD-614237.1	asasggu(Uhd)UfcUfAfCfaacaacgucaL96	132	VPusGfsacgUfuGfUfuguaGfaAfaccuusasu	176	AUAAGGUUUCUACAACAACGUCU	220

雙螺旋體ID	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA目標序列 5'至3'	SEQ ID NO:
AD-613966.1	ususaag(Ghd)GfaAfCfUfcauuuuuagaL96	133	VPusCfsuaaAfaAfUfgaguUfcCfcuuaasgsu	177	ACUUAAGGGAACUCAUUUUUAGC	221
AD-612609.1	uscsuuu(Ahd)AfuCfUfAfucagguaugaL96	134	VPusCfsauaCfcUfGfauagAfuUfaaagasasg	178	CUUCUUUAAUCUAUCAGGUAUGU	222
AD-612246.1	gsasuga(Chd)AfaAfGfAfagaauuucuaL96	135	VPusAfsgaaAfuUfCfuucuUfuGfucaucsasa	179	UUGAUGACAAAGAAGAAUUUCUG	223
AD-601606.1	asgsaga(Ahd)AfcUfGfCfaucuuucucaL96	136	VPusGfsagaAfaGfAfugcaGfuUfucucusasc	180	GUAGAGAAACUGCAUCUUUCUCA	224
AD-617462.1	asasaga(Ghd)UfaUfGfCfcuauucuuuaL96	137	VPusAfsaagAfaUfAfggcaUfaCfucuuususc	181	GAAAAGAGUAUGCCUAUUCUUUA	225
AD-614236.1	usasagg(Uhd)UfuCfUfAfcaacaacguaL96	138	VPusAfscguUfgUfUfguagAfaAfccuuasusg	182	CAUAAGGUUUCUACAACAACGUC	226
AD-611650.1	usasugc(Uhd)GfaUfGfCfacucuucuuaL96	139	VPusAfsagaAfgAfGfugcaUfcAfgcauasgsa	183	UCUAUGCUGAUGCACUCUUCUUC	227
AD-617240.1	asuscuu(Ghd)UfuUfGfUfcuauuugggaL96	140	VPusCfsccaAfaUfAfgacaAfaCfaagaususg	184	CAAUCUUGUUUGUCUAUUUGGGA	228
AD-613851.1	csuscuu(Uhd)CfaCfGfUfgcauuccagaL96	141	VPusCfsuggAfaUfGfcacgUfgAfaagagsusu	185	AACUCUUUCACGUGCAUUCCAGA	229
AD-617238.1	csasauc(Uhd)UfgUfUfUfgucuauuugaL96	142	VPusCfsaaaUfaGfAfcaaaCfaAfgauugsusa	186	UACAAUCUUGUUUGUCUAUUUGG	230
AD-1335323.1	csgsuga(Ahd)CfaAfGfAfuguacggasasa	347	VPusUfsuccGfuAfCfaucuUfgUfucacgsasc	350	GUCGUGAACAAGAUGUACGGAAG	189
AD-1335324.1	gsgsaac(Uhd)UfcAfCfCfagaauucascsa	348	VPusGfsugaAfuUfCfugguGfaAfguuccsasg	351	CUGGAACUUCACCAGAAUUCACU	195
AD-1335325.1	uscsacu(Chd)AfuGfGfAfagaauggususa	349	VPusAfsaccAfuUfCfuuccAfuGfagugasgsu	352	ACUCACUCAUGGAAGAAUGGUUU	190

表5. A549細胞中之LRRK2單次劑量篩選

	10 nM劑量		1 nM劑量		0.1 nM劑量	
雙螺旋體	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD
AD-601140.1	17.7	2.8	63.1	14.4	61.0	11.7
AD-599927.1	17.7	1.7	43.0	5.5	41.9	12.9
AD-612673.1	21.2	6.5	42.2	10.1	51.7	8.3
AD-615420.1	21.5	4.1	55.4	32.3	65.3	38.7
AD-600406.1	22.5	7.3	53.5	11.7	54.2	19.6
AD-601294.1	24.5	5.2	62.7	28.6	58.0	24.1
AD-600013.1	25.2	10.9	28.9	17.1	41.8	14.7

	10 nM劑量		1 nM劑量		0.1 nM劑量	
雙螺旋體	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD	平均 LRRK2 mRNA剩餘%	SD
AD-600853.1	26.4	6.7	50.4	19.9	69.8	11.5
AD-613382.1	26.4	4.8	66.7	11.1	88.6	30.0
AD-600024.1	26.6	12.3	54.6	9.1	82.6	34.3
AD-604701.1	27.0	7.4	35.2	12.0	68.7	10.2
AD-604452.1	28.7	7.2	51.0	11.0	91.2	18.3
AD-603747.1	29.0	10.9	52.9	19.1	69.5	2.0
AD-601616.1	31.3	7.3	39.8	16.6	89.6	15.9
AD-602766.1	31.8	4.6	43.9	16.8	72.6	18.4
AD-601694.1	34.8	6.8	75.1	35.9	76.9	37.1
AD-602734.1	37.0	9.5	48.8	18.7	85.8	15.3
AD-599139.1	37.2	23.0	104.5	12.0	77.3	16.1
AD-604453.1	40.4	14.3	80.0	44.1	61.2	11.1
AD-616783.1	40.8	2.6	96.7	53.3	128.5	30.3
AD-616785.1	42.6	5.9	71.5	37.8	86.5	47.1
AD-600566.1	45.0	22.3	41.1	39.8	65.8	14.9
AD-600852.1	47.6	13.1	84.2	18.3	106.9	31.2
AD-617239.1	48.2	19.3	83.2	6.3	80.8	38.2
AD-602466.1	49.0	24.5	45.1	26.7	67.8	15.8
AD-602848.1	49.7	9.7	47.4	9.3	98.4	26.4
AD-598424.1	50.4	20.2	27.8	18.3	52.5	13.7
AD-617233.1	52.4	24.9	75.6	20.8	91.0	30.2
AD-613965.1	54.0	12.0	123.3	11.5	80.6	6.4
AD-614239.1	56.5	7.5	103.1	12.9	94.7	26.4
AD-617466.1	56.7	7.5	109.2	7.7	70.1	22.3
AD-612820.1	57.0	9.2	106.7	51.3	74.5	9.2
AD-612611.1	59.4	7.6	154.4	2.8	80.2	9.9
AD-614237.1	60.2	12.0	105.9	24.5	92.2	18.1
AD-613966.1	62.0	11.9	110.0	11.7	65.6	7.0
AD-612609.1	71.8	13.5	76.0	15.4	108.2	49.5
AD-612246.1	74.1	15.8	122.2	48.7	92.5	9.7
AD-601606.1	76.4	17.6	85.9	40.8	154.0	24.3
AD-617462.1	76.4	18.0	93.2	7.5	56.8	9.9
AD-614236.1	76.5	5.7	119.1	49.6	105.4	38.4
AD-611650.1	77.6	28.9	92.0	5.7	91.1	39.9
AD-617240.1	80.2	15.7	95.4	20.1	75.7	27.4
AD-613851.1	81.0	26.3	112.8	20.1	97.2	37.2
AD-617238.1	100.6	26.3	103.9	15.0	91.8	30.4

表6. 人類反應性LRRK2 dsRNA藥劑之未經修飾之有義股及反義股序列

雙螺旋體名稱	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	有義來源	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義來源
AD-1508169	CCUUGGUGUUC ACCAAUUGAA	231	NM_198578.4_ 468-488_U21A_s	UUCAAUUGGUGA ACACCAAGGAC	253	NM_198578.4_ 466-488_as
AD-1508884	ACUAAAUAAUC UCCUUAUGUA	232	NM_198578.4_ 1254-1274_s	UACAUAAGGAGA UUAUUUAGUGC	254	NM_198578.4_ 1252-1274_U1A_as
AD-1509672	AAUUGUCAGCA UCUUUUUCUA	233	NM_198578.4_ 2105-2125_s	UAGAAAAAGAUG CUGACAAUUUG	255	NM_198578.4_ 2103-2125_U1A_as
AD-1509758	AAAAGGAUCAA CAGUUUCUAA	234	NM_198578.4_ 2192-2212_s	UUAGAAACUGUU GAUCCUUUUGU	256	NM_198578.4_ 2190-2212_U1A_as
AD-1509769	CAGUUUCUAAA CCUCUGUUGA	235	NM_198578.4_ 2203-2223_C21A_s	UCAACAGAGGUU UAGAAACUGUU	257	NM_198578.4_ 2201-2223_G1A_as
AD-1510151	CAGAUAAGACU UCUAAUUUAA	236	NM_198578.4_ 2603-2623_s	UUAAAUUAGAAG UCUUAUCUGGA	258	NM_198578.4_ 2601-2623_U1A_as
AD-1510311	UUUAUUCCUGA CUCUUCUAUA	237	NM_198578.4_ 2764-2784_G21A_s	UAUAGAAGAGUC AGGAAUAAAGG	259	NM_198578.4_ 2762-2784_C1A_as
AD-1510597	UACAUCACUAG ACCUUUCAGA	238	NM_198578.4_ 3087-3107_C21A_s	UCUGAAAGGUCU AGUGAUGUAAU	260	NM_198578.4_ 3085-3107_G1A_as
AD-1510598	ACAUCACUAGA CCUUUCAGCA	239	NM_198578.4_ 3088-3108_s	UGCUGAAAGGUC UAGUGAUGUAA	261	NM_198578.4_ 3086-3108_U1A_as
AD-1510885	CAACUCUGAAA CAGUUUAACA	240	NM_198578.4_ 3383-3403_C21A_s	UGUUAAACUGUU UCAGAGUUGGA	262	NM_198578.4_ 3381-3403_G1A_as
AD-1511039	CCCUAUCAGAG AACUUUCUUA	241	NM_198578.4_ 3563-3583_G21A_s	UAAGAAAGUUCU CUGAUAGGGAU	263	NM_198578.4_ 3561-3583_C1A_as
AD-1511351	AGAGAAACUGC AUCUUUCUCA	242	NM_198578.4_ 3876-3896_s	UGAGAAAGAUGC AGUUUCUCUAC	264	NM_198578.4_ 3874-3896_U1A_as
AD-1511361	CAUCUUUCUCA CAAUAAACUA	243	NM_198578.4_ 3886-3906_G21A_s	UAGUUUAUUGUG AGAAAGAUGCA	265	NM_198578.4_ 3884-3906_C1A_as
AD-1511439	UACAACUUGGA ACUAAGAUCA	244	NM_198578.4_ 3964-3984_C21A_s	UGAUCUUAGUUC CAAGUUGUAAC	266	NM_198578.4_ 3962-3984_G1A_as
AD-1512211	GCAGUUCACUU UCUAAAUGAA	245	NM_198578.4_ 4849-4869_s	UUCAUUUAGAAA GUGAACUGCGU	267	NM_198578.4_ 4847-4869_U1A_as
AD-1512479	UGGUUCCAAGC AGUUUGUCUA	246	NM_198578.4_ 5138-5158_G21A_s	UAGACAAACUGC UUGGAACCAGC	268	NM_198578.4_ 5136-5158_C1A_as
AD-1512511	UGAGAACUCUG AAAUUAUCAA	247	NM_198578.4_ 5190-5210_U21A_s	UUGAUAAUUUCA GAGUUCUCACA	269	NM_198578.4_ 5188-5210_as

AD-1512593	CUUGAGAUUUC ACCUUACAUA	248	NM_198578.4_ 5272-5292_G21A_s	UAUGUAAGGUGA AAUCUCAAGUA	270	NM_198578.4_ 5270-5292_C1A_as
AD-1513492	CUACUCUAUGA CAUUUUGACA	249	NM_198578.4_ 6319-6339_s	UGUCAAAAUGUC AUAGAGUAGUA	271	NM_198578.4_ 6317-6339_U1A_as
AD-1514197	CAAAGAUUUUC UCCUUUUCUA	250	NM_198578.4_ 7097-7117_s	UAGAAAAGGAGA AAAUCUUUGUG	272	NM_198578.4_ 7095-7117_U1A_as
AD-1514198	AAAGAUUUUCU CCUUUUCUAA	251	NM_198578.4_ 7098-7118_s	UUAGAAAAGGAG AAAAUCUUUGU	273	NM_198578.4_ 7096-7118_U1A_as
AD-1514446	AAACACAAAAU GUCUUAUUCA	252	NM_198578.4_ 7348-7368_U21A_s	UGAAUAAGACAU UUUGUGUUUUG	274	NM_198578.4_ 7346-7368_as

表7. 人類反應性LRRK2 dsRNA藥劑之經修飾之有義股及反義股序列

雙螺旋體ID	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA目標序列 5'至3'	SEQ ID NO:
AD-1508169	cscsuug(Ghd)UfgU fUfCfaccaauugsasa	275	VPusUfscaaUfuGfGf ugaaCfaCfcaaggsasc	297	CCUUGGUGUUC ACCAAUUGAU	319
AD-1508884	ascsuaa(Ahd)UfaAf UfCfuccuuaugsusa	276	VPusAfscauAfaGfGf agauUfaUfuuagusgsc	298	ACUAAAUAAUC UCCUUAUGUA	320
AD-1509672	asasuug(Uhd)CfaG fCfAfucuuuuucsusa	277	VPusAfsgaaAfaAfGf augcUfgAfcaauususg	299	AAUUGUCAGCA UCUUUUUCUA	321
AD-1509758	asasaag(Ghd)AfuCf AfAfcaguuucusasa	278	VPusUfsagaAfaCfUf guugAfuCfcuuuusgsu	300	AAAAGGAUCAA CAGUUUCUAA	322
AD-1509769	csasguu(Uhd)CfuA fAfAfccucuguusgsa	279	VPusCfsaacAfgAfGf guuuAfgAfaacugsusu	301	CAGUUUCUAAA CCUCUGUUGC	323
AD-1510151	csasgau(Ahd)AfgA fCfUfucuaauuusasa	280	VPusUfsaaaUfuAfGf aaguCfuUfaucugsgsa	302	CAGAUAAGACU UCUAAUUUAA	324
AD-1510311	ususuau(Uhd)CfcU fGfAfcucuucuasusa	281	VPusAfsuagAfaGfAf gucaGfgAfauaaasgsg	303	UUUAUUCCUGA CUCUUCUAUG	325
AD-1510597	usascau(Chd)AfcUf AfGfaccuuucasgsa	282	VPusCfsugaAfaGfGf ucuaGfuGfauguasasu	304	UACAUCACUAG ACCUUUCAGC	326
AD-1510598	ascsauc(Ahd)CfuAf GfAfccuuucagscsa	283	VPusGfscugAfaAfGf gucuAfgUfgaugusasa	305	ACAUCACUAGA CCUUUCAGCA	327
AD-1510885	csasacu(Chd)UfgAf AfAfcaguuuaascsa	284	VPusGfsuuaAfaCfUf guuuCfaGfaguugsgsa	306	CAACUCUGAAA CAGUUUAACC	328
AD-1511039	cscscua(Uhd)CfaGf AfGfaacuuucususa	285	VPusAfsagaAfaGfUf ucucUfgAfuagggsasu	307	CCCUAUCAGAG AACUUUCUUG	329
AD-1511351	asgsaga(Ahd)AfcU fGfCfaucuuucuscsa	286	VPusGfsagaAfaGfAf ugcaGfuUfucucusasc	308	AGAGAAACUGC AUCUUUCUCA	330
AD-1511361	csasucu(Uhd)UfcU fCfAfcaauaaacsusa	287	VPusAfsguuUfaUfUf gugaGfaAfagaugscsa	309	CAUCUUUCUCA CAAUAAACUG	331
AD-1511439	usascaa(Chd)UfuGf GfAfacuaagauscsa	288	VPusGfsaucUfuAfGf uuccAfaGfuuguasasc	310	UACAACUUGGA ACUAAGAUCC	332
AD-1512211	gscsagu(Uhd)CfaCf UfUfucuaaaugsasa	289	VPusUfscauUfuAfGf aaagUfgAfacugcsgsu	311	GCAGUUCACUU UCUAAAUGAA	333
AD-1512479	usgsguu(Chd)CfaA fGfCfaguuugucsusa	290	VPusAfsgacAfaAfCf ugcuUfgGfaaccasgsc	312	UGGUUCCAAGC AGUUUGUCUG	334
AD-1512511	usgsaga(Ahd)CfuC fUfGfaaauuaucsasa	291	VPusUfsgauAfaUfUf ucagAfgUfucucascsa	313	UGAGAACUCUG AAAUUAUCAU	335

雙螺旋體ID	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA目標序列 5'至3'	SEQ ID NO:
AD-1512593	csusuga(Ghd)AfuUfUfCfaccuuacasusa	292	VPusAfsuguAfaGfGfugaaAfuCfucaagsusa	314	CUUGAGAUUUCACCUUACAUG	336
AD- 1513492	csusacu(Chd)UfaUfGfAfcauuuugascsa	293	VPusGfsucaAfaAfUfgucaUfaGfaguagsusa	315	CUACUCUAUGACAUUUUGACA	337
AD- 1514197	csasaag(Ahd)UfuUfUfCfuccuuuucsusa	294	VPusAfsgaaAfaGfGfagaaAfaUfcuuugsusg	316	CAAAGAUUUUCUCCUUUUCUA	338
AD- 1514198	asasaga(Uhd)UfuUfCfUfccuuuucusasa	295	VPusUfsagaAfaAfGfgagaAfaAfucuuusgsu	317	AAAGAUUUUCUCCUUUUCUAA	339
AD- 1514446	asasaca(Chd)AfaAfAfUfgucuuauuscsa	296	VPusGfsaauAfaGfAfcauuUfuGfuguuususg	318	AAACACAAAAUGUCUUAUUCU	340

【0675】

實例2. 轉殖基因小鼠中之活體內評價

此實例描述用於在表現人類LRRK2 RNA之轉殖基因小鼠中活體內評價LRRK2 RNAi藥劑的方法。

【0676】 評估實例1中所設計及分析之所選dsRNA藥劑在表現人類LRRK2 RNA之小鼠中降低含有義股或反義股基因座之含量的能力。

【0677】 簡言之，向對照同窩出生仔畜、對人類LRRK2 RNA雜合之小鼠及對人類LRRK2 RNA純合之小鼠鞘內或皮下投與單次劑量之相關dsRNA藥劑，其包括雙螺旋體AD-601140.1、AD-599927.1、AD-612673.1、AD-615420.1、AD-600406.1、AD-601294.1、AD-600013.1、AD-600853.1、AD-613382.1、AD-600024.1、AD-604701.1、AD-604452.1、AD-603747.1、AD-601616.1、AD-602766.1、AD-601694.1、AD-602734.1、AD-599139.1、AD-604453.1、AD-616783.1、AD-616785.1、AD-600566.1、AD-600852.1、AD-617239.1、AD-602466.1、AD-602848.1、AD-598424.1、AD-617233.1、AD-613965.1、AD-614239.1、AD-617466.1、AD-612820.1、AD-612611.1、AD-614237.1、AD-613966.1、AD-612609.1、AD-612246.1、AD-601606.1、AD-617462.1、AD-614236.1、AD-611650.1、AD-617240.1、AD-613851.1及

AD-617238.1或安慰劑。投與後兩週，處死動物，收集血液及組織樣品，包括腦皮質、脊髓、肝、脾及頸部淋巴結。

【0678】 為確定dsRNA藥劑之投與對LRRK2 mRNA之含量的作用，藉由qRT-PCR測定皮質及脊髓樣品中之mRNA含量(參見例如上文及Jiang，同上)。

【0679】 結果展現投與單次劑量之dsRNA藥劑抑制LRRK2 mRNA之產生。

【0680】 為了確定dsRNA藥劑減少含LRRK2有義股及反義股基因座之數目及/或形成之作用，將前述Jiang中所述之FISH方法用於獲自投與以上相關雙螺旋體之動物的樣品中。所用探針包括針對有義及反義RNA之探針(Exiqon公司)。所有雜交步驟均在無RNA酶之條件下進行。十五微米腦及脊髓OCT冷凍切片經滲透且切片經阻斷。隨後使切片與變性探針雜交。在雜交之後，洗滌載片 。脂褐質之自體螢光被淬滅，且細胞核用DAPI染色。由不知情研究者進行小鼠額葉皮質、海馬齒狀回、膨大後部皮質及小腦分子層中之有義及反義RNA基因座的定量。藉由共軛焦顯微鏡在100×放大率下獲取三至六個隨機圖像，且計數200至400個細胞。

【0681】 結果證明，投與單次劑量之dsRNA藥劑減少額葉皮質、海馬齒狀回、膨大後部皮質及小腦分子層中之含有義股及反義股基因座的含量。

【0682】 亦如例如Jiang (同上)中所述在投與以上相關雙螺旋體之動物中評估投與藥劑對異常二肽重複蛋白質含量及聚(GP)及聚(GA)負荷及大小之水準的作用。

【0683】 免疫組織化學用於鑑別及評估小鼠半腦及脊髓中之異常二

肽重複蛋白質含量。簡言之，自福馬林(formalin)固定石蠟包埋塊切出八至十微米厚小鼠半腦的矢狀切片或脊髓之冠狀切片且將其安放在玻璃載片上。在乾燥之後，將載片去石蠟且在二甲苯及醇洗液中復水，隨後洗滌。接著，汽蒸且阻斷載片。用針對聚(GP)、聚(GA)、聚(GR)、聚(PA)、聚(PR)、GFAP、IBA-1、CD3、F4/80及CD45R/B220之市售抗體染色隔夜後，施加結合HRP之二級抗體且使用受質產生過氧化酶活性。切片用哈里斯改良蘇木精(Harris' modified hematoxylin)對比染色且蓋上蓋玻片。

【0684】 為定量聚(GP)及聚(GA)包涵體負荷及大小，以40×放大率掃描聚(GP)或聚(GA)免疫染色之小鼠半腦切片以獲得高解析度數位化影像。使用適合軟體，計數海馬體或膨大後部皮質中劃定區域中之包涵體數目。為量測此等區域中之包涵體之大小，用顯微鏡在63×放大率下獲取影像。儘管給定視野中之各包涵體僅分析一次，但可獲取該視野之多個影像以確保分析僅在對焦之包涵體上進行。打開且放大影像，且輪廓工具用於跟蹤各包涵體以確定其面積(μm^2)。對於各小鼠，計算各測試區域內以μm2為單位的包涵體之平均大小。

【0685】 資料用於確定投與單次劑量之dsRNA藥劑是否降低異常二肽重複蛋白質含量，尤其聚(GP)及聚(GA)包涵體負荷及大小水準。

【0686】

實例3. 小鼠中LRRK2 mRNA抑制之活體內評價

此實例描述用於在表現小鼠LRRK2 RNA之小鼠中活體內評價LRRK2 RNAi藥劑之方法。

【0687】 為評估RNAi藥劑AD-1335323.1、AD-1335324.1及AD-1335325.1之功效，向表現小鼠LRRK2之小鼠投與此等藥劑。RNAi藥劑

(在緩衝液，諸如aCSF中)或aCSF對照物投與至約6至8週齡之雌性C57BL/6小鼠。對照組具有3隻動物且向4隻動物之組各投與三種RNAi藥劑，亦即AD-1335323.1、AD-1335324.1及AD-1335325.1中之每一者。經由單次腦室內注射(徒手ICV注射)以300 μg於5 μl (60 mg/ml儲備液)中之劑量投與來投與。投與後30天，使小鼠安樂死。分離全血及血漿且儲存在-80℃下直至分析。收集腦(右半球)、肝組織、肺(左葉)及腎(左)，速凍且儲存在-80℃下直至加工。研究設計展示於表8中。

表8

組號	動物編號	處理	劑量(μg)	時間點	組織
1	1	aCSF	-	第30天	末端CSF末端血漿 **灌注後冷凍(qPCR)**：右腦半球、肺、腎 **灌注後冷凍(蛋白質)**：左腦半球 **灌注後固定(組織學)**：肺、腎
	2				
	3				
2	4	AD-1335323.1	300		
	5				
	6				
	7				
3	8	AD-1335324.1			
	9				
	10				
	11				
4	12	AD-1335325.1			
	13				
	14				
	15				

【0688】 RNAi藥劑之功效藉由給藥後30天量測腦、肝、肺及腎組織中之LRRK2 mRNA來評價。LRRK2腦mRNA含量利用RT-qPCR分析。對小鼠腦(右半球)樣品進行研磨且製備組織溶解物。腦溶解物樣品與LRRK2探針(Mm00481934_m1)一起培育且CSF作為內源性對照物。藉由RT-qPCR測定腦樣品中之mRNA含量(參見例如上文及Jiang，同上)。藉由RT-qPCR使用小鼠GAPDH探針(Applied Biosystems 4351309)作為對照探針及LRRK2探針(Mm00481934_m1，實驗探針)分析肝組織中之mRNA含量。類似地，藉由RT-qPCR使用小鼠GAPDH探針作為對照探針及

LRRK2探針(Mm00481934_m1，實驗探針)分析腎組織中之mRNA含量。

【0689】 結果展示於圖1-2中。圖1展示在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與RNAi藥劑AD-1335323.1、AD-1335324.1及AD-1335325.1中之一者後，腦(右半球)中LRRK2 mRNA之減少。結果展現投與300 μg劑量之RNAi藥劑之動物中LRRK2 mRNA含量相對於投與相同劑量之aCSF的對照動物中之降低。AD-1335324具有86% KD，優於AD-1335323及AD-1335325具有約60% KD (參見表9)。圖2展示向表現小鼠LRRK2之小鼠投與300 μg劑量之RNAi藥劑AD-1335323.1、AD-1335324.1及AD-1335325.1中之一者後，腦(右半球)、肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA之相對減少。結果展現，全身性組織，諸如肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA含量之降低遵循與腦(右半球)中所觀測到相同的KD趨勢，但程度較低且變化較多(參見表9至10)。在肺及腎中未經由組織學觀測到毒理學徵象。

表9

300 ng D30 qPCR，相對於aCSF的訊息剩餘%						
組織	**右半球**		**肺**		**腎**	
處理	**平均**	**SD**	**平均**	**SD**	**平均**	**SD**
aCSF	100.00	21.78	100.00	3.90	100.00	31.83
AD-1335323	38.12	8.11	58.65	39.75	96.50	19.98
AD-1335324	13.79	6.40	23.50	18.20	70.45	13.61
AD-1335325	42.65	10.70	86.71	2.19	104.40	17.01

表10. LRRK2小鼠ICV工具複合篩選-aCSF Ct值

aCSF Ct值(標準化30 ng RNA輸入)			
組織	**GAPDH Ct**	**LRRK2 Ct**	**δ Ct**
腦	20.07	30.35	10.29
肺	24.16	28.54	4.38
腎	19.82	27.27	7.45

【0690】

實例4. 小鼠活體內LRRK2 RNAi藥劑之劑量測定

此實例描述測定CNS中LRRK2 RNAi藥劑(例如，AD-1335324)之活體內IC50且確定具有最小周邊KD之最有效CNS劑量的方法。

【0691】為評估RNAi藥劑AD-1335324.1之功效，向表現小鼠LRRK2之小鼠投與藥劑。RNAi藥劑AD-1335324.1 (在緩衝液，諸如aCSF中)或aCSF對照物投與至約6至8週齡之雌性C57BL/6小鼠。存在總共6個組，對應於一個對照組及對應於10至300 μg之AD-1335324.1之5個不同劑量的5個其他群組，如下表11中所示。各組具有4隻動物。經由單次腦室內注射(徒手ICV注射)以5 μl (60 mg/ml儲備液)向腦右半球中投與來投與。投與後30天，使小鼠安樂死且用生理鹽水灌注，隨後進行組織收集。分離全血及血漿且儲存在-80℃下直至分析。收集腦(右半球)、肝組織、肺(左葉)及腎(左)，速凍且儲存在-80℃下直至加工。亦收集組織樣品及末端血液用於未來蛋白質分析。研究設計展示於表11中。

表11

組	處理	劑量(μg)	劑量	注射	時間點	(n)
1	aCSF	-	D0單次劑量	徒手ICV	D30	4
2	AD-1335324.1	10				
3		30				
4		60				
5		100				
6		300				

【0692】RNAi藥劑AD-1335324.1之功效及劑量反應藉由量測RNAi藥劑給藥後30天時腦、肝、肺及腎組織中剩餘之LRRK2 mRNA之百分比來評價。LRRK2腦mRNA含量利用RT-qPCR分析。對小鼠腦(右半球)樣品進行研磨且製備組織溶解物。腦溶解物樣品與LRRK2探針(Mm00481934_m1)一起培育且CSF作為內源性對照物。藉由RT-qPCR測定腦樣品中之mRNA含量(參見例如上文及Jiang，同上)。藉由RT-qPCR使用小鼠GAPDH探針(Applied Biosystems 4351309)作為對照探針及

LRRK2探針(Mm00481934_m1，實驗探針)分析肝組織中之mRNA含量。類似地，藉由RT-qPCR使用小鼠GAPDH探針作為對照探針及LRRK2探針(Mm00481934_m1，實驗探針)分析腎組織中之mRNA含量。

【0693】 結果展示於圖3至4中。圖3A-B展示在表現LRRK2之小鼠之腦中AD-1335324投與下觀測到之LRRK2 mRNA表現的劑量反應性減少。圖3A展示描繪在向表現小鼠LRRK2之小鼠投與代表性RNAi藥劑AD-1335324.1之後，腦(右半球)中LRRK2 mRNA之減少的圖式。結果展示相對於對照動物，投與RNAi藥劑之動物中LRRK2 mRNA含量之劑量反應性減少。相對於投與之相應劑量之aCSF的對照動物，投與100 μg劑量之AD-1335324.1的小鼠展示約40% KD且投與300 μg劑量之AD-1335324.1的小鼠展示約80% KD。圖3B展示描繪AD-1335324.1在CNS中之IC50之圖式。絕對IC50值測定為108.5 μg。

【0694】 圖4展示向表現小鼠LRRK2之小鼠投與10-300 μg的5個劑量中之一者之AD-1335324.1後，腦(右半球)、肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA之相對減少。結果展現，全身性組織，諸如肺(左葉)及腎(右)中LRRK2 mRNA含量之降低不遵循與腦(右半球)中所觀測到相同的KD趨勢(參見表12)。實際上，無LRRK2 mRNA之劑量反應性減少的劑量內觀測到肺(左葉)中之KD顯著變化。在腎(右)中，投與10至300 μg AD-1335324之不同劑量未觀測到LRRK2 mRNA減少。

表12

LRRK2小鼠ICV劑量反應AD-1335324 D30 qPCR相對於aCSF的訊息剩餘%			
組織	**處理/劑量**	**組平均**	**標準差**
腦-右半球	aCSF	100.00	13.26
	10 μg	129.31	23.14
	30 μg	91.33	19.66
	60 μg	85.66	13.76

	100 μg	59.47	16.11
	300 μg	19.43	5.59
黃	aCSF	100.00	20.29
	10 μg	70.94	28.55
	30 μg	74.67	31.82
	60 μg	67.78	44.45
	100 μg	63.09	26.04
	300 μg	66.97	27.01
顎	aCSF	100.00	30.52
	10 μg	98.79	26.67
	30 μg	126.40	20.43
	60 μg	116.06	40.17
	100 μg	123.84	35.86
	300 μg	128.87	26.10

【0695】

等效物

熟習此項技術者將認識到或能夠僅使用常規實驗確定本文所描述之特定實施例及方法之許多等效物。此類等效物意欲由以下申請專利範圍之範疇涵蓋。

【0696】

LRRK2序列

SEQ ID NO:1

> NM_198578.4智人富含白胺酸之重複激酶2 (LRRK2)，mRNA

GGGGCCCGCGGGGAGCGCTGGCTGCGGGCGGTGAGCTGAGCTCGCCCCCGGGGAGCTGTGGCCGGCGCC
CCTGCCGGTTCCCTGAGCAGCGGACGTTCATGCTGGGAGGGCGGCGGGTTGGAAGCAGGTGCCACCATG
GCTAGTGGCAGCTGTCAGGGGTGCGAAGAGGACGAGGAAACTCTGAAGAAGTTGATAGTCAGGCTGAAC
AATGTCCAGGAAGGAAAACAGATAGAAACGCTGGTCCAAATCCTGGAGGATCTGCTGGTGTTCACGTAC
TCCGAGCGCGCCTCCAAGTTATTTCAAGGCAAAAATATCCATGTGCCTCTGTTGATCGTCTTGGACTCC
TATATGAGAGTCGCGAGTGTGCAGCAGGTGGGTTGGTCACTTCTGTGCAAATTAATAGAAGTCTGTCCA
GGTACAATGCAAAGCTTAATGGGACCCCAGGATGTTGGAAATGATTGGGAAGTCCTTGGTGTTCACCAA
TTGATTCTTAAAATGCTAACAGTTCATAATGCCAGTGTAAACTTGTCAGTGATTGGACTGAAGACCTTA
GATCTCCTCCTAACTTCAGGTAAAATCACCTTGCTGATATTGGATGAAGAAAGTGATATTTTCATGTTA
ATTTTTGATGCCATGCACTCATTTCCAGCCAATGATGAAGTCCAGAAACTTGGATGCAAAGCTTTACAT
GTGCTGTTTGAGAGAGTCTCAGAGGAGCAACTGACTGAATTTGTTGAGAACAAAGATTATATGATATTG
TTAAGTGCGTTAACAAATTTTAAAGATGAAGAGGAAATTGTGCTTCATGTGCTGCATTGTTTACATTCC
CTAGCGATTCCTTGCAATAATGTGGAAGTCCTCATGAGTGGCAATGTCAGGTGTTATAATATTGTGGTG
GAAGCTATGAAAGCATTCCCTATGAGTGAAAGAATTCAAGAAGTGAGTTGCTGTTTGCTCCATAGGCTT
ACATTAGGTAATTTTTTCAATATCCTGGTATTAAACGAAGTCCATGAGTTTGTGGTGAAAGCTGTGCAG
CAGTACCCAGAGAATGCAGCATTGCAGATCTCAGCGCTCAGCTGTTTGGCCCTCCTCACTGAGACTATT
TTCTTAAATCAAGATTTAGAGGAAAAGAATGAGAATCAAGAGAATGATGATGAGGGGGAAGAAGATAAA
TTGTTTTGGCTGGAAGCCTGTTACAAAGCATTAACGTGGCATAGAAAGAACAAGCACGTGCAGGAGGCC
GCATGCTGGGCACTAAATAATCTCCTTATGTACCAAAACAGTTTACATGAGAAGATTGGAGATGAAGAT
GGCCATTTCCCAGCTCATAGGGAAGTGATGCTCTCCATGCTGATGCATTCTTCATCAAAGGAAGTTTTC
CAGGCATCTGCGAATGCATTGTCAACTCTCTTAGAACAAAATGTTAATTTCAGAAAAATACTGTTATCA
AAAGGAATACACCTGAATGTTTTGGAGTTAATGCAGAAGCATATACATTCTCCTGAAGTGGCTGAAAGT
GGCTGTAAAATGCTAAATCATCTTTTTGAAGGAAGCAACACTTCCCTGGATATAATGGCAGCAGTGGTC
CCCAAAATACTAACAGTTATGAAACGTCATGAGACATCATTACCAGTGCAGCTGGAGGCGCTTCGAGCT
ATTTTACATTTTATAGTGCCTGGCATGCCAGAAGAATCCAGGGAGGATACAGAATTTCATCATAAGCTA
AATATGGTTAAAAAACAGTGTTTCAAGAATGATATTCACAAACTGGTCCTAGCAGCTTTGAACAGGTTC
ATTGGAAATCCTGGGATTCAGAAATGTGGATTAAAAGTAATTTCTTCTATTGTACATTTTCCTGATGCA
TTAGAGATGTTATCCCTGGAAGGTGCTATGGATTCAGTGCTTCACACACTGCAGATGTATCCAGATGAC
CAAGAAATTCAGTGTCTGGGTTTAAGTCTTATAGGATACTTGATTACAAAGAAGAATGTGTTCATAGGA
ACTGGACATCTGCTGGCAAAAATTCTGGTTTCCAGCTTATACCGATTTAAGGATGTTGCTGAAATACAG
ACTAAAGGATTTCAGACAATCTTAGCAATCCTCAAATTGTCAGCATCTTTTTCTAAGCTGCTGGTGCAT
CATTCATTTGACTTAGTAATATTCCATCAAATGTCTTCCAATATCATGGAACAAAAGGATCAACAGTTT
CTAAACCTCTGTTGCAAGTGTTTTGCAAAAGTAGCTATGGATGATTACTTAAAAAATGTGATGCTAGAG
AGAGCGTGTGATCAGAATAACAGCATCATGGTTGAATGCTTGCTTCTATTGGGAGCAGATGCCAATCAA
GCAAAGGAGGGATCTTCTTTAATTTGTCAGGTATGTGAGAAAGAGAGCAGTCCCAAATTGGTGGAACTC
TTACTGAATAGTGGATCTCGTGAACAAGATGTACGAAAAGCGTTGACGATAAGCATTGGGAAAGGTGAC
AGCCAGATCATCAGCTTGCTCTTAAGGAGGCTGGCCCTGGATGTGGCCAACAATAGCATTTGCCTTGGA
GGATTTTGTATAGGAAAAGTTGAACCTTCTTGGCTTGGTCCTTTATTTCCAGATAAGACTTCTAATTTA
AGGAAACAAACAAATATAGCATCTACACTAGCAAGAATGGTGATCAGATATCAGATGAAAAGTGCTGTG
GAAGAAGGAACAGCCTCAGGCAGCGATGGAAATTTTTCTGAAGATGTGCTGTCTAAATTTGATGAATGG
ACCTTTATTCCTGACTCTTCTATGGACAGTGTGTTTGCTCAAAGTGATGACCTGGATAGTGAAGGAAGT
GAAGGCTCATTTCTTGTGAAAAAGAAATCTAATTCAATTAGTGTAGGAGAATTTTACCGAGATGCCGTA
TTACAGCGTTGCTCACCAAATTTGCAAAGACATTCCAATTCCTTGGGGCCCATTTTTGATCATGAAGAT
TTACTGAAGCGAAAAAGAAAAATATTATCTTCAGATGATTCACTCAGGTCATCAAAACTTCAATCCCAT
ATGAGGCATTCAGACAGCATTTCTTCTCTGGCTTCTGAGAGAGAATATATTACATCACTAGACCTTTCA
GCAAATGAACTAAGAGATATTGATGCCCTAAGCCAGAAATGCTGTATAAGTGTTCATTTGGAGCATCTT
GAAAAGCTGGAGCTTCACCAGAATGCACTCACGAGCTTTCCACAACAGCTATGTGAAACTCTGAAGAGT
TTGACACATTTGGACTTGCACAGTAATAAATTTACATCATTTCCTTCTTATTTGTTGAAAATGAGTTGT
ATTGCTAATCTTGATGTCTCTCGAAATGACATTGGACCCTCAGTGGTTTTAGATCCTACAGTGAAATGT
CCAACTCTGAAACAGTTTAACCTGTCATATAACCAGCTGTCTTTTGTACCTGAGAACCTCACTGATGTG
GTAGAGAAACTGGAGCAGCTCATTTTAGAAGGAAATAAAATATCAGGGATATGCTCCCCCTTGAGACTG

AAGGAACTGAAGATTTTAAACCTTAGTAAGAACCACATTTCATCCCTATCAGAGAACTTTCTTGAGGCT
TGTCCTAAAGTGGAGAGTTTCAGTGCCAGAATGAATTTTCTTGCTGCTATGCCTTTCTTGCCTCCTTCT
ATGACAATCCTAAAATTATCTCAGAACAAATTTTCCTGTATTCCAGAAGCAATTTTAAATCTTCCACAC
TTGCGGTCTTTAGATATGAGCAGCAATGATATTCAGTACCTACCAGGTCCCGCACACTGGAAATCTTTG
AACTTAAGGGAACTCTTATTTAGCCATAATCAGATCAGCATCTTGGACTTGAGTGAAAAAGCATATTTA
TGGTCTAGAGTAGAGAAACTGCATCTTTCTCACAATAAACTGAAAGAGATTCCTCCTGAGATTGGCTGT
CTTGAAAATCTGACATCTCTGGATGTCAGTTACAACTTGGAACTAAGATCCTTTCCCAATGAAATGGGG
AAATTAAGCAAAATATGGGATCTTCCTTTGGATGAACTGCATCTTAACTTTGATTTTAAACATATAGGA
TGTAAAGCCAAAGACATCATAAGGTTTCTTCAACAGCGATTAAAAAAGGCTGTGCCTTATAACCGAATG
AAACTTATGATTGTGGGAAATACTGGGAGTGGTAAAACCACCTTATTGCAGCAATTAATGAAAACCAAG
AAATCAGATCTTGGAATGCAAAGTGCCACAGTTGGCATAGATGTGAAAGACTGGCCTATCCAAATAAGA
GACAAAAGAAAGAGAGATCTCGTCCTAAATGTGTGGGATTTTGCAGGTCGTGAGGAATTCTATAGTACT
CATCCCCATTTTATGACGCAGCGAGCATTGTACCTTGCTGTCTATGACCTCAGCAAGGGACAGGCTGAA
GTTGATGCCATGAAGCCTTGGCTCTTCAATATAAAGGCTCGCGCTTCTTCTTCCCCTGTGATTCTCGTT
GGCACACATTTGGATGTTTCTGATGAGAAGCAACGCAAAGCCTGCATGAGTAAAATCACCAAGGAACTC
CTGAATAAGCGAGGGTTCCCTGCCATACGAGATTACCACTTTGTGAATGCCACCGAGGAATCTGATGCT
TTGGCAAAACTTCGGAAAACCATCATAAACGAGAGCCTTAATTTCAAGATCCGAGATCAGCTTGTTGTT
GGACAGCTGATTCCAGACTGCTATGTAGAACTTGAAAAAATCATTTTATCGGAGCGTAAAAATGTGCCA
ATTGAATTTCCCGTAATTGACCGGAAACGATTATTACAACTAGTGAGAGAAAATCAGCTGCAGTTAGAT
GAAAATGAGCTTCCTCACGCAGTTCACTTTCTAAATGAATCAGGAGTCCTTCTTCATTTTCAAGACCCA
GCACTGCAGTTAAGTGACTTGTACTTTGTGGAACCCAAGTGGCTTTGTAAAATCATGGCACAGATTTTG
ACAGTGAAAGTGGAAGGTTGTCCAAAACACCCTAAGGGCATTATTTCGCGTAGAGATGTGGAAAAATTT
CTTTCAAAAAAAAGGAAATTTCCAAAGAACTACATGTCACAGTATTTTAAGCTCCTAGAAAAATTCCAG
ATTGCTTTGCCAATAGGAGAAGAATATTTGCTGGTTCCAAGCAGTTTGTCTGACCACAGGCCTGTGATA
GAGCTTCCCCATTGTGAGAACTCTGAAATTATCATCCGACTATATGAAATGCCTTATTTTCCAATGGGA
TTTTGGTCAAGATTAATCAATCGATTACTTGAGATTTCACCTTACATGCTTTCAGGGAGAGAACGAGCA
CTTCGCCCAAACAGAATGTATTGGCGACAAGGCATTTACTTAAATTGGTCTCCTGAAGCTTATTGTCTG
GTAGGATCTGAAGTCTTAGACAATCATCCAGAGAGTTTCTTAAAAATTACAGTTCCTTCTTGTAGAAAA
GGCTGTATTCTTTTGGGCCAAGTTGTGGACCACATTGATTCTCTCATGGAAGAATGGTTTCCTGGGTTG
CTGGAGATTGATATTTGTGGTGAAGGAGAAACTCTGTTGAAGAAATGGGCATTATATAGTTTTAATGAT
GGTGAAGAACATCAAAAAATCTTACTTGATGACTTGATGAAGAAAGCAGAGGAAGGAGATCTCTTAGTA
AATCCAGATCAACCAAGGCTCACCATTCCAATATCTCAGATTGCCCCTGACTTGATTTTGGCTGACCTG
CCTAGAAATATTATGTTGAATAATGATGAGTTGGAATTTGAACAAGCTCCAGAGTTTCTCCTAGGTGAT
GGCAGTTTTGGATCAGTTTACCGAGCAGCCTATGAAGGAGAAGAAGTGGCTGTGAAGATTTTTAATAAA
CATACATCACTCAGGCTGTTAAGACAAGAGCTTGTGGTGCTTTGCCACCTCCACCACCCCAGTTTGATA
TCTTTGCTGGCAGCTGGGATTCGTCCCCGGATGTTGGTGATGGAGTTAGCCTCCAAGGGTTCCTTGGAT
CGCCTGCTTCAGCAGGACAAAGCCAGCCTCACTAGAACCCTACAGCACAGGATTGCACTCCACGTAGCT
GATGGTTTGAGATACCTCCACTCAGCCATGATTATATACCGAGACCTGAAACCCCACAATGTGCTGCTT
TTCACACTGTATCCCAATGCTGCCATCATTGCAAAGATTGCTGACTACGGCATTGCTCAGTACTGCTGT
AGAATGGGGATAAAAACATCAGAGGGCACACCAGGGTTTCGTGCACCTGAAGTTGCCAGAGGAAATGTC
ATTTATAACCAACAGGCTGATGTTTATTCATTTGGTTTACTACTCTATGACATTTTGACAACTGGAGGT
AGAATAGTAGAGGGTTTGAAGTTTCCAAATGAGTTTGATGAATTAGAAATACAAGGAAAATTACCTGAT
CCAGTTAAAGAATATGGTTGTGCCCCATGGCCTATGGTTGAGAAATTAATTAAACAGTGTTTGAAAGAA
AATCCTCAAGAAAGGCCTACTTCTGCCCAGGTCTTTGACATTTTGAATTCAGCTGAATTAGTCTGTCTG
ACGAGACGCATTTTATTACCTAAAAACGTAATTGTTGAATGCATGGTTGCTACACATCACAACAGCAGG
AATGCAAGCATTTGGCTGGGCTGTGGGCACACCGACAGAGGACAGCTCTCATTTCTTGACTTAAATACT
GAAGGATACACTTCTGAGGAAGTTGCTGATAGTAGAATATTGTGCTTAGCCTTGGTGCATCTTCCTGTT
GAAAAGGAAAGCTGGATTGTGTCTGGGACACAGTCTGGTACTCTCCTGGTCATCAATACCGAAGATGGG
AAAAAGAGACATACCCTAGAAAAGATGACTGATTCTGTCACTTGTTTGTATTGCAATTCCTTTTCCAAG
CAAAGCAAACAAAAAAATTTTCTTTTGGTTGGAACCGCTGATGGCAAGTTAGCAATTTTTGAAGATAAG
ACTGTTAAGCTTAAAGGAGCTGCTCCTTTGAAGATACTAAATATAGGAAATGTCAGTACTCCATTGATG
TGTTTGAGTGAATCCACAAATTCAACGGAAAGAAATGTAATGTGGGGAGGATGTGGCACAAAGATTTTC
TCCTTTTCTAATGATTTCACCATTCAGAAACTCATTGAGACAAGAACAAGCCAACTGTTTTCTTATGCA
GCTTTCAGTGATTCCAACATCATAACAGTGGTGGTAGACACTGCTCTCTATATTGCTAAGCAAAATAGC
CCTGTTGTGGAAGTGTGGGATAAGAAAACTGAAAAACTCTGTGGACTAATAGACTGCGTGCACTTTTTA

