



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108165548 B

(45) 授权公告日 2022.10.14

(21) 申请号 201711334248.1

德米特里·萨马尔斯基

(22) 申请日 2009.09.22

托德·M·伍尔夫

(65) 同一申请的已公布的文献号

詹姆斯·卡迪亚

申请公布号 CN 108165548 A

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(43) 申请公布日 2018.06.15

专利代理人 郑斌 尹玉峰

(30) 优先权数据

(51) Int.CI.

61/192,954 2008.09.22 US

C12N 15/113 (2010.01)

61/149,946 2009.02.04 US

61/224,031 2009.07.08 US

审查员 王小玉

(62) 分案原申请数据

200980146492.2 2009.09.22

(73) 专利权人 菲奥医药公司

权利要求书5页 说明书185页

地址 美国马萨诸塞州

序列表162页 附图92页

(72) 发明人 阿纳斯塔西娅·赫沃罗娃

威廉·萨洛蒙 乔安妮·卡门斯

权利要求书5页 说明书185页

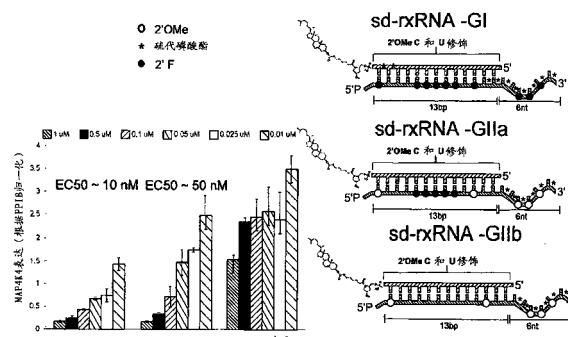
序列表162页 附图92页

(54) 发明名称

减小大小的自递送RNAi化合物

(57) 摘要

本发明涉及减小大小的自递送RNAi化合物。本发明涉及具有最小双链区的RNAi构建体以及它们在基因沉默中的应用。与本发明相关的RNAi构建体包含8-14个核苷酸的双链区和多种化学修饰，并且在基因沉默中非常高效。



1. 由最小长度为16个核苷酸的引导链和负载链组成的分离的双链核酸分子，

其中所述分离的双链核酸分子包含双链区和单链区，其中所述双链核酸分子具有一个平末端，其中所述双链区的长度为8-13个核苷酸，其中所述单链区在所述引导链的3' 端并且长度为4-12个核苷酸，其中所述单链区包含3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个硫代磷酸酯修饰，其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰，其中疏水缀合物与所述分离的双链核酸分子连接，并且其中所述分离的双链核酸分子能够抑制靶基因的表达。

2. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述双链区的长度为11、12或13个核苷酸。

3. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述单链区的长度为至少6或至少7个核苷酸。

4. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述单链区中每个核苷酸均具有硫代磷酸酯修饰。

5. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中至少一个所述修饰为2' -O-甲基或2' -氟代修饰。

6. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中至少一个所述修饰为疏水修饰。

7. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述疏水缀合物与所述分离的双链核酸分子的下列项连接：

i) 所述负载链的3' 端；

ii) 所述引导链的3' 端；或

iii) 所述负载链的5' 端。

8. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述双链核酸分子针对编码骨桥蛋白(SPP1)、SOD1或MAP4K4的基因。

9. 权利要求8的分离的双链核酸分子，其中所述双链核酸分子针对编码骨桥蛋白(SPP1)的基因，并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:170。

10. 权利要求8的分离的双链核酸分子，其中所述双链核酸分子针对编码SOD1的基因，并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:40。

11. 权利要求8的分离的双链核酸分子，其中所述双链核酸分子针对编码MAP4K4的基因，并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:25。

12. 权利要求1的分离的双链核酸分子，其中所述疏水缀合物是连接到负载链的3' 末端的固醇部分。

13. 分离的双链核酸分子用于制备抑制哺乳动物细胞中靶基因表达的药物的用途，所述双链核酸分子由最小长度为16个核苷酸的引导链和负载链组成，

其中所述双链核酸分子具有一个平末端，其中所述分子的双链区长8-13个核苷酸，其中所述引导链在3' 端包含4-12个核苷酸长的单链区，其中所述引导链的单链区包含3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个硫代磷酸酯修饰，其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰，其中疏水缀合物与所述分离的双链核酸分子连接，并且其中所述分离的双链核酸分子能够抑制靶基因的表达。