AGGGAGGTAATGGTAAAAGAAAACAAGGAATCAAAACACAAAATGTCTTATTCTGGGAGAGTGAAAACC
CTCTGCCTTCAGAAGAACACTGCTCTTTGGATAGGAACTGGAGGAGGCCATATTTTACTCCTGGATCTT
TCAACTCGTCGACTTATACGTGTAATTTACAACTTTTGTAATTCGGTCAGAGTCATGATGACAGCACAG
CTAGGAAGCCTTAAAAATGTCATGCTGGTATTGGGCTACAACCGGAAAAATACTGAAGGTACACAAAAG
CAGAAAGAGATACAATCTTGCTTGACCGTTTGGGACATCAATCTTCCACATGAAGTGCAAAATTTAGAA
AAACACATTGAAGTGAGAAAAGAATTAGCTGAAAAAATGAGACGAACATCTGTTGAGTAAGAGAGAAAT
AGGAATTGTCTTTGGATAGGAAAATTATTCTCTCCTCTTGTAAATATTTATTTTAAAAATGTTCACATG
GAAAGGGTACTCACATTTTTTGAAATAGCTCGTGTGTATGAAGGAATGTTATTATTTTTAATTTAAATA
TATGTAAAAATACTTACCAGTAAATGTGTATTTTAAAGAACTATTTAAAACACAATGTTATATTTCTTA
TAAATACCAGTTACTTTCGTTCATTAATTAATGAAAATAAATCTGTGAAGTACCTAATTTAAGTACTCA
TACTAAAATTTATAAGGCCGATAATTTTTTGTTTTCTTGTCTGTAATGGAGGTAAACTTTATTTTAAAT
TCTGTGCTTAAGACAGGACTATTGCTTGTCGATTTTTCTAGAAATCTGCACGGTATAATGAAAATATTA
AGACAGTTTCCCATGTAATGTATTCCTTCTTAGATTGCATCGAAATGCACTATCATATATGCTTGTAAA
TATTCAAATGAATTTGCACTAATAAAGTCCTTTGTTGGTATGTGAATTCTCTTTGTTGCTGTTGCAAAC
AGTGCATCTTACACAACTTCACTCAATTCAAAAGAAAACTCCATTAAAAGTACTAATGAAAAAACATGA
CATACTGTCAAAGTCCTCATATCTAGGAAAGACACAGAAACTCTCTTTGTCACAGAAACTCTCTGTGTC
TTTCCTAGACATAATAGAGTTGTTTTTCAACTCTATGTTTGAATGTGGATACCCTGAATTTTGTATAAT
TAGTGTAAATACAGTGTTCAGTCCTTCAAGTGATATTTTTATTTTTTTATTCATACCACTAGCTACTTG
TTTTCTAATCTGCTTCATTCTAATGCTTATATTCATCTTTTCCCTAAATTTGTGATGCTGCAGATCCTA
CATCATTCAGATAGAAACCTTTTTTTTTTTCAGAATTATAGAATTCCACAGCTCCTACCAAGACCATGA
GGATAAATATCTAACACTTTTCAGTTGCTGAAGGAGAAAGGAGCTTTAGTTATGATGGATAAAAATATC
TGCCACCCTAGGCTTCCAAATTATACTTAAATTGTTTACATAGCTTACCACAATAGGAGTATCAGGGCC
AAATACCTATGTAATAATTTGAGGTCATTTCTGCTTTAGGAAAAGTACTTTCGGTAAATTCTTTGGCCC
TGACCAGTATTCATTATTTCAGATAATTCCCTGTGATAGGACAACTAGTACATTTAATATTCTCAGAAC
TTATGGCATTTTACTATGTGAAAACTTTAAATTTATTTATATTAAGGGTAATCAAATTCTTAAAGATGA
AAGATTTTCTGTATTTTAAAGGAAGCTATGCTTTAACTTGTTATGTAATTAACAAAAAAATCATATATA
ATAGAGCTCTTTGTTCCAGTGTTATCTCTTTCATTGTTACTTTGTATTTGCAATTTTTTTTACCAAAGA
CAAATTAAAAAAATGAATACCATATTTAAATGGAATAATAAAGGTTTTTTAAAAACTTTAAA

SEQ ID NO:2

>SEQ ID NO: 1之反向互補序列

TTTAAAGTTTTTAAAAAACCTTTATTATTCCATTTAAATATGGTATTCATTTTTTTAATTTGTCTTTGG
TAAAAAAAATTGCAAATACAAAGTAACAATGAAAGAGATAACACTGGAACAAAGAGCTCTATTATATAT
GATTTTTTTGTTAATTACATAACAAGTTAAAGCATAGCTTCCTTTAAAATACAGAAAATCTTTCATCTT
TAAGAATTTGATTACCCTTAATATAAATAAATTTAAAGTTTTCACATAGTAAAATGCCATAAGTTCTGA
GAATATTAAATGTACTAGTTGTCCTATCACAGGGAATTATCTGAAATAATGAATACTGGTCAGGGCCAA
AGAATTTACCGAAAGTACTTTTCCTAAAGCAGAAATGACCTCAAATTATTACATAGGTATTTGGCCCTG
ATACTCCTATTGTGGTAAGCTATGTAAACAATTTAAGTATAATTTGGAAGCCTAGGGTGGCAGATATTT
TTATCCATCATAACTAAAGCTCCTTTCTCCTTCAGCAACTGAAAAGTGTTAGATATTTATCCTCATGGT
CTTGGTAGGAGCTGTGGAATTCTATAATTCTGAAAAAAAAAAAGGTTTCTATCTGAATGATGTAGGATC
TGCAGCATCACAAATTTAGGGAAAAGATGAATATAAGCATTAGAATGAAGCAGATTAGAAAACAAGTAG
CTAGTGGTATGAATAAAAAAATAAAAATATCACTTGAAGGACTGAACACTGTATTTACACTAATTATAC
AAAATTCAGGGTATCCACATTCAAACATAGAGTTGAAAAACAACTCTATTATGTCTAGGAAAGACACAG
AGAGTTTCTGTGACAAAGAGAGTTTCTGTGTCTTTCCTAGATATGAGGACTTTGACAGTATGTCATGTT
TTTTCATTAGTACTTTTAATGGAGTTTTCTTTTGAATTGAGTGAAGTTGTGTAAGATGCACTGTTTGCA
ACAGCAACAAAGAGAATTCACATACCAACAAAGGACTTTATTAGTGCAAATTCATTTGAATATTTACAA
GCATATATGATAGTGCATTTCGATGCAATCTAAGAAGGAATACATTACATGGGAAACTGTCTTAATATT
TTCATTATACCGTGCAGATTTCTAGAAAAATCGACAAGCAATAGTCCTGTCTTAAGCACAGAATTTAAA
ATAAAGTTTACCTCCATTACAGACAAGAAAACAAAAAATTATCGGCCTTATAAATTTTAGTATGAGTAC
TTAAATTAGGTACTTCACAGATTTATTTTCATTAATTAATGAACGAAAGTAACTGGTATTTATAAGAAA
TATAACATTGTGTTTTAAATAGTTCTTTAAAATACACATTTACTGGTAAGTATTTTTACATATATTTAA
ATTAAAAATAATAACATTCCTTCATACACACGAGCTATTTCAAAAAATGTGAGTACCCTTTCCATGTGA
ACATTTTTAAAATAAATATTTACAAGAGGAGAGAATAATTTTCCTATCCAAAGACAATTCCTATTTCTC
TCTTACTCAACAGATGTTCGTCTCATTTTTTCAGCTAATTCTTTTCTCACTTCAATGTGTTTTTCTAAA
TTTTGCACTTCATGTGGAAGATTGATGTCCCAAACGGTCAAGCAAGATTGTATCTCTTTCTGCTTTTGT

GTACCTTCAGTATTTTTCCGGTTGTAGCCCAATACCAGCATGACATTTTTAAGGCTTCCTAGCTGTGCT
GTCATCATGACTCTGACCGAATTACAAAAGTTGTAAATTACACGTATAAGTCGACGAGTTGAAAGATCC
AGGAGTAAAATATGGCCTCCTCCAGTTCCTATCCAAAGAGCAGTGTTCTTCTGAAGGCAGAGGGTTTTC
ACTCTCCCAGAATAAGACATTTTGTGTTTTGATTCCTTGTTTTCTTTTACCATTACCTCCCTTAAAAAG
TGCACGCAGTCTATTAGTCCACAGAGTTTTTCAGTTTTCTTATCCCACACTTCCACAACAGGGCTATTT
TGCTTAGCAATATAGAGAGCAGTGTCTACCACCACTGTTATGATGTTGGAATCACTGAAAGCTGCATAA
GAAAACAGTTGGCTTGTTCTTGTCTCAATGAGTTTCTGAATGGTGAAATCATTAGAAAAGGAGAAAATC
TTTGTGCCACATCCTCCCCACATTACATTTCTTTCCGTTGAATTTGTGGATTCACTCAAACACATCAAT
GGAGTACTGACATTTCCTATATTTAGTATCTTCAAAGGAGCAGCTCCTTTAAGCTTAACAGTCTTATCT
TCAAAAATTGCTAACTTGCCATCAGCGGTTCCAACCAAAAGAAAATTTTTTTGTTTGCTTTGCTTGGAA
AAGGAATTGCAATACAAACAAGTGACAGAATCAGTCATCTTTTCTAGGGTATGTCTCTTTTTCCCATCT
TCGGTATTGATGACCAGGAGAGTACCAGACTGTGTCCCAGACACAATCCAGCTTTCCTTTTCAACAGGA
AGATGCACCAAGGCTAAGCACAATATTCTACTATCAGCAACTTCCTCAGAAGTGTATCCTTCAGTATTT
AAGTCAAGAAATGAGAGCTGTCCTCTGTCGGTGTGCCCACAGCCCAGCCAAATGCTTGCATTCCTGCTG
TTGTGATGTGTAGCAACCATGCATTCAACAATTACGTTTTTAGGTAATAAAATGCGTCTCGTCAGACAG
ACTAATTCAGCTGAATTCAAAATGTCAAAGACCTGGGCAGAAGTAGGCCTTTCTTGAGGATTTTCTTTC
AAACACTGTTTAATTAATTTCTCAACCATAGGCCATGGGGCACAACCATATTCTTTAACTGGATCAGGT
AATTTTCCTTGTATTTCTAATTCATCAAACTCATTTGGAAACTTCAAACCCTCTACTATTCTACCTCCA
GTTGTCAAAATGTCATAGAGTAGTAAACCAAATGAATAAACATCAGCCTGTTGGTTATAAATGACATTT
CCTCTGGCAACTTCAGGTGCACGAAACCCTGGTGTGCCCTCTGATGTTTTTATCCCCATTCTACAGCAG
TACTGAGCAATGCCGTAGTCAGCAATCTTTGCAATGATGGCAGCATTGGGATACAGTGTGAAAAGCAGC
ACATTGTGGGGTTTCAGGTCTCGGTATATAATCATGGCTGAGTGGAGGTATCTCAAACCATCAGCTACG
TGGAGTGCAATCCTGTGCTGTAGGGTTCTAGTGAGGCTGGCTTTGTCCTGCTGAAGCAGGCGATCCAAG
GAACCCTTGGAGGCTAACTCCATCACCAACATCCGGGGACGAATCCCAGCTGCCAGCAAAGATATCAAA
CTGGGGTGGTGGAGGTGGCAAAGCACCACAAGCTCTTGTCTTAACAGCCTGAGTGATGTATGTTTATTA
AAAATCTTCACAGCCACTTCTTCTCCTTCATAGGCTGCTCGGTAAACTGATCCAAAACTGCCATCACCT
AGGAGAAACTCTGGAGCTTGTTCAAATTCCAACTCATCATTATTCAACATAATATTTCTAGGCAGGTCA
GCCAAAATCAAGTCAGGGGCAATCTGAGATATTGGAATGGTGAGCCTTGGTTGATCTGGATTTACTAAG
AGATCTCCTTCCTCTGCTTTCTTCATCAAGTCATCAAGTAAGATTTTTTGATGTTCTTCACCATCATTA
AAACTATATAATGCCCATTTCTTCAACAGAGTTTCTCCTTCACCACAAATATCAATCTCCAGCAACCCA
GGAAACCATTCTTCCATGAGAGAATCAATGTGGTCCACAACTTGGCCCAAAAGAATACAGCCTTTTCTA
CAAGAAGGAACTGTAATTTTTAAGAAACTCTCTGGATGATTGTCTAAGACTTCAGATCCTACCAGACAA
TAAGCTTCAGGAGACCAATTTAAGTAAATGCCTTGTCGCCAATACATTCTGTTTGGGCGAAGTGCTCGT
TCTCTCCCTGAAAGCATGTAAGGTGAAATCTCAAGTAATCGATTGATTAATCTTGACCAAAATCCCATT
GGAAAATAAGGCATTTCATATAGTCGGATGATAATTTCAGAGTTCTCACAATGGGGAAGCTCTATCACA
GGCCTGTGGTCAGACAAACTGCTTGGAACCAGCAAATATTCTTCTCCTATTGGCAAAGCAATCTGGAAT
TTTTCTAGGAGCTTAAAATACTGTGACATGTAGTTCTTTGGAAATTTCCTTTTTTTTTGAAAGAAATTTT
TCCACATCTCTACGCGAAATAATGCCCTTAGGGTGTTTTGGACAACCTTCCACTTTCACTGTCAAAATC
TGTGCCATGATTTTACAAAGCCACTTGGGTTCCACAAAGTACAAGTCACTTAACTGCAGTGCTGGGTCT
TGAAAATGAAGAAGGACTCCTGATTCATTTAGAAAGTGAACTGCGTGAGGAAGCTCATTTTCATCTAAC
TGCAGCTGATTTTCTCTCACTAGTTGTAATAATCGTTTCCGGTCAATTACGGGAAATTCAATTGGCACA
TTTTTACGCTCCGATAAAATGATTTTTTCAAGTTCTACATAGCAGTCTGGAATCAGCTGTCCAACAACA
AGCTGATCTCGGATCTTGAAATTAAGGCTCTCGTTTATGATGGTTTTCCGAAGTTTTGCCAAAGCATCA
GATTCCTCGGTGGCATTCACAAAGTGGTAATCTCGTATGGCAGGGAACCCTCGCTTATTCAGGAGTTCC
TTGGTGATTTTACTCATGCAGGCTTTGCGTTGCTTCTCATCAGAAACATCCAAATGTGTGCCAACGAGA
ATCACAGGGGAAGAAGAAGCGCGAGCCTTTATATTGAAGAGCCAAGGCTTCATGGCATCAACTTCAGCC
TGTCCCTTGCTGAGGTCATAGACAGCAAGGTACAATGCTCGCTGCGTCATAAAATGGGGATGAGTACTA
TAGAATTCCTCACGACCTGCAAAATCCCACACATTTAGGACGAGATCTCTCTTTCTTTTGTCTCTTATT
TGGATAGGCCAGTCTTTCACATCTATGCCAACTGTGGCACTTTGCATTCCAAGATCTGATTTCTTGGTT
TTCATTAATTGCTGCAATAAGGTGGTTTTACCACTCCCAGTATTTCCCACAATCATAAGTTTCATTCGG
TTATAAGGCACAGCCTTTTTTAATCGCTGTTGAAGAAACCTTATGATGTCTTTGGCTTTACATCCTATA
TGTTTAAAATCAAAGTTAAGATGCAGTTCATCCAAAGGAAGATCCCATATTTTGCTTAATTTCCCCATT
TCATTGGGAAAGGATCTTAGTTCCAAGTTGTAACTGACATCCAGAGATGTCAGATTTTCAAGACAGCCA
ATCTCAGGAGGAATCTCTTTCAGTTTATTGTGAGAAAGATGCAGTTTCTCTACTCTAGACCATAAATAT
GCTTTTTCACTCAAGTCCAAGATGCTGATCTGATTATGGCTAAATAAGAGTTCCCTTAAGTTCAAAGAT

TTCCAGTGTGCGGGACCTGGTAGGTACTGAATATCATTGCTGCTCATATCTAAAGACCGCAAGTGTGGA
AGATTTAAAATTGCTTCTGGAATACAGGAAAATTTGTTCTGAGATAATTTTAGGATTGTCATAGAAGGA
GGCAAGAAAGGCATAGCAGCAAGAAAATTCATTCTGGCACTGAAACTCTCCACTTTAGGACAAGCCTCA
AGAAAGTTCTCTGATAGGGATGAAATGTGGTTCTTACTAAGGTTTAAAATCTTCAGTTCCTTCAGTCTC
AAGGGGGAGCATATCCCTGATATTTTATTTCCTTCTAAAATGAGCTGCTCCAGTTTCTCTACCACATCA
GTGAGGTTCTCAGGTACAAAAGACAGCTGGTTATATGACAGGTTAAACTGTTTCAGAGTTGGACATTTC
ACTGTAGGATCTAAAACCACTGAGGGTCCAATGTCATTTCGAGAGACATCAAGATTAGCAATACAACTC
ATTTTCAACAAATAAGAAGGAAATGATGTAAATTTATTACTGTGCAAGTCCAAATGTGTCAAACTCTTC
AGAGTTTCACATAGCTGTTGTGGAAAGCTCGTGAGTGCATTCTGGTGAAGCTCCAGCTTTTCAAGATGC
TCCAAATGAACACTTATACAGCATTTCTGGCTTAGGGCATCAATATCTCTTAGTTCATTTGCTGAAAGG
TCTAGTGATGTAATATATTCTCTCTCAGAAGCCAGAGAAGAAATGCTGTCTGAATGCCTCATATGGGAT
TGAAGTTTTGATGACCTGAGTGAATCATCTGAAGATAATATTTTTCTTTTTCGCTTCAGTAAATCTTCA
TGATCAAAAATGGGCCCCAAGGAATTGGAATGTCTTTGCAAATTTGGTGAGCAACGCTGTAATACGGCA
TCTCGGTAAAATTCTCCTACACTAATTGAATTAGATTTCTTTTTCACAAGAAATGAGCCTTCACTTCCT
TCACTATCCAGGTCATCACTTTGAGCAAACACACTGTCCATAGAAGAGTCAGGAATAAAGGTCCATTCA
TCAAATTTAGACAGCACATCTTCAGAAAAATTTCCATCGCTGCCTGAGGCTGTTCCTTCTTCCACAGCA
CTTTTCATCTGATATCTGATCACCATTCTTGCTAGTGTAGATGCTATATTTGTTTGTTTCCTTAAATTA
GAAGTCTTATCTGGAAATAAAGGACCAAGCCAAGAAGGTTCAACTTTTCCTATACAAAATCCTCCAAGG
CAAATGCTATTGTTGGCCACATCCAGGGCCAGCCTCCTTAAGAGCAAGCTGATGATCTGGCTGTCACCT
TTCCCAATGCTTATCGTCAACGCTTTTCGTACATCTTGTTCACGAGATCCACTATTCAGTAAGAGTTCC
ACCAATTTGGGACTGCTCTCTTTCTCACATACCTGACAAATTAAAGAAGATCCCTCCTTTGCTTGATTG
GCATCTGCTCCCAATAGAAGCAAGCATTCAACCATGATGCTGTTATTCTGATCACACGCTCTCTCTAGC
ATCACATTTTTTAAGTAATCATCCATAGCTACTTTTGCAAAACACTTGCAACAGAGGTTTAGAAACTGT
TGATCCTTTTGTTCCATGATATTGGAAGACATTTGATGGAATATTACTAAGTCAAATGAATGATGCACC
AGCAGCTTAGAAAAAGATGCTGACAATTTGAGGATTGCTAAGATTGTCTGAAATCCTTTAGTCTGTATT
TCAGCAACATCCTTAAATCGGTATAAGCTGGAAACCAGAATTTTTGCCAGCAGATGTCCAGTTCCTATG
AACACATTCTTCTTTGTAATCAAGTATCCTATAAGACTTAAACCCAGACACTGAATTTCTTGGTCATCT
GGATACATCTGCAGTGTGTGAAGCACTGAATCCATAGCACCTTCCAGGGATAACATCTCTAATGCATCA
GGAAAATGTACAATAGAAGAAATTACTTTTAATCCACATTTCTGAATCCCAGGATTTCCAATGAACCTG
TTCAAAGCTGCTAGGACCAGTTTGTGAATATCATTCTTGAAACACTGTTTTTTAACCATATTTAGCTTA
TGATGAAATTCTGTATCCTCCCTGGATTCTTCTGGCATGCCAGGCACTATAAAATGTAAAATAGCTCGA
AGCGCCTCCAGCTGCACTGGTAATGATGTCTCATGACGTTTCATAACTGTTAGTATTTTGGGGACCACT
GCTGCCATTATATCCAGGGAAGTGTTGCTTCCTTCAAAAAGATGATTTAGCATTTTACAGCCACTTTCA
GCCACTTCAGGAGAATGTATATGCTTCTGCATTAACTCCAAAACATTCAGGTGTATTCCTTTTGATAAC
AGTATTTTTCTGAAATTAACATTTTGTTCTAAGAGAGTTGACAATGCATTCGCAGATGCCTGGAAAACT
TCCTTTGATGAAGAATGCATCAGCATGGAGAGCATCACTTCCCTATGAGCTGGGAAATGGCCATCTTCA
TCTCCAATCTTCTCATGTAAACTGTTTTGGTACATAAGGAGATTATTTAGTGCCCAGCATGCGGCCTCC
TGCACGTGCTTGTTCTTTCTATGCCACGTTAATGCTTTGTAACAGGCTTCCAGCCAAAACAATTTATCT
TCTTCCCCCTCATCATCATTCTCTTGATTCTCATTCTTTTCCTCTAAATCTTGATTTAAGAAAATAGTC
TCAGTGAGGAGGGCCAAACAGCTGAGCGCTGAGATCTGCAATGCTGCATTCTCTGGGTACTGCTGCACA
GCTTTCACCACAAACTCATGGACTTCGTTTAATACCAGGATATTGAAAAAATTACCTAATGTAAGCCTA
TGGAGCAAACAGCAACTCACTTCTTGAATTCTTTCACTCATAGGGAATGCTTTCATAGCTTCCACCACA
ATATTATAACACCTGACATTGCCACTCATGAGGACTTCCACATTATTGCAAGGAATCGCTAGGGAATGT
AAACAATGCAGCACATGAAGCACAATTTCCTCTTCATCTTTAAAATTTGTTAACGCACTTAACAATATC
ATATAATCTTTGTTCTCAACAAATTCAGTCAGTTGCTCCTCTGAGACTCTCTCAAACAGCACATGTAAA
GCTTTGCATCCAAGTTTCTGGACTTCATCATTGGCTGGAAATGAGTGCATGGCATCAAAAATTAACATG
AAAATATCACTTTCTTCATCCAATATCAGCAAGGTGATTTTACCTGAAGTTAGGAGGAGATCTAAGGTC
TTCAGTCCAATCACTGACAAGTTTACACTGGCATTATGAACTGTTAGCATTTTAAGAATCAATTGGTGA
ACACCAAGGACTTCCCAATCATTTCCAACATCCTGGGGTCCCATTAAGCTTTGCATTGTACCTGGACAG
ACTTCTATTAATTTGCACAGAAGTGACCAACCCACCTGCTGCACACTCGCGACTCTCATATAGGAGTCC
AAGACGATCAACAGAGGCACATGGATATTTTTGCCTTGAAATAACTTGGAGGCGCGCTCGGAGTACGTG
AACACCAGCAGATCCTCCAGGATTTGGACCAGCGTTTCTATCTGTTTTCCTTCCTGGACATTGTTCAGC
CTGACTATCAACTTCTTCAGAGTTTCCTCGTCCTCTTCGCACCCCTGACAGCTGCCACTAGCCATGGTG
GCACCTGCTTCCAACCCGCCGCCCTCCCAGCATGAACGTCCGCTGCTCAGGGAACCGGCAGGGGCGCCG
GCCACAGCTCCCCGGGGGCGAGCTCAGCTCACCGCCCGCAGCCAGCGCTCCCCGCGGGCCCC

SEQ ID NO:3

> 預測XM_015151449.2：恆河獼猴富含白胺酸之重複激酶2 (LRRK2)，轉錄物變異體X1，mRNA

ACGGGCACGGTCATCCCGGCCAGGCCCGGCTCCAGCAGCCCCACGGCCGCCGCCGAAGTTCTGCGCGGC
CCGTCGCCCCGGCGGAGCCTCTGGCAGGCCCCTGAGCTGGTTTTTTGGGGCCTGGCTGGGGGAGGAGGA
AGCCGAGCAGGAGGGCTCTGGAGAGGGAGGGCAACGCGGGGCGGGGAGCCACCGCCTTCCTCATAAACA
GGCGGGCGTGGGCGCCGACGGGGCCCCCGGGGAGCCCTGGCTGAGGGCGGTGAGCTGAGCTAGATCCCG
GGGAGCTGTGGCCGGCGCCCCTGCCGGTTCCCTGAGCAGCGGACGTTCGTGCTGGGAGGGCGGCGGGTT
GGAAGCAGGGGCCACCATGGCTAGTGGCAGCTGTCAGGGGTGCGAGGAGGACGAGGAAACTCTGAAGAA
GTTGATAGTCAGGCTGAACAATGTCCAGGAAGGTAAACAGATAGAAACGCTGGTCCAAATCCTGGAGGA
TCTGCTGGTGTTCACGTACTCCGAGCACGCCTCCAAGTTATTTCAAGGCAAAAATATCCATGTGCCTCT
GTTGATCGTCTTGGACTCGTATATGAGAGTCGCGAGTGTGCAGCAGGTGGGTTGGTCACTTCTGTGCAA
ATTAATAGAAATCTGCCCGGGTACAATGCAAAGCTTAATGGGACCCCAGGATGTTGGAAATGATTGGGA
AGTCCTTGGTGTTCACCAATTGATTCTTAAAATGCTAACAGTTCATAATGCCAGTGTAAACTTGTCAAT
GATTGGACTGAAGACCTTAGATCTCCTCCTAACTTCAGGTAAAATCACCTTACTGATATTGGATGAAGA
AAGTGATATTTTCATGTTAATTTTTGATGCCATGCACTCATTTCCAGCCAATGATGAAATCCAGAAACT
TGGATGCAAAGCTTTACATGTGCTGTTTGAAAGAGTCTCAGAGGAGCAACTAACTGAATTTGTTGAGAA
CAAAGATTATATGATATTGTTAAGTGCGTTAACAAATTTTAAAGATGAAGAGGAAATTGTGCTTCATGT
ACTGCATTGTTTACATTCCCTAGCAATTCCTTGCAATAATGTGGAAGTCCTCATGAGTGGCAATGTCAG
GTGTTATAATATTGTGGTGGAAGCTATGAAAGCATTCCCTATCAGTGAAAAAATTCAAGAAGTGAGTTG
CTGTTTGCTCCATAGGCTTACATTAGGTAATTTTTTTAATATCCTGGTATTAAACGAAGTCCATGAATT
TGTGGTGAAAGCTGTGCAGCGGTACCCAGAGAACGCAGCATTACAGATCTCAGCGCTCAGCTGTTTGGC
CCTCCTCACTGAGACCATTTTCTTAAATCAAGATTTAGAGGAAAAGAATGAGAATCAAGAGAATGATGA
TGAGGGGGAAGAAGTTAAATTGTTTTGGCTGGAAGCCTGTTACAAAGCGTTAACGTGGCATAGAAAGAA
CAAGCACGTGCAGGAGGCTGCATGCTGGGCACTAAATAATCTCCTTATGTACCAAAACAGTTTACATGA
GAAGATTGGAGATGAAGATGGCCATTTCCCAGCTCATAGGGAAGTGATGCTGTCCATGCTGATGCATTC
ATCATCAAAGGAAGTTTTCCAGGCATCTGCTAATGCATTGTCAACTCTTTTAGAACAAAATGTTAATTT
CAGAAAAATCCTGTTATCAAAAGGAATATACCTGAATGTTTTGGAGTTAATGCAGAAGCATATACATTC
TCCTGAAGTGGCTGAAAGTGGCTGTAAAATGCTAAATCATCTTTTTGAAGGAAGCAACACATCCCTGGA
TACAATGGCAGCAGTGCTCCCCAAAATAATAACAGTTATGAAAAGTCATGAGACATCATTACCAGTGCA
GCTGGAGGCGCTTCGAGCTATTTTACATTTTATAGTGCCAGGCATGCCAGAAGAATCCAGAGAGGATGC
AGAATCTCATCGTAAGCTAAATATGGTTAAAAAACAGTGTTTCAAGAATGATATTCACAAACTGGTCCT
AGCAGCTTTGAACAGGTTCATTGGAAATCCTGGGATTCAGAAATGTGGATTAAAAGTAATTTCTTTTAT
TGCACATTTTACTGATGCATTAGGGGTGTTATCCCTGGAAGGTGCTGTGGATTCAGTGCTTCACACACT
GCAGATGTATCCAGATGACCAAGAAATTCAGTGTCTGGGTTTAAGTCTTATAGGATGCTTGATTACAAA
GAAGAATTTATGCATAGGAACTGGACATCTGCTGGCAAAAATTCTGGCTTCCAGCTTATACCGATTTAA
GGATGTTGCTGAAGTACAGACTGAAGGATTTCAGACAATCTTAGCAATCCTCAAATTGTCAGCATCTTT
TTCTAAGCTGCTGGTGCATCATTCGTTTGACTTAGTAATATTCCATCAAATGTCTTCCAGTATCATGGA
ACAAAAGGATCAACAGTTTCTAAACCTCTGTTGCAAGTGTTTTGCAAAAGTAGCTATGGATGATGACTT
AAAAAATATGATGCTAGAGAGAGCGTGTGATCAGAATAACAGCATCATGGTTGAATGCTTGCTTCTATT
AGGAGCAGATGCCAATCAAGCAAAGGAGGGAACTTCTTTAATTTGTCAGGTATGTGAGAAAGAGAGCAG
TCCCAAATTGGTGGAACTCTTATTGAATAGTGGATCTCGTGAACAAGATGTACGAAAAGCGCTGACAAT
AAGCATTGGGAAAGGCGACAGCCAGATCATCAGCTTGCTCTTAAGGAGGCTGGCCCTGGACATGGCCAA
CAATAGCATTTGCCTTGGAGGGTTTTGTATAGGAAAAGTTGAACCTTCTTGGCTTGGTCCTTTATTTCC
AGATAAGACTTCTAATTTAAGGAAACAAACAAATATAGCATCTACACTAGCAAGAATGGTGATCAGATA
TCAGATGAAAAGTGCCATGGAAGAAGGAGCAGCCTCAGGCAGTGATGGAAATTTTTCTGAAGATGTGCT
GTCTAAATTTGATGAATGGACCTTTATTCCTGACTCTTCTATGGACAGTGTCTTTGCTCAAAGTGATGA
TCTAGATAGTGAAGGAAGTGAAGGCTCATTTCTTGTGAAAAAGAAATCAAATTCAATTAGTGTAGGAGA
ATTTTACCGAGATGCCGTATTACAACGTTGCTCACCAAATTTGCAAAGGCATTCCAGTTCCTTGGGGCC
CATTTTTGATCATGAAGATTTACTGAGAAGAAAAAGAAAAATATTATCTTCAGATGATTCACTCAGGTC
ATCAAAACTTCAATCCCATATGAGGCATTCAGACAGCATTTCTTCTCTGGCTTCTGAGAGAGAATATAT
TACATCACTAGACCTTTCAGCAAATGAACTAAGAGATATTGATGCCCTAAGCCAGAAATCCTGTATAAG
TGGTCATTTGGAGCATCTTGAAAAGCTGGAGCTTCACCAGAATGCACTCACGAGCTTTCCACAACAGCT
ATGTGAAACTCTGAAGAGTTTGACACATTTGGACTTGCACAGTAATAAATTTACATCATTTCCTTCTTA

CTTGTTGAAAATGAGTTGTGTTGCTAACCTTGATGTCTCTCGAAATGACATTGGACCCTCAGTGGTTTT
AGATCCTGCAGTGAAATGTCCAACTCTGAAACAGTTTAACCTGTCATATAACCAGCTGTCTTCTGTTCC
TGAGAACCTTGCTGATGGGATAGAGAAACTGGAGCAGCTCATTTTAGAAGGAAATAAAATATCAGGGAT
ATGCTCCCCCTTGAGACTGAAGGAACTGAAGATTTTAAACCTTAGTAAAAACCACATTTCATCCCTATC
AGAGAACTTTCTTGAGGCTTGTCCTAAAGTGGAGAGTTTCAGTGCCAGAATGAATTTTCTTGCTGCTAT
GCCTTTCTTGCCTCCTTCCATGACAAGCCTAAAATTATCTCAAAACAAATTTACATGTATTCCAGAAGC
AATTTTAAATCTTCCACACTTGCGGTCTTTAGATATGAGCAGCAATGATATTCAATATCTACCAGGTCC
TGCACACTGGAAATCTTTGAACTTAAGGGAACTCTTATTTAGCCATAATCAGATCAGCATCTTGGACTT
GAGTGAAAAAGCGTATTTATGGTCTAGAGTAGAGAAACTGCATCTTTCTCACAATAAACTGAAAGAGAT
TCCTCCTGAGATTGGCTGTCTTGAAAATCTGACATCTCTGGATGTCAGTTACAACTTGGAACTAAGATC
CTTTCCCAATGAAATGGGGAAATTAAGCAAAATATGGGATCTTCCTTTGGATGAACTGCGTCTTAACTT
TGATTTTAAACATATAGGATGTAAAGCCAAAGACATCATAAGGTTTCTTCAGCAGCGGTTAAAAAAGGC
TGTGCCCTATAACCGAATGAAACTTATGGTTGTTGGAAATACTGGGAGTGGTAAAACCACCTTGTTGCA
GCAATTAATGAAAACCAAGAAATCAGATCTTGGAATGCAAAGTGCCACAGTTGGCATAGATGTGAAAGA
CTGGCCTATCCAAATAAGAGGCAAAAGAAAGAGAGATCTCGTTCTGAATGTGTGGGATTTTGCAGGTCG
TGAGGAATTCTATAGCACTCATCCTCATTTTATGACGCAGCGAGCATTGTACCTTGCTGTCTATGACCT
TAGCAAAGGACAGGCTGAAGTTGATGCCATGAAGCCTTGGCTCTTCAATATAAAGGCTCGCGCTTCTTC
TTCCCCTGTGATTCTCGTTGGCACACATTTGGATGTTTCTGATGAGAGGCAGCGCAAAGCCTGCATAGG
TAAAATCACCAAGGAACTCCTGAATAAGCGAGGGTTCCCTGCTATACGAGATTACCACTTTGTGAATGC
CACCGAGGAATCTGATGCTTTGGCAAAACTTCGGAAAACCATCATAAACGAGAGCCTTAATTTCAAGAT
CCGAGATCAGCCTGTTGTTGGACAGCTGATTCCAGACTGCTATGTAGAACTTGAGAAAATCATTTTATC
GGAGCGTAAAAATGTGCCAATTGAATTTCCTGTAATTGACCAGAAACGATTATTACAACTAGTGAGAGA
AAATCAGTTGCAGTTAGATGAAAATGAGCTTCCTCACGCAGTTCACTTTCTAAATGAATCAGGAGTCCT
TCTTCATTTTCAAGACCCAGCACTGCAGTTAAGTGACTTGTATTTTGTGGAACCCAAGTGGCTTTGTAA
AATCATGGCACAGATTTTGACAGTGAAAGTGGAAGGTTGTCCAAAACACCCTAAGGGAATTATTTCACG
TAGAGATGTGGAAAAATTTCTTTCGAAGAAAAGGAGATTTCCAAAGAACTACATGTCACAGTATTTTAA
GCTCCTAGAAAAATTCCAGATTGCTTTGCCAATAGGAGAAGAATATTTGCTGGTTCCAAGCAGTTTGTC
TGACCACAGGCCTGTGATAGAGCTTCCCCATTGTGAGAACTCTGAAATTATCATCCGACTATATGAAAT
GCCTTATTTTCCAATGGGATTTTGGTCGAGGTTAATCAATCGATTACTTGAGATTTCACCTTACATGCT
TTCAGGGAGAGAACGAGCACTTCGCCCAAACAGAATGTATTGGCGACAAGGCATCTACTTAAATTGGTC
TCCTGAAGCTTATTGTCTGGTAGGATCTGAAGTCTTAGACAATCACCCAGAGAGTTTCTTAAAAATTAC
AGTTCCTTCTTGTAGAAAAGGCTGTATTCTTTTGGGCCAAGTTGTGGACCACATTGATTCTCTCATGGA
GGAATGGTTTCCTGGGTTGCTGGAGATTGATATTTGTGGTGAAGGAGAAACTCTGTTGAAGAAATGGGC
ATTATATAGTTTTAATGATGGTGAAGAGCATCAAAAAATCTTACTTGATGACTTGATGAAGAAAGCAGA
GGAAGGAGATCTCTTAGTAAATCCAGATCAACCAAGGCTCACCATTCCAATATCTCAGATTGCCCCTGA
CTTGATTTTGGCTGACCTGCCTAGAAATATTATGTTGAATAATGATGAGCTGGAATTTGAACAAGCTCC
AGAGTTTCTCCTAGGTGATGGCAGTTTTGGATCAGTTTATCGAGCAGCCTATGAAGGAGAAGAAGTGGC
TGTGAAGATTTTTAATAAACACACATCACTTAGGCTGTTAAGACAAGAGCTGGTGGTGCTTTGCCACCT
CCACCACCCCAGTTTGATATCTTTGCTGGCAGCTGGTATTCGTCCCCGGATGTTGGTGATGGAGTTAGC
CTCCAAGGGTTCCTTGGATCGCCTGCTTCAGCAGGACAAAGCCAGCCTCACTAGAACCCTACAGCACAG
GATTGCACTCCATGTGGCTGATGGTTTGAGATACCTCCATTCAGCCATGATTATATACCGAGACTTGAA
GCCCCACAATGTGCTGCTTTTCACACTGTATCCCAATGCTGCCATCATTGCAAAGATTGCTGACTACGG
CATTGCTCAGTACTGCTGTAGAATGGGGATAAAAACGTCAGAGGGCACACCAGGGTTTCGTGCACCTGA
AGTTGCCAGAGGAAATGTCATTTATAATCAACAAGCTGATGTTTATTCATTTGGTTTGCTACTCTATGA
CATTTTGACAACTGGAGGTAGAATAGTAGAGGGTTTGAAGTTTCCAAATGAGTTTGATGAATTAGCAAT
ACAAGGAAAATTACCTGATCCAGTTAAAGAATATGGTTGTGCCCCATGGCCTATGGTTGAGAAATTAAT
TACAAAGTGTTTGAAAGAAAATCCTCAAGAAAGGCCTACTTCTGCCCAGGTCTTTGACATTTTGAATTC
AGCTGAATTAGTCTGTCTGACGAGACACATTTTATTACCTAAAAACGTAATTGTTGACTGCATGGTTGC
TACACATCACAACAGCAGGAATGCAAGCATTTGGCTGGGCTGTGGGCACACCAACAGAGGACAGCTCTC
ATTTCTTGACTTAAATACTGAAGGATACACTTCTGAGGAGGTTGCTGATAGTAGAATATTGTGCTTAGC
CTTGGTGCATCTTCCTGTTCAAAAAGAAAGCTGGATTGTGTCCGGGACACAGTCTGGTACTCTCCTGGT
CATCAATACCGAAGATGGGAAAAAGAGACATACCCTAGAAAAGATGACTGATTCCATCACTTGTTTGTA
TTGCAATTCCTTTTCCAAGCAAAGCAAACAAAAAAATTTTCTTTTGGTTGGAACCGCTGATGGCAATTT
AGCAATTTTTGAAGATAAAACTGTTAAGCTTGAAGGAGCTGCTCCTTTGAAGATACTAAATATAGGAAA
TGTCAGTACTCCATTGATGTGTTTGAGTGAATCCACAAATTCAACAGAAAGAAATGTAATGTGGGGAGG

ATGTGGCACAAAGATTTTCTCCTTTTCTAATGATTTCACCATTCAGAAACTCATTGAGACAAGAACAAG
CCAACTGTTCTCAAGTGATTCTAAAGTATATTCGAGGTTAAGATATACTGCAGACTGCAATGTATTGTT
TTCTTACGCAGCTTTCAGTGATTCCAACATCGTAACAGTGGTGGTAGACACTGTTCTCTATATTGCTAA
GAAAAATAGCCCTGTTGTGGAAGTGTGGGATAAGAAAACTGAAAAACTCTGCGAACTAATAGACTGTGT
GCATTTTTTAAGGGAGGTAATGGTAAAAGTAAACAAGGAATCAAAACACAAAATGTCTTATTCTGGGAG
AGTGAAAGCTCTCTGCCTTCAGAAGAACACTGCTCTTTGGATAGGAACTGGAGGAGGCCATATTTTACT
CCTGGATCTTTCAACTCGTCGAGTTATACGTATAATTTACAACTTTTGTGATTCGGTCAGAGTCATGAT
GACAGCACAGCTAGGGAGCCTTAAAAATGTCATGCTGGTATTGGGCTATAACCGGAAAAGTACTGAAGG
TACACAACAGCAGAAAGAGATACAATCTTGCTTGACTGTTTGGGACATCAATCTTCCACATGAAGTGCA
AAATTTAGAAAAACACATTGAAGTGAGAAAAGAATTAGCTGAAAAAATGAGAGGAACATCTATTGAATA
AGAGAGAAACAGGAATTGTCTTTGGATAGGAAAATTATTCTCTTGTAAATATTTATTTAAAAATGTTCA
CATGAAAAGGGTACTCACATTTTTTGAAATAGCTCATGTGTATATGAAGGAATGTTATATTTTTAATTT
AAATATATGTAAAAATACTTACCAGTAAACATATATTTTAAAGAACTATTTAAAACACAATGTTGTATT
TCTTATGAATACCAGTTACTTTTGTGCATTAATTAATGAAAATAAATCTGTGAAATACCTAATTTAAGT
ACTCATACTAAAATTTATAAGGCCGATAATTTTTTGTTTTCTTGTCTGTAATGAAGATAAACTTTATTT
TAAATTCTATGCTTAAGACAAGACTATTGCTTGTTGATTTTTCTAGAAATCCGCAAGGTAGAATGAAAA
TATTAAGACAGTTTCCCGTGTAATGTATTCCCTCTTAGATTGCTTTGAAATGCACTATCATATATGCTT
GCAAATATTCAAATGAATTTGCACTAATAAATTCCTTTGTTGGTATGTGAATTCTCTTTGTTGCTGTTG
CAGACAGTGCATCTTACACAACTTCACTCAATCCAAAAGAAAACTCCATTAAAAGTACTAA

SEQ ID NO:4

>SEQ ID NO: 3之反向互補序列

TTAGTACTTTTAATGGAGTTTTCTTTTGGATTGAGTGAAGTTGTGTAAGATGCACTGTCTGCAACAGCA
ACAAAGAGAATTCACATACCAACAAAGGAATTTATTAGTGCAAATTCATTTGAATATTTGCAAGCATAT
ATGATAGTGCATTTCAAAGCAATCTAAGAGGGAATACATTACACGGGAAACTGTCTTAATATTTTCATT
CTACCTTGCGGATTTCTAGAAAAATCAACAAGCAATAGTCTTGTCTTAAGCATAGAATTTAAAATAAAG
TTTATCTTCATTACAGACAAGAAAACAAAAAATTATCGGCCTTATAAATTTTAGTATGAGTACTTAAAT
TAGGTATTTCACAGATTTATTTTCATTAATTAATGCACAAAAGTAACTGGTATTCATAAGAAATACAAC
ATTGTGTTTTAAATAGTTCTTTAAAATATATGTTTACTGGTAAGTATTTTTACATATATTTAAATTAAA
AATATAACATTCCTTCATATACACATGAGCTATTTCAAAAAATGTGAGTACCCTTTTCATGTGAACATT
TTTAAATAAATATTTACAAGAGAATAATTTTCCTATCCAAAGACAATTCCTGTTTCTCTCTTATTCAAT
AGATGTTCCTCTCATTTTTTCAGCTAATTCTTTTCTCACTTCAATGTGTTTTTCTAAATTTTGCACTTC
ATGTGGAAGATTGATGTCCCAAACAGTCAAGCAAGATTGTATCTCTTTCTGCTGTTGTGTACCTTCAGT
ACTTTTCCGGTTATAGCCCAATACCAGCATGACATTTTTAAGGCTCCCTAGCTGTGCTGTCATCATGAC
TCTGACCGAATCACAAAAGTTGTAAATTATACGTATAACTCGACGAGTTGAAAGATCCAGGAGTAAAAT
ATGGCCTCCTCCAGTTCCTATCCAAAGAGCAGTGTTCTTCTGAAGGCAGAGAGCTTTCACTCTCCCAGA
ATAAGACATTTTGTGTTTTGATTCCTTGTTTACTTTTACCATTACCTCCCTTAAAAAATGCACACAGTC
TATTAGTTCGCAGAGTTTTTCAGTTTTCTTATCCCACACTTCCACAACAGGGCTATTTTTCTTAGCAAT
ATAGAGAACAGTGTCTACCACCACTGTTACGATGTTGGAATCACTGAAAGCTGCGTAAGAAAACAATAC
ATTGCAGTCTGCAGTATATCTTAACCTCGAATATACTTTAGAATCACTTGAGAACAGTTGGCTTGTTCT
TGTCTCAATGAGTTTCTGAATGGTGAAATCATTAGAAAAGGAGAAAATCTTTGTGCCACATCCTCCCCA
CATTACATTTCTTTCTGTTGAATTTGTGGATTCACTCAAACACATCAATGGAGTACTGACATTTCCTAT
ATTTAGTATCTTCAAAGGAGCAGCTCCTTCAAGCTTAACAGTTTTATCTTCAAAAATTGCTAAATTGCC
ATCAGCGGTTCCAACCAAAAGAAAATTTTTTTGTTTGCTTTGCTTGGAAAAGGAATTGCAATACAAACA
AGTGATGGAATCAGTCATCTTTTCTAGGGTATGTCTCTTTTTCCCATCTTCGGTATTGATGACCAGGAG
AGTACCAGACTGTGTCCCGGACACAATCCAGCTTTCTTTTTGAACAGGAAGATGCACCAAGGCTAAGCA
CAATATTCTACTATCAGCAACCTCCTCAGAAGTGTATCCTTCAGTATTTAAGTCAAGAAATGAGAGCTG
TCCTCTGTTGGTGTGCCCACAGCCCAGCCAAATGCTTGCATTCCTGCTGTTGTGATGTGTAGCAACCAT
GCAGTCAACAATTACGTTTTTAGGTAATAAAATGTGTCTCGTCAGACAGACTAATTCAGCTGAATTCAA
AATGTCAAAGACCTGGGCAGAAGTAGGCCTTTCTTGAGGATTTTCTTTCAAACACTTTGTAATTAATTT
CTCAACCATAGGCCATGGGGCACAACCATATTCTTTAACTGGATCAGGTAATTTTCCTTGTATTGCTAA
TTCATCAAACTCATTTGGAAACTTCAAACCCTCTACTATTCTACCTCCAGTTGTCAAAATGTCATAGAG
TAGCAAACCAAATGAATAAACATCAGCTTGTTGATTATAAATGACATTTCCTCTGGCAACTTCAGGTGC
ACGAAACCCTGGTGTGCCCTCTGACGTTTTTATCCCCATTCTACAGCAGTACTGAGCAATGCCGTAGTC
AGCAATCTTTGCAATGATGGCAGCATTGGGATACAGTGTGAAAAGCAGCACATTGTGGGGCTTCAAGTC

TCGGTATATAATCATGGCTGAATGGAGGTATCTCAAACCATCAGCCACATGGAGTGCAATCCTGTGCTG
TAGGGTTCTAGTGAGGCTGGCTTTGTCCTGCTGAAGCAGGCGATCCAAGGAACCCTTGGAGGCTAACTC
CATCACCAACATCCGGGGACGAATACCAGCTGCCAGCAAAGATATCAAACTGGGGTGGTGGAGGTGGCA
AAGCACCACCAGCTCTTGTCTTAACAGCCTAAGTGATGTGTGTTTATTAAAAATCTTCACAGCCACTTC
TTCTCCTTCATAGGCTGCTCGATAAACTGATCCAAAACTGCCATCACCTAGGAGAAACTCTGGAGCTTG
TTCAAATTCCAGCTCATCATTATTCAACATAATATTTCTAGGCAGGTCAGCCAAAATCAAGTCAGGGGC
AATCTGAGATATTGGAATGGTGAGCCTTGGTTGATCTGGATTTACTAAGAGATCTCCTTCCTCTGCTTT
CTTCATCAAGTCATCAAGTAAGATTTTTTGATGCTCTTCACCATCATTAAAACTATATAATGCCCATTT
CTTCAACAGAGTTTCTCCTTCACCACAAATATCAATCTCCAGCAACCCAGGAAACCATTCCTCCATGAG
AGAATCAATGTGGTCCACAACTTGGCCCAAAAGAATACAGCCTTTTCTACAAGAAGGAACTGTAATTTT
TAAGAAACTCTCTGGGTGATTGTCTAAGACTTCAGATCCTACCAGACAATAAGCTTCAGGAGACCAATT
TAAGTAGATGCCTTGTCGCCAATACATTCTGTTTGGGCGAAGTGCTCGTTCTCTCCCTGAAAGCATGTA
AGGTGAAATCTCAAGTAATCGATTGATTAACCTCGACCAAAATCCCATTGGAAAATAAGGCATTTCATA
TAGTCGGATGATAATTTCAGAGTTCTCACAATGGGGAAGCTCTATCACAGGCCTGTGGTCAGACAAACT
GCTTGGAACCAGCAAATATTCTTCTCCTATTGGCAAAGCAATCTGGAATTTTTCTAGGAGCTTAAAATA
CTGTGACATGTAGTTCTTTGGAAATCTCCTTTTCTTCGAAAGAAATTTTTCCACATCTCTACGTGAAAT
AATTCCCTTAGGGTGTTTTGGACAACCTTCCACTTTCACTGTCAAAATCTGTGCCATGATTTTACAAAG
CCACTTGGGTTCCACAAAATACAAGTCACTTAACTGCAGTGCTGGGTCTTGAAAATGAAGAAGGACTCC
TGATTCATTTAGAAAGTGAACTGCGTGAGGAAGCTCATTTTCATCTAACTGCAACTGATTTTCTCTCAC
TAGTTGTAATAATCGTTTCTGGTCAATTACAGGAAATTCAATTGGCACATTTTTACGCTCCGATAAAAT
GATTTTCTCAAGTTCTACATAGCAGTCTGGAATCAGCTGTCCAACAACAGGCTGATCTCGGATCTTGAA
ATTAAGGCTCTCGTTTATGATGGTTTTCCGAAGTTTTGCCAAAGCATCAGATTCCTCGGTGGCATTCAC
AAAGTGGTAATCTCGTATAGCAGGGAACCCTCGCTTATTCAGGAGTTCCTTGGTGATTTTACCTATGCA
GGCTTTGCGCTGCCTCTCATCAGAAACATCCAAATGTGTGCCAACGAGAATCACAGGGGAAGAAGAAGC
GCGAGCCTTTATATTGAAGAGCCAAGGCTTCATGGCATCAACTTCAGCCTGTCCTTTGCTAAGGTCATA
GACAGCAAGGTACAATGCTCGCTGCGTCATAAAATGAGGATGAGTGCTATAGAATTCCTCACGACCTGC
AAAATCCCACACATTCAGAACGAGATCTCTCTTTCTTTTGCCTCTTATTTGGATAGGCCAGTCTTTCAC
ATCTATGCCAACTGTGGCACTTTGCATTCCAAGATCTGATTTCTTGGTTTTCATTAATTGCTGCAACAA
GGTGGTTTTACCACTCCCAGTATTTCCAACAACCATAAGTTTCATTCGGTTATAGGGCACAGCCTTTTT
TAACCGCTGCTGAAGAAACCTTATGATGTCTTTGGCTTTACATCCTATATGTTTAAAATCAAAGTTAAG
ACGCAGTTCATCCAAAGGAAGATCCCATATTTTGCTTAATTTCCCCATTTCATTGGGAAAGGATCTTAG
TTCCAAGTTGTAACTGACATCCAGAGATGTCAGATTTTCAAGACAGCCAATCTCAGGAGGAATCTCTTT
CAGTTTATTGTGAGAAAGATGCAGTTTCTCTACTCTAGACCATAAATACGCTTTTTCACTCAAGTCCAA
GATGCTGATCTGATTATGGCTAAATAAGAGTTCCCTTAAGTTCAAAGATTTCCAGTGTGCAGGACCTGG
TAGATATTGAATATCATTGCTGCTCATATCTAAAGACCGCAAGTGTGGAAGATTTAAAATTGCTTCTGG
AATACATGTAAATTTGTTTTGAGATAATTTTAGGCTTGTCATGGAAGGAGGCAAGAAAGGCATAGCAGC
AAGAAAATTCATTCTGGCACTGAAACTCTCCACTTTAGGACAAGCCTCAAGAAAGTTCTCTGATAGGGA
TGAAATGTGGTTTTTACTAAGGTTTAAAATCTTCAGTTCCTTCAGTCTCAAGGGGGAGCATATCCCTGA
TATTTTATTTCCTTCTAAAATGAGCTGCTCCAGTTTCTCTATCCCATCAGCAAGGTTCTCAGGAACAGA
AGACAGCTGGTTATATGACAGGTTAAACTGTTTCAGAGTTGGACATTTCACTGCAGGATCTAAAACCAC
TGAGGGTCCAATGTCATTTCGAGAGACATCAAGGTTAGCAACACAACTCATTTTCAACAAGTAAGAAGG
AAATGATGTAAATTTATTACTGTGCAAGTCCAAATGTGTCAAACTCTTCAGAGTTTCACATAGCTGTTG
TGGAAAGCTCGTGAGTGCATTCTGGTGAAGCTCCAGCTTTTCAAGATGCTCCAAATGACCACTTATACA
GGATTTCTGGCTTAGGGCATCAATATCTCTTAGTTCATTTGCTGAAAGGTCTAGTGATGTAATATATTC
TCTCTCAGAAGCCAGAGAAGAAATGCTGTCTGAATGCCTCATATGGGATTGAAGTTTTGATGACCTGAG
TGAATCATCTGAAGATAATATTTTTCTTTTTCTTCTCAGTAAATCTTCATGATCAAAAATGGGCCCCAA
GGAACTGGAATGCCTTTGCAAATTTGGTGAGCAACGTTGTAATACGGCATCTCGGTAAAATTCTCCTAC
ACTAATTGAATTTGATTTCTTTTTCACAAGAAATGAGCCTTCACTTCCTTCACTATCTAGATCATCACT
TTGAGCAAAGACACTGTCCATAGAAGAGTCAGGAATAAAGGTCCATTCATCAAATTTAGACAGCACATC
TTCAGAAAAATTTCCATCACTGCCTGAGGCTGCTCCTTCTTCCATGGCACTTTTCATCTGATATCTGAT
CACCATTCTTGCTAGTGTAGATGCTATATTTGTTTGTTTCCTTAAATTAGAAGTCTTATCTGGAAATAA
AGGACCAAGCCAAGAAGGTTCAACTTTTCCTATACAAAACCCTCCAAGGCAAATGCTATTGTTGGCCAT
GTCCAGGGCCAGCCTCCTTAAGAGCAAGCTGATGATCTGGCTGTCGCCTTTCCCAATGCTTATTGTCAG
CGCTTTTCGTACATCTTGTTCACGAGATCCACTATTCAATAAGAGTTCCACCAATTTGGGACTGCTCTC
TTTCTCACATACCTGACAAATTAAAGAAGTTCCCTCCTTTGCTTGATTGGCATCTGCTCCTAATAGAAG

CAAGCATTCAACCATGATGCTGTTATTCTGATCACACGCTCTCTCTAGCATCATATTTTTTAAGTCATC
ATCCATAGCTACTTTTGCAAAACACTTGCAACAGAGGTTTAGAAACTGTTGATCCTTTTGTTCCATGAT
ACTGGAAGACATTTGATGGAATATTACTAAGTCAAACGAATGATGCACCAGCAGCTTAGAAAAAGATGC
TGACAATTTGAGGATTGCTAAGATTGTCTGAAATCCTTCAGTCTGTACTTCAGCAACATCCTTAAATCG
GTATAAGCTGGAAGCCAGAATTTTTGCCAGCAGATGTCCAGTTCCTATGCATAAATTCTTCTTTGTAAT
CAAGCATCCTATAAGACTTAAACCCAGACACTGAATTTCTTGGTCATCTGGATACATCTGCAGTGTGTG
AAGCACTGAATCCACAGCACCTTCCAGGGATAACACCCCTAATGCATCAGTAAAATGTGCAATAAAAGA
AATTACTTTTAATCCACATTTCTGAATCCCAGGATTTCCAATGAACCTGTTCAAAGCTGCTAGGACCAG
TTTGTGAATATCATTCTTGAAACACTGTTTTTTAACCATATTTAGCTTACGATGAGATTCTGCATCCTC
TCTGGATTCTTCTGGCATGCCTGGCACTATAAAATGTAAAATAGCTCGAAGCGCCTCCAGCTGCACTGG
TAATGATGTCTCATGACTTTTCATAACTGTTATTATTTTGGGGAGCACTGCTGCCATTGTATCCAGGGA
TGTGTTGCTTCCTTCAAAAAGATGATTTAGCATTTTACAGCCACTTTCAGCCACTTCAGGAGAATGTAT
ATGCTTCTGCATTAACTCCAAAACATTCAGGTATATTCCTTTTGATAACAGGATTTTTCTGAAATTAAC
ATTTTGTTCTAAAAGAGTTGACAATGCATTAGCAGATGCCTGGAAAACTTCCTTTGATGATGAATGCAT
CAGCATGGACAGCATCACTTCCCTATGAGCTGGGAAATGGCCATCTTCATCTCCAATCTTCTCATGTAA
ACTGTTTTGGTACATAAGGAGATTATTTAGTGCCCAGCATGCAGCCTCCTGCACGTGCTTGTTCTTTCT
ATGCCACGTTAACGCTTTGTAACAGGCTTCCAGCCAAAACAATTTAACTTCTTCCCCCTCATCATCATT
CTCTTGATTCTCATTCTTTTCCTCTAAATCTTGATTTAAGAAAATGGTCTCAGTGAGGAGGGCCAAACA
GCTGAGCGCTGAGATCTGTAATGCTGCGTTCTCTGGGTACCGCTGCACAGCTTTCACCACAAATTCATG
GACTTCGTTTAATACCAGGATATTAAAAAAATTACCTAATGTAAGCCTATGGAGCAAACAGCAACTCAC
TTCTTGAATTTTTTCACTGATAGGGAATGCTTTCATAGCTTCCACCACAATATTATAACACCTGACATT
GCCACTCATGAGGACTTCCACATTATTGCAAGGAATTGCTAGGGAATGTAAACAATGCAGTACATGAAG
CACAATTTCCTCTTCATCTTTAAAATTTGTTAACGCACTTAACAATATCATATAATCTTTGTTCTCAAC
AAATTCAGTTAGTTGCTCCTCTGAGACTCTTTCAAACAGCACATGTAAAGCTTTGCATCCAAGTTTCTG
GATTTCATCATTGGCTGGAAATGAGTGCATGGCATCAAAAATTAACATGAAAATATCACTTTCTTCATC
CAATATCAGTAAGGTGATTTTACCTGAAGTTAGGAGGAGATCTAAGGTCTTCAGTCCAATCATTGACAA
GTTTACACTGGCATTATGAACTGTTAGCATTTTAAGAATCAATTGGTGAACACCAAGGACTTCCCAATC
ATTTCCAACATCCTGGGGTCCCATTAAGCTTTGCATTGTACCCGGGCAGATTTCTATTAATTTGCACAG
AAGTGACCAACCCACCTGCTGCACACTCGCGACTCTCATATACGAGTCCAAGACGATCAACAGAGGCAC
ATGGATATTTTTGCCTTGAAATAACTTGGAGGCGTGCTCGGAGTACGTGAACACCAGCAGATCCTCCAG
GATTTGGACCAGCGTTTCTATCTGTTTACCTTCCTGGACATTGTTCAGCCTGACTATCAACTTCTTCAG
AGTTTCCTCGTCCTCCTCGCACCCCTGACAGCTGCCACTAGCCATGGTGGCCCCTGCTTCCAACCCGCC
GCCCTCCCAGCACGAACGTCCGCTGCTCAGGGAACCGGCAGGGGCGCCGGCCACAGCTCCCCGGGATCT
AGCTCAGCTCACCGCCCTCAGCCAGGGCTCCCCGGGGGCCCCGTCGGCGCCCACGCCCGCCTGTTTATG
AGGAAGGCGGTGGCTCCCCGCCCCGCGTTGCCCTCCCTCTCCAGAGCCCTCCTGCTCGGCTTCCTCCTC
CCCCAGCCAGGCCCCAAAAAACCAGCTCAGGGGCCTGCCAGAGGCTCCGCCGGGGCGACGGGCCGCGCA
GAACTTCGGCGGCGGCCGTGGGGCTGCTGGAGCCGGGCCTGGCCGGGATGACCGTGCCCGT

SEQ ID NO: 5

>NM_025730.3小家鼠富含白胺酸之重複激酶2 (Lrrk2)，mRNA

GAGCAGCTCTGAGAGCAGGAGCCGTCCCAGCTCGCCGCAGTCCCCGCCGGCTGCACCATGGCCAGTGGC
GCCTGTCAGGGCTGCGAAGAGGAAGAGGAGGAGGAGGCTCTGAAGAAGTTGATAGTCAGGCTGAATAAT
GTCCAGGAAGGCAAGCAGATCGAGACGTTGCTTCAGCTCCTGGAGGACATGCTGGTGTTCACCTACTCG
GACCGCGCCTCCAAGTTATTTGAAGATAAAAATTTCCACGTGCCTCTGTTGATTGTCCTGGACTCCTAC
ATGAGAGTTGCCAGTGTACAGCAGGCGGGGTGGTCACTTCTGTGCAAATTAATAGAAGTCTGTCCAGGG
ACATTGCAAAGCTTAATAGGACCCCAGGATATTGGAAATGATTGGGAAGTCCTTGGTATTCACCGGCTG
ATTCTTAAAATGTTAACTGTTCATCACGCCAATGTAAACCTGTCAATAGTTGGACTAAAAGCCTTGGAT
CTCCTCCTAGATTCAGGTAAACTCACCTTGCTGATACTGGATGAAGAATGTGATATTTTCTTGTTAATT
TTTGATGCCATGCACAGATATTCAGCCAATGATGAAGTCCAAAAACTGGGATGCAAAGCTTTACACGTG
CTTTTTGAGAGAGTTTCCGAGGAACAGCTGACTGAGTTTGTGGAGAACAAAGATTACACGATACTGCTG
AGTACGTTCGGCAGCTTCAGAAGGGACAAGGAGATTGTGTACCACGTACTTTGCTGCTTGCATTCCCTG
GCGGTTACATGCAGCAATGTAGAGGTCCTCATGAGTGGGAATGTCCGGTGCTACAATCTTGTGGTGGAG
GCCATGAAAGCCTTCCCCACCAATGAAAACATCCAAGAGGTGAGCTGCTCCTTGTTCCAGAAGCTTACA
TTAGGTAACTTTTTCAACATCCTGGTGTTGAACGAAGTGCATGTCTTTGTGGTGAAAGCGGTCCGACAG
TATCCTGAGAACGCAGCCTTACAGATCTCTGCACTCAGCTGTTTAGCACTCCTCACTGAGACTATTTTC

TTAAACCAAGACTTGGAGGAAAGAAGTGAGACTCAAGAGCAGAGCGAAGAGGAAGACAGTGAGAAGCTT
TTCTGGCTGGAACCCTGCTATAAAGCCCTGGTGCGCCATCGAAAGGACAAACACGTGCAGGAGGCTGCC
TGCTGGGCACTAAATAACCTCCTTATGTACCAGAACAGTTTGCATGAGAAGATCGGAGATGAAGATGGC
CAGTTCCCTGCGCACAGGGAAGTGATGCTGTCTATGCTGATGCACTCTTCTTCCAAAGATGTCTTCCAA
GCAGCTGCACATGCTCTGTCCACTCTCTTGGAACAAAATGTTAATTTCAGGAAAATCCTGCTGGCAAAA
GGAGTATACCTGAATGTCTTGGAATTGATGCAGAAGCATGCCCATGCGCCTGAGGTGGCAGAGAGTGGC
TGCAAGATGCTGAGTCACCTGTTTGAAGGAAGTAACCCTTCTCTGGATACAATGGCAGCAGTGGTCCCT
AAAATACTAACAGTGATGAAAGCCCACGGAACGTCTCTGTCAGTCCAGCTGGAGGCGCTGCGAGCTATC
TTGCATTTCGTTGTGCCAGGACTATTGGAAGAATCCAGGGAGGACTCTCAATGCAGACCAAATGTGCTC
AGAAAACAGTGTTTCAGGACTGACATCCACAAGCTGGTTCTAGTCGCTCTGAACAGGTTCATTGGGAAT
CCTGGGATTCAGAAATGTGGATTGAAAGTAATCTCTTCTCTCGCGCACCTTCCTGATGCCACAGAGACA
TTGTCCCTGCAAGGAGCAGTTGACTCAGTCCTCCACACCTTACAGATGTATCCAGATGACCAAGAAATT
CAGTGTCTGGGCTTACACCTTATGGGATGCTTGATGACAAAGAAGAATTTCTGCATAGGGACAGGGCAC
CTCCTGGCAAAAATTCTGGCTTCCACTTTGCAGCGCTTTAAAGATGTTGCTGAGGTGCAGACTACAGGA
TTACAGACAACCCTGTCAATACTTGAGCTGTCAGTATCTTTCTCCAAGCTGCTAGTGCACTATTCCTTT
GATGTGGTGATATTTCATCAGATGTCTTCCAGTGTTGTAGAACAAAAGGATGAGCAGTTCCTCAATCTA
TGTTGCAAATGCTTTGCAAAAGTGGCCGTGGATGATGAGCTGAAAAACACCATGCTAGAGAGAGCCTGC
GATCAGAATAACAGCATCATGGTTGAATGTTTGCTCCTCTTGGGAGCTGATGCCAACCAAGTGAAGGGG
GCAACTTCTTTAATCTATCAGGTATGTGAGAAAGAGAGCAGTCCTAAATTGGTGGAACTGTTGCTTAAT
GGTGGTTGTCGTGAACAAGATGTACGGAAGGCCCTGACCGTAAGCATCCAAAAGGGCGACAGCCAGGTC
ATCAGCTTGCTCCTCAGGAAACTTGCCCTGGACCTGGCCAACAACAGCATTTGCCTTGGAGGATTTGGC
ATAGGAAAAATTGATCCTTCTTGGCTTGGTCCTTTATTTCCAGATAAGTCATCCAATTTAAGGAAGCAA
ACAAACACAGGATCTGTCCTAGCGAGGAAAGTGCTCCGGTATCAGATGAGAAACACCCTTCAAGAAGGC
GTGGCCTCAGGCAGTGACGGCAAGTTTTCTGAAGACGCGCTGGCGAAATTTGGAGAATGGACCTTTATT
CCCGACTCTTCTATGGACAGTGTGTTTGGCCAGAGCGATGATCTGGATAGCGAAGGCAGCGAGAGCTCA
TTTCTCGTGAAGAGGAAGTCCAACTCAATTAGTGTAGGGGAAGTTTACAGAGATCTAGCTCTGCAGCGC
TGCTCACCAAATGCTCAGAGGCATTCCAATTCGCTGGGTCCTGTTTTTGACCATGAAGACTTACTGAGA
CGAAAAAGAAAAATACTGTCTTCAGATGAGTCTCTCAGGTCCTCAAGGCTGCCGTCCCATATGAGGCAA
TCAGATAGCTCTTCTTCCCTGGCTTCTGAGAGAGAACACATCACGTCGTTAGACCTATCTGCCAACGAA
CTCAAAGATATTGATGCTCTGAGCCAGAAGTGTTGCCTCAGTAGCCACCTGGAACATCTCACCAAACTG
GAACTTCACCAGAATTCACTCACGAGCTTCCCACAGCAGCTGTGTGAGACTCTGAAGTGTTTGATACAC
TTGGATTTGCACAGTAACAAATTCACCTCATTTCCCTCTTTCGTGTTGAAAATGCCACGTATCACCAAC
CTAGATGCCTCTCGAAATGACATCGGGCCAACAGTAGTTTTAGACCCTGCGATGAAGTGTCCAAGCCTC
AAACAGTTGAATCTGTCCTATAACCAGCTCTCTTCAATCCCAGAGAATCTTGCCCAAGTGGTGGAGAAA
CTTGAGCAGCTCCTACTGGAAGGAAATAAAATATCCGGGATTTGCTCTCCCCTGAGCCTGAAGGAACTG
AAGATTTTAAATCTTAGTAAAAATCACATTCCATCCCTACCTGGAGATTTTCTTGAGGCTTGTTCAAAA
GTCGAGAGTTTCAGTGCTCGCATGAATTTTCTTGCTGCAATGCCTGCCTTACCTTCTTCCATAACGAGC
TTAAAATTGTCTCAGAACTCTTTCACGTGCATTCCAGAAGCGATTTTCAGTCTTCCGCACTTGCGGTCC
TTGGATATGAGCCACAACAACATTGAATGTCTGCCGGGACCTGCACATTGGAAGTCTCTGAACTTAAGG
GAACTCATTTTTAGCAAGAATCAGATCAGCACCTTAGACTTTAGTGAGAACCCACACGTGTGGTCAAGA
GTAGAGAAACTGCATCTCTCTCATAATAAACTGAAAGAGATTCCTCCAGAAATTGGCTGCCTTGAAAAT
CTGACGTCTCTCGACGTCAGTTACAACTTGGAACTGAGGTCCTTCCCAAATGAAATGGGGAAGTTGAGC
AAGATATGGGATCTTCCCTTGGACGGACTGCATCTGAATTTTGACTTTAAGCACGTAGGATGCAAGGCC
AAAGACATCATAAGGTTTCTACAACAACGTCTGAAAAAGGCTGTACCCTACAACCGAATGAAGCTCATG
ATTGTGGGAAATACGGGGAGCGGTAAGACCACTTTACTGCAACAACTCATGAAAATGAAGAAACCAGAA
CTTGGCATGCAGGGTGCCACAGTCGGCATAGACGTGCGAGACTGGTCCATCCAAATACGGGGCAAAAGG
AGAAAGGACCTGGTTCTAAACGTGTGGGATTTTGCAGGTCGTGAGGAATTCTACAGCACTCACCCCCAC
TTCATGACCCAGAGAGCCCTCTACCTGGCTGTCTATGATCTCAGCAAGGGGCAGGCAGAGGTGGACGCC
ATGAAGCCCTGGCTCTTCAATATCAAGGCTCGTGCCTCTTCTTCCCCGGTGATTCTGGTGGGCACACAT
TTGGATGTTTCTGATGAGAAGCAGCGGAAAGCGTGCATAAGCAAAATCACGAAGGAACTCCTAAATAAG
CGAGGATTCCCCACCATCCGGGACTACCACTTTGTGAATGCCACCGAGGAGTCAGATGCGCTGGCAAAG
CTTCGGAAAACCATCATAAATGAGAGCCTTAATTTCAAGATCCGAGATCAGCCTGTGGTTGGGCAGCTA
ATTCCAGATTGCTACGTAGAACTGGAGAAAATCATTTTATCAGAGCGGAAAGCTGTGCCGACTGAGTTT
CCTGTGATTAACCGGAAACACCTGTTACAGCTCGTGAACGAACATCAGCTGCAGCTGGATGAGAACGAG
CTCCCACACGCCGTTCACTTCCTAAATGAGTCGGGAGTTCTTCTGCATTTTCAAGACCCTGCCCTGCAG

CTAAGTGACCTGTACTTTGTGGAACCCAAGTGGCTTTGTAAAGTCATGGCACAGATCTTGACAGTGAAG
GTAGACGGCTGTCTGAAACATCCTAAGGGCATCATTTCCCGGAGAGATGTGGAAAAATTCCTTTCAAAG
AAGAAGCGATTCCCGAAGAACTATATGATGCAATACTTTAAACTATTAGAAAAATTTCAGATCGCATTG
CCAATAGGGGAAGAATATCTTCTGGTTCCAAGCAGCTTGTCTGACCACAGGCCAGTGATAGAGCTCCCC
CACTGTGAGAACTCTGAGATCATCATCCGGCTGTACGAAATGCCGTACTTTCCCATGGGATTTTGGTCA
AGATTGATTAACCGATTACTTGAAATCTCACCCTTCATGCTTTCTGGCAGAGAGAGAGCACTACGCCCT
AACAGGATGTATTGGCGGCAAGGCATCTACTTGAATTGGTCTCCAGAAGCATACTGTCTGGTAGGCTCT
GAAGTCTTAGACAATCGACCTGAGAGTTTCTTGAAAATCACAGTTCCGTCTTGTAGAAAAGGTTGTATT
CTTCTGGGCCGAGTTGTGGATCATATTGACTCACTCATGGAAGAATGGTTTCCCGGGTTACTGGAGATT
GACATTTGTGGGGAAGGAGAAACTCTGTTGAAGAAATGGGCATTGTACAGTTTTAATGATGGTGAAGAA
CATCAGAAGATCTTGCTTGATGAGTTGATGAAGAAGGCTGAAGAAGGAGACCTGTTAATAAATCCAGAC
CAACCAAGGCTCACTATTCCAATATCCCAGATTGCTCCGGACTTGATCTTGGCTGACCTGCCTAGAAAT
ATCATGTTGAACAATGATGAGTTGGAATTTGAGGAAGCACCAGAGTTTCTCTTAGGCGATGGAAGTTTT
GGATCCGTTTATCGAGCTGCCTACGAAGGAGAGGAAGTGGCTGTGAAGATTTTTAATAAGCACACATCT
CTTAGGCTGTTAAGACAAGAGTTGGTGGTCCTTTGTCACCTTCACCACCCCAGCCTGATATCCTTGCTG
GCGGCTGGTATTCGTCCTCGGATGTTGGTAATGGAGTTGGCCTCCAAAGGTTCCTTGGATCGCCTGCTG
CAGCAGGACAAAGCCAGCCTCACCAGAACCCTCCAGCACAGGATCGCGTTGCATGTGGCCGACGGCCTG
AGGTATCTCCACTCAGCCATGATTATTTACCGTGACCTGAAGCCCCACAATGTGCTGCTTTTTACCCTG
TATCCCAATGCTGCCATCATTGCGAAGATTGCGGACTACGGGATCGCACAGTACTGCTGCAGGATGGGA
ATAAAGACATCAGAGGGCACCCCAGGGTTCCGGGCACCTGAAGTTGCCAGGGGGAATGTCATTTATAAC
CAACAGGCCGATGTTTATTCTTTTGGCTTACTACTTCACGATATTTGGACAACTGGGAGTAGGATTATG
GAGGGTTTGAGGTTCCCAAATGAGTTTGATGAGTTAGCCATACAAGGGAAGTTGCCAGATCCAGTTAAA
GAATATGGCTGTGCCCCATGGCCTATGGTTGAGAAGTTAATTACAAAGTGTTTGAAAGAAAATCCTCAA
GAAAGACCCACTTCTGCCCAGGTCTTTGACATTTTGAATTCGGCTGAATTAATTTGCCTCATGCGACAC
ATTTTAATACCTAAGAACATCATTGTTGAATGCATGGTTGCCACGAATCTCAATAGCAAGAGTGCGACT
CTCTGGTTGGGATGTGGGAACACAGAAAAAGGACAGCTTTCCTTATTTGACTTAAACACGGAAAGATAC
AGCTATGAGGAAGTTGCTGATAGTAGAATACTGTGCTTGGCTTTGGTGCATCTCGCTGCTGAGAAAGAG
AGCTGGGTTGTGTGCGGGACACAGTCTGGGGCTCTCCTGGTCATCAATGTTGAAGAGGAGACAAAGAGA
CACACCCTGGAAAAGATGACTGATTCTGTCACTTGTTTGCATTGCAATTCCCTTGCCAAGCAGAGCAAG
CAAAGTAACTTTCTTTTGGTGGGAACTGCTGATGGTAACTTAATGATATTTGAAGATAAAGCCGTTAAG
TGTAAAGGAGCTGCCCCCTTGAAGACACTACACATAGGCGATGTCAGTACGCCCCTGATGTGCCTGAGC
GAGTCCCTGAATTCATCTGAAAGACACATCACATGGGGAGGGTGTGGCACAAAGGTCTTCTCCTTTTCC
AATGATTTCACCATTCAGAAACTCATCGAGACAAAAACCAACCAGCTGTTTTCTTACGCAGCTTTCAGC
GATTCTAACATCATAGCGCTGGCAGTAGACACAGCCCTGTATATTGCCAAGAAAAACAGCCCTGTCGTA
GAGGTGTGGGACAAGAAAACAGAAAAGCTCTGTGAATTAATAGACTGTGTGCACTTCTTAAAGGAGGTG
ATGGTAAAACTAAACAAGGAATCGAAACATCAGCTGTCCTACTCTGGGAGGGTGAAGGCCCTCTGCCTG
CAGAAGAACACGGCTCTCTGGATCGGAACTGGAGGAGGCCACATCTTACTCCTGGATCTTTCTACTCGG
CGAGTTATCCGCACCATTCACAATTTCTGTGATTCTGTGAGAGCCATGGCCACAGCACAATTAGGAAGC
CTTAAGAATGTCATGCTGGTTTTGGGGTACAAGCGGAAGAGTACAGAGGGTATCCAAGAACAAAAAGAG
ATACAATCTTGTTTGTCTATTTGGGACCTCAATCTTCCACACGAGGTGCAAAATTTAGAAAAACACATT
GAAGTAAGAACAGAATTAGCTGATAAAATGAGGAAAACATCTGTTGAATAGAAAGACATCAGGCAGTCT
CGATGTTATATTGAATAAGACATCAGACATCCTCGTCACTATATTGAAAAGGACATCAGACATCCTCGC
CAATATGTTAGAAAATGTACTCTTCTTTTTAAAATATATTTTTAAAATGTTTACATTGAAAAGAGTATG
CCTATTCTTTACAAAGTTCATATGTATATGAAGGAATGTGTATGTCTTATGTTTAATTTAATATATGTA
AAAATATTTATCAGTAAATATGTTTTAAAAAACTATTTAATTTAGCATTATATTTTCTATACTCCTTAA
CTAATTTGAAGGGATAAACAAAAGAAATCTACAAAGCATTTAATTTCAGTATTTATACTAAAATTAATA
AAAATATCATGTTTGTTTTGCTATGTATTGTGATGATAAAGCCTATTTTAAATTGTTGATTAAGACACA
GATGTTGCTTGATTATCTATGGACTCAGCGGAGTAGAATAAAATATCTGGTCAATTTCCAAGTAAGAGA
CTCTTTCATATCTTGTTTTCAAGTGAATTATCATCATTAATGTAAACTGTCATATTTTCACTAATAAAG
ATTTTTGTTAGCTCAGGAAA

SEQ ID NO:6

>SEQ ID NO: 5之反向互補序列

TTTCCTGAGCTAACAAAAATCTTTATTAGTGAAAATATGACAGTTTACATTAATGATGATAATTCACTT
GAAAACAAGATATGAAAGAGTCTCTTACTTGGAAATTGACCAGATATTTTATTCTACTCCGCTGAGTCC

ATAGATAATCAAGCAACATCTGTGTCTTAATCAACAATTTAAAATAGGCTTTATCATCACAATACATAG
CAAAACAAACATGATATTTTTATTAATTTTAGTATAAATACTGAAATTAAATGCTTTGTAGATTTCTTT
TGTTTATCCCTTCAAATTAGTTAAGGAGTATAGAAAATATAATGCTAAATTAAATAGTTTTTTAAAACA
TATTTACTGATAAATATTTTTACATATATTAAATTAAACATAAGACATACACATTCCTTCATATACATA
TGAACTTTGTAAAGAATAGGCATACTCTTTTCAATGTAAACATTTTAAAAATATATTTTAAAAAGAAGA
GTACATTTTCTAACATATTGGCGAGGATGTCTGATGTCCTTTTCAATATAGTGACGAGGATGTCTGATG
TCTTATTCAATATAACATCGAGACTGCCTGATGTCTTTCTATTCAACAGATGTTTTCCTCATTTTATCA
GCTAATTCTGTTCTTACTTCAATGTGTTTTTCTAAATTTTGCACCTCGTGTGGAAGATTGAGGTCCCAA
ATAGACAAACAAGATTGTATCTCTTTTTGTTCTTGGATACCCTCTGTACTCTTCCGCTTGTACCCCAAA
ACCAGCATGACATTCTTAAGGCTTCCTAATTGTGCTGTGGCCATGGCTCTCACAGAATCACAGAAATTG
TGAATGGTGCGGATAACTCGCCGAGTAGAAAGATCCAGGAGTAAGATGTGGCCTCCTCCAGTTCCGATC
CAGAGAGCCGTGTTCTTCTGCAGGCAGAGGGCCTTCACCCTCCCAGAGTAGGACAGCTGATGTTTCGAT
TCCTTGTTTAGTTTTACCATCACCTCCTTTAAGAAGTGCACACAGTCTATTAATTCACAGAGCTTTTCT
GTTTTCTTGTCCCACACCTCTACGACAGGGCTGTTTTTCTTGGCAATATACAGGGCTGTGTCTACTGCC
AGCGCTATGATGTTAGAATCGCTGAAAGCTGCGTAAGAAAACAGCTGGTTGGTTTTTGTCTCGATGAGT
TTCTGAATGGTGAAATCATTGGAAAAGGAGAAGACCTTTGTGCCACACCCTCCCCATGTGATGTGTCTT
TCAGATGAATTCAGGGACTCGCTCAGGCACATCAGGGGCGTACTGACATCGCCTATGTGTAGTGTCTTC
AAGGGGGCAGCTCCTTTACACTTAACGGCTTTATCTTCAAATATCATTAAGTTACCATCAGCAGTTCCC
ACCAAAAGAAAGTTACTTTGCTTGCTCTGCTTGGCAAGGGAATTGCAATGCAAACAAGTGACAGAATCA
GTCATCTTTTCCAGGGTGTGTCTCTTTGTCTCCTCTTCAACATTGATGACCAGGAGAGCCCCAGACTGT
GTCCCGCACACAACCCAGCTCTCTTTCTCAGCAGCGAGATGCACCAAAGCCAAGCACAGTATTCTACTA
TCAGCAACTTCCTCATAGCTGTATCTTTCCGTGTTTAAGTCAAATAAGGAAAGCTGTCCTTTTTCTGTG
TTCCCACATCCCAACCAGAGAGTCGCACTCTTGCTATTGAGATTCGTGGCAACCATGCATTCAACAATG
ATGTTCTTAGGTATTAAAATGTGTCGCATGAGGCAAATTAATTCAGCCGAATTCAAAATGTCAAAGACC
TGGGCAGAAGTGGGTCTTTCTTGAGGATTTTCTTTCAAACACTTTGTAATTAACTTCTCAACCATAGGC
CATGGGGCACAGCCATATTCTTTAACTGGATCTGGCAACTTCCCTTGTATGGCTAACTCATCAAACTCA
TTTGGGAACCTCAAACCCTCCATAATCCTACTCCCAGTTGTCCAAATATCGTGAAGTAGTAAGCCAAAA
GAATAAACATCGGCCTGTTGGTTATAAATGACATTCCCCCTGGCAACTTCAGGTGCCCGGAACCCTGGG
GTGCCCTCTGATGTCTTTATTCCCATCCTGCAGCAGTACTGTGCGATCCCGTAGTCCGCAATCTTCGCA
ATGATGGCAGCATTGGGATACAGGGTAAAAAGCAGCACATTGTGGGGCTTCAGGTCACGGTAAATAATC
ATGGCTGAGTGGAGATACCTCAGGCCGTCGGCCACATGCAACGCGATCCTGTGCTGGAGGGTTCTGGTG
AGGCTGGCTTTGTCCTGCTGCAGCAGGCGATCCAAGGAACCTTTGGAGGCCAACTCCATTACCAACATC
CGAGGACGAATACCAGCCGCCAGCAAGGATATCAGGCTGGGGTGGTGAAGGTGACAAAGGACCACCAAC
TCTTGTCTTAACAGCCTAAGAGATGTGTGCTTATTAAAAATCTTCACAGCCACTTCCTCTCCTTCGTAG
GCAGCTCGATAAACGGATCCAAAACTTCCATCGCCTAAGAGAAACTCTGGTGCTTCCTCAAATTCCAAC
TCATCATTGTTCAACATGATATTTCTAGGCAGGTCAGCCAAGATCAAGTCCGGAGCAATCTGGGATATT
GGAATAGTGAGCCTTGGTTGGTCTGGATTTATTAACAGGTCTCCTTCTTCAGCCTTCTTCATCAACTCA
TCAAGCAAGATCTTCTGATGTTCTTCACCATCATTAAAACTGTACAATGCCCATTTCTTCAACAGAGTT
TCTCCTTCCCCACAAATGTCAATCTCCAGTAACCCGGGAAACCATTCTTCCATGAGTGAGTCAATATGA
TCCACAACTCGGCCCAGAAGAATACAACCTTTTCTACAAGACGGAACTGTGATTTTCAAGAAACTCTCA
GGTCGATTGTCTAAGACTTCAGAGCCTACCAGACAGTATGCTTCTGGAGACCAATTCAAGTAGATGCCT
TGCCGCCAATACATCCTGTTAGGGCGTAGTGCTCTCTCTCTGCCAGAAAGCATGAAGGGTGAGATTTCA
AGTAATCGGTTAATCAATCTTGACCAAAATCCCATGGGAAAGTACGGCATTTCGTACAGCCGGATGATG
ATCTCAGAGTTCTCACAGTGGGGGAGCTCTATCACTGGCCTGTGGTCAGACAAGCTGCTTGGAACCAGA
AGATATTCTTCCCCTATTGGCAATGCGATCTGAAATTTTTCTAATAGTTTAAAGTATTGCATCATATAG
TTCTTCGGGAATCGCTTCTTCTTTGAAAGGAATTTTTCCACATCTCTCCGGGAAATGATGCCCTTAGGA
TGTTTCAGACAGCCGTCTACCTTCACTGTCAAGATCTGTGCCATGACTTTACAAAGCCACTTGGGTTCC
ACAAAGTACAGGTCACTTAGCTGCAGGGCAGGGTCTTGAAAATGCAGAAGAACTCCCGACTCATTTAGG
AAGTGAACGGCGTGTGGGAGCTCGTTCTCATCCAGCTGCAGCTGATGTTCGTTCACGAGCTGTAACAGG
TGTTTCCGGTTAATCACAGGAAACTCAGTCGGCACAGCTTTCCGCTCTGATAAAATGATTTTCTCCAGT
TCTACGTAGCAATCTGGAATTAGCTGCCCAACCACAGGCTGATCTCGGATCTTGAAATTAAGGCTCTCA
TTTATGATGGTTTTCCGAAGCTTTGCCAGCGCATCTGACTCCTCGGTGGCATTCACAAAGTGGTAGTCC
CGGATGGTGGGGAATCCTCGCTTATTTAGGAGTTCCTTCGTGATTTTGCTTATGCACGCTTTCCGCTGC
TTCTCATCAGAAACATCCAAATGTGTGCCCACCAGAATCACCGGGGAAGAAGAGGCACGAGCCTTGATA
TTGAAGAGCCAGGGCTTCATGGCGTCCACCTCTGCCTGCCCCTTGCTGAGATCATAGACAGCCAGGTAG