14. 权利要求13的用途，其中所述双链区的长度为11、12或13个核苷酸。

15. 权利要求13的用途，其中所述单链区的长度为至少6或至少7个核苷酸。

16. 权利要求13的用途，其中所述单链区中的每个核苷酸均具有硫代磷酸酯修饰。

17. 权利要求13的用途,其中至少一个所述修饰是2' 0-甲基或2' -氟代修饰。
18. 权利要求13的用途,其中至少一个所述修饰为疏水修饰。
19. 权利要求13的用途,其中所述疏水缀合物与所述双链核酸分子连接,连接在所述双链核酸分子的3' 末端。
20. 权利要求13的用途,其中所述双链核酸分子针对编码骨桥蛋白(SPP1)、SOD1或MAP4K4的基因。
21. 权利要求20的用途,其中所述双链核酸分子针对编码骨桥蛋白(SPP1)的基因,并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:170。
22. 权利要求20的用途,其中所述双链核酸分子针对编码SOD1的基因,并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:40。
23. 权利要求20的用途,其中所述双链核酸分子针对编码MAP4K4的基因,并且其中所述引导链包含SEQ ID NO:25。
24. 权利要求13的分离的双链核酸分子,其中所述疏水缀合物是连接到所述负载链的3' 末端的固醇部分。
25. 分离的双链核酸分子,其包含
17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,
8-13个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,
其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有4-13个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含至少一个2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰。
26. 分离的双链核酸分子,其包含
17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,
8-13个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,
其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有5-11个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中的至少2个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸被2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰。
27. 分离的双链核酸分子,其包含
17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,
8-13个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,
其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有6-8个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述负载链包含至少2个硫代磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。
28. 分离的双链核酸分子,其包含
18-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,
8-13个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有3' 单链区，所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰，其中所述引导链中11-18位的每个C和U核苷酸都具有2' 0-甲基修饰，其中所述负载链的每个核苷酸都被2' 0-甲基修饰，并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。

29. 分离的双链核酸分子，其包含

17-21个核苷酸长的引导链，其与靶基因互补，

8-13个核苷酸长的负载链，其在3' 末端与亲脂基团连接，其中所述亲脂基团选自胆固醇和具有5-7个或9-18个碳长度的C17多碳链的固醇类分子，

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有3' 单链区，所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰，其中所述引导链中11-18位的每个C和U核苷酸都具有2' 0-甲基修饰，其中所述引导链中2-10位的每个C和U核苷酸具有2' F修饰，其中所述负载链的每个核苷酸都被2' 0-甲基修饰，并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。

30. 分离的双链核酸分子，其包含：

17-21个核苷酸长的引导链，其与靶基因互补，

10-13个核苷酸长的负载链，其在3' 末端与亲脂基团连接，

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有4-11个核苷酸长的3' 单链区，所述单链区中至少2个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰，其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端，并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸被2' 0甲基修饰或2' -氟代修饰。

31. 分离的核酸分子，其包含

与靶基因互补的最小长度为16个核苷酸的引导链，

在3' 末端与亲脂基团连接的8-13个核苷酸长的负载链，

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的核酸分子，其中所述引导链具有4-13个核苷酸长的3' 单链区，所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰，其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含至少一个2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰，并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。

32. 分离的双链核酸分子，其包含最小长度为16个核苷酸的引导链和负载链，其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端，其中所述分子的双链区长度为8-13个核苷酸，其中所述引导链包含4-12个核苷酸长的3' 单链区，并且其中所述引导链的单链区包含2-12个硫代磷酸酯修饰。

33. 分离的双链核酸分子，其包含

引导链，其中所述引导链为16-28个核苷酸长并与靶基因互补，其中所述引导链具有3' 单链区，其中所述引导链3' 末端的10个核苷酸包含至少2个磷酸酯修饰，并且其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰并包括至少一个2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰；以及

负载链，其中所述负载链长度为8-13个核苷酸并且与所述引导链互补，其中所述负载链与亲脂基团连接，

其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子，并且其中所述双链核酸分子的一个

末端是平末端。

34. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述引导链具有3'单链区,其中所述负载链为8-13个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链具有至少2个化学修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。

35. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为8-13个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有5个核苷酸长或更长的单链3'区并且所述负载链具有长于9的C17连接链的固醇类分子,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端。

36. 权利要求1-12和25-35中任一项所述分离的双链核酸分子在制造用于在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的药物中的用途,其中所述用途包括将所述哺乳动物细胞与所述分离的双链核酸分子接触。