AGGGCTCTCTGGGTCATGAAGTGGGGGTGAGTGCTGTAGAATTCCTCACGACCTGCAAAATCCCACACG
TTTAGAACCAGGTCCTTTCTCCTTTTGCCCCGTATTTGGATGGACCAGTCTCGCACGTCTATGCCGACT
GTGGCACCCTGCATGCCAAGTTCTGGTTTCTTCATTTTCATGAGTTGTTGCAGTAAAGTGGTCTTACCG
CTCCCCGTATTTCCCACAATCATGAGCTTCATTCGGTTGTAGGGTACAGCCTTTTTCAGACGTTGTTGT
AGAAACCTTATGATGTCTTTGGCCTTGCATCCTACGTGCTTAAAGTCAAAATTCAGATGCAGTCCGTCC
AAGGGAAGATCCCATATCTTGCTCAACTTCCCCATTTCATTTGGGAAGGACCTCAGTTCCAAGTTGTAA
CTGACGTCGAGAGACGTCAGATTTTCAAGGCAGCCAATTTCTGGAGGAATCTCTTTCAGTTTATTATGA
GAGAGATGCAGTTTCTCTACTCTTGACCACACGTGTGGGTTCTCACTAAAGTCTAAGGTGCTGATCTGA
TTCTTGCTAAAAATGAGTTCCCTTAAGTTCAGAGACTTCCAATGTGCAGGTCCCGGCAGACATTCAATG
TTGTTGTGGCTCATATCCAAGGACCGCAAGTGCGGAAGACTGAAAATCGCTTCTGGAATGCACGTGAAA
GAGTTCTGAGACAATTTTAAGCTCGTTATGGAAGAAGGTAAGGCAGGCATTGCAGCAAGAAAATTCATG
CGAGCACTGAAACTCTCGACTTTTGAACAAGCCTCAAGAAAATCTCCAGGTAGGGATGGAATGTGATTT
TTACTAAGATTTAAAATCTTCAGTTCCTTCAGGCTCAGGGGAGAGCAAATCCCGGATATTTTATTTCCT
TCCAGTAGGAGCTGCTCAAGTTTCTCCACCACTTGGGCAAGATTCTCTGGGATTGAAGAGAGCTGGTTA
TAGGACAGATTCAACTGTTTGAGGCTTGGACACTTCATCGCAGGGTCTAAAACTACTGTTGGCCCGATG
TCATTTCGAGAGGCATCTAGGTTGGTGATACGTGGCATTTTCAACACGAAAGAGGGAAATGAGGTGAAT
TTGTTACTGTGCAAATCCAAGTGTATCAAACACTTCAGAGTCTCACACAGCTGCTGTGGGAAGCTCGTG
AGTGAATTCTGGTGAAGTTCCAGTTTGGTGAGATGTTCCAGGTGGCTACTGAGGCAACACTTCTGGCTC
AGAGCATCAATATCTTTGAGTTCGTTGGCAGATAGGTCTAACGACGTGATGTGTTCTCTCTCAGAAGCC
AGGGAAGAAGAGCTATCTGATTGCCTCATATGGGACGGCAGCCTTGAGGACCTGAGAGACTCATCTGAA
GACAGTATTTTTCTTTTTCGTCTCAGTAAGTCTTCATGGTCAAAAACAGGACCCAGCGAATTGGAATGC
CTCTGAGCATTTGGTGAGCAGCGCTGCAGAGCTAGATCTCTGTAAACTTCCCCTACACTAATTGAGTTG
GACTTCCTCTTCACGAGAAATGAGCTCTCGCTGCCTTCGCTATCCAGATCATCGCTCTGGCCAAACACA
CTGTCCATAGAAGAGTCGGGAATAAAGGTCCATTCTCCAAATTTCGCCAGCGCGTCTTCAGAAAACTTG
CCGTCACTGCCTGAGGCCACGCCTTCTTGAAGGGTGTTTCTCATCTGATACCGGAGCACTTTCCTCGCT
AGGACAGATCCTGTGTTTGTTTGCTTCCTTAAATTGGATGACTTATCTGGAAATAAAGGACCAAGCCAA
GAAGGATCAATTTTTCCTATGCCAAATCCTCCAAGGCAAATGCTGTTGTTGGCCAGGTCCAGGGCAAGT
TTCCTGAGGAGCAAGCTGATGACCTGGCTGTCGCCCTTTTGGATGCTTACGGTCAGGGCCTTCCGTACA
TCTTGTTCACGACAACCACCATTAAGCAACAGTTCCACCAATTTAGGACTGCTCTCTTTCTCACATACC
TGATAGATTAAAGAAGTTGCCCCCTTCACTTGGTTGGCATCAGCTCCCAAGAGGAGCAAACATTCAACC
ATGATGCTGTTATTCTGATCGCAGGCTCTCTCTAGCATGGTGTTTTTCAGCTCATCATCCACGGCCACT
TTTGCAAAGCATTTGCAACATAGATTGAGGAACTGCTCATCCTTTTGTTCTACAACACTGGAAGACATC
TGATGAAATATCACCACATCAAAGGAATAGTGCACTAGCAGCTTGGAGAAAGATACTGACAGCTCAAGT
ATTGACAGGGTTGTCTGTAATCCTGTAGTCTGCACCTCAGCAACATCTTTAAAGCGCTGCAAAGTGGAA
GCCAGAATTTTTGCCAGGAGGTGCCCTGTCCCTATGCAGAAATTCTTCTTTGTCATCAAGCATCCCATA
AGGTGTAAGCCCAGACACTGAATTTCTTGGTCATCTGGATACATCTGTAAGGTGTGGAGGACTGAGTCA
ACTGCTCCTTGCAGGGACAATGTCTCTGTGGCATCAGGAAGGTGCGCGAGAGAAGAGATTACTTTCAAT
CCACATTTCTGAATCCCAGGATTCCCAATGAACCTGTTCAGAGCGACTAGAACCAGCTTGTGGATGTCA
GTCCTGAAACACTGTTTTCTGAGCACATTTGGTCTGCATTGAGAGTCCTCCCTGGATTCTTCCAATAGT
CCTGGCACAACGAAATGCAAGATAGCTCGCAGCGCCTCCAGCTGGACTGACAGAGACGTTCCGTGGGCT
TTCATCACTGTTAGTATTTTAGGGACCACTGCTGCCATTGTATCCAGAGAAGGGTTACTTCCTTCAAAC
AGGTGACTCAGCATCTTGCAGCCACTCTCTGCCACCTCAGGCGCATGGGCATGCTTCTGCATCAATTCC
AAGACATTCAGGTATACTCCTTTTGCCAGCAGGATTTTCCTGAAATTAACATTTTGTTCCAAGAGAGTG
GACAGAGCATGTGCAGCTGCTTGGAAGACATCTTTGGAAGAAGAGTGCATCAGCATAGACAGCATCACT
TCCCTGTGCGCAGGGAACTGGCCATCTTCATCTCCGATCTTCTCATGCAAACTGTTCTGGTACATAAGG
AGGTTATTTAGTGCCCAGCAGGCAGCCTCCTGCACGTGTTTGTCCTTTCGATGGCGCACCAGGGCTTTA
TAGCAGGGTTCCAGCCAGAAAAGCTTCTCACTGTCTTCCTCTTCGCTCTGCTCTTGAGTCTCACTTCTT
TCCTCCAAGTCTTGGTTTAAGAAAATAGTCTCAGTGAGGAGTGCTAAACAGCTGAGTGCAGAGATCTGT
AAGGCTGCGTTCTCAGGATACTGTCGGACCGCTTTCACCACAAAGACATGCACTTCGTTCAACACCAGG
ATGTTGAAAAAGTTACCTAATGTAAGCTTCTGGAACAAGGAGCAGCTCACCTCTTGGATGTTTTCATTG
GTGGGGAAGGCTTTCATGGCCTCCACCACAAGATTGTAGCACCGGACATTCCCACTCATGAGGACCTCT
ACATTGCTGCATGTAACCGCCAGGGAATGCAAGCAGCAAAGTACGTGGTACACAATCTCCTTGTCCCTT
CTGAAGCTGCCGAACGTACTCAGCAGTATCGTGTAATCTTTGTTCTCCACAAACTCAGTCAGCTGTTCC
TCGGAAACTCTCTCAAAAAGCACGTGTAAAGCTTTGCATCCCAGTTTTTGGACTTCATCATTGGCTGAA
TATCTGTGCATGGCATCAAAAATTAACAAGAAAATATCACATTCTTCATCCAGTATCAGCAAGGTGAGT

TTACCTGAATCTAGGAGGAGATCCAAGGCTTTTAGTCCAACTATTGACAGGTTTACATTGGCGTGATGA
ACAGTTAACATTTTAAGAATCAGCCGGTGAATACCAAGGACTTCCCAATCATTTCCAATATCCTGGGGT
CCTATTAAGCTTTGCAATGTCCCTGGACAGACTTCTATTAATTTGCACAGAAGTGACCACCCCGCCTGC
TGTACACTGGCAACTCTCATGTAGGAGTCCAGGACAATCAACAGAGGCACGTGGAAATTTTTATCTTCA
AATAACTTGGAGGCGCGGTCCGAGTAGGTGAACACCAGCATGTCCTCCAGGAGCTGAAGCAACGTCTCG
ATCTGCTTGCCTTCCTGGACATTATTCAGCCTGACTATCAACTTCTTCAGAGCCTCCTCCTCCTCTTCC
TCTTCGCAGCCCTGACAGGCGCCACTGGCCATGGTGCAGCCGGCGGGGACTGCGGCGAGCTGGGACGGC
TCCTGCTCTCAGAGCTGCTC

SEQ ID NO: 7

>NM_001191789.1褐家鼠富含白胺酸之重複激酶2 (Lrrk2)，mRNA

ATGGCCAGTGGCGCCTGTCAGGGCTGCGACGAGGAAGAGGAGGAGGAGGCTCTGAAGAAGTTGATAGTC
AGGCTGAATAATGTCCAGGAAGGCAAGCAGATCGAGACGTTGCTCCAGCTCCTGGAGGACATTCTGGTG
TTCACCTACTCCGACCGCGCCTCCAAGTTATTTGAAGGCAAAAATGTCCACGTGCCTCTGTTGATAGTC
CTGGACTCCTACATGAGAGTCGCCAGTGTGCAGCAGGTGGGGTGGTCACTTCTGTGCAAATTAATAGAA
GTCTGTCCAGGGACATTGCAAAGCTTAATAGGACCCCAGGATATTGGGAATGATTGGGAAGTCCTTGGT
ATTCACCGACTGATTCTTAAAATGTTAACTGTTCATCATGCCAACGTAAACCTGTCAATAGTTGGACTA
AAAGCCTTAGATCTCCTCCTAGATTCAGGTAAAATTACTCTGCTGATACTGGATGAAGAATGTGATGTT
TTCCTGTTAATTTTTGATGCCATGCACAGATATTCAGCCAACGAGGAAGTCCAGAAGCTTGCGTGCAAG
GCTTTACATGTGCTGTTCGAGAGAGTGTCCGAGGAGCAACTGACTGAGTTTGTGGAGAACAAAGATTAC
ATGACCCTGCTGAGTACGTTCCGCAGCTTCAAGAGGGACGAGGAGATTGTGCACCATGTACTCTGCTGC
CTGCATTCTCTGGCCGTCACTTGCAGCAATGTGGAGGTCCTCATGAGTGGGAATGTCAGGTGTTACAAT
ATTGTGGTGGAAGCCATGAAAACATTCCCCACCAGTGAAAACATTCAAGAGGTGAGCTGCTCCTTGCTC
CACAAGCTTACATTAGGTAATTTTTTCAACATCCTGGTGTTGAACGAAGTCCATGTCTTTGTGGTGAAA
GCCGTCCAGCGGTATCCCGAGAACGTAGCCTTACAGATCTCTGCACTCAGCTGCTTAGCCCTCCTCACC
GAGACTATTTTCTTAAACCAAGACCTGGAAGAAAGAAGTGAGACTCAGGAAAACAGCGATGAGGACAGT
GAGAAGCCTTTCTGGTTGGAACCCTGCTATAAAGCCCTGATGCGCCATCGAAAGAACAAACACGTGCAG
GAGGCCGCCTGCTGGGCCCTAAATAATCTCCTCATGTACCAGAGCAGTTTGCACGAGAAGATTGGAGAT
GAAGATGGCCAGTTCCCGGCGCACAGGGAAGTGATGCTGTCTATGCTGATGCACTCTTCTTCCAAAGAC
GTCTTCCAAGCAGCTGCGCATGCTCTGTCCACTCTCTTGGAACAAAACGTTAATTTCAGGAAAATCCTG
CTTGCAAAAGGAGTGTACCTGAATGTCTTGGAGTTGATGCAGCGGCACGCCCAGGTTCCTGAGGTGGCA
GAGAGTGGCTGCAAGATGCTGAGTCATCTGTTTGAAGGAAGCAACCCTTCTTTGGATACAGTGGCGGCA
GTGATCCCCAAAATACTAACAGTGATGAGAACCCATGGAACGTCTCTGTCAGTCCAGCTGGAGGCACTG
CGAGCTCTTCTGCATTTTGTGGTGCCGGGAGTATCAGAAGATTCCAGGGATGACTCGCGATGCCAACCA
AACGTGCTCAGAACACAGTGCTTCAGGACTGACATCCACAAGCTGGTTCTAGCCGCTCTGAACAGGTTC
ATTGGGAATCCCGGGATTCAGAAATGTGGATTGAAAGTCATCTCTTCTTTCGCACATCTTCCCGATGCC
TTAGAGATGTTATCCCTGCATGGAGCAGTTGACTCAGTCCTCCATACCTTACAGATGTATCCAGATGAC
CAAGAAATTCAGTGTCTGGGCTTACACCTTATGGGATGCCTGATGACAAAGAAGAATTTCTGCATAGGG
ACAGGGCACCTCCTGGCAAAAATTCTGGCTTCCACCTTGCAGCGATTTAAAGATGTTGCTGAAGTACAG
ACTACAGGATTACAGACGGTCTTGTCAATGCTTGACCTGTCCGTATCTTTCTCCAAGCTGCTAGTGCAC
TATTCATTTGATGTGGTGATGTTTCATCAGATGTCTTCCGGTGTCCTGGAACAAAAGGATGAGCAGTTT
CTCAACTTATGCTGCAAATGCTTTGCAAAAGTGGCTGTGGATGATGAGCTGAAAAGCAAGATGCTAGAG
AGAGCCTGCGATCAGAACAACAGCATCATGGTCGAATGTTTGCTCCTCTTGGGAGCCGATGCCAATCAA
GCGAAGGGGGCAACTTCTTTAATCTATCAGGTATGTGAGAAAGAGAGCAGCCCTAAATTGGTGGAACTA
TTGCTTAACAGTGGGTGCCGTGAACAAGATGTACGGAAAGCCCTGACAGTAAGCATCCAAAAGGGCGAC
AACCAGGTCATCAGCTTACTCCTGAGGAGACTTGCCCTGGACCTGGCCAACAACAGCATTTGCCTTGGA
GGATTTTGCATAGGAAAACTTGATCCTTCTTGGCTAGGCCCTTTATTTCCAGATAAGTCATCTAATTTG
AGGAAACAAACAAATGCGGGGTCTGTCCTAGCGAGGAAAGTGCTCCGGTATCAGATGAGAAACACTCTT
CAAGAAGGCGTGGCCTCAGGCAGTGAGGGCAACTTCTCTGAGGATGCGCTGGCGAAATTTGGCGAATGG
ACCTTCATTCCCGACTCTTCTATGGACAGTGTGTTTGGCCAGAGTGACGATCTGGATAGCGAAGGCAGC
GAGAGCTCCTTTCTGGTGAAGAAGAAGTCCAACTCAGTTAGTGTAGGAGAAGTTTACAGGGACCTAGCT
CTGCAGCGCTGCTCACCAAATGCTCAGAGGCACTCCAGTTCCTTGGGTCCTGTTTTTGATCACGAAGAT
CTACTGAGACGAAAAAGAAAAATACTGTCCTCAGATGAGTCTCTCAGATCCTCAAGGCTGCAGTCCCAT
ACGAGACAATCAGATAGCTCTTCTTCTCTGGCTTCTGAGAGAGAACACATCACGTCTTTAGACCTTTCT

GCCAACGAACTGAAAGATATTGATGCTCTGGGCCAGAAGTGTTGCCTCAGTAGCCACCTGGAGCATCTC
ACCAAGCTGGAACTTCACCAGAATTCACTCACGAGCTTCCCACAACAGCTGTGTGAGACTCTGAAGTGC
TTGACACATCTGGATTTGCACAGTAACAAATTCGCCACCTTTCCCTCCTTCATGTTGAAAATGCCAAGT
GTTATCCACCTAGACGCCTCTCGAAATGACATCGGACCAACAGTTGTTTTAGACCCTGTGGTGAAGTGT
CCAAGCCTCAAACAGTTTAACCTGTCCTACAACCAGCTCTCTTCCATCCCAGAGAACCTGGACCAAGTG
GTGGAGAAACTGGAGCAGCTCCTACTGGAAGGAAACAAAATATCCGGGATTTGTTCTCCCTTGAGCCTG
AAGGAACTGAAGATTTTAAACCTTAGTAAAAACCACATTCCATCCCTACCTGAAGACTTTCTCGAGGCT
TGCCCGAAAGTGGAGAGCTTCAGTGCCCGCATGAATTTTCTCGCTGCAATGCCTGCCTTACCGTCTTCC
ATAACTAGCTTAAAATTGTCTCAAAACTCTTTCACGTGCATTCCAGAAGCGATCTTCAGTCTTCCACAC
TTGCGGTCCTTGGATATGAGTCACAACAACATTGAACACCTGCCGGGACCTGCACATTGGAAGTCTCTG
AACTTAAGGGAACTCATTTTTAGCAAGAATCAGATCAGCACCTTAGACTTGAGCGAAAACCCACACATA
TGGTCAAGAGTAGAGAAGCTGCATCTCTCTCATAATAAACTGAAAGAGATTCCTCCAGAAATTGGCCGT
CTTGAAAACCTGACATCTCTTGATGTCAGTTACAACCTGGAACTGAGGTCCTTTCCAAACGAAATGGGG
AAGTTAAGCAAAATATGGGATCTTCCCTTGGATGGACTGCACCTCAACTTTGACTTTAAGCACATAGGA
TGCAAAGCCAAAGACATCATAAGGTTTCTACAACAACGTCTGAAAAAGGCCGTGCCCTACAACCGAATG
AAGCTCATGATTGTGGGCAATACGGGGAGTGGTAAGACCACTCTACTGCAGCAGCTCATGAAAATGAAG
AAATCAGAACTCGGCATGCAGGGCGCCACGGTTGGCATAGACGTGCGAGACTGGCCCATCCAAATACGA
GGCAAAAGGAAAAAGGACCTTGTTCTAAACGTGTGGGACTTTGCAGGCCGTGAGGAATTCTACAGCACT
CACCCCCACTTCATGACCCAGAGAGCCCTGTACCTGGCTGTCTACGACCTCAGCAAGGGGCAGGCGGAG
GTGGATGCCATGAAGCCCTGGCTCTTCAACATCAAGGCTCGTGCCTCTTCTTCCCCGGTGATTCTGGTG
GGCACACATTTGGATGTTTCTGATGAGAAGCAGCGCAAAGCCTGCATAGGCAAAATCACGAAGGAACTC
CTTAATAAGCGAGGATTCCCCACCATCCGGGACTACCACTTCGTGAATGCCACTGAGGAGTCGGATGCG
CTGGCAAAGCTCCGGAAAACCATCATAAATGAGAGTCTTAATTTCAAGATCCGAGATCAGCCCGTGGTT
GGGCAGCTAATTCCAGATTGCTACGTAGAACTGGAGAAAATAATCTTATCGGAGCGTAAAGCTGTACCA
ACGGAGTTTCCTGTAATTAACCGGAAACACTTACTCCAGCTGGTGAAGGAACACCAGCTGCAGCTGGAT
GAGAACGAGCTCCCCCACGCTGTTCACTTCCTGAATGAGTCAGGAGTTCTTCTGCATTTTCAAGACCCC
GCATTGCAGCTGAGTGACCTGTACTTTGTGGAACCCAAGTGGCTTTGTAAAGTCATGGCACAGATTTTG
ACCGTGAAAGTGGACGGCTGCCTGAAGCATCCTAAGGGCATCATTTCACGGAGAGATGTGGAAAAATTC
CTTTCCAAGAAAAAGCGATTCCCTAAGAACTACATGGCGCAGTACTTCAAACTTTTAGAAAAATTTCAG
ATCGCATTACCAATAGGGGAAGAATATCTGCTGGTTCCAAGCAGCTTATCTGACCACAGGCCAGTGATA
GAGCTCCCCCACTGTGAGAACTCTGAGATCATCATCCGGCTGTATGAAATGCCATACTTTCCAATGGGA
TTTTGGTCAAGATTGATTAACCGATTACTTGAAATCTCACCTTTCATGCTTTCTGGAAGAGAGAGAGCA
CTACGCCCAAACCGAATGTACTGGCGCCAAGGCATCTACTTGAATTGGTCTCCAGAAGCCTACTGTCTG
GTGGGCTCTGAAGTCTTAGACAGTCGCCCAGAGAGTTTCTTGAAAATCACAGTTCCATCTTGTAGAAAA
GGTTGTATTCTTTTGGGCCGAGTTGTGGATCATATTGACTCACTCATGGAAGAATGGTTTCCTGGATTG
CTGGAGATTGACATTTGTGGGGAAGGAGAAACTTTGTTGAAAAAATGGGCATTGTATAGTTTTAATGAT
GGCGAAGAACATCAGAAGATCTTGCTTGATGAGTTGATGAAGAAGGCTGAAGAAGGAGACCTGTTAATA
AATCCAGATCAACCAAGGCTCACCATTCCAATATCCCAGATTGCTCCGGACTTGATCTTGGCTGACCTG
CCTAGAAATATTATGTTGAACAATGACGAACTGGAATTTGAGGAAGCACCCGAGTTTCTCTTAGGTGAT
GGAAGTTTCGGATCAGTTTATCGAGCTGCCTACGAAGGAGAGGAAGTGGCTGTGAAGATTTTTAATAAG
CACACATCGCTTAGGCTGTTAAGACAAGAGTTGGTGGTACTCTGTCATCTCCACCATCCCAGCTTGATC
TCCCTGTTGGCGGCTGGGATTCGTCCTCGGATGCTGGTAATGGAGTTGGCCTCCAAGGGTTCCTTGGAT
CGCCTGCTGCAGCAGGACAAAGCCAGCCTCACCCGGACCCTCCAGCACAGAATCGCATTGCATGTGGCC
GATGGCCTGAGATATCTGCACTCGGCCATGATTATTTACCGTGATCTGAAGCCCCACAACGTGCTACTC
TTCACCCTGTATCCCAATGCCGCCATCATTGCGAAGATTGCGGACTACGGGATTGCACAGTACTGCTGT
AGGATGGGAATAAAGACCTCAGAGGGCACCCCAGGGTTCCGAGCACCTGAAGTTGCCAGAGGAAATGTC
ATTTATAACCAACAGGCTGATGTTTATTCTTTTGGCTTACTACTTCATGATATCTGGACAACTGGGAAT
AGAATCATGGAGGGTTTGAGGTTTCCAAATGAGTTTGATGAACTGGCCATACAAGGGAAATTGCCAGAC
CCAGTTAAAGAATATGGCTGTGCCCCGTGGCCTATGGTTGAGAAGTTAATTACAAAATGTTTGAAAGAA
AATCCTCAAGAAAGACCCACTTCTGCCCAGGTCTTTGACATTTTGAATTCAGCTGAGTTAATTTGCCTC
ATGCGACACATTTTCATACCTAAGGACATCACTGTTGAATGCATAGCTGCTACAAACCTCAATAGCAAG
CGAGCGACTCTCTGGTTGGGCTGTGGGAACACAGAAAAAGGGCAGCTTTCCTTACTTGACTTGAACACG
GAAAGATACAGCTATGAGGAAGTTACTGATAGTAGAATACTGTGCCTGGCTTTGGTGCATCTTGCTGCT
GAGAAAGAGAGCTGGGTTGTGTGTGGGACACAGTCCGGAGCTCTCCTGGTCATCAATGCTGAAGATGAG
ACAAGGAGACACACCCTCGACAAGATGACTGATTCTGTTACTTGCTTGTATTGCAATTCCTTTGCCAAG

CAGAGCAAGCAAAGTCACTTCCTTTTGGTGGGAACTGCTGATGGCAACTTAATGATATTTGAAGATAAG
ACCATTAAGTGTAAAGGAGCTGCCCCATTGAAGACACTACACATAGGCGATGTCAGTACGCCCCTGATG
TGCCTGAGCGAGTCCATGAATTCATCTGAAAGACACATCACATGGGGAGGGTGTGGCACAAAGATCTTC
TCCTTTTCCAATGATTTCACCATTCAGAAACTCATCGAGACAAGAACCAACCAGCTGTTTTCTTACTCA
GCGTTCAGCGATTCTAACATCATAGCGGTGGCAGTGGACACAGCGCTTTATATTGCCAAGAAAAACAGC
CCTGTCGTAGAGGTGTGGGACAAGAAGACAGAAAAACTCTGTGAACTAATAGACTGTGTGCACTTCTTA
AAGGAGGTGATGGTGAAAATAAACAAGGACTCGAAGCACAAGCTGTCCTACTCTGGGAGGGTGAAGGCA
CTCTGCCTGCAGAAGAACACAGCTCTCTGGATCGGAACTGGAGGAGGCCACATCTTACTCCTGGATCTT
TCTACACGGCGAGTCATCCGCACCATCCACAATTTCTGTGATTCCGTGAGAGCCATGGCCACAGCTCAG
TTAGGCAACCTTAAAAATGTCATGCTGGTTTTGGGGTACAAGCGGAAGAGTACAGAAGGAACCCAAGAA
CAAAAAGAGATACAATCTTGTTTGTCTATTTGGGACCTCAATCTTCCACATGAAGTGCAAAACTTAGAA
AAACACATTGAAGTAAGAACAGAACTGGCTGATAAAATGAGGAAAACATCTGTCGAATAG

SEQ ID NO:8

>SEQ ID NO: 7之反向互補序列

CTATTCGACAGATGTTTTCCTCATTTTATCAGCCAGTTCTGTTCTTACTTCAATGTGTTTTTCTAAGTT
TTGCACTTCATGTGGAAGATTGAGGTCCCAAATAGACAAACAAGATTGTATCTCTTTTTGTTCTTGGGT
TCCTTCTGTACTCTTCCGCTTGTACCCCAAAACCAGCATGACATTTTTAAGGTTGCCTAACTGAGCTGT
GGCCATGGCTCTCACGGAATCACAGAAATTGTGGATGGTGCGGATGACTCGCCGTGTAGAAAGATCCAG
GAGTAAGATGTGGCCTCCTCCAGTTCCGATCCAGAGAGCTGTGTTCTTCTGCAGGCAGAGTGCCTTCAC
CCTCCCAGAGTAGGACAGCTTGTGCTTCGAGTCCTTGTTTATTTTCACCATCACCTCCTTTAAGAAGTG
CACACAGTCTATTAGTTCACAGAGTTTTTCTGTCTTCTTGTCCCACACCTCTACGACAGGGCTGTTTTT
CTTGGCAATATAAAGCGCTGTGTCCACTGCCACCGCTATGATGTTAGAATCGCTGAACGCTGAGTAAGA
AAACAGCTGGTTGGTTCTTGTCTCGATGAGTTTCTGAATGGTGAAATCATTGGAAAAGGAGAAGATCTT
TGTGCCACACCCTCCCCATGTGATGTGTCTTTCAGATGAATTCATGGACTCGCTCAGGCACATCAGGGG
CGTACTGACATCGCCTATGTGTAGTGTCTTCAATGGGGCAGCTCCTTTACACTTAATGGTCTTATCTTC
AAATATCATTAAGTTGCCATCAGCAGTTCCCACCAAAAGGAAGTGACTTTGCTTGCTCTGCTTGGCAAA
GGAATTGCAATACAAGCAAGTAACAGAATCAGTCATCTTGTCGAGGGTGTGTCTCCTTGTCTCATCTTC
AGCATTGATGACCAGGAGAGCTCCGGACTGTGTCCCACACACAACCCAGCTCTCTTTCTCAGCAGCAAG
ATGCACCAAAGCCAGGCACAGTATTCTACTATCAGTAACTTCCTCATAGCTGTATCTTTCCGTGTTCAA
GTCAAGTAAGGAAAGCTGCCCTTTTTCTGTGTTCCCACAGCCCAACCAGAGAGTCGCTCGCTTGCTATT
GAGGTTTGTAGCAGCTATGCATTCAACAGTGATGTCCTTAGGTATGAAAATGTGTCGCATGAGGCAAAT
TAACTCAGCTGAATTCAAAATGTCAAAGACCTGGGCAGAAGTGGGTCTTTCTTGAGGATTTTCTTTCAA
ACATTTTGTAATTAACTTCTCAACCATAGGCCACGGGGCACAGCCATATTCTTTAACTGGGTCTGGCAA
TTTCCCTTGTATGGCCAGTTCATCAAACTCATTTGGAAACCTCAAACCCTCCATGATTCTATTCCCAGT
TGTCCAGATATCATGAAGTAGTAAGCCAAAAGAATAAACATCAGCCTGTTGGTTATAAATGACATTTCC
TCTGGCAACTTCAGGTGCTCGGAACCCTGGGGTGCCCTCTGAGGTCTTTATTCCCATCCTACAGCAGTA
CTGTGCAATCCCGTAGTCCGCAATCTTCGCAATGATGGCGGCATTGGGATACAGGGTGAAGAGTAGCAC
GTTGTGGGGCTTCAGATCACGGTAAATAATCATGGCCGAGTGCAGATATCTCAGGCCATCGGCCACATG
CAATGCGATTCTGTGCTGGAGGGTCCGGGTGAGGCTGGCTTTGTCCTGCTGCAGCAGGCGATCCAAGGA
ACCCTTGGAGGCCAACTCCATTACCAGCATCCGAGGACGAATCCCAGCCGCCAACAGGGAGATCAAGCT
GGGATGGTGGAGATGACAGAGTACCACCAACTCTTGTCTTAACAGCCTAAGCGATGTGTGCTTATTAAA
AATCTTCACAGCCACTTCCTCTCCTTCGTAGGCAGCTCGATAAACTGATCCGAAACTTCCATCACCTAA
GAGAAACTCGGGTGCTTCCTCAAATTCCAGTTCGTCATTGTTCAACATAATATTTCTAGGCAGGTCAGC
CAAGATCAAGTCCGGAGCAATCTGGGATATTGGAATGGTGAGCCTTGGTTGATCTGGATTTATTAACAG
GTCTCCTTCTTCAGCCTTCTTCATCAACTCATCAAGCAAGATCTTCTGATGTTCTTCGCCATCATTAAA
ACTATACAATGCCCATTTTTTCAACAAAGTTTCTCCTTCCCCACAAATGTCAATCTCCAGCAATCCAGG
AAACCATTCTTCCATGAGTGAGTCAATATGATCCACAACTCGGCCCAAAAGAATACAACCTTTTCTACA
AGATGGAACTGTGATTTTCAAGAAACTCTCTGGGCGACTGTCTAAGACTTCAGAGCCCACCAGACAGTA
GGCTTCTGGAGACCAATTCAAGTAGATGCCTTGGCGCCAGTACATTCGGTTTGGGCGTAGTGCTCTCTC
TCTTCCAGAAAGCATGAAAGGTGAGATTTCAAGTAATCGGTTAATCAATCTTGACCAAAATCCCATTGG
AAAGTATGGCATTTCATACAGCCGGATGATGATCTCAGAGTTCTCACAGTGGGGGAGCTCTATCACTGG
CCTGTGGTCAGATAAGCTGCTTGGAACCAGCAGATATTCTTCCCCTATTGGTAATGCGATCTGAAATTT
TTCTAAAAGTTTGAAGTACTGCGCCATGTAGTTCTTAGGGAATCGCTTTTTCTTGGAAAGGAATTTTTC
CACATCTCTCCGTGAAATGATGCCCTTAGGATGCTTCAGGCAGCCGTCCACTTTCACGGTCAAAATCTG

TGCCATGACTTTACAAAGCCACTTGGGTTCCACAAAGTACAGGTCACTCAGCTGCAATGCGGGGTCTTG
AAAATGCAGAAGAACTCCTGACTCATTCAGGAAGTGAACAGCGTGGGGGAGCTCGTTCTCATCCAGCTG
CAGCTGGTGTTCCTTCACCAGCTGGAGTAAGTGTTTCCGGTTAATTACAGGAAACTCCGTTGGTACAGC
TTTACGCTCCGATAAGATTATTTTCTCCAGTTCTACGTAGCAATCTGGAATTAGCTGCCCAACCACGGG
CTGATCTCGGATCTTGAAATTAAGACTCTCATTTATGATGGTTTTCCGGAGCTTTGCCAGCGCATCCGA
CTCCTCAGTGGCATTCACGAAGTGGTAGTCCCGGATGGTGGGGAATCCTCGCTTATTAAGGAGTTCCTT
CGTGATTTTGCCTATGCAGGCTTTGCGCTGCTTCTCATCAGAAACATCCAAATGTGTGCCCACCAGAAT
CACCGGGGAAGAAGAGGCACGAGCCTTGATGTTGAAGAGCCAGGGCTTCATGGCATCCACCTCCGCCTG
CCCCTTGCTGAGGTCGTAGACAGCCAGGTACAGGGCTCTCTGGGTCATGAAGTGGGGGTGAGTGCTGTA
GAATTCCTCACGGCCTGCAAAGTCCCACACGTTTAGAACAAGGTCCTTTTTCCTTTTGCCTCGTATTTG
GATGGGCCAGTCTCGCACGTCTATGCCAACCGTGGCGCCCTGCATGCCGAGTTCTGATTTCTTCATTTT
CATGAGCTGCTGCAGTAGAGTGGTCTTACCACTCCCCGTATTGCCCACAATCATGAGCTTCATTCGGTT
GTAGGGCACGGCCTTTTTCAGACGTTGTTGTAGAAACCTTATGATGTCTTTGGCTTTGCATCCTATGTG
CTTAAAGTCAAAGTTGAGGTGCAGTCCATCCAAGGGAAGATCCCATATTTTGCTTAACTTCCCCATTTC
GTTTGGAAAGGACCTCAGTTCCAGGTTGTAACTGACATCAAGAGATGTCAGGTTTTCAAGACGGCCAAT
TTCTGGAGGAATCTCTTTCAGTTTATTATGAGAGAGATGCAGCTTCTCTACTCTTGACCATATGTGTGG
GTTTTCGCTCAAGTCTAAGGTGCTGATCTGATTCTTGCTAAAAATGAGTTCCCTTAAGTTCAGAGACTT
CCAATGTGCAGGTCCCGGCAGGTGTTCAATGTTGTTGTGACTCATATCCAAGGACCGCAAGTGTGGAAG
ACTGAAGATCGCTTCTGGAATGCACGTGAAAGAGTTTTGAGACAATTTTAAGCTAGTTATGGAAGACGG
TAAGGCAGGCATTGCAGCGAGAAAATTCATGCGGGCACTGAAGCTCTCCACTTTCGGGCAAGCCTCGAG
AAAGTCTTCAGGTAGGGATGGAATGTGGTTTTTACTAAGGTTTAAAATCTTCAGTTCCTTCAGGCTCAA
GGGAGAACAAATCCCGGATATTTTGTTTCCTTCCAGTAGGAGCTGCTCCAGTTTCTCCACCACTTGGTC
CAGGTTCTCTGGGATGGAAGAGAGCTGGTTGTAGGACAGGTTAAACTGTTTGAGGCTTGGACACTTCAC
CACAGGGTCTAAAACAACTGTTGGTCCGATGTCATTTCGAGAGGCGTCTAGGTGGATAACACTTGGCAT
TTTCAACATGAAGGAGGGAAAGGTGGCGAATTTGTTACTGTGCAAATCCAGATGTGTCAAGCACTTCAG
AGTCTCACACAGCTGTTGTGGGAAGCTCGTGAGTGAATTCTGGTGAAGTTCCAGCTTGGTGAGATGCTC
CAGGTGGCTACTGAGGCAACACTTCTGGCCCAGAGCATCAATATCTTTCAGTTCGTTGGCAGAAAGGTC
TAAAGACGTGATGTGTTCTCTCTCAGAAGCCAGAGAAGAAGAGCTATCTGATTGTCTCGTATGGGACTG
CAGCCTTGAGGATCTGAGAGACTCATCTGAGGACAGTATTTTTCTTTTTCGTCTCAGTAGATCTTCGTG
ATCAAAAACAGGACCCAAGGAACTGGAGTGCCTCTGAGCATTTGGTGAGCAGCGCTGCAGAGCTAGGTC
CCTGTAAACTTCTCCTACACTAACTGAGTTGGACTTCTTCTTCACCAGAAAGGAGCTCTCGCTGCCTTC
GCTATCCAGATCGTCACTCTGGCCAAACACACTGTCCATAGAAGAGTCGGGAATGAAGGTCCATTCGCC
AAATTTCGCCAGCGCATCCTCAGAGAAGTTGCCCTCACTGCCTGAGGCCACGCCTTCTTGAAGAGTGTT
TCTCATCTGATACCGGAGCACTTTCCTCGCTAGGACAGACCCCGCATTTGTTTGTTTCCTCAAATTAGA
TGACTTATCTGGAAATAAAGGGCCTAGCCAAGAAGGATCAAGTTTTCCTATGCAAAATCCTCCAAGGCA
AATGCTGTTGTTGGCCAGGTCCAGGGCAAGTCTCCTCAGGAGTAAGCTGATGACCTGGTTGTCGCCCTT
TTGGATGCTTACTGTCAGGGCTTTCCGTACATCTTGTTCACGGCACCCACTGTTAAGCAATAGTTCCAC
CAATTTAGGGCTGCTCTCTTTCTCACATACCTGATAGATTAAAGAAGTTGCCCCCTTCGCTTGATTGGC
ATCGGCTCCCAAGAGGAGCAAACATTCGACCATGATGCTGTTGTTCTGATCGCAGGCTCTCTCTAGCAT
CTTGCTTTTCAGCTCATCATCCACAGCCACTTTTGCAAAGCATTTGCAGCATAAGTTGAGAAACTGCTC
ATCCTTTTGTTCCAGGACACCGGAAGACATCTGATGAAACATCACCACATCAAATGAATAGTGCACTAG
CAGCTTGGAGAAAGATACGGACAGGTCAAGCATTGACAAGACCGTCTGTAATCCTGTAGTCTGTACTTC
AGCAACATCTTTAAATCGCTGCAAGGTGGAAGCCAGAATTTTTGCCAGGAGGTGCCCTGTCCCTATGCA
GAAATTCTTCTTTGTCATCAGGCATCCCATAAGGTGTAAGCCCAGACACTGAATTTCTTGGTCATCTGG
ATACATCTGTAAGGTATGGAGGACTGAGTCAACTGCTCCATGCAGGGATAACATCTCTAAGGCATCGGG
AAGATGTGCGAAAGAAGAGATGACTTTCAATCCACATTTCTGAATCCCGGGATTCCCAATGAACCTGTT
CAGAGCGGCTAGAACCAGCTTGTGGATGTCAGTCCTGAAGCACTGTGTTCTGAGCACGTTTGGTTGGCA
TCGCGAGTCATCCCTGGAATCTTCTGATACTCCCGGCACCACAAAATGCAGAAGAGCTCGCAGTGCCTC
CAGCTGGACTGACAGAGACGTTCCATGGGTTCTCATCACTGTTAGTATTTTGGGGATCACTGCCGCCAC
TGTATCCAAAGAAGGGTTGCTTCCTTCAAACAGATGACTCAGCATCTTGCAGCCACTCTCTGCCACCTC
AGGAACCTGGGCGTGCCGCTGCATCAACTCCAAGACATTCAGGTACACTCCTTTTGCAAGCAGGATTTT
CCTGAAATTAACGTTTTGTTCCAAGAGAGTGGACAGAGCATGCGCAGCTGCTTGGAAGACGTCTTTGGA
AGAAGAGTGCATCAGCATAGACAGCATCACTTCCCTGTGCGCCGGGAACTGGCCATCTTCATCTCCAAT
CTTCTCGTGCAAACTGCTCTGGTACATGAGGAGATTATTTAGGGCCCAGCAGGCGGCCTCCTGCACGTG
TTTGTTCTTTCGATGGCGCATCAGGGCTTTATAGCAGGGTTCCAACCAGAAAGGCTTCTCACTGTCCTC

ATCGCTGTTTTCCTGAGTCTCACTTCTTTCTTCCAGGTCTTGGTTTAAGAAAATAGTCTCGGTGAGGAG
GGCTAAGCAGCTGAGTGCAGAGATCTGTAAGGCTACGTTCTCGGGATACCGCTGGACGGCTTTCACCAC
AAAGACATGGACTTCGTTCAACACCAGGATGTTGAAAAAATTACCTAATGTAAGCTTGTGGAGCAAGGA
GCAGCTCACCTCTTGAATGTTTTCACTGGTGGGGAATGTTTTCATGGCTTCCACCACAATATTGTAACA
CCTGACATTCCCACTCATGAGGACCTCCACATTGCTGCAAGTGACGGCCAGAGAATGCAGGCAGCAGAG
TACATGGTGCACAATCTCCTCGTCCCTCTTGAAGCTGCGGAACGTACTCAGCAGGGTCATGTAATCTTT
GTTCTCCACAAACTCAGTCAGTTGCTCCTCGGACACTCTCTCGAACAGCACATGTAAAGCCTTGCACGC
AAGCTTCTGGACTTCCTCGTTGGCTGAATATCTGTGCATGGCATCAAAAATTAACAGGAAAACATCACA
TTCTTCATCCAGTATCAGCAGAGTAATTTTACCTGAATCTAGGAGGAGATCTAAGGCTTTTAGTCCAAC
TATTGACAGGTTTACGTTGGCATGATGAACAGTTAACATTTTAAGAATCAGTCGGTGAATACCAAGGAC
TTCCCAATCATTCCCAATATCCTGGGGTCCTATTAAGCTTTGCAATGTCCCTGGACAGACTTCTATTAA
TTTGCACAGAAGTGACCACCCCACCTGCTGCACACTGGCGACTCTCATGTAGGAGTCCAGGACTATCAA
CAGAGGCACGTGGACATTTTTGCCTTCAAATAACTTGGAGGCGCGGTCGGAGTAGGTGAACACCAGAAT
GTCCTCCAGGAGCTGGAGCAACGTCTCGATCTGCTTGCCTTCCTGGACATTATTCAGCCTGACTATCAA
CTTCTTCAGAGCCTCCTCCTCCTCTTCCTCGTCGCAGCCCTGACAGGCGCCACTGGCCAT

【序列表】

<110> 美商艾爾妮蘭製藥公司(ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.)

<120> 富含白胺酸之重複激酶2(LRRK2)iRNA藥劑組合物及其使用方法

<130> A108868 1010WO

<140>
<141>

<150> 63/138,717
<151> 2021-01-18

<150> 62/965,452
<151> 2020-01-24

<160> 354

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 9239
<212> DNA
<213> 智人

<400> 1
ggggcccgcg gggagcgctg gctgcgggcg gtgagctgag ctcgcccccg gggagctgtg 60

gccggcgccc ctgccggttc cctgagcagc ggacgttcat gctgggaggg cggcgggttg 120

gaagcaggtg ccaccatggc tagtggcagc tgtcaggggt gcgaagagga cgaggaaact 180

ctgaagaagt tgatagtcag gctgaacaat gtccaggaag gaaaacagat agaaacgctg 240

gtccaaatcc tggaggatct gctggtgttc acgtactccg agcgcgcctc caagttattt 300

caaggcaaaa atatccatgt gcctctgttg atcgtcttgg actcctatat gagagtcgcg 360

agtgtgcagc aggtgggttg gtcacttctg tgcaaattaa tagaagtctg tccaggtaca 420

atgcaaagct taatgggacc ccaggatgtt ggaaatgatt gggaagtcct tggtgttcac 480

caattgattc ttaaaatgct aacagttcat aatgccagtg taaacttgtc agtgattgga 540

ctgaagacct tagatctcct cctaacttca ggtaaaatca ccttgctgat attggatgaa 600

gaaagtgata ttttcatgtt aatttttgat gccatgcact catttccagc caatgatgaa 660

gtccagaaac ttggatgcaa agctttacat gtgctgtttg agagagtctc agaggagcaa 720

ctgactgaat ttgttgagaa caaagattat atgatattgt taagtgcgtt aacaaatttt 780

aaagatgaag aggaaattgt gcttcatgtg ctgcattgtt tacattccct agcgattcct 840

tgcaataatg tggaagtcct catgagtggc aatgtcaggt gttataatat tgtggtggaa 900

gctatgaaag cattccctat gagtgaaaga attcaagaag tgagttgctg tttgctccat 960

aggcttacat taggtaattt tttcaatatc ctggtattaa acgaagtcca tgagtttgtg 1020

gtgaaagctg tgcagcagta cccagagaat gcagcattgc agatctcagc gctcagctgt 1080

ttggccctcc tcactgagac tattttctta aatcaagatt tagaggaaaa gaatgagaat 1140

caagagaatg atgatgaggg ggaagaagat aaattgtttt ggctggaagc ctgttacaaa 1200

gcattaacgt ggcatagaaa gaacaagcac gtgcaggagg ccgcatgctg ggcactaaat 1260

aatctcctta tgtaccaaaa cagtttacat gagaagattg gagatgaaga tggccatttc 1320

ccagctcata gggaagtgat gctctccatg ctgatgcatt cttcatcaaa ggaagttttc 1380

caggcatctg cgaatgcatt gtcaactctc ttagaacaaa atgttaattt cagaaaaata 1440

ctgttatcaa aaggaataca cctgaatgtt ttggagttaa tgcagaagca tatacattct 1500

cctgaagtgg ctgaaagtgg ctgtaaaatg ctaaatcatc tttttgaagg aagcaacact 1560

tccctggata taatggcagc agtggtcccc aaaatactaa cagttatgaa acgtcatgag 1620

acatcattac cagtgcagct ggaggcgctt cgagctattt tacattttat agtgcctggc 1680

atgccagaag aatccaggga ggatacagaa tttcatcata agctaaatat ggttaaaaaa 1740

cagtgtttca agaatgatat tcacaaactg gtcctagcag ctttgaacag gttcattgga 1800

aatcctggga ttcagaaatg tggattaaaa gtaatttctt ctattgtaca ttttcctgat 1860

gcattagaga tgttatccct ggaaggtgct atggattcag tgcttcacac actgcagatg 1920

tatccagatg accaagaaat tcagtgtctg ggtttaagtc ttataggata cttgattaca 1980

aagaagaatg tgttcatagg aactggacat ctgctggcaa aaattctggt ttccagctta 2040

taccgattta aggatgttgc tgaaatacag actaaaggat ttcagacaat cttagcaatc 2100

ctcaaattgt cagcatcttt ttctaagctg ctggtgcatc attcatttga cttagtaata 2160

ttccatcaaa tgtcttccaa tatcatggaa caaaaggatc aacagtttct aaacctctgt 2220

tgcaagtgtt ttgcaaaagt agctatggat gattacttaa aaaatgtgat gctagagaga 2280

gcgtgtgatc agaataacag catcatggtt gaatgcttgc ttctattggg agcagatgcc 2340

aatcaagcaa aggagggatc ttctttaatt tgtcaggtat gtgagaaaga gagcagtccc 2400

aaattggtgg aactcttact gaatagtgga tctcgtgaac aagatgtacg aaaagcgttg 2460

acgataagca ttgggaaagg tgacagccag atcatcagct tgctcttaag gaggctggcc 2520

ctggatgtgg ccaacaatag catttgcctt ggaggatttt gtataggaaa agttgaacct 2580

tcttggcttg gtcctttatt tccagataag acttctaatt taaggaaaca aacaaatata 2640

gcatctacac tagcaagaat ggtgatcaga tatcagatga aaagtgctgt ggaagaagga 2700

acagcctcag gcagcgatgg aaatttttct gaagatgtgc tgtctaaatt tgatgaatgg 2760

acctttattc ctgactcttc tatggacagt gtgtttgctc aaagtgatga cctggatagt 2820

gaaggaagtg aaggctcatt tcttgtgaaa aagaaatcta attcaattag tgtaggagaa 2880

ttttaccgag atgccgtatt acagcgttgc tcaccaaatt tgcaaagaca ttccaattcc 2940

ttggggccca tttttgatca tgaagattta ctgaagcgaa aaagaaaaat attatcttca 3000

gatgattcac tcaggtcatc aaaacttcaa tcccatatga ggcattcaga cagcatttct 3060

tctctggctt ctgagagaga atatattaca tcactagacc tttcagcaaa tgaactaaga 3120

gatattgatg ccctaagcca gaaatgctgt ataagtgttc atttggagca tcttgaaaag 3180

ctggagcttc accagaatgc actcacgagc tttccacaac agctatgtga aactctgaag 3240

agtttgacac atttggactt gcacagtaat aaatttacat catttccttc ttatttgttg 3300

aaaatgagtt gtattgctaa tcttgatgtc tctcgaaatg acattggacc ctcagtggtt 3360

ttagatccta cagtgaaatg tccaactctg aaacagttta acctgtcata taaccagctg 3420

tcttttgtac ctgagaacct cactgatgtg gtagagaaac tggagcagct cattttagaa 3480

ggaaataaaa tatcagggat atgctccccc ttgagactga aggaactgaa gattttaaac 3540

cttagtaaga accacatttc atccctatca gagaactttc ttgaggcttg tcctaaagtg 3600

gagagtttca gtgccagaat gaattttctt gctgctatgc ctttcttgcc tccttctatg 3660

acaatcctaa aattatctca gaacaaattt tcctgtattc cagaagcaat tttaaatctt 3720

ccacacttgc ggtctttaga tatgagcagc aatgatattc agtacctacc aggtcccgca 3780

cactggaaat ctttgaactt aagggaactc ttatttagcc ataatcagat cagcatcttg 3840

gacttgagtg aaaaagcata tttatggtct agagtagaga aactgcatct ttctcacaat 3900

aaactgaaag agattcctcc tgagattggc tgtcttgaaa atctgacatc tctggatgtc 3960

agttacaact tggaactaag atcctttccc aatgaaatgg ggaaattaag caaaatatgg 4020

gatcttcctt tggatgaact gcatcttaac tttgatttta aacatatagg atgtaaagcc 4080

aaagacatca taaggtttct tcaacagcga ttaaaaaagg ctgtgcctta taaccgaatg 4140

aaacttatga ttgtgggaaa tactgggagt ggtaaaacca ccttattgca gcaattaatg 4200

aaaaccaaga aatcagatct tggaatgcaa agtgccacag ttggcataga tgtgaaagac 4260

tggcctatcc aaataagaga caaaagaaag agagatctcg tcctaaatgt gtgggatttt 4320

gcaggtcgtg aggaattcta tagtactcat ccccatttta tgacgcagcg agcattgtac 4380

cttgctgtct atgacctcag caagggacag gctgaagttg atgccatgaa gccttggctc 4440

ttcaatataa aggctcgcgc ttcttcttcc cctgtgattc tcgttggcac acatttggat 4500

gtttctgatg agaagcaacg caaagcctgc atgagtaaaa tcaccaagga actcctgaat 4560

aagcgagggt tccctgccat acgagattac cactttgtga atgccaccga ggaatctgat 4620

gctttggcaa aacttcggaa aaccatcata aacgagagcc ttaatttcaa gatccgagat 4680

cagcttgttg ttggacagct gattccagac tgctatgtag aacttgaaaa aatcatttta 4740

tcggagcgta aaaatgtgcc aattgaattt cccgtaattg accggaaacg attattacaa 4800

ctagtgagag aaaatcagct gcagttagat gaaaatgagc ttcctcacgc agttcacttt 4860

ctaaatgaat caggagtcct tcttcatttt caagacccag cactgcagtt aagtgacttg 4920

tactttgtgg aacccaagtg gctttgtaaa atcatggcac agattttgac agtgaaagtg 4980

gaaggttgtc caaaacaccc taagggcatt atttcgcgta gagatgtgga aaaatttctt 5040

tcaaaaaaaa ggaaatttcc aaagaactac atgtcacagt attttaagct cctagaaaaa 5100

ttccagattg ctttgccaat aggagaagaa tatttgctgg ttccaagcag tttgtctgac 5160

cacaggcctg tgatagagct tccccattgt gagaactctg aaattatcat ccgactatat 5220

gaaatgcctt attttccaat gggattttgg tcaagattaa tcaatcgatt acttgagatt 5280

tcaccttaca tgctttcagg gagagaacga gcacttcgcc caaacagaat gtattggcga 5340

caaggcattt acttaaattg gtctcctgaa gcttattgtc tggtaggatc tgaagtctta 5400

gacaatcatc cagagagttt cttaaaaatt acagttcctt cttgtagaaa aggctgtatt 5460

cttttgggcc aagttgtgga ccacattgat tctctcatgg aagaatggtt tcctgggttg 5520

ctggagattg atatttgtgg tgaaggagaa actctgttga agaaatgggc attatatagt 5580

tttaatgatg gtgaagaaca tcaaaaaatc ttacttgatg acttgatgaa gaaagcagag 5640

gaaggagatc tcttagtaaa tccagatcaa ccaaggctca ccattccaat atctcagatt 5700

gcccctgact tgattttggc tgacctgcct agaaatatta tgttgaataa tgatgagttg 5760

gaatttgaac aagctccaga gtttctccta ggtgatggca gttttggatc agtttaccga 5820

gcagcctatg aaggagaaga agtggctgtg aagattttta ataaacatac atcactcagg 5880

ctgttaagac aagagcttgt ggtgctttgc cacctccacc accccagttt gatatctttg 5940

ctggcagctg ggattcgtcc ccggatgttg gtgatggagt tagcctccaa gggttccttg 6000

gatcgcctgc ttcagcagga caaagccagc ctcactagaa ccctacagca caggattgca 6060

ctccacgtag ctgatggttt gagatacctc cactcagcca tgattatata ccgagacctg 6120

aaaccccaca atgtgctgct tttcacactg tatcccaatg ctgccatcat tgcaaagatt 6180

gctgactacg gcattgctca gtactgctgt agaatggggа taaaaacatc agagggcaca 6240

ccagggtttc gtgcacctga agttgccaga ggaaatgtca tttataacca acaggctgat 6300

gtttattcat ttggtttact actctatgac attttgacaa ctggaggtag aatagtagag 6360

ggtttgaagt ttccaaatga gtttgatgaa ttagaaatac aaggaaaatt acctgatcca 6420

gttaaagaat atggttgtgc cccatggcct atggttgaga aattaattaa acagtgtttg 6480

aaagaaaatc ctcaagaaag gcctacttct gcccaggtct ttgacatttt gaattcagct 6540

gaattagtct gtctgacgag acgcatttta ttacctaaaa acgtaattgt tgaatgcatg 6600

gttgctacac atcacaacag caggaatgca agcatttggc tgggctgtgg gcacaccgac 6660

agaggacagc tctcatttct tgacttaaat actgaaggat acacttctga ggaagttgct 6720

gatagtagaa tattgtgctt agccttggtg catcttcctg ttgaaaagga aagctggatt 6780

gtgtctggga cacagtctgg tactctcctg gtcatcaata ccgaagatgg gaaaaagaga 6840

cataccctag aaaagatgac tgattctgtc acttgtttgt attgcaattc cttttccaag 6900

caaagcaaac aaaaaaattt tcttttggtt ggaaccgctg atggcaagtt agcaattttt 6960

gaagataaga ctgttaagct taaaggagct gctcctttga agatactaaa tataggaaat 7020

gtcagtactc cattgatgtg tttgagtgaa tccacaaatt caacggaaag aaatgtaatg 7080

tggggaggat gtggcacaaa gattttctcc ttttctaatg atttcaccat tcagaaactc 7140

attgagacaa gaacaagcca actgttttct tatgcagctt tcagtgattc caacatcata 7200

acagtggtgg tagacactgc tctctatatt gctaagcaaa atagccctgt tgtggaagtg 7260

tgggataaga aaactgaaaa actctgtgga ctaatagact gcgtgcactt tttaagggag 7320

gtaatggtaa aagaaaacaa ggaatcaaaa cacaaaatgt cttattctgg gagagtgaaa 7380

accctctgcc ttcagaagaa cactgctctt tggataggaa ctggaggagg ccatatttta 7440

ctcctggatc tttcaactcg tcgacttata cgtgtaattt acaacttttg taattcggtc 7500

agagtcatga tgacagcaca gctaggaagc cttaaaaatg tcatgctggt attgggctac 7560

aaccggaaaa atactgaagg tacacaaaag cagaaagaga tacaatcttg cttgaccgtt 7620

tgggacatca atcttccaca tgaagtgcaa aatttagaaa aacacattga agtgagaaaa 7680

gaattagctg aaaaaatgag acgaacatct gttgagtaag agagaaatag gaattgtctt 7740

tggataggaa aattattctc tcctcttgta aatatttatt ttaaaaatgt tcacatggaa 7800

agggtactca catttttga aatagctcgt gtgtatgaag gaatgttatt atttttaatt 7860

taaatatatg taaaaatact taccagtaaa tgtgtatttt aaagaactat ttaaaacaca 7920

atgttatatt tcttataaat accagttact ttcgttcatt aattaatgaa aataaatctg 7980

tgaagtacct aatttaagta ctcatactaa aatttataag gccgataatt ttttgttttc 8040

ttgtctgtaa tggaggtaaa ctttatttta aattctgtgc ttaagacagg actattgctt 8100

gtcgatttt ctagaaatct gcacggtata atgaaaatat taagacagtt tcccatgtaa 8160

tgtattcctt cttagattgc atcgaaatgc actatcatat atgcttgtaa atattcaaat 8220

gaatttgcac taataaagtc ctttgttggt atgtgaattc tctttgttgc tgttgcaaac 8280

agtgcatctt acacaacttc actcaattca aaagaaaact ccattaaaag tactaatgaa 8340

aaaacatgac atactgtcaa agtcctcata tctaggaaag acacagaaac tctctttgtc 8400

acagaaactc tctgtgtctt tcctagacat aatagagttg tttttcaact ctatgtttga 8460

atgtggatac cctgaatttt gtataattag tgtaaataca gtgttcagtc cttcaagtga 8520

tatttttatt tttttattca taccactagc tacttgtttt ctaatctgct tcattctaat 8580

gcttatattc atcttttccc taaatttgtg atgctgcaga tcctacatca ttcagataga 8640

aacctttttt tttttcagaa ttatagaatt ccacagctcc taccaagacc atgaggataa 8700

atatctaaca cttttcagtt gctgaaggag aaaggagctt tagttatgat ggataaaaat 8760

atctgccacc ctaggcttcc aaattatact taaattgttt acatagctta ccacaatagg 8820

agtatcaggg ccaaatacct atgtaataat ttgaggtcat ttctgcttta ggaaaagtac 8880

tttcggtaaa ttctttggcc ctgaccagta ttcattattt cagataattc cctgtgatag 8940

gacaactagt acatttaata ttctcagaac ttatggcatt ttactatgtg aaaactttaa 9000

atttatttat attaagggta atcaaattct taaagatgaa agattttctg tattttaaag 9060

gaagctatgc tttaacttgt tatgtaatta acaaaaaaat catatataat agagctcttt 9120

gttccagtgt tatctctttc attgttactt tgtatttgca attttttttа ccaaagacaa 9180

attaaaaaaa tgaataccat atttaaatgg aataataaag gttttttaaa aactttaaa 9239

<210> 2
<211> 9239
<212> DNA
<213> 智人

<400> 2
tttaaagttt ttaaaaaacc tttattattc catttaaata tggtattcat ttttttaatt 60

tgtctttggt aaaaaaaatt gcaaatacaa agtaacaatg aaagagataa cactggaaca 120

aagagctcta ttatatatga tttttttgtt aattacataa caagttaaag catagcttcc 180

tttaaaatac agaaaatctt tcatctttaa gaatttgatt acccttaata taaataaatt 240

taaagttttc acatagtaaa atgccataag ttctgagaat attaaatgta ctagttgtcc 300

tatcacaggg aattatctga aataatgaat actggtcagg gccaaagaat ttaccgaaag 360

tacttttcct aaagcagaaa tgacctcaaa ttattacata ggtatttggc cctgatactc 420

ctattgtggt aagctatgta aacaatttaa gtataatttg gaagcctagg gtggcagata 480

tttttatcca tcataactaa agctcctttc tccttcagca actgaaaagt gttagatatt 540

tatcctcatg gtcttggtag gagctgtgga attctataat tctgaaaaaa aaaaaggttt 600

ctatctgaat gatgtaggat ctgcagcatc acaaatttag ggaaaagatg aatataagca 660

ttagaatgaa gcagattaga aaacaagtag ctagtggtat gaataaaaaa ataaaaatat 720

cacttgaagg actgaacact gtatttacac taattataca aaattcaggg tatccacatt 780

caaacataga gttgaaaaac aactctatta tgtctaggaa agacacagag agtttctgtg 840

acaaagagag tttctgtgtc tttcctagat atgaggactt tgacagtatg tcatgttttt 900

tcattagtac ttttaatgga gttttctttt gaattgagtg aagttgtgta agatgcactg 960

tttgcaacag caacaaagag aattcacata ccaacaaagg actttattag tgcaaattca 1020

tttgaatatt tacaagcata tatgatagtg catttcgatg caatctaaga aggaatacat 1080

tacatgggaa actgtcttaa tattttcatt ataccgtgca gatttctaga aaaatcgaca 1140

agcaatagtc ctgtcttaag cacagaattt aaaataaagt ttacctccat tacagacaag 1200

aaaacaaaaa attatcggcc ttataaattt tagtatgagt acttaaatta ggtacttcac 1260

agatttattt tcattaatta atgaacgaaa gtaactggta tttataagaa atataacatt 1320

gtgttttaaa tagttcttta aaatacacat ttactggtaa gtatttttac atatatttaa 1380

attaaaaata ataacattcc ttcatacaca cgagctattt caaaaaatgt gagtaccctt 1440

tccatgtgaa catttttaaa ataaatattt acaagaggag agaataattt tcctatccaa 1500

agacaattcc tatttctctc ttactcaaca gatgttcgtc tcatttttc agctaattct 1560

tttctcactt caatgtgttt ttctaaattt tgcacttcat gtggaagatt gatgtcccaa 1620

acggtcaagc aagattgtat ctctttctgc ttttgtgtac cttcagtatt tttccggttg 1680

tagcccaata ccagcatgac atttttaagg cttcctagct gtgctgtcat catgactctg 1740

accgaattac aaaagttgta aattacacgt ataagtcgac gagttgaaag atccaggagt 1800

aaaatatggc ctcctccagt tcctatccaa agagcagtgt tcttctgaag gcagagggtt 1860

ttcactctcc cagaataaga cattttgtgt tttgattcct tgttttcttt taccattacc 1920

tcccttaaaa agtgcacgca gtctattagt ccacagagtt tttcagtttt cttatcccac 1980

acttccacaa cagggctatt ttgcttagca atatagagag cagtgtctac caccactgtt 2040

atgatgttgg aatcactgaa agctgcataa gaaaacagtt ggcttgttct tgtctcaatg 2100

agtttctgaa tggtgaaatc attagaaaag gagaaaatct ttgtgccaca tcctccccac 2160

attacatttc tttccgttga atttgtggat tcactcaaac acatcaatgg agtactgaca 2220

tttcctatat ttagtatctt caaaggagca gctcctttaa gcttaacagt cttatcttca 2280

aaaattgcta acttgccatc agcggttcca accaaaagaa aatttttttg tttgctttgc 2340

ttggaaaagg aattgcaata caaacaagtg acagaatcag tcatcttttc tagggtatgt 2400

ctcttttcc catcttcggt attgatgacc aggagagtac cagactgtgt cccagacaca 2460

atccagcttt ccttttcaac aggaagatgc accaaggcta agcacaatat tctactatca 2520

gcaacttcct cagaagtgta tccttcagta tttaagtcaa gaaatgagag ctgtcctctg 2580

tcggtgtgcc cacagcccag ccaaatgctt gcattcctgc tgttgtgatg tgtagcaacc 2640

atgcattcaa caattacgtt tttaggtaat aaaatgcgtc tcgtcagaca gactaattca 2700

gctgaattca aaatgtcaaa gacctgggca gaagtaggcc tttcttgagg attttctttc 2760

aaacactgtt taattaattt ctcaaccata ggccatgggg cacaaccata ttctttaact 2820

ggatcaggta attttccttg tatttctaat tcatcaaact catttggaaa cttcaaaccc 2880

tctactattc tacctccagt tgtcaaaatg tcatagagta gtaaaccaaa tgaataaaca 2940

tcagcctgtt ggttataaat gacatttcct ctggcaactt caggtgcacg aaaccctggt 3000

gtgccctctg atgtttttat ccccattcta cagcagtact gagcaatgcc gtagtcagca 3060

atctttgcaa tgatggcagc attgggatac agtgtgaaaa gcagcacatt gtggggtttc 3120

aggtctcggt atataatcat ggctgagtgg aggtatctca aaccatcagc tacgtggagt 3180

gcaatcctgt gctgtagggt tctagtgagg ctggctttgt cctgctgaag caggcgatcc 3240

aaggaaccct tggaggctaa ctccatcacc aacatccggg gacgaatccc agctgccagc 3300

aaagatatca aactggggtg gtggaggtgg caaagcacca caagctcttg tcttaacagc 3360

ctgagtgatg tatgtttatt aaaaatcttc acagccactt cttctccttc ataggctgct 3420

cggtaaactg atccaaaact gccatcacct aggagaaact ctggagcttg ttcaaattcc 3480

aactcatcat tattcaacat aatatttcta ggcaggtcag ccaaaatcaa gtcaggggca 3540

atctgagata ttggaatggt gagccttggt tgatctggat ttactaagag atctccttcc 3600

tctgctttct tcatcaagtc atcaagtaag atttttttgat gttcttcacc atcattaaaa 3660

ctatataatg cccatttctt caacagagtt tctccttcac cacaaatatc aatctccagc 3720

aacccaggaa accattcttc catgagagaa tcaatgtggt ccacaacttg gcccaaaaga 3780

atacagcctt ttctacaaga aggaactgta atttttaaga aactctctgg atgattgtct 3840

aagacttcag atcctaccag acaataagct tcaggagacc aatttaagta aatgccttgt 3900

cgccaataca ttctgtttgg gcgaagtgct cgttctctcc ctgaaagcat gtaaggtgaa 3960

atctcaagta atcgattgat taatcttgac caaaatccca ttggaaaata aggcatttca 4020

tatagtcgga tgataatttc agagttctca caatggggaa gctctatcac aggcctgtgg 4080

tcagacaaac tgcttggaac cagcaaatat tcttctccta ttggcaaagc aatctggaat 4140

ttttctagga gcttaaaata ctgtgacatg tagttctttg gaaatttcct ttttttgaa 4200

agaaattttt ccacatctct acgcgaaata atgcccttag ggtgttttgg acaaccttcc 4260

actttcactg tcaaaatctg tgccatgatt ttacaaagcc acttgggttc cacaaagtac 4320

aagtcactta actgcagtgc tgggtcttga aaatgaagaa ggactcctga ttcatttaga 4380

aagtgaactg cgtgaggaag ctcattttca tctaactgca gctgattttc tctcactagt 4440

tgtaataatc gtttccggtc aattacggga aattcaattg gcacattttt acgctccgat 4500

aaaatgattt tttcaagttc tacatagcag tctggaatca gctgtccaac aacaagctga 4560

tctcggatct tgaaattaag gctctcgttt atgatggttt tccgaagttt tgccaaagca 4620

tcagattcct cggtggcatt cacaaagtgg taatctcgta tggcagggaa ccctcgctta 4680

ttcaggagtt ccttggtgat tttactcatg caggctttgc gttgcttctc atcagaaaca 4740

tccaaatgtg tgccaacgag aatcacaggg gaagaagaag cgcgagcctt tatattgaag 4800

agccaaggct tcatggcatc aacttcagcc tgtcccttgc tgaggtcata gacagcaagg 4860

tacaatgctc gctgcgtcat aaaatgggga tgagtactat agaattcctc acgacctgca 4920

aaatcccaca catttaggac gagatctctc tttcttttgt ctcttatttg gataggccag 4980

tctttcacat ctatgccaac tgtggcactt tgcattccaa gatctgattt cttggttttc 5040

attaattgct gcaataaggt ggttttacca ctcccagtat ttcccacaat cataagtttc 5100

attcggttat aaggcacagc ctttttttaat cgctgttgaa gaaaccttat gatgtctttg 5160

gctttacatc ctatatgttt aaaatcaaag ttaagatgca gttcatccaa aggaagatcc 5220

catattttgc ttaatttccc catttcattg ggaaaggatc ttagttccaa gttgtaactg 5280

acatccagag atgtcagatt ttcaagacag ccaatctcag gaggaatctc tttcagttta 5340

ttgtgagaaa gatgcagttt ctctactcta gaccataaat atgctttttc actcaagtcc 5400

aagatgctga tctgattatg gctaaataag agttccctta agttcaaaga tttccagtgt 5460

gcgggacctg gtaggtactg aatatcattg ctgctcatat ctaaagaccg caagtgtgga 5520

agatttaaaa ttgcttctgg aatacaggaa aatttgttct gagataattt taggattgtc 5580

atagaaggag gcaagaaagg catagcagca agaaaattca ttctggcact gaaactctcc 5640

actttaggac aagcctcaag aaagttctct gatagggatg aaatgtggtt cttactaagg 5700

tttaaaatct tcagttcctt cagtctcaag ggggagcata tccctgatat tttatttcct 5760

tctaaaatga gctgctccag tttctctacc acatcagtga ggttctcagg tacaaaagac 5820

agctggttat atgacaggtt aaactgtttc agagttggac atttcactgt aggatctaaa 5880

accactgagg gtccaatgtc atttcgagag acatcaagat tagcaataca actcattttc 5940

aacaaataag aaggaaatga tgtaaattta ttactgtgca agtccaaatg tgtcaaactc 6000

ttcagagttt cacatagctg ttgtggaaag ctcgtgagtg cattctggtg aagctccagc 6060

ttttcaagat gctccaaatg aacacttata cagcatttct ggcttagggc atcaatatct 6120

cttagttcat ttgctgaaag gtctagtgat gtaatatatt ctctctcaga agccagagaa 6180

gaaatgctgt ctgaatgcct catatgggat tgaagttttg atgacctgag tgaatcatct 6240

gaagataata ttttttcttt tcgcttcagt aaatcttcat gatcaaaaat gggccccaag 6300

gaattggaat gtctttgcaa atttggtgag caacgctgta atacggcatc tcggtaaaat 6360

tctcctacac taattgaatt agatttcttt ttcacaagaa atgagccttc acttccttca 6420

ctatccaggt catcactttg agcaaacaca ctgtccatag aagagtcagg aataaaggtc 6480

cattcatcaa atttagacag cacatcttca gaaaaatttc catcgctgcc tgaggctgtt 6540

ccttcttcca cagcactttt catctgatat ctgatcacca ttcttgctag tgtagatgct 6600

atatttgttt gtttccttaa attagaagtc ttatctggaa ataaaggacc aagccaagaa 6660

ggttcaactt ttcctataca aaatcctcca aggcaaatgc tattgttggc cacatccagg 6720

gccagcctcc ttaagagcaa gctgatgatc tggctgtcac ctttcccaat gcttatcgtc 6780

aacgcttttc gtacatcttg ttcacgagat ccactattca gtaagagttc caccaatttg 6840

ggactgctct ctttctcaca tacctgacaa attaaagaag atccctcctt tgcttgattg 6900

gcatctgctc ccaatagaag caagcattca accatgatgc tgttattctg atcacacgct 6960

ctctctagca tcacattttt taagtaatca tccatagcta cttttgcaaa acacttgcaa 7020

cagaggttta gaaactgttg atccttttgt tccatgatat tggaagacat ttgatggaat 7080

attactaagt caaatgaatg atgcaccagc agcttagaaa aagatgctga caatttgagg 7140

attgctaaga ttgtctgaaa tcctttagtc tgtatttcag caacatcctt aaatcggtat 7200

aagctggaaa ccagaatttt tgccagcaga tgtccagttc ctatgaacac attcttcttt 7260

gtaatcaagt atcctataag acttaaaccc agacactgaa tttcttggtc atctggatac 7320

atctgcagtg tgtgaagcac tgaatccata gcaccttcca gggataacat ctctaatgca 7380

tcaggaaaat gtacaataga agaaattact tttaatccac atttctgaat cccaggattt 7440

ccaatgaacc tgttcaaagc tgctaggacc agtttgtgaa tatcattctt gaaacactgt 7500

tttttaacca tatttagctt atgatgaaat tctgtatcct ccctggattc ttctggcatg 7560

ccaggcacta taaaatgtaa aatagctcga agcgcctcca gctgcactgg taatgatgtc 7620

tcatgacgtt tcataactgt tagtattttg gggaccactg ctgccattat atccagggaa 7680

gtgttgcttc cttcaaaaag atgatttagc attttacagc cactttcagc cacttcagga 7740

gaatgtatat gcttctgcat taactccaaa acattcaggt gtattccttt tgataacagt 7800

atttttctga aattaacatt ttgttctaag agagttgaca atgcattcgc agatgcctgg 7860

aaaacttcct ttgatgaaga atgcatcagc atggagagca tcacttccct atgagctggg 7920

aaatggccat cttcatctcc aatcttctca tgtaaactgt tttggtacat aaggagatta 7980

tttagtgccc agcatgcggc ctcctgcacg tgcttgttct ttctatgcca cgttaatgct 8040

ttgtaacagg cttccagcca aaacaattta tcttcttccc cctcatcatc attctcttga 8100

ttctcattct tttcctctaa atcttgattt aagaaaatag tctcagtgag gagggccaaa 8160

cagctgagcg ctgagatctg caatgctgca ttctctgggt actgctgcac agctttcacc 8220

acaaactcat ggacttcgtt taataccagg atattgaaaa aattacctaa tgtaagccta 8280

tggagcaaac agcaactcac ttcttgaatt ctttcactca tagggaatgc tttcatagct 8340

tccaccacaa tattataaca cctgacattg ccactcatga ggacttccac attattgcaa 8400

ggaatcgcta gggaatgtaa acaatgcagc acatgaagca caatttcctc ttcatcttta 8460

aaatttgtta acgcacttaa caatatcata taatctttgt tctcaacaaa ttcagtcagt 8520

tgctcctctg agactctctc aaacagcaca tgtaaagctt tgcatccaag tttctggact 8580

tcatcattgg ctggaaatga gtgcatggca tcaaaaatta acatgaaaat atcactttct 8640

tcatccaata tcagcaaggt gattttacct gaagttagga ggagatctaa ggtcttcagt 8700

ccaatcactg acaagtttac actggcatta tgaactgtta gcattttaag aatcaattgg 8760

tgaacaccaa ggacttccca atcatttcca acatcctggg gtcccattaa gctttgcatt 8820

gtacctggac agacttctat taatttgcac agaagtgacc aacccacctg ctgcacactc 8880

gcgactctca tataggagtc caagacgatc aacagaggca catggatatt tttgccttga 8940

aataacttgg aggcgcgctc ggagtacgtg aacaccagca gatcctccag gatttggacc 9000

agcgtttcta tctgttttcc ttcctggaca ttgttcagcc tgactatcaa cttcttcaga 9060

gtttcctcgt cctcttcgca cccctgacag ctgccactag ccatggtggc acctgcttcc 9120

aacccgccgc cctcccagca tgaacgtccg ctgctcaggg aaccggcagg ggcgccggcc 9180

acagctcccc gggggcgagc tcagctcacc gcccgcagcc agcgctcccc gcgggcccc 9239

<210> 3
<211> 8617
<212> DNA
<213> 恆河獼猴

<400> 3
acgggcacgg tcatcccggc caggcccggc tccagcagcc ccacggccgc cgccgaagtt 60

ctgcgcggcc cgtcgccccg gcggagcctc tggcaggccc ctgagctggt tttttggggc 120

ctggctgggg gaggaggaag ccgagcagga gggctctgga gagggagggc aacgcggggc 180

ggggagccac cgccttcctc ataaacaggc gggcgtgggc gccgacgggg cccccgggga 240

gccctggctg agggcggtga gctgagctag atcccggggа gctgtggccg gcgcccctgc 300

cggttccctg agcagcggac gttcgtgctg ggagggcggc gggttggaag caggggccac 360

catggctagt ggcagctgtc aggggtgcga ggaggacgag gaaactctga agaagttgat 420

agtcaggctg aacaatgtcc aggaaggtaa acagatagaa acgctggtcc aaatcctgga 480

ggatctgctg gtgttcacgt actccgagca cgcctccaag ttatttcaag gcaaaaatat 540

ccatgtgcct ctgttgatcg tcttggactc gtatatgaga gtcgcgagtg tgcagcaggt 600

gggttggtca cttctgtgca aattaataga aatctgcccg ggtacaatgc aaagcttaat 660

gggaccccag gatgttggaa atgattggga agtccttggt gttcaccaat tgattcttaa 720

aatgctaaca gttcataatg ccagtgtaaa cttgtcaatg attggactga agaccttaga 780

tctcctccta acttcaggta aaatcacctt actgatattg gatgaagaaa gtgatatttt 840

catgttaatt tttgatgcca tgcactcatt tccagccaat gatgaaatcc agaaacttgg 900

atgcaaagct ttacatgtgc tgtttgaaag agtctcagag gagcaactaa ctgaatttgt 960

tgagaacaaa gattatatga tattgttaag tgcgttaaca aattttaaag atgaagagga 1020

aattgtgctt catgtactgc attgtttaca ttccctagca attccttgca ataatgtgga 1080

agtcctcatg agtggcaatg tcaggtgtta taatattgtg gtggaagcta tgaaagcatt 1140

ccctatcagt gaaaaaattc aagaagtgag ttgctgtttg ctccataggc ttacattagg 1200

taatttttтt aatatcctgg tattaaacga agtccatgaa tttgtggtga aagctgtgca 1260

gcggtaccca gagaacgcag cattacagat ctcagcgctc agctgtttgg ccctcctcac 1320

tgagaccatt ttcttaaatc aagatttaga ggaaaagaat gagaatcaag agaatgatga 1380

tgaggggaa gaagttaaat tgttttggct ggaagcctgt tacaaagcgt taacgtggca 1440

tagaaagaac aagcacgtgc aggaggctgc atgctgggca ctaaataatc tccttatgta 1500

ccaaaacagt ttacatgaga agattggaga tgaagatggc catttcccag ctcatagga 1560

agtgatgctg tccatgctga tgcattcatc atcaaaggaa gttttccagg catctgctaa 1620

tgcattgtca actcttttag aacaaaatgt taatttcaga aaaatcctgt tatcaaaagg 1680

aatatacctg aatgttttgg agttaatgca gaagcatata cattctcctg aagtggctga 1740

aagtggctgt aaaatgctaa atcatctttt tgaaggaagc aacacatccc tggatacaat 1800

ggcagcagtg ctccccaaaa taataacagt tatgaaaagt catgagacat cattaccagt 1860

gcagctggag gcgcttcgag ctattttaca ttttatagtg ccaggcatgc cagaagaatc 1920

cagagaggat gcagaatctc atcgtaagct aaatatggtt aaaaaacagt gtttcaagaa 1980

tgatattcac aaactggtcc tagcagcttt gaacaggttc attggaaatc ctgggattca 2040

gaaatgtgga ttaaaagtaa tttcttttat tgcacatttt actgatgcat taggggtgtt 2100

atccctggaa ggtgctgtgg attcagtgct tcacacactg cagatgtatc cagatgacca 2160

agaaattcag tgtctgggtt taagtcttat aggatgcttg attacaaaga agaatttatg 2220

cataggaact ggacatctgc tggcaaaaat tctggcttcc agcttatacc gatttaagga 2280

tgttgctgaa gtacagactg aaggatttca gacaatctta gcaatcctca aattgtcagc 2340

atctttttct aagctgctgg tgcatcattc gtttgactta gtaatattcc atcaaatgtc 2400

ttccagtatc atggaacaaa aggatcaaca gtttctaaac ctctgttgca agtgttttgc 2460

aaaagtagct atggatgatg acttaaaaaa tatgatgcta gagagagcgt gtgatcagaa 2520

taacagcatc atggttgaat gcttgcttct attaggagca gatgccaatc aagcaaagga 2580

gggaacttct ttaatttgtc aggtatgtga gaaagagagc agtcccaaat tggtggaact 2640

cttattgaat agtggatctc gtgaacaaga tgtacgaaaa gcgctgacaa taagcattgg 2700

gaaaggcgac agccagatca tcagcttgct cttaaggagg ctggccctgg acatggccaa 2760

caatagcatt tgccttggag ggttttgtat aggaaaagtt gaaccttctt ggcttggtcc 2820

tttatttcca gataagactt ctaatttaag gaaacaaaca aatatagcat ctacactagc 2880

aagaatggtg atcagatatc agatgaaaag tgccatggaa gaaggagcag cctcaggcag 2940

tgatggaaat ttttctgaag atgtgctgtc taaatttgat gaatggacct ttattcctga 3000

ctcttctatg gacagtgtct ttgctcaaag tgatgatcta gatagtgaag gaagtgaagg 3060

ctcatttctt gtgaaaaaga aatcaaattc aattagtgta ggagaatttt accgagatgc 3120

cgtattacaa cgttgctcac caaatttgca aaggcattcc agttccttgg ggcccatttt 3180

tgatcatgaa gatttactga gaagaaaaag aaaaatatta tcttcagatg attcactcag 3240

gtcatcaaaa cttcaatccc atatgaggca ttcagacagc atttcttctc tggcttctga 3300

gagagaatat attacatcac tagacctttc agcaaatgaa ctaagagata ttgatgccct 3360

aagccagaaa tcctgtataa gtggtcattt ggagcatctt gaaaagctgg agcttcacca 3420

gaatgcactc acgagctttc cacaacagct atgtgaaact ctgaagagtt tgacacattt 3480

ggacttgcac agtaataaat ttacatcatt tccttcttac ttgttgaaaa tgagttgtgt 3540

tgctaacctt gatgtctctc gaaatgacat tggaccctca gtggttttag atcctgcagt 3600

gaaatgtcca actctgaaac agtttaacct gtcatataac cagctgtctt ctgttcctga 3660

gaaccttgct gatgggatag agaaactgga gcagctcatt ttagaaggaa ataaaatatc 3720

agggatatgc tccccccttga gactgaagga actgaagatt ttaaacctta gtaaaaacca 3780

catttcatcc ctatcagaga actttcttga ggcttgtcct aaagtggaga gtttcagtgc 3840

cagaatgaat tttcttgctg ctatgccttt cttgcctcct tccatgacaa gcctaaaatt 3900

atctcaaaac aaatttacat gtattccaga agcaatttta aatcttccac acttgcggtc 3960

tttagatatg agcagcaatg atattcaata tctaccaggt cctgcacact ggaaatcttt 4020

gaacttaagg gaactcttat ttagccataa tcagatcagc atcttggact tgagtgaaaa 4080

agcgtattta tggtctagag tagagaaact gcatctttct cacaataaac tgaaagagat 4140

tcctcctgag attggctgtc ttgaaaatct gacatctctg gatgtcagtt acaacttgga 4200

actaagatcc tttcccaatg aaatggggaa attaagcaaa atatgggatc ttcctttgga 4260

tgaactgcgt cttaactttg attttaaaca tataggatgt aaagccaaag acatcataag 4320

gtttcttcag cagcggttaa aaaaggctgt gccctataac cgaatgaaac ttatggttgt 4380

tggaaatact gggagtggta aaaccacctt gttgcagcaa ttaatgaaaa ccaagaaatc 4440

agatcttgga atgcaaagtg ccacagttgg catagatgtg aaagactggc ctatccaaat 4500

aagaggcaaa agaaagagag atctcgttct gaatgtgtgg gattttgcag gtcgtgagga 4560

attctatagc actcatcctc attttatgac gcagcgagca ttgtaccttg ctgtctatga 4620

ccttagcaaa ggacaggctg aagttgatgc catgaagcct tggctcttca atataaaggc 4680

tcgcgcttct tcttcccctg tgattctcgt tggcacacat ttggatgttt ctgatgagag 4740

gcagcgcaaa gcctgcatag gtaaaatcac caaggaactc ctgaataagc gagggttccc 4800

tgctatacga gattaccact ttgtgaatgc caccgaggaa tctgatgctt tggcaaaact 4860

tcggaaaacc atcataaacg agagccttaa tttcaagatc cgagatcagc ctgttgttgg 4920

acagctgatt ccagactgct atgtagaact tgagaaaatc attttatcgg agcgtaaaaa 4980

tgtgccaatt gaatttcctg taattgacca gaaacgatta ttacaactag tgagagaaaa 5040

tcagttgcag ttagatgaaa atgagcttcc tcacgcagtt cactttctaa atgaatcagg 5100

agtccttctt cattttcaag acccagcact gcagttaagt gacttgtatt ttgtggaacc 5160

caagtggctt tgtaaaatca tggcacagat tttgacagtg aaagtggaag gttgtccaaa 5220

acaccctaag ggaattattt cacgtagaga tgtggaaaaa tttctttcga agaaaaggag 5280

atttccaaag aactacatgt cacagtattt taagctccta gaaaaattcc agattgcttt 5340

gccaatagga gaagaatatt tgctggttcc aagcagtttg tctgaccaca ggcctgtgat 5400

agagcttccc cattgtgaga actctgaaat tatcatccga ctatatgaaa tgccttattt 5460

tccaatggga ttttggtcga ggttaatcaa tcgattactt gagatttcac cttacatgct 5520

ttcagggaga gaacgagcac ttcgcccaaa cagaatgtat tggcgacaag gcatctactt 5580

aaattggtct cctgaagctt attgtctggt aggatctgaa gtcttagaca atcacccaga 5640

gagtttctta aaaattacag ttccttcttg tagaaaaggc tgtattcttt tgggccaagt 5700

tgtggaccac attgattctc tcatggagga atggtttcct gggttgctgg agattgatat 5760

ttgtggtgaa ggagaaactc tgttgaagaa atgggcatta tatagtttta atgatggtga 5820

agagcatcaa aaaatcttac ttgatgactt gatgaagaaa gcagaggaag gagatctctt 5880

agtaaatcca gatcaaccaa ggctcaccat tccaatatct cagattgccc ctgacttgat 5940

tttggctgac ctgcctagaa atattatgtt gaataatgat gagctggaat ttgaacaagc 6000

tccagagttt ctcctaggtg atggcagttt tggatcagtt tatcgagcag cctatgaagg 6060

agaagaagtg gctgtgaaga tttttaataa acacacatca cttaggctgt taagacaaga 6120

gctggtggtg ctttgccacc tccaccaccc cagtttgata tctttgctgg cagctggtat 6180

tcgtccccgg atgttggtga tggagttagc ctccaagggt tccttggatc gcctgcttca 6240

gcaggacaaa gccagcctca ctagaaccct acagcacagg attgcactcc atgtggctga 6300

tggtttgaga tacctccatt cagccatgat tatataccga gacttgaagc cccacaatgt 6360

gctgcttttc acactgtatc ccaatgctgc catcattgca aagattgctg actacggcat 6420

tgctcagtac tgctgtagaa tggggataaa aacgtcagag ggcacaccag ggtttcgtgc 6480

acctgaagtt gccagaggaa atgtcattta taatcaacaa gctgatgttt attcatttgg 6540

tttgctactc tatgacattt tgacaactgg aggtagaata gtagagggtt tgaagtttcc 6600

aaatgagttt gatgaattag caatacaagg aaaattacct gatccagtta aagaatatgg 6660

ttgtgcccca tggcctatgg ttgagaaatt aattacaaag tgtttgaaag aaaatcctca 6720

agaaaggcct acttctgccc aggtctttga cattttgaat tcagctgaat tagtctgtct 6780

gacgagacac attttattac ctaaaaacgt aattgttgac tgcatggttg ctacacatca 6840

caacagcagg aatgcaagca tttggctggg ctgtgggcac accaacagag gacagctctc 6900

atttcttgac ttaaatactg aaggatacac ttctgaggag gttgctgata gtagaatatt 6960

gtgcttagcc ttggtgcatc ttcctgttca aaaagaaagc tggattgtgt ccgggacaca 7020

gtctggtact ctcctggtca tcaataccga agatgggaaa aagagacata ccctagaaaa 7080

gatgactgat tccatcactt gtttgtattg caattccttt tccaagcaaa gcaaacaaaa 7140

aaattttctt ttggttggaa ccgctgatgg caatttagca atttttgaag ataaaactgt 7200

taagcttgaa ggagctgctc ctttgaagat actaaatata ggaaatgtca gtactccatt 7260

gatgtgtttg agtgaatcca caaattcaac agaaagaaat gtaatgtggg gaggatgtgg 7320

cacaaagatt ttctcctttt ctaatgattt caccattcag aaactcattg agacaagaac 7380

aagccaactg ttctcaagtg attctaaagt atattcgagg ttaagatata ctgcagactg 7440

caatgtattg ttttcttacg cagctttcag tgattccaac atcgtaacag tggtggtaga 7500

cactgttctc tatattgcta agaaaaatag ccctgttgtg gaagtgtggg ataagaaaac 7560

tgaaaaactc tgcgaactaa tagactgtgt gcatttttta agggaggtaa tggtaaaagt 7620

aaacaaggaa tcaaaacaca aaatgtctta ttctgggaga gtgaaagctc tctgccttca 7680

gaagaacact gctctttgga taggaactgg aggaggccat attttactcc tggatctttc 7740

aactcgtcga gttatacgta taatttacaa cttttgtgat tcggtcagag tcatgatgac 7800

agcacagcta gggagcctta aaaatgtcat gctggtattg ggctataacc ggaaaagtac 7860

tgaaggtaca caacagcaga aagagataca atcttgcttg actgtttggg acatcaatct 7920

tccacatgaa gtgcaaaatt tagaaaaaca cattgaagtg agaaaagaat tagctgaaaa 7980

aatgagagga acatctattg aataagagag aaacaggaat tgtctttgga taggaaaatt 8040

attctcttgt aaatatttat ttaaaaatgt tcacatgaaa agggtactca catttttga 8100

aatagctcat gtgtatatga aggaatgtta tatttttaat ttaaatatat gtaaaaatac 8160

ttaccagtaa acatatattt taaagaacta tttaaaacac aatgttgtat ttcttatgaa 8220

taccagttac ttttgtgcat taattaatga aaataaatct gtgaaatacc taatttaagt 8280

actcatacta aaatttataa ggccgataat tttttgtttt cttgtctgta atgaagataa 8340

actttatttt aaattctatg cttaagacaa gactattgct tgttgatttt tctagaaatc 8400

cgcaaggtag aatgaaaata ttaagacagt ttcccgtgta atgtattccc tcttagattg 8460

ctttgaaatg cactatcata tatgcttgca aatattcaaa tgaatttgca ctaataaatt 8520

cctttgttgg tatgtgaatt ctctttgttg ctgttgcaga cagtgcatct tacacaactt 8580

cactcaatcc aaaagaaaac tccattaaaa gtactaa 8617

<210> 4
<211> 8617
<212> DNA

<213> 恆河獼猴

<400> 4

ttagtacttt taatggagtt ttcttttgga ttgagtgaag ttgtgtaaga tgcactgtct 60

gcaacagcaa caaagagaat tcacatacca acaaaggaat ttattagtgc aaattcattt 120

gaatatttgc aagcatatat gatagtgcat ttcaaagcaa tctaagaggg aatacattac 180

acgggaaact gtcttaatat tttcattcta ccttgcggat ttctagaaaa atcaacaagc 240

aatagtcttg tcttaagcat agaatttaaa ataaagttta tcttcattac agacaagaaa 300

acaaaaaatt atcggcctta taaattttag tatgagtact taaattaggt atttcacaga 360

tttattttca ttaattaatg cacaaaagta actggtattc ataagaaata caacattgtg 420

ttttaaatag ttctttaaaa tatatgttta ctggtaagta tttttacata tatttaaatt 480

aaaaatataa cattccttca tatacacatg agctatttca aaaaatgtga gtacccttt 540

catgtgaaca tttttaaata aatatttaca agagaataat tttcctatcc aaagacaatt 600

cctgtttctc tcttattcaa tagatgttcc tctcatttt tcagctaatt cttttctcac 660

ttcaatgtgt ttttctaaat tttgcacttc atgtggaaga ttgatgtccc aaacagtcaa 720

gcaagattgt atctctttct gctgttgtgt accttcagta cttttccggt tatagcccaa 780

taccagcatg acatttttaa ggctccctag ctgtgctgtc atcatgactc tgaccgaatc 840

acaaaagttg taaattatac gtataactcg acgagttgaa agatccagga gtaaaatatg 900

gcctcctcca gttcctatcc aaagagcagt gttcttctga aggcagagag ctttcactct 960

cccagaataa gacattttgt gttttgattc cttgtttact tttaccatta cctcccttaa 1020

aaaatgcaca cagtctatta gttcgcagag tttttcagtt ttcttatccc acacttccac 1080

aacagggcta tttttcttag caatatagag aacagtgtct accaccactg ttacgatgtt 1140

ggaatcactg aaagctgcgt aagaaaacaa tacattgcag tctgcagtat atcttaacct 1200

cgaatatact ttagaatcac ttgagaacag ttggcttgtt cttgtctcaa tgagtttctg 1260

aatggtgaaa tcattagaaa aggagaaaat ctttgtgcca catcctcccc acattacatt 1320

tctttctgtt gaatttgtgg attcactcaa acacatcaat ggagtactga catttcctat 1380

atttagtatc ttcaaaggag cagctccttc aagcttaaca gttttatctt caaaaattgc 1440

taaattgcca tcagcggttc caaccaaaag aaaatttttt tgtttgcttt gcttggaaaa 1500

ggaattgcaa tacaaacaag tgatggaatc agtcatcttt tctagggtat gtctcttttt 1560

cccatcttcg gtattgatga ccaggagagt accagactgt gtcccggaca caatccagct 1620

ttctttttga acaggaagat gcaccaaggc taagcacaat attctactat cagcaacctc 1680

ctcagaagtg tatccttcag tatttaagtc aagaaatgag agctgtcctc tgttggtgtg 1740

cccacagccc agccaaatgc ttgcattcct gctgttgtga tgtgtagcaa ccatgcagtc 1800

aacaattacg tttttaggta ataaaatgtg tctcgtcaga cagactaatt cagctgaatt 1860

caaaatgtca aagacctggg cagaagtagg cctttcttga ggattttctt tcaaacactt 1920

tgtaattaat ttctcaacca taggccatgg ggcacaacca tattctttaa ctggatcagg 1980

taattttcct tgtattgcta attcatcaaa ctcatttgga aacttcaaac cctctactat 2040

tctacctcca gttgtcaaaa tgtcatagag tagcaaacca aatgaataaa catcagcttg 2100

ttgattataa atgacatttc ctctggcaac ttcaggtgca cgaaaccctg gtgtgccctc 2160

tgacgttttt atccccattc tacagcagta ctgagcaatg ccgtagtcag caatctttgc 2220

aatgatggca gcattgggat acagtgtgaa aagcagcaca ttgtggggct tcaagtctcg 2280

gtatataatc atggctgaat ggaggtatct caaaccatca gccacatgga gtgcaatcct 2340

gtgctgtagg gttctagtga ggctggcttt gtcctgctga agcaggcgat ccaaggaacc 2400

cttggaggct aactccatca ccaacatccg gggacgaata ccagctgcca gcaaagatat 2460

caaactgggg tggtggaggt ggcaaagcac caccagctct tgtcttaaca gcctaagtga 2520

tgtgtgttta ttaaaaatct tcacagccac ttcttctcct tcataggctg ctcgataaac 2580

tgatccaaaa ctgccatcac ctaggagaaa ctctggagct tgttcaaatt ccagctcatc 2640

attattcaac ataatatttc taggcaggtc agccaaaatc aagtcagggg caatctgaga 2700

tattggaatg gtgagccttg gttgatctgg atttactaag agatctcctt cctctgcttt 2760

cttcatcaag tcatcaagta agatttttg atgctcttca ccatcattaa aactatataa 2820

tgcccatttc ttcaacagag tttctccttc accacaaata tcaatctcca gcaacccagg 2880

aaaccattcc tccatgagag aatcaatgtg gtccacaact tggcccaaaa gaatacagcc 2940

ttttctacaa gaaggaactg taatttttaa gaaactctct gggtgattgt ctaagacttc 3000

agatcctacc agacaataag cttcaggaga ccaatttaag tagatgcctt gtcgccaata 3060

cattctgttt gggcgaagtg ctcgttctct ccctgaaagc atgtaaggtg aaatctcaag 3120

taatcgattg attaacctcg accaaaatcc cattggaaaa taaggcattt catatagtcg 3180

gatgataatt tcagagttct cacaatgggg aagctctatc acaggcctgt ggtcagacaa 3240

actgcttgga accagcaaat attcttctcc tattggcaaa gcaatctgga atttttctag 3300

gagcttaaaa tactgtgaca tgtagttctt tggaaatctc cttttcttcg aaagaaattt 3360

ttccacatct ctacgtgaaa taattccctt agggtgtttt ggacaacctt ccactttcac 3420

tgtcaaaatc tgtgccatga ttttacaaag ccacttgggt tccacaaaat acaagtcact 3480

taactgcagt gctgggtctt gaaaatgaag aaggactcct gattcattta gaaagtgaac 3540

tgcgtgagga agctcatttt catctaactg caactgattt tctctcacta gttgtaataa 3600

tcgtttctgg tcaattacag gaaattcaat tggcacattt ttacgctccg ataaaatgat 3660

tttctcaagt tctacatagc agtctggaat cagctgtcca acaacaggct gatctcggat 3720

cttgaaatta aggctctcgt ttatgatggt tttccgaagt tttgccaaag catcagattc 3780

ctcggtggca ttcacaaagt ggtaatctcg tatagcaggg aaccctcgct tattcaggag 3840

ttccttggtg attttaccta tgcaggcttt gcgctgcctc tcatcagaaa catccaaatg 3900

tgtgccaacg agaatcacag gggaagaaga agcgcgagcc tttatattga agagccaagg 3960

cttcatggca tcaacttcag cctgtccttt gctaaggtca tagacagcaa ggtacaatgc 4020

tcgctgcgtc ataaaatgag gatgagtgct atagaattcc tcacgacctg caaaatccca 4080

cacattcaga acgagatctc tctttctttt gcctcttatt tggataggcc agtctttcac 4140

atctatgcca actgtggcac tttgcattcc aagatctgat ttcttggttt tcattaattg 4200

ctgcaacaag gtggttttac cactcccagt atttccaaca accataagtt tcattcggtt 4260

atagggcaca gccttttttа accgctgctg aagaaacctt atgatgtctt tggctttaca 4320

tcctatatgt ttaaaatcaa agttaagacg cagttcatcc aaaggaagat cccatatttt 4380

gcttaatttc cccatttcat tgggaaagga tcttagttcc aagttgtaac tgacatccag 4440

agatgtcaga ttttcaagac agccaatctc aggaggaatc tctttcagtt tattgtgaga 4500

aagatgcagt ttctctactc tagaccataa atacgctttt tcactcaagt ccaagatgct 4560

gatctgatta tggctaaata agagttccct taagttcaaa gatttccagt gtgcaggacc 4620

tggtagatat tgaatatcat tgctgctcat atctaaagac cgcaagtgtg gaagatttaa 4680

aattgcttct ggaatacatg taaatttgtt ttgagataat tttaggcttg tcatggaagg 4740

aggcaagaaa ggcatagcag caagaaaatt cattctggca ctgaaactct ccactttagg 4800

acaagcctca agaaagttct ctgataggga tgaaatgtgg tttttactaa ggtttaaaat 4860

cttcagttcc ttcagtctca agggggagca tatccctgat attttatttc cttctaaaat 4920

gagctgctcc agtttctcta tcccatcagc aaggttctca ggaacagaag acagctggtt 4980

atatgacagg ttaaactgtt tcagagttgg acatttcact gcaggatcta aaaccactga 5040

gggtccaatg tcatttcgag agacatcaag gttagcaaca caactcattt tcaacaagta 5100

agaaggaaat gatgtaaatt tattactgtg caagtccaaa tgtgtcaaac tcttcagagt 5160

ttcacatagc tgttgtggaa agctcgtgag tgcattctgg tgaagctcca gcttttcaag 5220

atgctccaaa tgaccactta tacaggattt ctggcttagg gcatcaatat ctcttagttc 5280

atttgctgaa aggtctagtg atgtaatata ttctctctca gaagccagag aagaaatgct 5340

gtctgaatgc ctcatatggg attgaagttt tgatgacctg agtgaatcat ctgaagataa 5400

tatttttctt tttcttctca gtaaatcttc atgatcaaaa atgggcccca aggaactgga 5460

atgcctttgc aaatttggtg agcaacgttg taatacggca tctcggtaaa attctcctac 5520

actaattgaa tttgatttct ttttcacaag aaatgagcct tcacttcctt cactatctag 5580

atcatcactt tgagcaaaga cactgtccat agaagagtca ggaataaagg tccattcatc 5640

aaatttagac agcacatctt cagaaaaatt tccatcactg cctgaggctg ctccttcttc 5700

catggcactt ttcatctgat atctgatcac cattcttgct agtgtagatg ctatatttgt 5760

ttgtttcctt aaattagaag tcttatctgg aaataaagga ccaagccaag aaggttcaac 5820

ttttcctata caaaaccctc caaggcaaat gctattgttg gccatgtcca gggccagcct 5880

ccttaagagc aagctgatga tctggctgtc gcctttccca atgcttattg tcagcgcttt 5940

tcgtacatct tgttcacgag atccactatt caataagagt tccaccaatt tgggactgct 6000

ctctttctca catacctgac aaattaaaga agttccctcc tttgcttgat tggcatctgc 6060

tcctaataga agcaagcatt caaccatgat gctgttattc tgatcacacg ctctctctag 6120

catcatattt tttaagtcat catccatagc tacttttgca aaacacttgc aacagaggtt 6180

tagaaactgt tgatcctttt gttccatgat actggaagac atttgatgga atattactaa 6240

gtcaaacgaa tgatgcacca gcagcttaga aaaagatgct gacaatttga ggattgctaa 6300

gattgtctga aatccttcag tctgtacttc agcaacatcc ttaaatcggt ataagctgga 6360

agccagaatt tttgccagca gatgtccagt tcctatgcat aaattcttct ttgtaatcaa 6420

gcatcctata agacttaaac ccagacactg aatttcttgg tcatctggat acatctgcag 6480

tgtgtgaagc actgaatcca cagcaccttc cagggataac acccctaatg catcagtaaa 6540

atgtgcaata aaagaaatta cttttaatcc acatttctga atcccaggat ttccaatgaa 6600

cctgttcaaa gctgctagga ccagtttgtg aatatcattc ttgaaacact gttttttaac 6660

catatttagc ttacgatgag attctgcatc ctctctggat tcttctggca tgcctggcac 6720

tataaaatgt aaaatagctc gaagcgcctc cagctgcact ggtaatgatg tctcatgact 6780

tttcataact gttattattt tggggagcac tgctgccatt gtatccaggg atgtgttgct 6840

tccttcaaaa agatgattta gcattttaca gccactttca gccacttcag gagaatgtat 6900

atgcttctgc attaactcca aaacattcag gtatattcct tttgataaca ggatttttct 6960

gaaattaaca ttttgttcta aaagagttga caatgcatta gcagatgcct ggaaaacttc 7020

ctttgatgat gaatgcatca gcatggacag catcacttcc ctatgagctg ggaaatggcc 7080

atcttcatct ccaatcttct catgtaaact gttttggtac ataaggagat tatttagtgc 7140

ccagcatgca gcctcctgca cgtgcttgtt ctttctatgc cacgttaacg ctttgtaaca 7200

ggcttccagc caaaacaatt taacttcttc cccctcatca tcattctctt gattctcatt 7260

cttttcctct aaatcttgat ttaagaaaat ggtctcagtg aggagggcca aacagctgag 7320

cgctgagatc tgtaatgctg cgttctctgg gtaccgctgc acagctttca ccacaaattc 7380

atggacttcg tttaatacca ggatattaaa aaaattacct aatgtaagcc tatggagcaa 7440

acagcaactc acttcttgaa ttttttcact gatagggaat gctttcatag cttccaccac 7500

aatattataa cacctgacat tgccactcat gaggacttcc acattattgc aaggaattgc 7560

tagggaatgt aaacaatgca gtacatgaag cacaatttcc tcttcatctt taaaatttgt 7620

taacgcactt aacaatatca tataatcttt gttctcaaca aattcagtta gttgctcctc 7680

tgagactctt tcaaacagca catgtaaagc tttgcatcca agtttctgga tttcatcatt 7740

ggctggaaat gagtgcatgg catcaaaaat taacatgaaa atatcacttt cttcatccaa 7800

tatcagtaag gtgattttac ctgaagttag gaggagatct aaggtcttca gtccaatcat 7860

tgacaagttt acactggcat tatgaactgt tagcatttta agaatcaatt ggtgaacacc 7920

aaggacttcc caatcatttc caacatcctg gggtcccatt aagctttgca ttgtacccgg 7980

gcagatttct attaatttgc acagaagtga ccaacccacc tgctgcacac tcgcgactct 8040

catatacgag tccaagacga tcaacagagg cacatggata tttttgcctt gaaataactt 8100

ggaggcgtgc tcggagtacg tgaacaccag cagatcctcc aggatttgga ccagcgtttc 8160

tatctgttta ccttcctgga cattgttcag cctgactatc aacttcttca gagtttcctc 8220

gtcctcctcg cacccctgac agctgccact agccatggtg gcccctgctt ccaacccgcc 8280

gccctcccag cacgaacgtc cgctgctcag ggaaccggca ggggcgccgg ccacagctcc 8340

ccgggatcta gctcagctca ccgccctcag ccagggctcc ccgggggccc cgtcggcgcc 8400

cacgcccgcc tgtttatgag gaaggcggtg gctccccgcc ccgcgttgcc ctccctctcc 8460

agagccctcc tgctcggctt cctcctcccc cagccaggcc ccaaaaaacc agctcagggg 8520

cctgccagag gctccgccgg ggcgacgggc cgcgcagaac ttcggcggcg gccgtggggc 8580

tgctggagcc gggcctggcc gggatgaccg tgcccgt 8617

<210> 5
<211> 8231
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 5
gagcagctct gagagcagga gccgtcccag ctcgccgcag tccccgccgg ctgcaccatg 60

gccagtggcg cctgtcaggg ctgcgaagag gaagaggagg aggaggctct gaagaagttg 120

atagtcaggc tgaataatgt ccaggaaggc aagcagatcg agacgttgct tcagctcctg 180

gaggacatgc tggtgttcac ctactcggac cgcgcctcca agttatttga agataaaaat 240

ttccacgtgc ctctgttgat tgtcctggac tcctacatga gagttgccag tgtacagcag 300

gcggggtggt cacttctgtg caaattaata gaagtctgtc cagggacatt gcaaagctta 360

ataggacccc aggatattgg aaatgattgg gaagtccttg gtattcaccg gctgattctt 420

aaaatgttaa ctgttcatca cgccaatgta aacctgtcaa tagttggact aaaagccttg 480

gatctcctcc tagattcagg taaactcacc ttgctgatac tggatgaaga atgtgatatt 540

ttcttgttaa tttttgatgc catgcacaga tattcagcca atgatgaagt ccaaaaactg 600

ggatgcaaag ctttacacgt gctttttgag agagtttccg aggaacagct gactgagttt 660

gtggagaaca aagattacac gatactgctg agtacgttcg gcagcttcag aagggacaag 720

gagattgtgt accacgtact ttgctgcttg cattccctgg cggttacatg cagcaatgta 780

gaggtcctca tgagtgggaa tgtccggtgc tacaatcttg tggtggaggc catgaaagcc 840

ttccccacca atgaaaacat ccaagaggtg agctgctcct tgttccagaa gcttacatta 900

ggtaactttt tcaacatcct ggtgttgaac gaagtgcatg tctttgtggt gaaagcggtc 960

cgacagtatc ctgagaacgc agccttacag atctctgcac tcagctgttt agcactcctc 1020

actgagacta ttttcttaaa ccaagacttg gaggaaagaa gtgagactca agagcagagc 1080

gaagaggaag acagtgagaa gcttttctgg ctggaaccct gctataaagc cctggtgcgc 1140

catcgaaagg acaaacacgt gcaggaggct gcctgctggg cactaaataa cctccttatg 1200

taccagaaca gtttgcatga gaagatcgga gatgaagatg gccagttccc tgcgcacagg 1260

gaagtgatgc tgtctatgct gatgcactct tcttccaaag atgtcttcca agcagctgca 1320

catgctctgt ccactctctt ggaacaaaat gttaatttca ggaaaatcct gctggcaaaa 1380

ggagtatacc tgaatgtctt ggaattgatg cagaagcatg cccatgcgcc tgaggtggca 1440

gagagtggct gcaagatgct gagtcacctg tttgaaggaa gtaacccttc tctggataca 1500

atggcagcag tggtccctaa aatactaaca gtgatgaaag cccacggaac gtctctgtca 1560

gtccagctgg aggcgctgcg agctatcttg catttcgttg tgccaggact attggaagaa 1620

tccagggagg actctcaatg cagaccaaat gtgctcagaa aacagtgttt caggactgac 1680

atccacaagc tggttctagt cgctctgaac aggttcattg ggaatcctgg gattcagaaa 1740

tgtggattga aagtaatctc ttctctcgcg caccttcctg atgccacaga gacattgtcc 1800

ctgcaaggag cagttgactc agtcctccac accttacaga tgtatccaga tgaccaagaa 1860

attcagtgtc tgggcttaca ccttatggga tgcttgatga caaagaagaa tttctgcata 1920

gggacagggc acctcctggc aaaaattctg gcttccactt tgcagcgctt taaagatgtt 1980

gctgaggtgc agactacagg attacagaca accctgtcaa tacttgagct gtcagtatct 2040

ttctccaagc tgctagtgca ctattccttt gatgtggtga tatttcatca gatgtcttcc 2100

agtgttgtag aacaaaagga tgagcagttc ctcaatctat gttgcaaatg ctttgcaaaa 2160

gtggccgtgg atgatgagct gaaaaacacc atgctagaga gagcctgcga tcagaataac 2220

agcatcatgg ttgaatgttt gctcctcttg ggagctgatg ccaaccaagt gaaggggggca 2280

acttctttaa tctatcaggt atgtgagaaa gagagcagtc ctaaattggt ggaactgttg 2340

cttaatggtg gttgtcgtga acaagatgta cggaaggccc tgaccgtaag catccaaaag 2400

ggcgacagcc aggtcatcag cttgctcctc aggaaacttg ccctggacct ggccaacaac 2460

agcatttgcc ttggaggatt tggcatagga aaaattgatc cttcttggct tggtccttta 2520

tttccagata agtcatccaa tttaaggaag caaacaaaca caggatctgt cctagcgagg 2580

aaagtgctcc ggtatcagat gagaaacacc cttcaagaag gcgtggcctc aggcagtgac 2640

ggcaagtttt ctgaagacgc gctggcgaaa tttggagaat ggacctttat tcccgactct 2700

tctatggaca gtgtgtttgg ccagagcgat gatctggata gcgaaggcag cgagagctca 2760

tttctcgtga agaggaagtc caactcaatt agtgtagggg aagtttacag agatctagct 2820

ctgcagcgct gctcaccaaa tgctcagagg cattccaatt cgctgggtcc tgtttttgac 2880

catgaagact tactgagacg aaaaagaaaa atactgtctt cagatgagtc tctcaggtcc 2940

tcaaggctgc cgtcccatat gaggcaatca gatagctctt cttccctggc ttctgagaga 3000

gaacacatca cgtcgttaga cctatctgcc aacgaactca aagatattga tgctctgagc 3060

cagaagtgtt gcctcagtag ccacctggaa catctcacca aactggaact tcaccagaat 3120

tcactcacga gcttcccaca gcagctgtgt gagactctga agtgtttgat acacttggat 3180

ttgcacagta acaaattcac ctcatttccc tctttcgtgt tgaaaatgcc acgtatcacc 3240

aacctagatg cctctcgaaa tgacatcggg ccaacagtag ttttagaccc tgcgatgaag 3300

tgtccaagcc tcaaacagtt gaatctgtcc tataaccagc tctcttcaat cccagagaat 3360

cttgcccaag tggtggagaa acttgagcag ctcctactgg aaggaaataa aatatccggg 3420

atttgctctc ccctgagcct gaaggaactg aagattttaa atcttagtaa aaatcacatt 3480

ccatccctac ctggagattt tcttgaggct tgttcaaaag tcgagagttt cagtgctcgc 3540

atgaattttc ttgctgcaat gcctgcctta ccttcttcca taacgagctt aaaattgtct 3600

cagaactctt tcacgtgcat tccagaagcg attttcagtc ttccgcactt gcggtccttg 3660

gatatgagcc acaacaacat tgaatgtctg ccggggacctg cacattggaa gtctctgaac 3720

ttaagggaac tcatttttag caagaatcag atcagcacct tagactttag tgagaaccca 3780

cacgtgtggt caagagtaga gaaactgcat ctctctcata ataaactgaa agagattcct 3840

ccagaaattg gctgccttga aaatctgacg tctctcgacg tcagttacaa cttggaactg 3900

aggtccttcc caaatgaaat ggggaagttg agcaagatat gggatcttcc cttggacgga 3960

ctgcatctga attttgactt taagcacgta ggatgcaagg ccaaagacat cataaggttt 4020

ctacaacaac gtctgaaaaa ggctgtaccc tacaaccgaa tgaagctcat gattgtggga 4080

aatacgggga gcggtaagac cactttactg caacaactca tgaaaatgaa gaaaccagaa 4140

cttggcatgc agggtgccac agtcggcata gacgtgcgag actggtccat ccaaatacgg 4200

ggcaaaagga gaaaggacct ggttctaaac gtgtgggatt ttgcaggtcg tgaggaattc 4260

tacagcactc acccccactt catgacccag agagccctct acctggctgt ctatgatctc 4320

agcaaggggc aggcagaggt ggacgccatg aagccctggc tcttcaatat caaggctcgt 4380

gcctcttctt ccccggtgat tctggtgggc acacatttgg atgtttctga tgagaagcag 4440

cggaaagcgt gcataagcaa aatcacgaag gaactcctaa ataagcgagg attccccacc 4500

atccgggact accactttgt gaatgccacc gaggagtcag atgcgctggc aaagcttcgg 4560

aaaaccatca taaatgagag ccttaatttc aagatccgag atcagcctgt ggttgggcag 4620

ctaattccag attgctacgt agaactggag aaaatcattt tatcagagcg gaaagctgtg 4680

ccgactgagt ttcctgtgat taaccggaaa cacctgttac agctcgtgaa cgaacatcag 4740

ctgcagctgg atgagaacga gctcccacac gccgttcact tcctaaatga gtcgggagtt 4800

cttctgcatt ttcaagaccc tgccctgcag ctaagtgacc tgtactttgt ggaacccaag 4860

tggctttgta aagtcatggc acagatcttg acagtgaagg tagacggctg tctgaaacat 4920

cctaagggca tcatttcccg gagagatgtg gaaaaattcc tttcaaagaa gaagcgattc 4980

ccgaagaact atatgatgca atactttaaa ctattagaaa aatttcagat cgcattgcca 5040

ataggggaag aatatcttct ggttccaagc agcttgtctg accacaggcc agtgatagag 5100

ctcccccact gtgagaactc tgagatcatc atccggctgt acgaaatgcc gtactttccc 5160

atgggatttt ggtcaagatt gattaaccga ttacttgaaa tctcaccctt catgctttct 5220

ggcagagaga gagcactacg ccctaacagg atgtattggc ggcaaggcat ctacttgaat 5280

tggtctccag aagcatactg tctggtaggc tctgaagtct tagacaatcg acctgagagt 5340

ttcttgaaaa tcacagttcc gtcttgtaga aaaggttgta ttcttctggg ccgagttgtg 5400

gatcatattg actcactcat ggaagaatgg tttcccgggt tactggagat tgacatttgt 5460

ggggaaggag aaactctgtt gaagaaatgg gcattgtaca gttttaatga tggtgaagaa 5520

catcagaaga tcttgcttga tgagttgatg aagaaggctg aagaaggaga cctgttaata 5580

aatccagacc aaccaaggct cactattcca atatcccaga ttgctccgga cttgatcttg 5640

gctgacctgc ctagaaatat catgttgaac aatgatgagt tggaatttga ggaagcacca 5700

gagtttctct taggcgatgg aagttttgga tccgtttatc gagctgccta cgaaggagag 5760

gaagtggctg tgaagatttt taataagcac acatctctta ggctgttaag acaagagttg 5820

gtggtccttt gtcaccttca ccaccccagc ctgatatcct tgctggcggc tggtattcgt 5880

cctcggatgt tggtaatgga gttggcctcc aaaggttcct tggatcgcct gctgcagcag 5940

gacaaagcca gcctcaccag aaccctccag cacaggatcg cgttgcatgt ggccgacggc 6000

ctgaggtatc tccactcagc catgattatt taccgtgacc tgaagcccca caatgtgctg 6060

cttttttaccc tgtatcccaa tgctgccatc attgcgaaga ttgcggacta cgggatcgca 6120

cagtactgct gcaggatggg aataaagaca tcagagggca ccccagggtt ccgggcacct 6180

gaagttgcca gggggaatgt catttataac caacaggccg atgtttattc ttttggctta 6240

ctacttcacg atatttggac aactgggagt aggattatgg agggtttgag gttcccaaat 6300

gagtttgatg agttagccat acaagggaag ttgccagatc cagttaaaga atatggctgt 6360

gccccatggc ctatggttga gaagttaatt acaaagtgtt tgaaagaaaa tcctcaagaa 6420

agacccactt ctgcccaggt ctttgacatt ttgaattcgg ctgaattaat ttgcctcatg 6480

cgacacattt taatacctaa gaacatcatt gttgaatgca tggttgccac gaatctcaat 6540

agcaagagtg cgactctctg gttgggatgt gggaacacag aaaaaggaca gctttcctta 6600

tttgacttaa acacggaaag atacagctat gaggaagttg ctgatagtag aatactgtgc 6660

ttggctttgg tgcatctcgc tgctgagaaa gagagctggg ttgtgtgcgg gacacagtct 6720

ggggctctcc tggtcatcaa tgttgaagag gagacaaaga gacacaccct ggaaaagatg 6780

actgattctg tcacttgttt gcattgcaat tcccttgcca agcagagcaa gcaaagtaac 6840

tttcttttgg tgggaactgc tgatggtaac ttaatgatat ttgaagataa agccgttaag 6900

tgtaaaggag ctgccccctt gaagacacta cacataggcg atgtcagtac gcccctgatg 6960

tgcctgagcg agtccctgaa ttcatctgaa agacacatca catggggagg gtgtggcaca 7020

aaggtcttct ccttttccaa tgatttcacc attcagaaac tcatcgagac aaaaaccaac 7080

cagctgtttt cttacgcagc tttcagcgat tctaacatca tagcgctggc agtagacaca 7140

gccctgtata ttgccaagaa aaacagccct gtcgtagagg tgtgggacaa gaaaacagaa 7200

aagctctgtg aattaataga ctgtgtgcac ttcttaaagg aggtgatggt aaaactaaac 7260

aaggaatcga aacatcagct gtcctactct gggagggtga aggccctctg cctgcagaag 7320

aacacggctc tctggatcgg aactggagga ggccacatct tactcctgga tctttctact 7380

cggcgagtta tccgcaccat tcacaatttc tgtgattctg tgagagccat ggccacagca 7440

caattaggaa gccttaagaa tgtcatgctg gttttggggt acaagcggaa gagtacagag 7500

ggtatccaag aacaaaaaga gatacaatct tgtttgtcta tttgggacct caatcttcca 7560

cacgaggtgc aaaatttaga aaaacacatt gaagtaagaa cagaattagc tgataaaatg 7620

aggaaaacat ctgttgaata gaaagacatc aggcagtctc gatgttatat tgaataagac 7680

atcagacatc ctcgtcacta tattgaaaag gacatcagac atcctcgcca atatgttaga 7740

aaatgtactc ttctttttaa aatatatttt taaaatgttt acattgaaaa gagtatgcct 7800

attctttaca aagttcatat gtatatgaag gaatgtgtat gtcttatgtt taatttaata 7860

tatgtaaaaa tatttatcag taaatatgtt ttaaaaaact atttaattta gcattatatt 7920

ttctatactc cttaactaat ttgaagggat aaacaaaaga aatctacaaa gcatttaatt 7980

tcagtattta tactaaaatt aataaaaata tcatgtttgt tttgctatgt attgtgatga 8040

taaagcctat tttaaattgt tgattaagac acagatgttg cttgattatc tatggactca 8100

gcggagtaga ataaaatatc tggtcaattt ccaagtaaga gactctttca tatcttgttt 8160

tcaagtgaat tatcatcatt aatgtaaact gtcatatttt cactaataaa gatttttgtt 8220

agctcaggaa a 8231

<210> 6
<211> 8231
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 6
tttcctgagc taacaaaaat ctttattagt gaaaatatga cagtttacat taatgatgat 60

aattcacttg aaaacaagat atgaaagagt ctcttacttg gaaattgacc agatatttta 120

ttctactccg ctgagtccat agataatcaa gcaacatctg tgtcttaatc aacaatttaa 180

aataggcttt atcatcacaa tacatagcaa aacaaacatg atatttttat taattttagt 240

ataaatactg aaattaaatg ctttgtagat ttcttttgtt tatcccttca aattagttaa 300

ggagtataga aaatataatg ctaaattaaa tagttttta aaacatattt actgataaat 360

atttttacat atattaaatt aaacataaga catacacatt ccttcatata catatgaact 420

ttgtaaagaa taggcatact cttttcaatg taaacatttt aaaaatatat tttaaaaaga 480

agagtacatt ttctaacata ttggcgagga tgtctgatgt ccttttcaat atagtgacga 540

ggatgtctga tgtcttattc aatataacat cgagactgcc tgatgtcttt ctattcaaca 600

gatgttttcc tcattttatc agctaattct gttcttactt caatgtgttt ttctaaattt 660

tgcacctcgt gtggaagatt gaggtcccaa atagacaaac aagattgtat ctctttttgt 720

tcttggatac cctctgtact cttccgcttg taccccaaaa ccagcatgac attcttaagg 780

cttcctaatt gtgctgtggc catggctctc acagaatcac agaaattgtg aatggtgcgg 840

ataactcgcc gagtagaaag atccaggagt aagatgtggc ctcctccagt tccgatccag 900

agagccgtgt tcttctgcag gcagagggcc ttcaccctcc cagagtagga cagctgatgt 960

ttcgattcct tgtttagttt taccatcacc tcctttaaga agtgcacaca gtctattaat 1020

tcacagagct tttctgtttt cttgtcccac acctctacga cagggctgtt tttcttggca 1080

atatacaggg ctgtgtctac tgccagcgct atgatgttag aatcgctgaa agctgcgtaa 1140

gaaaacagct ggttggtttt tgtctcgatg agtttctgaa tggtgaaatc attggaaaag 1200

gagaagacct ttgtgccaca ccctccccat gtgatgtgtc tttcagatga attcagggac 1260

tcgctcaggc acatcagggg cgtactgaca tcgcctatgt gtagtgtctt caaggggtca 1320

gctcctttac acttaacggc tttatcttca aatatcatta agttaccatc agcagttccc 1380

accaaaagaa agttactttg cttgctctgc ttggcaaggg aattgcaatg caaacaagtg 1440

acagaatcag tcatcttttc cagggtgtgt ctctttgtct cctcttcaac attgatgacc 1500

aggagagccc cagactgtgt cccgcacaca acccagctct ctttctcagc agcgagatgc 1560

accaaagcca agcacagtat tctactatca gcaacttcct catagctgta tctttccgtg 1620

tttaagtcaa ataaggaaag ctgtcctttt tctgtgttcc cacatcccaa ccagagagtc 1680

gcactcttgc tattgagatt cgtggcaacc atgcattcaa caatgatgtt cttaggtatt 1740

aaaatgtgtc gcatgaggca aattaattca gccgaattca aaatgtcaaa gacctgggca 1800

gaagtgggtc tttcttgagg attttctttc aaacactttg taattaactt ctcaaccata 1860

ggccatgggg cacagccata ttctttaact ggatctggca acttcccttg tatggctaac 1920

tcatcaaact catttgggaa cctcaaaccc tccataatcc tactcccagt tgtccaaata 1980

tcgtgaagta gtaagccaaa agaataaaca tcggcctgtt ggttataaat gacattcccc 2040

ctggcaactt caggtgcccg gaaccctggg gtgccctctg atgtctttat tcccatcctg 2100

cagcagtact gtgcgatccc gtagtccgca atcttcgcaa tgatggcagc attgggatac 2160

agggtaaaaa gcagcacatt gtggggcttc aggtcacggt aaataatcat ggctgagtgg 2220

agatacctca ggccgtcggc cacatgcaac gcgatcctgt gctggagggt tctggtgagg 2280

ctggctttgt cctgctgcag caggcgatcc aaggaacctt tggaggccaa ctccattacc 2340

aacatccgag gacgaatacc agccgccagc aaggatatca ggctggggtg gtgaaggtga 2400

caaaggacca ccaactcttg tcttaacagc ctaagagatg tgtgcttatt aaaaatcttc 2460

acagccactt cctctccttc gtaggcagct cgataaacgg atccaaaact tccatcgcct 2520

aagagaaact ctggtgcttc ctcaaattcc aactcatcat tgttcaacat gatatttcta 2580

ggcaggtcag ccaagatcaa gtccggagca atctgggata ttggaatagt gagccttggt 2640

tggtctggat ttattaacag gtctccttct tcagccttct tcatcaactc atcaagcaag 2700

atcttctgat gttcttcacc atcattaaaa ctgtacaatg cccatttctt caacagagtt 2760

tctccttccc cacaaatgtc aatctccagt aacccgggaa accattcttc catgagtgag 2820

tcaatatgat ccacaactcg gcccagaaga atacaacctt ttctacaaga cggaactgtg 2880

attttcaaga aactctcagg tcgattgtct aagacttcag agcctaccag acagtatgct 2940

tctggagacc aattcaagta gatgccttgc cgccaataca tcctgttagg gcgtagtgct 3000

ctctctctgc cagaaagcat gaagggtgag atttcaagta atcggttaat caatcttgac 3060

caaaatccca tgggaaagta cggcatttcg tacagccgga tgatgatctc agagttctca 3120

cagtgggggga gctctatcac tggcctgtgg tcagacaagc tgcttggaac cagaagatat 3180

tcttccccta ttggcaatgc gatctgaaat ttttctaata gtttaaagta ttgcatcata 3240

tagttcttcg ggaatcgctt cttctttgaa aggaattttt ccacatctct ccgggaaatg 3300

atgcccttag gatgtttcag acagccgtct accttcactg tcaagatctg tgccatgact 3360

ttacaaagcc acttgggttc cacaaagtac aggtcactta gctgcagggc agggtcttga 3420

aaatgcagaa gaactcccga ctcatttagg aagtgaacgg cgtgtgggag ctcgttctca 3480

tccagctgca gctgatgttc gttcacgagc tgtaacaggt gtttccggtt aatcacagga 3540

aactcagtcg gcacagcttt ccgctctgat aaaatgattt tctccagttc tacgtagcaa 3600

tctggaatta gctgcccaac cacaggctga tctcggatct tgaaattaag gctctcattt 3660

atgatggttt tccgaagctt tgccagcgca tctgactcct cggtggcatt cacaaagtgg 3720

tagtcccgga tggtggggaa tcctcgctta tttaggagtt ccttcgtgat tttgcttatg 3780

cacgctttcc gctgcttctc atcagaaaca tccaaatgtg tgcccaccag aatcaccggg 3840

gaagaagagg cacgagcctt gatattgaag agccagggct tcatggcgtc cacctctgcc 3900

tgccccttgc tgagatcata gacagccagg tagagggctc tctgggtcat gaagtggggg 3960

tgagtgctgt agaattcctc acgacctgca aaatcccaca cgtttagaac caggtccttt 4020

ctccttttgc cccgtatttg gatggaccag tctcgcacgt ctatgccgac tgtggcaccc 4080

tgcatgccaa gttctggttt cttcattttc atgagttgtt gcagtaaagt ggtcttaccg 4140

ctccccgtat ttcccacaat catgagcttc attcggttgt agggtacagc ctttttcaga 4200

cgttgttgta gaaaccttat gatgtctttg gccttgcatc ctacgtgctt aaagtcaaaa 4260

ttcagatgca gtccgtccaa gggaagatcc catatcttgc tcaacttccc catttcattt 4320

gggaaggacc tcagttccaa gttgtaactg acgtcgagag acgtcagatt ttcaaggcag 4380

ccaatttctg gaggaatctc tttcagttta ttatgagaga gatgcagttt ctctactctt 4440

gaccacacgt gtgggttctc actaaagtct aaggtgctga tctgattctt gctaaaaatg 4500

agttcccttа agttcagaga cttccaatgt gcaggtcccg gcagacattc aatgttgttg 4560

tggctcatat ccaaggaccg caagtgcgga agactgaaaa tcgcttctgg aatgcacgtg 4620

aaagagttct gagacaattt taagctcgtt atggaagaag gtaaggcagg cattgcagca 4680

agaaaattca tgcgagcact gaaactctcg acttttgaac aagcctcaag aaaatctcca 4740

ggtagggatg gaatgtgatt tttactaaga tttaaaatct tcagttcctt caggctcagg 4800

ggagagcaaa tcccggatat tttatttcct tccagtagga gctgctcaag tttctccacc 4860

acttgggcaa gattctctgg gattgaagag agctggttat aggacagatt caactgtttg 4920

aggcttggac acttcatcgc agggtctaaa actactgttg gcccgatgtc atttcgagag 4980

gcatctaggt tggtgatacg tggcattttc aacacgaaag agggaaatga ggtgaatttg 5040

ttactgtgca aatccaagtg tatcaaacac ttcagagtct cacacagctg ctgtgggaag 5100

ctcgtgagtg aattctggtg aagttccagt ttggtgagat gttccaggtg gctactgagg 5160

caacacttct ggctcagagc atcaatatct ttgagttcgt tggcagatag gtctaacgac 5220

gtgatgtgtt ctctctcaga agccagggaa gaagagctat ctgattgcct catatgggac 5280

ggcagccttg aggacctgag agactcatct gaagacagta ttttttcttt tcgtctcagt 5340

aagtcttcat ggtcaaaaac aggacccagc gaattggaat gcctctgagc atttggtgag 5400

cagcgctgca gagctagatc tctgtaaact tcccctacac taattgagtt ggacttcctc 5460

ttcacgagaa atgagctctc gctgccttcg ctatccagat catcgctctg gccaaacaca 5520

ctgtccatag aagagtcggg aataaaggtc cattctccaa atttcgccag cgcgtcttca 5580

gaaaacttgc cgtcactgcc tgaggccacg ccttcttgaa gggtgtttct catctgatac 5640

cggagcactt tcctcgctag gacagatcct gtgtttgttt gcttccttaa attggatgac 5700

ttatctggaa ataaaggacc aagccaagaa ggatcaattt ttcctatgcc aaatcctcca 5760

aggcaaatgc tgttgttggc caggtccagg gcaagtttcc tgaggagcaa gctgatgacc 5820

tggctgtcgc ccttttggat gcttacggtc agggccttcc gtacatcttg ttcacgacaa 5880

ccaccattaa gcaacagttc caccaattta ggactgctct ctttctcaca tacctgatag 5940

attaaagaag ttgccccctt cacttggttg gcatcagctc ccaagaggag caaacattca 6000

accatgatgc tgttattctg atcgcaggct ctctctagca tggtgttttt cagctcatca 6060

tccacggcca cttttgcaaa gcatttgcaa catagattga ggaactgctc atccttttgt 6120

tctacaacac tggaagacat ctgatgaaat atcaccacat caaaggaata gtgcactagc 6180

agcttggaga aagatactga cagctcaagt attgacaggg ttgtctgtaa tcctgtagtc 6240

tgcacctcag caacatcttt aaagcgctgc aaagtggaag ccagaatttt tgccaggagg 6300

tgccctgtcc ctatgcagaa attcttcttt gtcatcaagc atcccataag gtgtaagccc 6360

agacactgaa tttcttggtc atctggatac atctgtaagg tgtggaggac tgagtcaact 6420

gctccttgca gggacaatgt ctctgtggca tcaggaaggt gcgcgagaga agagattact 6480

ttcaatccac atttctgaat cccaggattc ccaatgaacc tgttcagagc gactagaacc 6540

agcttgtgga tgtcagtcct gaaacactgt tttctgagca catttggtct gcattgagag 6600

tcctccctgg attcttccaa tagtcctggc acaacgaaat gcaagatagc tcgcagcgcc 6660

tccagctgga ctgacagaga cgttccgtgg gctttcatca ctgttagtat tttagggacc 6720

actgctgcca ttgtatccag agaagggtta cttccttcaa acaggtgact cagcatcttg 6780

cagccactct ctgccacctc aggcgcatgg gcatgcttct gcatcaattc caagacattc 6840

aggtatactc cttttgccag caggattttc ctgaaattaa cattttgttc caagagagtg 6900

gacagagcat gtgcagctgc ttggaagaca tctttggaag aagagtgcat cagcatagac 6960

agcatcactt ccctgtgcgc agggaactgg ccatcttcat ctccgatctt ctcatgcaaa 7020

ctgttctggt acataaggag gttatttagt gcccagcagg cagcctcctg cacgtgtttg 7080

tcctttcgat ggcgcaccag ggctttatag cagggttcca gccagaaaag cttctcactg 7140

tcttcctctt cgctctgctc ttgagtctca cttctttcct ccaagtcttg gtttaagaaa 7200

atagtctcag tgaggagtgc taaacagctg agtgcagaga tctgtaaggc tgcgttctca 7260

ggatactgtc ggaccgcttt caccacaaag acatgcactt cgttcaacac caggatgttg 7320

aaaaagttac ctaatgtaag cttctggaac aaggagcagc tcacctcttg gatgttttca 7380

ttggtgggga aggctttcat ggcctccacc acaagattgt agcaccggac attcccactc 7440

atgaggacct ctacattgct gcatgtaacc gccagggaat gcaagcagca aagtacgtgg 7500

tacacaatct ccttgtccct tctgaagctg ccgaacgtac tcagcagtat cgtgtaatct 7560

ttgttctcca caaactcagt cagctgttcc tcggaaactc tctcaaaaag cacgtgtaaa 7620

gctttgcatc ccagtttttg gacttcatca ttggctgaat atctgtgcat ggcatcaaaa 7680

attaacaaga aaatatcaca ttcttcatcc agtatcagca aggtgagttt acctgaatct 7740

aggaggagat ccaaggcttt tagtccaact attgacaggt ttacattggc gtgatgaaca 7800

gttaacattt taagaatcag ccggtgaata ccaaggactt cccaatcatt tccaatatcc 7860

tggggtccta ttaagctttg caatgtccct ggacagactt ctattaattt gcacagaagt 7920

gaccaccccg cctgctgtac actggcaact ctcatgtagg agtccaggac aatcaacaga 7980

ggcacgtgga aatttttatc ttcaaataac ttggaggcgc ggtccgagta ggtgaacacc 8040

agcatgtcct ccaggagctg aagcaacgtc tcgatctgct tgccttcctg gacattattc 8100

agcctgacta tcaacttctt cagagcctcc tcctcctctt cctcttcgca gccctgacag 8160

gcgccactgg ccatggtgca gccggcgggg actgcggcga gctgggacgg ctcctgctct 8220

cagagctgct c 8231

<210> 7
<211> 7581
<212> DNA
<213> 褐家鼠

<400> 7
atggccagtg gcgcctgtca gggctgcgac gaggaagagg aggaggaggc tctgaagaag 60

ttgatagtca ggctgaataa tgtccaggaa ggcaagcaga tcgagacgtt gctccagctc 120

ctggaggaca ttctggtgtt cacctactcc gaccgcgcct ccaagttatt tgaaggcaaa 180

aatgtccacg tgcctctgtt gatagtcctg gactcctaca tgagagtcgc cagtgtgcag 240

caggtggggt ggtcacttct gtgcaaatta atagaagtct gtccagggac attgcaaagc 300

ttaataggac cccaggatat tgggaatgat tgggaagtcc ttggtattca ccgactgatt 360

cttaaaatgt taactgttca tcatgccaac gtaaacctgt caatagttgg actaaaagcc 420

ttagatctcc tcctagattc aggtaaaatt actctgctga tactggatga agaatgtgat 480

gttttcctgt taatttttga tgccatgcac agatattcag ccaacgagga agtccagaag 540

cttgcgtgca aggctttaca tgtgctgttc gagagagtgt ccgaggagca actgactgag 600

tttgtggaga acaaagatta catgaccctg ctgagtacgt tccgcagctt caagagggac 660

gaggagattg tgcaccatgt actctgctgc ctgcattctc tggccgtcac ttgcagcaat 720

gtggaggtcc tcatgagtgg gaatgtcagg tgttacaata ttgtggtgga agccatgaaa 780

acattcccca ccagtgaaaa cattcaagag gtgagctgct ccttgctcca caagcttaca 840

ttaggtaatt ttttcaacat cctggtgttg aacgaagtcc atgtctttgt ggtgaaagcc 900

gtccagcggt atcccgagaa cgtagcctta cagatctctg cactcagctg cttagccctc 960

ctcaccgaga ctattttctt aaaccaagac ctggaagaaa gaagtgagac tcaggaaaac 1020

agcgatgagg acagtgagaa gcctttctgg ttggaaccct gctataaagc cctgatgcgc 1080

catcgaaaga acaaacacgt gcaggaggcc gcctgctggg ccctaaataa tctcctcatg 1140

taccagagca gtttgcacga gaagattgga gatgaagatg gccagttccc ggcgcacagg 1200

gaagtgatgc tgtctatgct gatgcactct tcttccaaag acgtcttcca agcagctgcg 1260

catgctctgt ccactctctt ggaacaaaac gttaatttca ggaaaatcct gcttgcaaaa 1320

ggagtgtacc tgaatgtctt ggagttgatg cagcggcacg cccaggttcc tgaggtggca 1380

gagagtggct gcaagatgct gagtcatctg tttgaaggaa gcaacccttc tttggataca 1440

gtggcggcag tgatccccaa aatactaaca gtgatgagaa cccatggaac gtctctgtca 1500

gtccagctgg aggcactgcg agctcttctg cattttgtgg tgccgggagt atcagaagat 1560

tccagggatg actcgcgatg ccaaccaaac gtgctcagaa cacagtgctt caggactgac 1620

atccacaagc tggttctagc cgctctgaac aggttcattg ggaatcccgg gattcagaaa 1680

tgtggattga aagtcatctc ttctttcgca catcttcccg atgccttaga gatgttatcc 1740

ctgcatggag cagttgactc agtcctccat accttacaga tgtatccaga tgaccaagaa 1800

attcagtgtc tgggcttaca ccttatggga tgcctgatga caaagaagaa tttctgcata 1860

gggacagggc acctcctggc aaaaattctg gcttccacct tgcagcgatt taaagatgtt 1920

gctgaagtac agactacagg attacagacg gtcttgtcaa tgcttgacct gtccgtatct 1980

ttctccaagc tgctagtgca ctattcattt gatgtggtga tgtttcatca gatgtcttcc 2040

ggtgtcctgg aacaaaagga tgagcagttt ctcaacttat gctgcaaatg ctttgcaaaa 2100

gtggctgtgg atgatgagct gaaaagcaag atgctagaga gagcctgcga tcagaacaac 2160

agcatcatgg tcgaatgttt gctcctcttg ggagccgatg ccaatcaagc gaaggggtca 2220

acttctttaa tctatcaggt atgtgagaaa gagagcagcc ctaaattggt ggaactattg 2280

cttaacagtg ggtgccgtga acaagatgta cggaaagccc tgacagtaag catccaaaag 2340

ggcgacaacc aggtcatcag cttactcctg aggagacttg ccctggacct ggccaacaac 2400

agcatttgcc ttggaggatt ttgcatagga aaacttgatc cttcttggct aggcccttta 2460

tttccagata agtcatctaa tttgaggaaa caaacaaatg cggggtctgt cctagcgagg 2520

aaagtgctcc ggtatcagat gagaaacact cttcaagaag gcgtggcctc aggcagtgag 2580

ggcaacttct ctgaggatgc gctggcgaaa tttggcgaat ggaccttcat tcccgactct 2640

tctatggaca gtgtgtttgg ccagagtgac gatctggata gcgaaggcag cgagagctcc 2700

tttctggtga agaagaagtc caactcagtt agtgtaggag aagtttacag ggacctagct 2760

ctgcagcgct gctcaccaaa tgctcagagg cactccagtt ccttgggtcc tgtttttgat 2820

cacgaagatc tactgagacg aaaaagaaaa atactgtcct cagatgagtc tctcagatcc 2880

tcaaggctgc agtcccatac gagacaatca gatagctctt cttctctggc ttctgagaga 2940

gaacacatca cgtctttaga cctttctgcc aacgaactga aagatattga tgctctgggc 3000

cagaagtgtt gcctcagtag ccacctggag catctcacca agctggaact tcaccagaat 3060

tcactcacga gcttcccaca acagctgtgt gagactctga agtgcttgac acatctggat 3120

ttgcacagta acaaattcgc cacctttccc tccttcatgt tgaaaatgcc aagtgttatc 3180

cacctagacg cctctcgaaa tgacatcgga ccaacagttg ttttagaccc tgtggtgaag 3240

tgtccaagcc tcaaacagtt taacctgtcc tacaaccagc tctcttccat cccagagaac 3300

ctggaccaag tggtggagaa actggagcag ctcctactgg aaggaaacaa aatatccggg 3360

atttgttctc ccttgagcct gaaggaactg aagattttaa accttagtaa aaaccacatt 3420

ccatccctac ctgaagactt tctcgaggct tgcccgaaag tggagagctt cagtgcccgc 3480

atgaattttc tcgctgcaat gcctgcctta ccgtcttcca taactagctt aaaattgtct 3540

caaaactctt tcacgtgcat tccagaagcg atcttcagtc ttccacactt gcggtccttg 3600

gatatgagtc acaacaacat tgaacacctg ccgggacctg cacattggaa gtctctgaac 3660

ttaagggaac tcatttttag caagaatcag atcagcacct tagacttgag cgaaaaccca 3720

cacatatggt caagagtaga gaagctgcat ctctctcata ataaactgaa agagattcct 3780

ccagaaattg gccgtcttga aaacctgaca tctcttgatg tcagttacaa cctggaactg 3840

aggtcctttc caaacgaaat ggggaagtta agcaaaatat gggatcttcc cttggatgga 3900

ctgcacctca actttgactt taagcacata ggatgcaaag ccaaagacat cataaggttt 3960

ctacaacaac gtctgaaaaa ggccgtgccc tacaaccgaa tgaagctcat gattgtgggc 4020

aatacgggga gtggtaagac cactctactg cagcagctca tgaaaatgaa gaaatcagaa 4080

ctcggcatgc agggcgccac ggttggcata gacgtgcgag actggcccat ccaaatacga 4140

ggcaaaagga aaaaggacct tgttctaaac gtgtgggact ttgcaggccg tgaggaattc 4200

tacagcactc acccccactt catgacccag agagccctgt acctggctgt ctacgacctc 4260

agcaaggggc aggcggaggt ggatgccatg aagccctggc tcttcaacat caaggctcgt 4320

gcctcttctt ccccggtgat tctggtgggc acacatttgg atgtttctga tgagaagcag 4380

cgcaaagcct gcataggcaa aatcacgaag gaactcctta ataagcgagg attccccacc 4440

atccgggact accacttcgt gaatgccact gaggagtcgg atgcgctggc aaagctccgg 4500

aaaaccatca taaatgagag tcttaatttc aagatccgag atcagcccgt ggttgggcag 4560

ctaattccag attgctacgt agaactggag aaaataatct tatcggagcg taaagctgta 4620

ccaacggagt ttcctgtaat taaccggaaa cacttactcc agctggtgaa ggaacaccag 4680

ctgcagctgg atgagaacga gctcccccac gctgttcact tcctgaatga gtcaggagtt 4740

cttctgcatt ttcaagaccc cgcattgcag ctgagtgacc tgtactttgt ggaacccaag 4800

tggctttgta aagtcatggc acagattttg accgtgaaag tggacggctg cctgaagcat 4860

cctaagggca tcatttcacg gagagatgtg gaaaaattcc tttccaagaa aaagcgattc 4920

cctaagaact acatggcgca gtacttcaaa cttttagaaa aatttcagat cgcattacca 4980

ataggggaag aatatctgct ggttccaagc agcttatctg accacaggcc agtgatagag 5040

ctcccccact gtgagaactc tgagatcatc atccggctgt atgaaatgcc atactttcca 5100

atgggatttt ggtcaagatt gattaaccga ttacttgaaa tctcaccttt catgctttct 5160

ggaagagaga gagcactacg cccaaaccga atgtactggc gccaaggcat ctacttgaat 5220

tggtctccag aagcctactg tctggtgggc tctgaagtct tagacagtcg cccagagagt 5280

ttcttgaaaa tcacagttcc atcttgtaga aaaggttgta ttcttttggg ccgagttgtg 5340

gatcatattg actcactcat ggaagaatgg tttcctggat tgctggagat tgacatttgt 5400

ggggaaggag aaactttgtt gaaaaaatgg gcattgtata gttttaatga tggcgaagaa 5460

catcagaaga tcttgcttga tgagttgatg aagaaggctg aagaaggaga cctgttaata 5520

aatccagatc aaccaaggct caccattcca atatcccaga ttgctccgga cttgatcttg 5580

gctgacctgc ctagaaatat tatgttgaac aatgacgaac tggaatttga ggaagcaccc 5640

gagtttctct taggtgatgg aagtttcgga tcagtttatc gagctgccta cgaaggagag 5700

gaagtggctg tgaagatttt taataagcac acatcgctta ggctgttaag acaagagttg 5760

gtggtactct gtcatctcca ccatcccagc ttgatctccc tgttggcggc tgggattcgt 5820

cctcggatgc tggtaatgga gttggcctcc aagggttcct tggatcgcct gctgcagcag 5880

gacaaagcca gcctcacccg gaccctccag cacagaatcg cattgcatgt ggccgatggc 5940

ctgagatatc tgcactcggc catgattatt taccgtgatc tgaagcccca caacgtgcta 6000

ctcttcaccc tgtatcccaa tgccgccatc attgcgaaga ttgcggacta cgggattgca 6060

cagtactgct gtaggatggg aataaagacc tcagagggca ccccagggtt ccgagcacct 6120

gaagttgcca gaggaaatgt catttataac caacaggctg atgtttattc ttttggctta 6180

ctacttcatg atatctggac aactgggaat agaatcatgg agggtttgag gtttccaaat 6240

gagtttgatg aactggccat acaagggaaa ttgccagacc cagttaaaga atatggctgt 6300

gccccgtggc ctatggttga gaagttaatt acaaaatgtt tgaaagaaaa tcctcaagaa 6360

agacccactt ctgcccaggt ctttgacatt ttgaattcag ctgagttaat ttgcctcatg 6420

cgacacattt tcatacctaa ggacatcact gttgaatgca tagctgctac aaacctcaat 6480

agcaagcgag cgactctctg gttgggctgt gggaacacag aaaaagggca gctttcctta 6540

cttgacttga acacggaaag atacagctat gaggaagtta ctgatagtag aatactgtgc 6600

ctggctttgg tgcatcttgc tgctgagaaa gagagctggg ttgtgtgtgg gacacagtcc 6660

ggagctctcc tggtcatcaa tgctgaagat gagacaagga gacacaccct cgacaagatg 6720

actgattctg ttacttgctt gtattgcaat tcctttgcca agcagagcaa gcaaagtcac 6780

ttccttttgg tgggaactgc tgatggcaac ttaatgatat ttgaagataa gaccattaag 6840

tgtaaaggag ctgccccatt gaagacacta cacataggcg atgtcagtac gcccctgatg 6900

tgcctgagcg agtccatgaa ttcatctgaa agacacatca catggggagg gtgtggcaca 6960

aagatcttct ccttttccaa tgatttcacc attcagaaac tcatcgagac aagaaccaac 7020

cagctgtttt cttactcagc gttcagcgat tctaacatca tagcggtggc agtggacaca 7080

gcgctttata ttgccaagaa aaacagccct gtcgtagagg tgtgggacaa gaagacagaa 7140

aaactctgtg aactaataga ctgtgtgcac ttcttaaagg aggtgatggt gaaaataaac 7200

aaggactcga agcacaagct gtcctactct gggagggtga aggcactctg cctgcagaag 7260

aacacagctc tctggatcgg aactggagga ggccacatct tactcctgga tctttctaca 7320

cggcgagtca tccgcaccat ccacaatttc tgtgattccg tgagagccat ggccacagct 7380

cagttaggca accttaaaaa tgtcatgctg gttttggggt acaagcggaa gagtacagaa 7440

ggaacccaag aacaaaaaga gatacaatct tgtttgtcta tttgggacct caatcttcca 7500

catgaagtgc aaaacttaga aaaacacatt gaagtaagaa cagaactggc tgataaaatg 7560

aggaaaacat ctgtcgaata g 7581

<210> 8
<211> 7581
<212> DNA
<213> 褐家鼠

<400> 8
ctattcgaca gatgttttcc tcattttatc agccagttct gttcttactt caatgtgttt 60

ttctaagttt tgcacttcat gtggaagatt gaggtcccaa atagacaaac aagattgtat 120

ctcttttttgt tcttgggttc cttctgtact cttccgcttg taccccaaaa ccagcatgac 180

atttttaagg ttgcctaact gagctgtggc catggctctc acggaatcac agaaattgtg 240

gatggtgcgg atgactcgcc gtgtagaaag atccaggagt aagatgtggc ctcctccagt 300

tccgatccag agagctgtgt tcttctgcag gcagagtgcc ttcaccctcc cagagtagga 360

cagcttgtgc ttcgagtcct tgtttatttt caccatcacc tcctttaaga agtgcacaca 420

gtctattagt tcacagagtt tttctgtctt cttgtcccac acctctacga cagggctgtt 480

tttcttggca atataaagcg ctgtgtccac tgccaccgct atgatgttag aatcgctgaa 540

cgctgagtaa gaaaacagct ggttggttct tgtctcgatg agtttctgaa tggtgaaatc 600

attggaaaag gagaagatct ttgtgccaca ccctccccat gtgatgtgtc tttcagatga 660

attcatggac tcgctcaggc acatcagggg cgtactgaca tcgcctatgt gtagtgtctt 720

caatggggca gctcctttac acttaatggt cttatcttca aatatcatta agttgccatc 780

agcagttccc accaaaagga agtgactttg cttgctctgc ttggcaaagg aattgcaata 840

caagcaagta acagaatcag tcatcttgtc gagggtgtgt ctccttgtct catcttcagc 900

attgatgacc aggagagctc cggactgtgt cccacacaca acccagctct ctttctcagc 960

agcaagatgc accaaagcca ggcacagtat tctactatca gtaacttcct catagctgta 1020

tctttccgtg ttcaagtcaa gtaaggaaag ctgccctttt tctgtgttcc cacagcccaa 1080

ccagagagtc gctcgcttgc tattgaggtt tgtagcagct atgcattcaa cagtgatgtc 1140

cttaggtatg aaaatgtgtc gcatgaggca aattaactca gctgaattca aaatgtcaaa 1200

gacctgggca gaagtgggtc tttcttgagg attttctttc aaacattttg taattaactt 1260

ctcaaccata ggccacgggg cacagccata ttctttaact gggtctggca atttcccttg 1320

tatggccagt tcatcaaact catttggaaa cctcaaaccc tccatgattc tattcccagt 1380

tgtccagata tcatgaagta gtaagccaaa agaataaaca tcagcctgtt ggttataaat 1440

gacatttcct ctggcaactt caggtgctcg gaaccctggg gtgccctctg aggtctttat 1500

tcccatccta cagcagtact gtgcaatccc gtagtccgca atcttcgcaa tgatggcggc 1560

attgggatac agggtgaaga gtagcacgtt gtggggcttc agatcacggt aaataatcat 1620

ggccgagtgc agatatctca ggccatcggc cacatgcaat gcgattctgt gctggagggt 1680

ccgggtgagg ctggctttgt cctgctgcag caggcgatcc aaggaaccct tggaggccaa 1740

ctccattacc agcatccgag gacgaatccc agccgccaac agggagatca agctgggatg 1800

gtggagatga cagagtacca ccaactcttg tcttaacagc ctaagcgatg tgtgcttatt 1860

aaaaatcttc acagccactt cctctccttc gtaggcagct cgataaactg atccgaaact 1920

tccatcacct aagagaaact cgggtgcttc ctcaaattcc agttcgtcat tgttcaacat 1980

aatatttcta ggcaggtcag ccaagatcaa gtccggagca atctgggata ttggaatggt 2040

gagccttggt tgatctggat ttattaacag gtctccttct tcagccttct tcatcaactc 2100

atcaagcaag atcttctgat gttcttcgcc atcattaaaa ctatacaatg cccatttttt 2160

caacaaagtt tctccttccc cacaaatgtc aatctccagc aatccaggaa accattcttc 2220

catgagtgag tcaatatgat ccacaactcg gcccaaaaga atacaacctt ttctacaaga 2280

tggaactgtg attttcaaga aactctctgg gcgactgtct aagacttcag agcccaccag 2340

acagtaggct tctggagacc aattcaagta gatgccttgg cgccagtaca ttcggtttgg 2400

gcgtagtgct ctctctcttc cagaaagcat gaaaggtgag atttcaagta atcggttaat 2460

caatcttgac caaaatccca ttggaaagta tggcatttca tacagccgga tgatgatctc 2520

agagttctca cagtgggggga gctctatcac tggcctgtgg tcagataagc tgcttggaac 2580

cagcagatat tcttccccta ttggtaatgc gatctgaaat ttttctaaaa gtttgaagta 2640

ctgcgccatg tagttcttag ggaatcgctt tttcttggaa aggaattttt ccacatctct 2700

ccgtgaaatg atgcccttag gatgcttcag gcagccgtcc actttcacgg tcaaaatctg 2760

tgccatgact ttacaaagcc acttgggttc cacaaagtac aggtcactca gctgcaatgc 2820

ggggtcttga aaatgcagaa gaactcctga ctcattcagg aagtgaacag cgtgggggag 2880

ctcgttctca tccagctgca gctggtgttc cttcaccagc tggagtaagt gtttccggtt 2940

aattacagga aactccgttg gtacagcttt acgctccgat aagattattt tctccagttc 3000

tacgtagcaa tctggaatta gctgcccaac cacgggctga tctcggatct tgaaattaag 3060

actctcattt atgatggttt tccggagctt tgccagcgca tccgactcct cagtggcatt 3120

cacgaagtgg tagtcccgga tggtggggaa tcctcgctta ttaaggagtt ccttcgtgat 3180

tttgcctatg caggctttgc gctgcttctc atcagaaaca tccaaatgtg tgcccaccag 3240

aatcaccggg gaagaagagg cacgagcctt gatgttgaag agccagggct tcatggcatc 3300

cacctccgcc tgcccccttgc tgaggtcgta gacagccagg tacagggctc tctgggtcat 3360

gaagtgggggg tgagtgctgt agaattcctc acggcctgca aagtcccaca cgtttagaac 3420

aaggtccttt ttccttttgc ctcgtatttg gatgggccag tctcgcacgt ctatgccaac 3480

cgtggcgccc tgcatgccga gttctgattt cttcattttc atgagctgct gcagtagagt 3540

ggtcttacca ctccccgtat tgcccacaat catgagcttc attcggttgt agggcacggc 3600

ctttttcaga cgttgttgta gaaaccttat gatgtctttg gctttgcatc ctatgtgctt 3660

aaagtcaaag ttgaggtgca gtccatccaa gggaagatcc catattttgc ttaacttccc 3720

catttcgttt ggaaaggacc tcagttccag gttgtaactg acatcaagag atgtcaggtt 3780

ttcaagacgg ccaatttctg gaggaatctc tttcagttta ttatgagaga gatgcagctt 3840

ctctactctt gaccatatgt gtgggttttc gctcaagtct aaggtgctga tctgattctt 3900

gctaaaaatg agttcccttа agttcagaga cttccaatgt gcaggtcccg gcaggtgttc 3960

aatgttgttg tgactcatat ccaaggaccg caagtgtgga agactgaaga tcgcttctgg 4020

aatgcacgtg aaagagtttt gagacaattt taagctagtt atggaagacg gtaaggcagg 4080

cattgcagcg agaaaattca tgcgggcact gaagctctcc actttcgggc aagcctcgag 4140

aaagtcttca ggtagggatg gaatgtggtt tttactaagg tttaaaatct tcagttcctt 4200

caggctcaag ggagaacaaa tcccggatat tttgtttcct tccagtagga gctgctccag 4260

tttctccacc acttggtcca ggttctctgg gatggaagag agctggttgt aggacaggtt 4320

aaactgtttg aggcttggac acttcaccac agggtctaaa acaactgttg gtccgatgtc 4380

atttcgagag gcgtctaggt ggataacact tggcattttc aacatgaagg agggaaaggt 4440

ggcgaatttg ttactgtgca aatccagatg tgtcaagcac ttcagagtct cacacagctg 4500

ttgtgggaag ctcgtgagtg aattctggtg aagttccagc ttggtgagat gctccaggtg 4560

gctactgagg caacacttct ggcccagagc atcaatatct ttcagttcgt tggcagaaag 4620

gtctaaagac gtgatgtgtt ctctctcaga agccagagaa gaagagctat ctgattgtct 4680

cgtatgggac tgcagccttg aggatctgag agactcatct gaggacagta tttttctttt 4740

tcgtctcagt agatcttcgt gatcaaaaac aggacccaag gaactggagt gcctctgagc 4800

atttggtgag cagcgctgca gagctaggtc cctgtaaact tctcctacac taactgagtt 4860

ggacttcttc ttcaccagaa aggagctctc gctgccttcg ctatccagat cgtcactctg 4920

gccaaacaca ctgtccatag aagagtcggg aatgaaggtc cattcgccaa atttcgccag 4980

cgcatcctca gagaagttgc cctcactgcc tgaggccacg ccttcttgaa gagtgtttct 5040

catctgatac cggagcactt tcctcgctag gacagacccc gcatttgttt gtttcctcaa 5100

attagatgac ttatctggaa ataaagggcc tagccaagaa ggatcaagtt ttcctatgca 5160

aaatcctcca aggcaaatgc tgttgttggc caggtccagg gcaagtctcc tcaggagtaa 5220

gctgatgacc tggttgtcgc ccttttggat gcttactgtc agggctttcc gtacatcttg 5280

ttcacggcac ccactgttaa gcaatagttc caccaattta gggctgctct ctttctcaca 5340

tacctgatag attaaagaag ttgccccctt cgcttgattg gcatcggctc ccaagaggag 5400

caaacattcg accatgatgc tgttgttctg atcgcaggct ctctctagca tcttgctttt 5460

cagctcatca tccacagcca cttttgcaaa gcatttgcag cataagttga gaaactgctc 5520

atccttttgt tccaggacac cggaagacat ctgatgaaac atcaccacat caaatgaata 5580

gtgcactagc agcttggaga aagatacgga caggtcaagc attgacaaga ccgtctgtaa 5640

tcctgtagtc tgtacttcag caacatcttt aaatcgctgc aaggtggaag ccagaatttt 5700

tgccaggagg tgccctgtcc ctatgcagaa attcttcttt gtcatcaggc atcccataag 5760

gtgtaagccc agacactgaa tttcttggtc atctggatac atctgtaagg tatggaggac 5820

tgagtcaact gctccatgca gggataacat ctctaaggca tcgggaagat gtgcgaaaga 5880

agagatgact ttcaatccac atttctgaat cccgggattc ccaatgaacc tgttcagagc 5940

ggctagaacc agcttgtgga tgtcagtcct gaagcactgt gttctgagca cgtttggttg 6000

gcatcgcgag tcatccctgg aatcttctga tactcccggc accacaaaat gcagaagagc 6060

tcgcagtgcc tccagctgga ctgacagaga cgttccatgg gttctcatca ctgttagtat 6120

tttggggatc actgccgcca ctgtatccaa agaagggttg cttccttcaa acagatgact 6180

cagcatcttg cagccactct ctgccacctc aggaacctgg gcgtgccgct gcatcaactc 6240

caagacattc aggtacactc cttttgcaag caggattttc ctgaaattaa cgttttgttc 6300

caagagagtg gacagagcat gcgcagctgc ttggaagacg tctttggaag aagagtgcat 6360

cagcatagac agcatcactt ccctgtgcgc cgggaactgg ccatcttcat ctccaatctt 6420

ctcgtgcaaa ctgctctggt acatgaggag attatttagg gcccagcagg cggcctcctg 6480

cacgtgtttg ttctttcgat ggcgcatcag ggctttatag cagggttcca accagaaagg 6540

cttctcactg tcctcatcgc tgttttcctg agtctcactt ctttcttcca ggtcttggtt 6600

taagaaaata gtctcggtga ggagggctaa gcagctgagt gcagagatct gtaaggctac 6660

gttctcggga taccgctgga cggctttcac cacaaagaca tggacttcgt tcaacaccag 6720

gatgttgaaa aaattaccta atgtaagctt gtggagcaag gagcagctca cctcttgaat 6780

gttttcactg gtggggaatg ttttcatggc ttccaccaca atattgtaac acctgacatt 6840

cccactcatg aggacctcca cattgctgca agtgacggcc agagaatgca ggcagcagag 6900

tacatggtgc acaatctcct cgtccctctt gaagctgcgg aacgtactca gcagggtcat 6960

gtaatctttg ttctccacaa actcagtcag ttgctcctcg gacactctct cgaacagcac 7020

atgtaaagcc ttgcacgcaa gcttctggac ttcctcgttg gctgaatatc tgtgcatggc 7080

atcaaaaatt aacaggaaaa catcacattc ttcatccagt atcagcagag taattttacc 7140

tgaatctagg aggagatcta aggcttttag tccaactatt gacaggttta cgttggcatg 7200

atgaacagtt aacattttaa gaatcagtcg gtgaatacca aggacttccc aatcattccc 7260

aatatcctgg ggtcctatta agctttgcaa tgtccctgga cagacttcta ttaatttgca 7320

cagaagtgac caccccacct gctgcacact ggcgactctc atgtaggagt ccaggactat 7380

caacagaggc acgtggacat ttttgccttc aaataacttg gaggcgcggt cggagtaggt 7440

gaacaccaga atgtcctcca ggagctggag caacgtctcg atctgcttgc cttcctggac 7500

attattcagc ctgactatca acttcttcag agcctcctcc tcctcttcct cgtcgcagcc 7560

ctgacaggcg ccactggcca t 7581

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：RFGF序列

<400> 9
Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之描述：RFGF類似物序列

<400> 10
Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro
1 5 10

<210> 11
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 11
caacucugaa acaguuuaac a 21

<210> 12
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 12
aauugucagc aucuuuuucu a 21

<210> 13
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 13
cgugaacaag auguacggaa a 21

<210> 14
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 14
ucacucaugg aagaaugguu a 21

<210> 15
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 15
cagauaagac uucuaauuua a 21

<210> 16
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 16
cccuaucaga gaacuuucuu a 21

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

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 17
aaaaggauca acaguuucua a 21

<210> 18
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 18
acaucacuag accuuucagc a 21

<210> 19
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 19
ggaacuucac cagaauucac a 21

<210> 20
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 20
caguuucuaa accucuguug a 21

<210> 21
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 21
aaacacaaaa ugucuuauuc a 21

<210> 22
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 22
caaagauuuu cuccuuuucu a 21

<210> 23
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 23
cuacucuaug acauuuugac a 21

<210> 24
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 24
caucuuucuc acaauaaacu a 21

<210> 25
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 25
ugagaacucu gaaauuauca a 21

<210> 26
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 26
uacaacuugg aacuaagauc a 21

<210> 27
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 27
ugguuccaag caguuugucu a 21

<210> 28
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 28
acuaaauaau cuccuuaugu a 21

<210> 29
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 29
aaagauuuuc uccuuuucua a 21

<210> 30
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 30
accauucaga aacucaucga a 21

<210> 31
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 31
cauucagaaa cucaucgaga a 21

<210> 32
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 32
uuuauuccug acucuucuau a 21

<210> 33
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 33
uacaucacua gaccuuucag a 21

<210> 34
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 34
aaucuuguuu gucuauuugg a 21

<210> 35
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 35
gcaguucacu uucuaaauga a 21

<210> 36
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 36
cuugagauuu caccuuacau a 21

<210> 37
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 37
ccuugguguu caccaauuga a 21

<210> 38
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 38
agauacaauc uuguuugucu a 21

<210> 39
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 39
cuuaagggaa cucauuuuua a 21

<210> 40
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 40
gguuucuaca acaacgucug a 21

<210> 41
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 41
aguaugccua uucuuuacaa a 21

<210> 42
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 42
ccuuuauuuc cagauaaguc a 21

<210> 43
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 43
uuuaaucuau cagguaugug a 21

<210> 44
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 44
aagguuucua caacaacguc a 21

<210> 45
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 45
uuaagggaac ucauuuuuag a 21

<210> 46
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 46
ucuuuaaucu aucagguaug a 21

<210> 47
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 47
gaugacaaag aagaauuucu a 21

<210> 48
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 48
agagaaacug caucuuucuc a 21

<210> 49
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 49
aaagaguaug ccuauucuuu a 21

<210> 50
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 50
uaagguuucu acaacaacgu a 21

<210> 51
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 51
uaugcugaug cacucuucuu a 21

<210> 52
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 52
aucuuguuug ucuauuuggg a 21

<210> 53
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 53
cucuuucacg ugcauuccag a 21

<210> 54
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 54
caaucuuguu ugucuauuug a 21

<210> 55
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 55
uguuaaacug uuucagaguu gga 23

<210> 56
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 56
uagaaaaaga ugcugacaau uug 23

<210> 57
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 57
uuuccguaca ucuuguucac gac 23

<210> 58
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 58
uaaccauucu uccaugagug agu 23

<210> 59
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 59
uuaaauuaga agucuuaucu gga 23

<210> 60
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 60
uaagaaaguu cucugauagg gau 23

<210> 61
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 61
uuagaaacug uugauccuuu ugu 23

<210> 62
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 62
ugcugaaagg ucuagugaug uaa 23

<210> 63
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 63
ugugaauucu ggugaaguuc cag 23

<210> 64
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 64
ucaacagagg uuuagaaacu guu 23

<210> 65
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 65
ugaauaagac auuuuguguu uug 23

<210> 66
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 66
uagaaaagga gaaaaucuuu gug 23

<210> 67
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 67
ugucaaaaug ucauagagua gua 23

<210> 68
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 68
uaguuuauug ugagaaagau gca 23

<210> 69
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 69
uugauaauuu cagaguucuc aca 23

<210> 70
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 70
ugaucuuagu uccaaguugu aac 23

<210> 71
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 71
uagacaaacu gcuuggaacc agc 23

<210> 72
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 72
uacauaagga gauuauuuag ugc 23

<210> 73
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 73
uuagaaaagg agaaaaucuu ugu 23

<210> 74
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 74
uucgaugagu uucugaaugg uga 23

<210> 75
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 75
uucucgauga guuucugaau ggu 23

<210> 76
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 76
uauagaagag ucaggaauaa agg 23

<210> 77
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 77
ucugaaaggu cuagugaugu aau 23

<210> 78
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 78
uccaaauaga caaacaagau ugu 23

<210> 79
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 79
uucauuuaga aagugaacug cgu 23

<210> 80
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 80
uauguaaggu gaaaucucaa gua 23

<210> 81
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 81
uucaauuggu gaacaccaag gac 23

<210> 82
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 82
uagacaaaca agauuguauc ucu 23

<210> 83
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 83
uuaaaaauga guucccuuaa guu 23

<210> 84
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 84
ucagacguug uuguagaaac cuu 23

<210> 85
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 85
uuuguaaaga auaggcauac ucu 23

<210> 86
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 86
ugacuuaucu ggaaauaaag gac 23

<210> 87
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 87
ucacauaccu gauagauuaa aga 23

<210> 88
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 88
ugacguuguu guagaaaccu uau 23

<210> 89
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 89
ucuaaaaaug aguucccuua agu 23

<210> 90
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 90
ucauaccuga uagauuaaag aag 23

<210> 91
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 91
uagaaauucu ucuuugucau caa 23

<210> 92
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 92
ugagaaagau gcaguuucuc uac 23

<210> 93
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 93
uaaagaauag gcauacucuu uuc 23

<210> 94
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 94
uacguuguug uagaaaccuu aug 23

<210> 95
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 95
uaagaagagu gcaucagcau aga 23

<210> 96
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 96
ucccaaauag acaaacaaga uug 23

<210> 97
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 97
ucuggaaugc acgugaaaga guu 23

<210> 98
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 98
ucaaauagac aaacaagauu gua 23

<210> 99
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 99
caacucugaa acaguuuaac a 21

<210> 100
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 100
aauugucagc aucuuuuucu a 21

<210> 101
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 101
cgugaacaag auguacggaa a 21

<210> 102
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 102
ucacucaugg aagaaugguu a 21

<210> 103
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 103
cagauaagac uucuaauuua a 21

<210> 104
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 104
cccuaucaga gaacuuucuu a 21

<210> 105
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 105
aaaaggauca acaguuucua a 21

<210> 106
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 106
acaucacuag accuuucagc a 21

<210> 107
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 107
ggaacuucac cagaauucac a 21

<210> 108
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 108
caguuucuaa accucuguug a 21

<210> 109
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 109
aaacacaaaa ugucuuauuc a 21

<210> 110
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 110
caaagauuuu cuccuuuucu a 21

<210> 111
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 111
cuacucuaug acauuuugac a 21

<210> 112
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 112
caucuuucuc acaauaaacu a 21

<210> 113
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 113
ugagaacucu gaaauuauca a 21

<210> 114
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 114
uacaacuugg aacuaagauc a 21

<210> 115
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 115
ugguuccaag caguuugucu a 21

<210> 116
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 116
acuaaauaau cuccuuaugu a 21

<210> 117
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 117
aaagauuuuc uccuuuucua a 21

<210> 118
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 118
accauucaga aacucaucga a 21

<210> 119
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 119
cauucagaaa cucaucgaga a 21

<210> 120
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 120
uuuauuccug acucuucuau a 21

<210> 121
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 121
uacaucacua gaccuuucag a 21

<210> 122
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 122
aaucuuguuu gucuauuugg a 21

<210> 123
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 123
gcaguucacu uucuaaauga a 21

<210> 124
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 124
cuugagauuu caccuuacau a 21

<210> 125
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 125
ccuugguguu caccaauuga a 21

<210> 126
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 126
agauacaauc uuguuugucu a 21

<210> 127
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 127
cuuaagggaa cucauuuuua a 21

<210> 128
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 128
gguuucuaca acaacgucug a 21

<210> 129
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 129
aguaugccua uucuuuacaa a 21

<210> 130
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 130
ccuuuauuuc cagauaaguc a 21

<210> 131
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 131
uuuaaucuau cagguaugug a 21

<210> 132
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 132
aagguuucua caacaacguc a 21

<210> 133
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 133
uuaagggaac ucauuuuuag a 21

<210> 134
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 134
ucuuuaaucu aucagguaug a 21

<210> 135
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 135
gaugacaaag aagaauuucu a 21

<210> 136
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 136
agagaaacug caucuuucuc a 21

<210> 137
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 137
aaagaguaug ccuauucuuu a 21

<210> 138
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 138
uaagguuucu acaacaacgu a 21

<210> 139
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 139
uaugcugaug cacucuucuu a 21

<210> 140
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 140
aucuuguuug ucuauuuggg a 21

<210> 141
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 141
cucuuucacg ugcauuccag a 21

<210> 142
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 142
caaucuuguu ugucuauuug a 21

<210> 143
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 143
uguuaaacug uuucagaguu gga 23

<210> 144
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 144
uagaaaaaga ugcugacaau uug 23

<210> 145
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 145
uuuccguaca ucuuguucac gac 23

<210> 146
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 146
uaaccauucu uccaugagug agu 23

<210> 147
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 147
uuaaauuaga agucuuaucu gga 23

<210> 148
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 148
uaagaaaguu cucugauagg gau 23

<210> 149
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 149
uuagaaacug uugauccuuu ugu 23

<210> 150
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 150
ugcugaaagg ucuagugaug uaa 23

<210> 151
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 151
ugugaauucu ggugaaguuc cag 23

<210> 152
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 152
ucaacagagg uuuagaaacu guu 23

<210> 153
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 153
ugaauaagac auuuuguguu uug 23

<210> 154
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 154
uagaaaagga gaaaaucuuu gug 23

<210> 155
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 155
ugucaaaaug ucauagagua gua 23

<210> 156
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 156
uaguuuauug ugagaaagau gca 23

<210> 157
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 157
uugauaauuu cagaguucuc aca 23

<210> 158
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 158
ugaucuuagu uccaaguugu aac 23

<210> 159
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 159
uagacaaacu gcuuggaacc agc 23

<210> 160
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 160
uacauaagga gauuauuuag ugc 23

<210> 161
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 161
uuagaaaagg agaaaaucuu ugu 23

<210> 162
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 162
uucgaugagu uucugaaugg uga 23

<210> 163
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 163
uucucgauga guuucugaau ggu 23

<210> 164
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 164
uauagaagag ucaggaauaa agg 23

<210> 165
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 165
ucugaaaggu cuagugaugu aau 23

<210> 166
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 166
uccaaauaga caaacaagau ugu 23

<210> 167
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 167
uucauuuaga aagugaacug cgu 23

<210> 168
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 168
uauguaaggu gaaaucucaa gua 23

<210> 169
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 169
uucaauuggu gaacaccaag gac 23

<210> 170
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 170
uagacaaaca agauuguauc ucu 23

<210> 171
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 171
uuaaaaauga guucccuuaa guu 23

<210> 172
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 172
ucagacguug uuguagaaac cuu 23

<210> 173
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 173
uuuguaaaga auaggcauac ucu 23

<210> 174
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 174
ugacuuaucu ggaaauaaag gac 23

<210> 175
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 175
ucacauaccu gauagauuaa aga 23

<210> 176
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 176
ugacguuguu guagaaaccu uau 23

<210> 177
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 177
ucuaaaaaug aguucccuua agu 23

<210> 178
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 178
ucauaccuga uagauuaaag aag 23

<210> 179
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 179
uagaaauucu ucuuugucau caa 23

<210> 180
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 180
ugagaaagau gcaguuucuc uac 23

<210> 181
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 181
uaaagaauag gcauacucuu uuc 23

<210> 182
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 182
uacguuguug uagaaaccuu aug 23

<210> 183
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 183
uaagaagagu gcaucagcau aga 23

<210> 184
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 184
ucccaaauag acaaacaaga uug 23

<210> 185
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 185
ucuggaaugc acgugaaaga guu 23

<210> 186
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 186
ucaaauagac aaacaagauu gua 23

<210> 187
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 187
uccaacucug aaacaguuua acc 23

<210> 188
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 188
caaauuguca gcaucuuuuu cua 23

<210> 189
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 189
gucgugaaca agauguacgg aag 23

<210> 190
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 190
acucacucau ggaagaaugg uuu 23

<210> 191
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 191
uccagauaag acuucuaauu uaa 23

<210> 192
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 192
aucccuauca gagaacuuuc uug 23

<210> 193
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 193
acaaaaggau caacaguuuc uaa 23

<210> 194
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 194
uuacaucacu agaccuuuca gca 23

<210> 195
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 195
cuggaacuuc accagaauuc acu 23

<210> 196
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 196
aacaguuucu aaaccucugu ugc 23

<210> 197
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 197
caaaacacaa aaugucuuau ucu 23

<210> 198
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 198
cacaaagauu uucuccuuuu cua 23

<210> 199
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 199
uacuacucua ugacauuuug aca 23

<210> 200
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 200
ugcaucuuuc ucacaauaaa cug 23

<210> 201
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 201
ugugagaacu cugaaauuau cau 23

<210> 202
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 202
guuacaacuu ggaacuaaga ucc 23

<210> 203
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 203
gcugguucca agcaguuugu cug 23

<210> 204
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 204
gcacuaaaua aucuccuuau gua 23

<210> 205
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 205
acaaagauuu ucuccuuuuc uaa 23

<210> 206
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 206
ucaccauuca gaaacucauc gag 23

<210> 207
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 207
accauucaga aacucaucga gac 23

<210> 208
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 208
ccuuuauucc ugacucuucu aug 23

<210> 209
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 209
auuacaucac uagaccuuuc agc 23

<210> 210
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 210
acaaucuugu uugucuauuu ggg 23

<210> 211
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 211
acgcaguuca cuuucuaaau gaa 23

<210> 212
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 212
uacuugagau uucaccuuac aug 23

<210> 213
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 213
guccuuggug uucaccaauu gau 23

<210> 214
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 214
agagauacaa ucuuguuugu cua 23

<210> 215
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 215
aacuuaaggg aacucauuuu uag 23

<210> 216
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 216
aagguuucua caacaacguc uga 23

<210> 217
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 217
agaguaugcc uauucuuuac aaa 23

<210> 218
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 218
guccuuuauu uccagauaag uca 23

<210> 219
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 219
ucuuuaaucu aucagguaug uga 23

<210> 220
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 220
auaagguuuc uacaacaacg ucu 23

<210> 221
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 221
acuuaaggga acucauuuuu agc 23

<210> 222
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 222
cuucuuuaau cuaucaggua ugu 23

<210> 223
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 223
uugaugacaa agaagaauuu cug 23

<210> 224
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 224
guagagaaac ugcaucuuuc uca 23

<210> 225
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 225
gaaaagagua ugccuauucu uua 23

<210> 226
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 226
cauaagguuu cuacaacaac guc 23

<210> 227
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 227
ucuaugcuga ugcacucuuc uuc 23

<210> 228
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 228
caaucuuguu ugucuauuug gga 23

<210> 229
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 229
aacucuuuca cgugcauucc aga 23

<210> 230
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 230
uacaaucuug uuugucuauu ugg 23

<210> 231
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 231
ccuugguguu caccaauuga a 21

<210> 232
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 232
acuaaauaau cuccuuaugu a 21

<210> 233
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 233
aauugucagc aucuuuuucu a 21

<210> 234
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 234
aaaaggauca acaguuucua a 21

<210> 235
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 235
caguuucuaa accucuguug a 21

<210> 236
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 236
cagauaagac uucuaauuua a 21

<210> 237
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 237
uuuauuccug acucuucuau a 21

<210> 238
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 238
uacaucacua gaccuuucag a 21

<210> 239
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 239
acaucacuag accuuucagc a 21

<210> 240
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 240
caacucugaa acaguuuaac a 21

<210> 241
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 241
cccuaucaga gaacuuucuu a 21

<210> 242
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 242
agagaaacug caucuuucuc a 21

<210> 243
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 243
caucuuucuc acaauaaacu a 21

<210> 244
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 244
uacaacuugg aacuaagauc a 21

<210> 245
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 245
gcaguucacu uucuaaauga a 21

<210> 246
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 246
ugguuccaag caguuugucu a 21

<210> 247
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 247
ugagaacucu gaaauuauca a 21

<210> 248
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 248
cuugagauuu caccuuacau a 21

<210> 249
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 249
cuacucuaug acauuuugac a 21

<210> 250
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 250
caaagauuuu cuccuuuucu a 21

<210> 251
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 251
aaagauuuuc uccuuuucua a 21

<210> 252
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 252
aaacacaaaa ugucuuauuc a 21

<210> 253
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 253
uucaauuggu gaacaccaag gac 23

<210> 254
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸
oligonucleotide

<400> 254
uacauaagga gauuauuuag ugc 23

<210> 255
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 255
uagaaaaaga ugcugacaau uug 23

<210> 256
<211> 23
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 256
uuagaaacug uugauccuuu ugu 23

<210> 257
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 257
ucaacagagg uuuagaaacu guu 23

<210> 258
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 258
uuaaauuaga agucuuaucu gga 23

<210> 259
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 259
uauagaagag ucaggaauaa agg 23

<210> 260
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 260
ucugaaaggu cuagugaugu aau 23

<210> 261
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 261
ugcugaaagg ucuagugaug uaa 23

<210> 262
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 262
uguuaaacug uuucagaguu gga 23

<210> 263
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 263
uaagaaaguu cucugauagg gau 23

<210> 264
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 264
ugagaaagau gcaguuucuc uac 23

<210> 265
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 265
uaguuuauug ugagaaagau gca 23

<210> 266
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 266
ugaucuuagu uccaaguugu aac 23

<210> 267
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 267
uucauuuaga aagugaacug cgu 23

<210> 268
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 268
uagacaaacu gcuuggaacc agc 23

<210> 269
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 269
uugauaaauuu cagaguucuc aca 23

<210> 270
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 270
uauguaaggu gaaaucucaa gua 23

<210> 271
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 271
ugucaaaaug ucauagagua gua 23

<210> 272
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 272
uagaaaagga gaaaaucuuu gug 23

<210> 273
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 273
uuagaaaagg agaaaaucuu ugu 23

<210> 274
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 274
ugaauaagac auuuuguguu uug 23

<210> 275
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 275
ccuugguguu caccaauuga a 21

<210> 276
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 276
acuaaauaau cuccuuaugu a 21

<210> 277
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 277
aauugucagc aucuuuuucu a 21

<210> 278
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 278
aaaaggauca acaguuucua a 21

<210> 279
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 279
caguuucuaa accucuguug a 21

<210> 280
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 280
cagauaagac uucuaauuua a 21

<210> 281
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 281
uuuauuccug acucuucuau a 21

<210> 282
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 282
uacaucacua gaccuuucag a 21

<210> 283
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 283
acaucacuag accuuucagc a 21

<210> 284
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 284
caacucugaa acaguuuaac a 21

<210> 285
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 285
cccuaucaga gaacuuucuu a 21

<210> 286
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 286
agagaaacug caucuuucuc a 21

<210> 287
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 287
caucuuucuc acaauaaacu a 21

<210> 288
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 288
uacaacuugg aacuaagauc a 21

<210> 289
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 289
gcaguucacu uucuaaauga a 21

<210> 290
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 290
ugguuccaag caguuugucu a 21

<210> 291
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 291
ugagaacucu gaaauuauca a 21

<210> 292
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 292
cuugagauuu caccuuacau a 21

<210> 293
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 293
cuacucuaug acauuuugac a 21

<210> 294
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 294
caaagauuuu cuccuuuucu a 21

<210> 295
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 295
aaagauuuuc uccuuuucua a 21

<210> 296
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 296
aaacacaaaa ugucuuauuc a 21

<210> 297
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 297
uucaauuggu gaacaccaag gac 23

<210> 298
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 298
uacauaagga gauuauuuag ugc 23

<210> 299
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 299
uagaaaaaga ugcugacaau uug 23

<210> 300
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 300
uuagaaacug uugauccuuu ugu 23

<210> 301
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 301
ucaacagagg uuuagaaacu guu 23

<210> 302
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 302
uuaaauuaga agucuuaucu gga 23

<210> 303
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 303
uauagaagag ucaggaauaa agg 23

<210> 304
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 304
ucugaaaggu cuagugaugu aau 23

<210> 305
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 305
ugcugaaagg ucuagugaug uaa 23

<210> 306
<211> 23

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 306
uguuaaacug uuucagaguu gga 23

<210> 307
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 307
uaagaaaguu cucugauagg gau 23

<210> 308
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 308
ugagaaagau gcaguuucuc uac 23

<210> 309
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 309
uaguuuauug ugagaaagau gca 23

<210> 310
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 310
ugaucuuagu uccaaguugu aac 23

<210> 311
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 311
uucauuuaga aagugaacug cgu 23

<210> 312
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 312
uagacaaacu gcuuggaacc agc 23

<210> 313
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 313
uugauaauuu cagaguucuc aca 23

<210> 314
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 314
uauguaaggu gaaaucucaa gua 23

<210> 315
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 315
ugucaaaaug ucauagagua gua 23

<210> 316
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 316
uagaaaagga gaaaaucuuu gug 23

<210> 317
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 317
uuagaaaagg agaaaaucuu ugu 23

<210> 318
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 318
ugaauaagac auuuuguguu uug 23

<210> 319
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 319
ccuugguguu caccaauuga u 21

<210> 320
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 320
acuaaauaau cuccuuaugu a 21

<210> 321
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 321
aauugucagc aucuuuuucu a 21

<210> 322
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 322
aaaaggauca acaguuucua a 21

<210> 323
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 323
caguuucuaa accucuguug c 21

<210> 324
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 324
cagauaagac uucuaauuua a 21

<210> 325
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 325
uuuauuccug acucuucuau g 21

<210> 326
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 326
uacaucacua gaccuuucag c 21

<210> 327
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 327
acaucacuag accuuucagc a 21

<210> 328
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 328
caacucugaa acaguuuaac c 21

<210> 329
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 329
cccuaucaga gaacuuucuu g 21

<210> 330
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 330
agagaaacug caucuuucuc a 21

<210> 331
<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 331
caucuuucuc acaauaaacu g 21

<210> 332
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 332
uacaacuugg aacuaagauc c 21

<210> 333
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 333
gcaguucacu uucuaaauga a 21

<210> 334
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 334
ugguuccaag caguuugucu g 21

<210> 335
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 335
ugagaacucu gaaauuauca u 21

<210> 336
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 336
cuugagauuu caccuuacau g 21

<210> 337
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 337
cuacucuaug acauuuugac a 21

<210> 338
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 338
caaagauuuu cuccuuuucu a 21

<210> 339
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 339
aaagauuuuc uccuuuucua a 21

<210> 340
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 340
aaacacaaaa ugucuuauuc u 21

<210> 341
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 341
cgugaacaag auguacggaa a 21

<210> 342
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 342
ggaacuucac cagaauucac a 21

<210> 343
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 343
ucacucaugg aagaaugguu a 21

<210> 344
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 344
uuuccguaca ucuuguucac gac 23

<210> 345
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 345
ugugaauucu ggugaaguuc cag 23

<210> 346
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 346
uaaccauucu uccaugagug agu 23

<210> 347
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 347
cgugaacaag auguacggaa a 21

<210> 348
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 348
ggaacuucac cagaauucac a 21

<210> 349
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 349
ucacucaugg aagaaugguu a 21

<210> 350
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 350
uuuccguaca ucuuguucac gac 23

<210> 351
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 351
ugugaauucu ggugaaguuc cag 23

<210> 352
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 352
uaaccauucu uccaugagug agu 23

<210> 353
<211> 13
<212> PRT
<213> 人類免疫缺乏病毒

<400> 353
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
1 5 10

<210> 354
<211> 16
<212> PRT
<213> 果蠅屬

<400> 354
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中該dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，

其中該有義股包含與SEQ ID NO: 1之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸且該反義股包含與SEQ ID NO: 2之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【請求項2】

一種抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中該dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，

其中該反義股包含編碼LRRK2之mRNA的互補區，且其中該互補區包含與SEQ ID NO: 2之核苷酸序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【請求項3】

一種抑制LRRK2表現之雙股核糖核酸(dsRNA)藥劑，其中該dsRNA藥劑包含形成雙股區之有義股及反義股，

其中該反義股包含編碼LRRK2之mRNA的互補區，且其中該互補區包含與表3、4、6或7中之任一者中的反義核苷酸序列中之任一者相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之dsRNA藥劑，其中該有義股包含至少15個連續核苷酸，其與以下核苷酸序列中之任一者相差不超過三個核苷酸：SEQ ID NO: 1之核苷酸3383-3403、2105-2125、2356-2376、5413-

5433、2603-2623、3563-3583、2192-2212、3088-3108、3105-3125、2203-2223、7348-7368、7097-7117、6319-6339、3886-3906、5190-5210、3964-3984、5138-5158、1254-1274、7098-7118、7048-7068、7050-7070、2764-2784、3087-3107、7526-7546、4849-4869、5272-5292、468-488、7520-7540、3720-3740、4016-4036、7792-7812、2515-2535、2286-2306、4014-4034、3721-3741、2284-2304、1896-1916、3876-3896、7788-7808、4013-4033、1275-1295、7527-7547、3606-3626、7525-7545、468-488、1254-1274、2105-2125、2192-2212、2203-2223、2603-2623、2764-2784、3087-3107、3088-3108、3383-3403、3563-3583、3876-3896、3886-3906、3964-3984、4849-4869、5138-5158、5190-5210、5272-5292、6319-6339、7097-7117、7098-7118及7348-7368，且該反義股包含來自SEQ ID NO: 2之對應核苷酸序列的至少15個連續核苷酸。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之dsRNA藥劑，其中該反義股包含至少15個連續核苷酸，其與選自由以下組成之群的雙螺旋體之反義股核苷酸序列中之任一者相差不超過三個核苷酸：AD-601140.1、AD-599927.1、AD-612673.1、AD-615420.1、AD-600406.1、AD-601294.1、AD-600013.1、AD-600853.1、AD-613382.1、AD-600024.1、AD-604701.1、AD-604452.1、AD-603747.1、AD-601616.1、AD-602766.1、AD-601694.1、AD-602734.1、AD-599139.1、AD-604453.1、AD-616783.1、AD-616785.1、AD-600566.1、AD-600852.1、AD-617239.1、AD-602466.1、AD-602848.1、AD-598424.1、AD-617233.1、AD-613965.1、AD-

614239.1、AD-617466.1、AD-612820.1、AD-612611.1、AD-614237.1、AD-613966.1、AD-612609.1、AD-612246.1、AD-601606.1、AD-617462.1、AD-614236.1、AD-611650.1、AD-617240.1、AD-613851.1、AD-617238.1、AD-1335323.1、AD-1335325.1、AD-1335324.1、AD-1508169、AD-1508884、AD-1509672、AD-1509758、AD-1509769、AD-1510151、AD-1510311、AD-1510597、AD-1510598、AD-1510885、AD-1511039、AD-1511351、AD-1511361、AD-1511439、AD-1512211、AD-1512479、AD-1512511、AD-1512593、AD-1513492、AD-1514197、AD-1514198及AD-1514446。

【請求項6】

如請求項1或2之dsRNA藥劑，其中該有義股及該反義股之核苷酸序列包含表3、4、6或7中之任一者中的有義股及反義股核苷酸序列中之任一者。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之dsRNA藥劑，其中該有義股、該反義股或該有義股及該反義股兩者與一或多個親脂性部分結合。

【請求項8】

如請求項7之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分結合於該dsRNA藥劑之該雙股區中的一或多個內部位置。

【請求項9】

如請求項7或8之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分經由連接體或載體結合。

【請求項10】

如請求項7至9中任一項之dsRNA藥劑，其中藉由logKow量測之該親脂性部分之親脂性超過0。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之dsRNA藥劑，其中藉由雙股RNA藥劑之血漿蛋白結合分析中之未結合部分量測的該雙股RNA藥劑之疏水性超過0.2。

【請求項12】

如請求項11之dsRNA藥劑，其中該血漿蛋白結合分析為使用人類血清白蛋白之電泳遷移率分析。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之dsRNA藥劑，其中該dsRNA藥劑包含至少一個經修飾之核苷酸。

【請求項14】

如請求項13之dsRNA藥劑，其中不超過五個該有義股之核苷酸及不超過五個該反義股之核苷酸為未經修飾之核苷酸。

【請求項15】

如請求項13之dsRNA藥劑，其中該有義股之所有核苷酸及該反義股之所有核苷酸均為經修飾之核苷酸。

【請求項16】

如請求項13至15中任一項之dsRNA藥劑，其中該經修飾之核苷酸中之至少一者係選自以下之群：去氧-核苷酸、3'末端去氧胸苷(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾核苷酸、2'-氟修飾核苷酸、2'-去氧-修飾核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸、構形受限核苷酸、經約束乙基核苷酸、無鹼基核苷酸、

2'-胺基-修飾核苷酸、2'-O-烯丙基-修飾核苷酸、2'-C-烷基-修飾核苷酸、2'-羥基-修飾核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾核苷酸、2'-O-烷基-修飾核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫哌喃修飾核苷酸、1,5-無水己糖醇修飾核苷酸、環己烯基修飾核苷酸、包含5'-硫代磷酸酯基團之核苷酸、包含5'-甲基膦酸酯基團之核苷酸、包含5'磷酸酯或5'磷酸酯模擬物之核苷酸、包含膦酸乙烯酯之核苷酸、包含腺苷-二醇核酸(GNA)之核苷酸、包含胸苷-二醇核酸(GNA) S-異構體之核苷酸、包含2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸酯之核苷酸、包含2'-去氧胸苷-3'磷酸酯之核苷酸、包含2'-去氧鳥苷-3'-磷酸酯之核苷酸及與膽固醇基衍生物及十二烷酸雙癸基醯胺基連接之末端核苷酸；及其組合。

【請求項17】

如請求項16之dsRNA藥劑，其中該經修飾之核苷酸選自由以下組成之群：2'-去氧-2'-氟修飾核苷酸、2'-去氧-修飾核苷酸、3'末端去氧胸苷核苷酸(dT)、鎖核苷酸、無鹼基核苷酸、2'-胺基-修飾核苷酸、2'-烷基-修飾核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯及包含非天然鹼基之核苷酸。

【請求項18】

如請求項16之dsRNA藥劑，其中該經修飾之核苷酸包含3'末端去氧胸苷核苷酸(dT)之短序列。

【請求項19】

如請求項16之dsRNA藥劑，其中核苷酸上之修飾為2'-O-甲基、GNA及2'氟修飾。

【請求項20】

如請求項1至19中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含至少一個硫代

磷酸酯核苷酸間鍵。

【請求項21】

如請求項20之dsRNA藥劑，其中該dsRNA藥劑包含6至8個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【請求項22】

如請求項1至21中任一項之dsRNA藥劑，其中各股之長度不超過30個核苷酸。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之dsRNA藥劑，其中至少一股包含至少1個核苷酸之3'懸垂部份。

【請求項24】

如請求項1至23中任一項之dsRNA藥劑，其中至少一股包含至少2個核苷酸之3'懸垂部份。

【請求項25】

如請求項1至24中任一項之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為15至30個核苷酸對。

【請求項26】

如請求項25之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為17至23個核苷酸對。

【請求項27】

如請求項25之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為17至25個核苷酸對。

【請求項28】

如請求項25之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為23至27個核苷酸對。

【請求項29】

如請求項25之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為19至21個核苷酸對。

【請求項30】

如請求項25之dsRNA藥劑，其中該雙股區之長度為21至23個核苷酸對。

【請求項31】

如請求項1至30中任一項之dsRNA藥劑，其中各股具有19至30個核苷酸。

【請求項32】

如請求項1至30中任一項之dsRNA藥劑，其中各股具有19至23個核苷酸。

【請求項33】

如請求項1至30中任一項之dsRNA藥劑，其中各股具有21至23個核苷酸。

【請求項34】

如請求項8至33中任一項之dsRNA藥劑，其中一或多個親脂性部分結合於至少一股上之一或多個內部位置。

【請求項35】

如請求項34之dsRNA藥劑，其中該一或多個親脂性部分經由連接體或載體結合於至少一股上之一或多個內部位置。

【請求項36】

如請求項35之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除該至少一股之各端之末端兩個位置之外的所有位置。

【請求項37】

如請求項35之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除該至少一股之各端之末端三個位置之外的所有位置。

【請求項38】

如請求項35至37之dsRNA藥劑，其中該等內部位置不包括該有義股之裂解位點區域。

【請求項39】

如請求項38之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除自該有義股之5'端計數的位置9至12外之所有位置。

【請求項40】

如請求項38之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除自該有義股之3'端計數的位置11至13外之所有位置。

【請求項41】

如請求項35至37之dsRNA藥劑，其中該等內部位置不包括該反義股之裂解位點區域。

【請求項42】

如請求項41之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除自該反義股之5'端計數的位置12至14外之所有位置。

【請求項43】

如請求項35至37之dsRNA藥劑，其中該等內部位置包括除自3'端計

數的該有義股上之位置11至13，及自5'端計數的該反義股上之位置12至14外之所有位置。

【請求項44】

如請求項8至43中任一項之dsRNA藥劑，其中該一或多個親脂性部分結合於選自由以下組成之群的該等內部位置中之一或多者：自各股之5'端計數的該有義股上之位置4至8及13至18及該反義股上之位置6至10及15至18。

【請求項45】

如請求項44之dsRNA藥劑，其中該一或多個親脂性部分結合於選自由以下組成之群的該等內部位置中之一或多者：自各股之5'端計數的該有義股上之位置5、6、7、15及17及該反義股上之位置15及17。

【請求項46】

如請求項8之dsRNA藥劑，其中該雙股區中之該等內部位置不包括該有義股之裂解位點區域。

【請求項47】

如請求項7至46中任一項之dsRNA藥劑，其中該有義股之長度為21個核苷酸，該反義股之長度為23個核苷酸，且該親脂性部分結合於該有義股之位置21、位置20、位置15、位置1、位置7、位置6或位置2，或該反義股之位置16。

【請求項48】

如請求項47之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分結合於該有義股之位置21、位置20、位置15、位置1或位置7。

【請求項49】

如請求項47之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分結合於該有義股之位置21、位置20或位置15。

【請求項50】

如請求項47之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分結合於該有義股之位置20或位置15。

【請求項51】

如請求項47之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分結合於該反義股之位置16。

【請求項52】

如請求項7至51中任一項之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分為脂族、脂環族或聚脂環族化合物。

【請求項53】

如請求項52之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分係選自由以下組成之群：脂質、膽固醇、視黃酸、膽酸、金剛烷乙酸、1-芘丁酸、二氫睾固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉氧基己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷腦、1,3-丙二醇、十七烷基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基或啡噁吩。

【請求項54】

如請求項52之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分含有飽和或不飽和C4-C30烴鏈及選自由羥基、胺、羧酸、磺酸酯、磷酸酯、硫醇、疊氮基及炔烴組成之群的視情況選用之官能基。

【請求項55】

如請求項54之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分含有飽和或不飽和C6-

C18烴鏈。

【請求項56】

如請求項54之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分含有飽和或不飽和C16烴鏈。

【請求項57】

如請求項56之dsRNA藥劑，其中該飽和或不飽和C16烴鏈結合於自股之5'端計數的位置6。

【請求項58】

如請求項7至57中任一項之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分經由置換該一或多個內部位置或該雙股區中之一或多個核苷酸的載體結合。

【請求項59】

如請求項58之dsRNA藥劑，其中該載體係選自由以下組成之群的環狀基團：吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌吩基、[1,3]二氧戊環基、噁唑啶基、異噁唑啶基、嗎啉基、噻唑啶基、異噻唑啶基、喹喏啉基、噠吩酮基、四氫呋喃基及十氫萘基；或係基於絲胺醇主鏈或二乙醇胺主鏈之非環狀部分。

【請求項60】

如請求項7至57中任一項之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分經由含有醚、硫醚、脲、碳酸酯、胺、醯胺、順丁烯二醯亞胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺醯胺鍵、點擊反應(click reaction)之產物或胺基甲酸酯的連接基團與雙股iRNA藥劑結合。

【請求項61】

如請求項7至60中任一項之雙股iRNA藥劑，其中該親脂性部分與核

鹼基、糖部分或核苷間鍵結合。

【請求項62】

如請求項7至61中任一項之dsRNA藥劑，其中該親脂性部分或靶向配位體經由選自由以下組成之群的生物可裂解連接體結合：DNA、RNA、二硫化物、醯胺；半乳胺糖、葡糖胺、葡萄糖、半乳糖、甘露糖之官能化單醣或寡醣，及其組合。

【請求項63】

如請求項7至62中任一項之dsRNA藥劑，其中該有義股之3'端經由為具有胺之環狀基團的端帽保護，該環狀基團選自由以下組成之群：吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌吩基、[1,3]二氧戊環基、噁唑啶基、異噁唑啶基、嗎啉基、噻唑啶基、異噻唑啶基、喹喏啉基、噠吩酮基、四氫呋喃基及十氫萘基。

【請求項64】

如請求項7至61中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含靶向肝組織之靶向配位體。

【請求項65】

如請求項7至61中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含靶向神經元細胞之靶向配位體。

【請求項66】

如請求項7至61中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含靶向任何眼細胞之靶向配位體。

【請求項67】

如請求項64之dsRNA藥劑，其中該靶向配位體為GalNAc結合物。

【請求項68】

如請求項1至67中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含：

存在於該反義股之3'端處的第一核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於該有義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態或Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【請求項69】

如請求項1至67中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含：

存在於該反義股之3'端處的該第一核苷酸間鍵及第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於該有義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【請求項70】

如請求項1至67中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含：

存在於該反義股之3'端處的該第一核苷酸間鍵、該第二核苷酸間鍵及第三核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於該有義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組

態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【請求項71】

如請求項1至67中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含：

存在於該反義股之3'端處的該第一核苷酸間鍵及該第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之3'端處的該第三核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於該有義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【請求項72】

如請求項1至67中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含：

存在於該反義股之3'端處的該第一核苷酸間鍵及該第二核苷酸間鍵處，具有呈Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，

存在於該反義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵及該第二核苷酸間鍵處，具有呈Rp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾，及

存在於該有義股之5'端處的該第一核苷酸間鍵處，具有呈Rp或Sp組態之該鍵聯磷原子的末端對掌性修飾。

【請求項73】

如請求項1至72中任一項之dsRNA藥劑，其進一步包含該反義股之5'端處的磷酸酯或磷酸酯模擬物。

【請求項74】

如請求項73之dsRNA藥劑，其中該磷酸酯模擬物為5'-乙烯基膦酸酯(VP)。

【請求項75】

如請求項1至72中任一項之dsRNA藥劑，其中該雙螺旋體之該反義股之5'端之1號位置處之鹼基對為AU鹼基對。

【請求項76】

如請求項1至72中任一項之dsRNA藥劑，其中該有義股具有總共21個核苷酸且該反義股具有總共23個核苷酸。

【請求項77】

一種細胞，其含有如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑。

【請求項78】

一種抑制編碼LRRK2之基因之表現的醫藥組合物，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑。

【請求項79】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑及脂質調配物。

【請求項80】

如請求項78或79之醫藥組合物，其中dsRNA藥劑存在於未緩衝溶液中。

【請求項81】

如請求項80之醫藥組合物，其中該未緩衝溶液為生理鹽水或水。

【請求項82】

如請求項78或79之醫藥組合物，其中該dsRNA藥劑存在於緩衝溶液

中。

【請求項83】

如請求項82之醫藥組合物，其中該緩衝溶液包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任何組合。

【請求項84】

如請求項82之醫藥組合物，其中該緩衝溶液為磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)。

【請求項85】

一種抑制細胞中LRRK2基因之表現的方法，該方法包含使該細胞與如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物接觸，由此抑制該細胞中該LRRK2基因之表現。

【請求項86】

如請求項85之方法，其中該細胞在個體內。

【請求項87】

如請求項86之方法，其中該個體為人類。

【請求項88】

如請求項87之方法，其中該個體患有LRRK2相關病症。

【請求項89】

如請求項88之方法，其中該LRRK2相關病症為神經退化性病症。

【請求項90】

如請求項89之方法，其中該神經退化性病症為家族性病症。

【請求項91】

如請求項89之方法，其中該神經退化性病症為偶發性病症。

【請求項92】

如請求項90或91之方法，其中該神經退化性病症為帕金森氏病(Parkinson's disease)。

【請求項93】

如請求項88之方法，其中該LRRK2相關病症為眼部病症。

【請求項94】

如請求項85至93中任一項之方法，其中使該細胞與該dsRNA藥劑接觸可抑制LRRK2之表現至少約25%。

【請求項95】

如請求項85至94中任一項之方法，其中抑制LRRK2之表現使該個體血清中LRRK2蛋白質含量降低至少約25%。

【請求項96】

一種治療患有可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體的方法，其包含向該個體投與治療有效量之如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物，由此治療患有該可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體。

【請求項97】

一種預防患有可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體之至少一種症狀的方法，其包含向該個體投與預防有效量之如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物，由此預防患有該可因降低LRRK2表現而受益之病症之個體的至少一種症狀。

【請求項98】

如請求項96或97之方法，其中該病症為LRRK2相關病症。

【請求項99】

如請求項98之方法，其中該LRRK2相關病症係選自由帕金森氏病及眼部病症組成之群。

【請求項100】

如請求項97至99中任一項之方法，其中該個體為人類。

【請求項101】

如請求項100之方法，其中向該個體投與該藥劑引起LRRK2蛋白積聚減少。

【請求項102】

如請求項96至101中任一項之方法，其中該dsRNA藥劑以約0.01 mg/kg至約50 mg/kg之劑量投與該個體。

【請求項103】

如請求項96至102中任一項之方法，其中該dsRNA藥劑經鞘內投與該個體。

【請求項104】

如請求項96至103中任一項之方法，其進一步包含測定來自該個體之一或多個樣品中之LRRK2含量。

【請求項105】

如請求項104之方法，其中一或多個個體樣品中之LRRK2含量為一或多個血液、血清或腦脊髓液樣品中之Lrrk2蛋白含量。

【請求項106】

如請求項96至105中任一項之方法，其進一步包含向該個體投與額外治療劑。

【請求項107】

一種套組，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物。

【請求項108】

一種小瓶，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物。

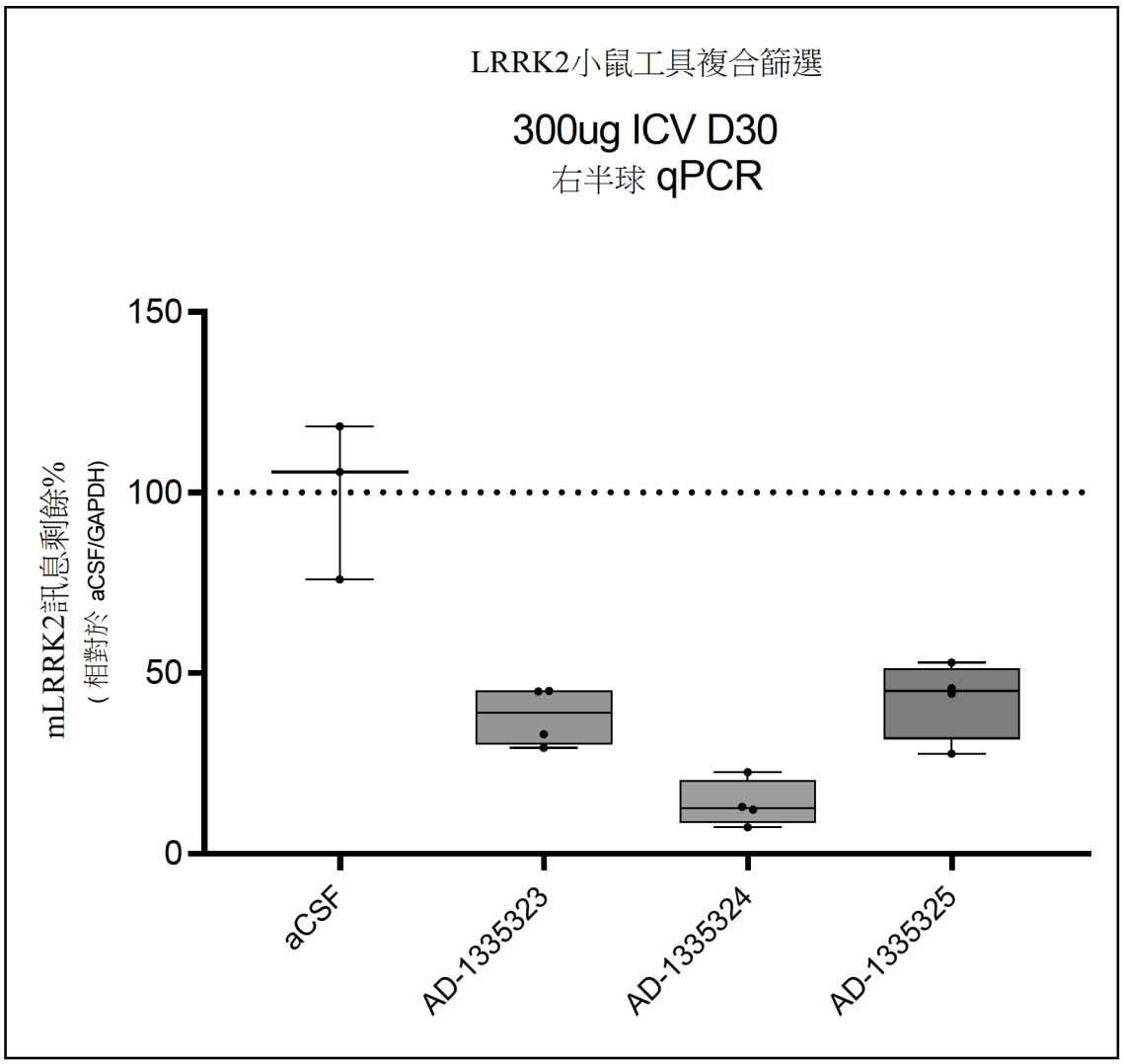
【請求項109】

一種注射器，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物。

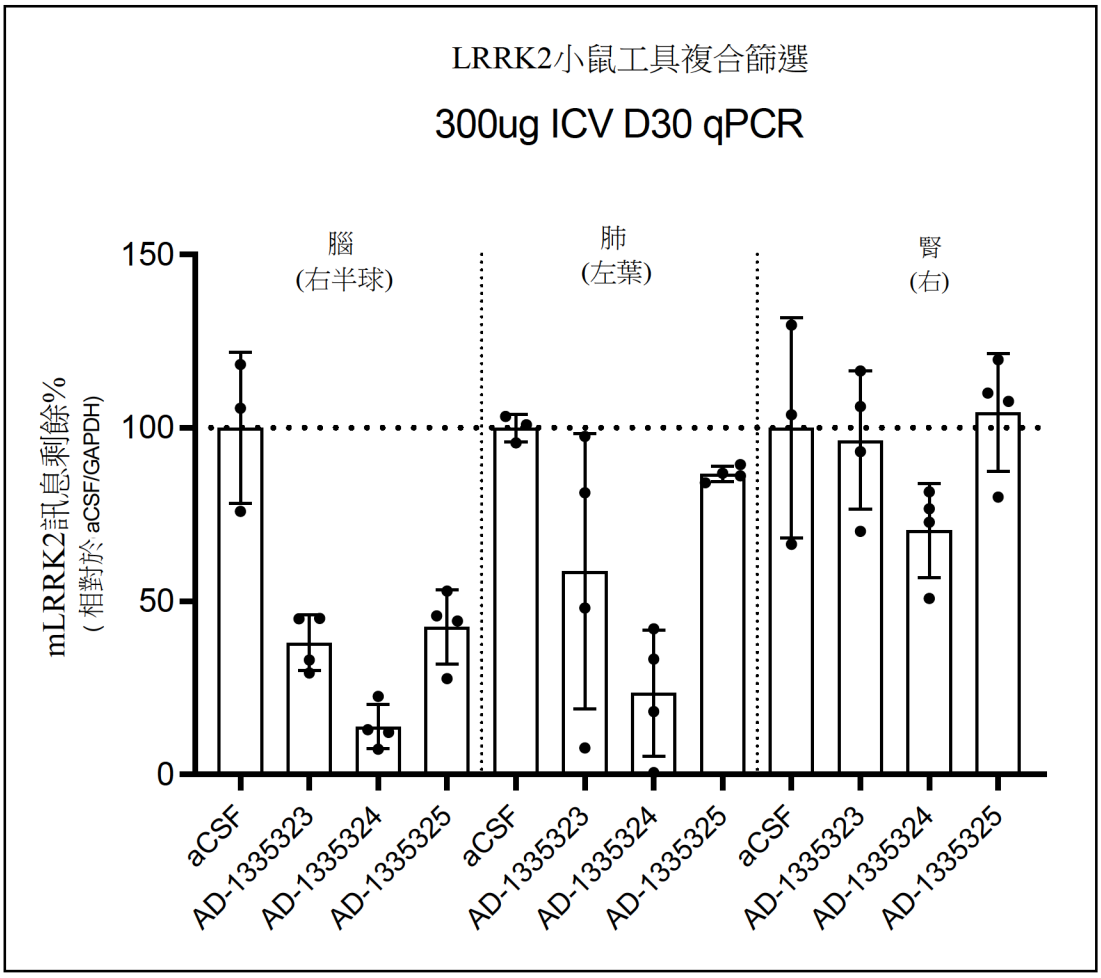
【請求項110】

一種鞘內泵，其包含如請求項1至76中任一項之dsRNA藥劑或如請求項78至84中任一項之醫藥組合物。

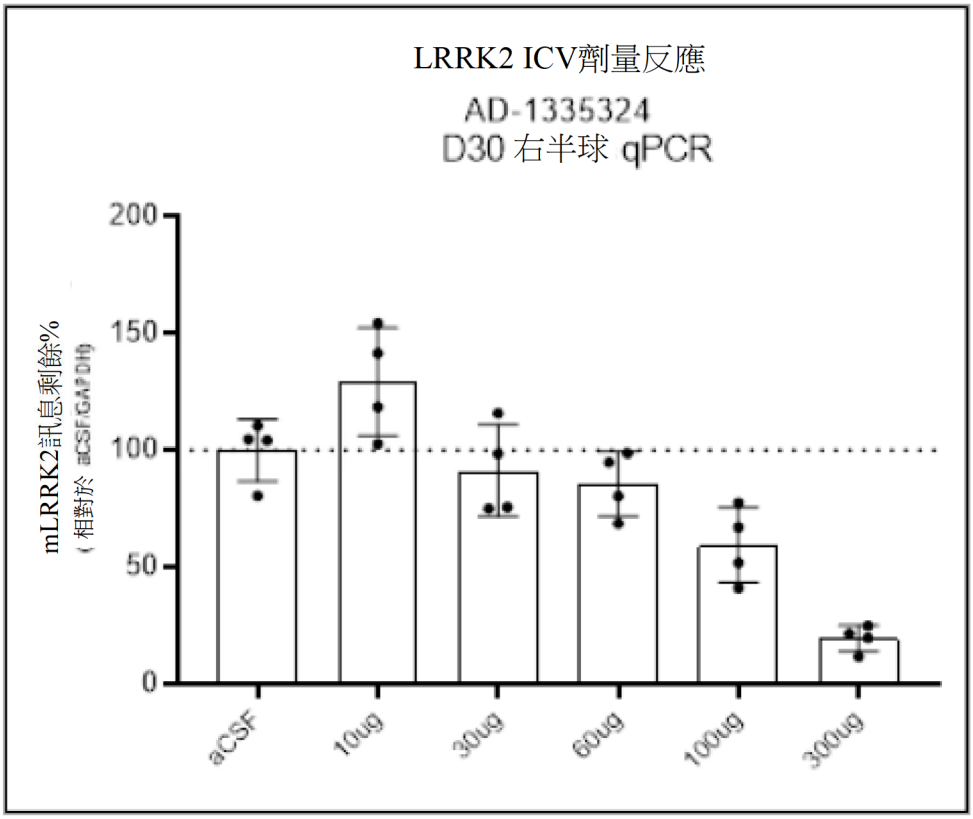
【發明圖式】


LRRK2小鼠工具複合篩選
300ug ICV D30
右半球 qPCR
mLRRK2訊息剩餘%
（相對於 aCSF/GAPDH）
150
100
50
0
aCSF
AD-1335323
AD-1335324
AD-1335325

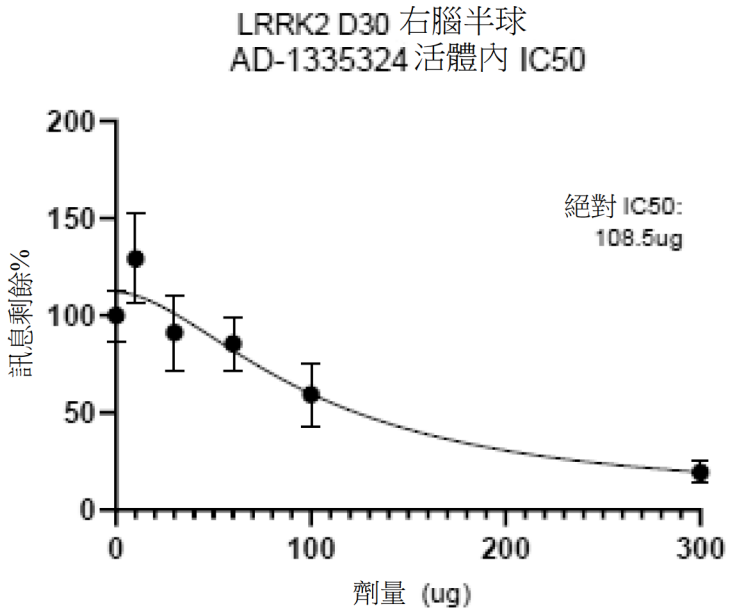
【圖1】


LRRK2小鼠工具複合篩選
300ug ICV D30 qPCR
mLRRK2訊息剩餘%
（相對於 aCSF/GAPDH）
150
100
50
0
腦
(右半球)
肺
(左葉)
腎
(右)
aCSF
AD-1335323
AD-1335324
AD-1335325
aCSF
AD-1335323
AD-1335324
AD-1335325
aCSF
AD-1335323
AD-1335324
AD-1335325

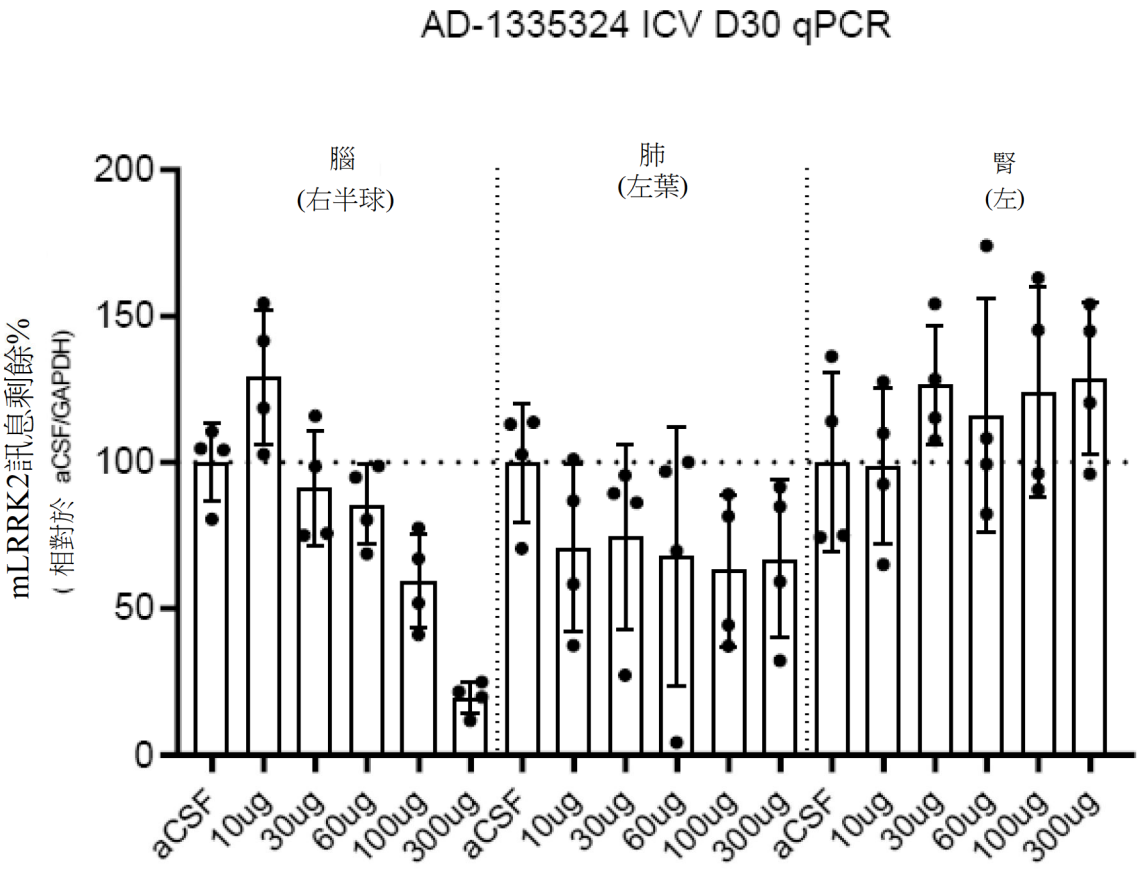
【圖2】


LRRK2 ICV劑量反應
AD-1335324
D30 右半球 qPCR
mLRRK2訊息剩餘%
（相對於 aCSF GAPDH）
200
150
100
50
0
aCSF
10ug
30ug
60ug
100ug
300ug

【圖3A】


LRRK2 D30 右腦半球
AD-1335324 活體內 IC50
絕對 IC50:
108.5ug
訊息剩餘%
200
150
100
50
0
0
100
200
300
劑量 (ug)

【圖3B】


AD-1335324 ICV D30 qPCR
mLRRK2訊息剩餘%
（相對於 aCSF/GAPDH）
200
150
100
50
0
腦
(右半球)
肺
(左葉)
腎
(左)
aCSF
10ug
30ug
60ug
100ug
300ug

【圖4】