37. 权利要求1-12和25-35中任一项所述分离的双链核酸分子在制造用于在对象中诱导RNAi的药物中的用途,所述用途包括:

向所述对象施用有效量的用于诱导靶基因之RNAi的所述分离的双链核酸分子。

38. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含

多核苷酸,其中所述多核苷酸为与疏水分子连接的双链RNA,其中所述疏水分子与非末端核苷酸的碱基、核糖或骨架连接,并且其中所述双链RNA包含引导链和负载链,其中所述引导链长为16-29个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述引导链具有3'单链区,其中所述负载链长为8-13个核苷酸并且与所述引导链互补,并且其中所述双链RNA的一个末端是平末端。

39. 组合物,其包含:

疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸是与疏水分子连接的双链RNA,其中所述双链RNA包含引导链和负载链,其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述引导链具有3'单链区,其中所述负载链为8-13个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链的1位被5'磷酸化或具有2'0-甲基修饰,其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端;

中性脂肪混合物;以及

任选地货物分子,

其中所述疏水修饰多核苷酸与所述中性脂肪混合物形成胶束。

40. 权利要求1-12和25-35中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求39所述组合物在制造用于在对象中诱导RNAi的药物中的用途,所述用途包括:

向所述对象施用有效量的用于诱导靶基因之RNAi的所述分离的双链核酸分子或所述组合物,其中所述双链核酸分子至少具有对应于靶基因的序列区,其中所述施用步骤为全身地、或局部注射。

41. 权利要求1-12和25-35中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求39所述组合物在制造用于在对象中诱导RNAi的药物中的用途,所述用途包括:

向所述对象施用有效量的用于诱导靶基因之RNAi的所述分离的双链核酸分子或所述组合物,其中所述双链核酸分子至少具有对应于靶基因的序列区,其中所述施用步骤为静

脉内、腹膜内、真皮内、表面、鼻内、吸入、经口、粘膜内、皮下、经口气管或眼内的。

减小大小的自递送RNAi化合物

[0001] 本申请是申请号为200980146492.2的中国专利申请的分案申请,原申请是2009年9月22日提交的PCT国际申请PCT/US2009/005247于2011年5月20日进入中国国家阶段的申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请根据35U.S.C. §119 (e) 要求以下申请的优先权:于2008年9月22号提交的美国临时申请序列号US 61/192,954,题为“Chemically Modified Polyucleotides and Methods of Using the Same”;于2009年2月4日提交的US 61/149,946,题为“Minimum Length Triggers of RNA Interference”以及于2009年7月8日提交的US 61/224,031,题为“Minimum Length Triggers of RNA Interference”,它们每个的公开内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0004] 本发明涉及RNA干扰(RNAi)领域。本发明更具体地涉及不使用递送试剂而具有改善的体内递送特性的核酸分子,以及它们在有效的RNA沉默中的用途。

背景技术

[0005] 互补寡核苷酸序列是有前景的治疗剂和阐释基因功能的有用研究工具。然而,现有技术的寡核苷酸分子存在几个可能阻碍其临床开发的问题,并且经常导致难以在体内使用这些组合物实现预期的对基因表达(包括蛋白质合成)的有效抑制。

[0006] 一个主要问题是这些化合物向细胞和组织的递送。19-29个碱基长的常规双链RNAi化合物形成约 $1.5 \times 10^{-15}\text{nm}$ 大小的高度带负电的刚性螺旋。该棒形分子不能穿过细胞膜,因此在体外和体内的效力非常有限。因此,所有常规RNAi化合物都需要某种递送载体以促进其组织分布和细胞摄取。认为这是RNAi技术的主要局限性。

[0007] 对寡核苷酸进行化学修饰以促进它们的细胞摄取特性在之前已有尝试。这种修饰的一种是将胆固醇分子连接到寡核苷酸。该方法在1989年由Letsinger等第一次报道。随后,ISIS Pharmaceuticals, Inc. (Carlsbad, CA) 报道了将胆固醇分子连接到寡核苷酸的更先进技术(Manoharan, 1992)。

[0008] 随着90年代后期siRNA的发现,对这些分子尝试了相似类型的修饰以提高它们的递送特性。文献中出现了将胆固醇分子缀合到少量修饰(Soutschek, 2004)和大量修饰(Wolfrum, 2007)的siRNA的报道。Yamada等,2008也报道了改进的化学接头的应用,其进一步改善了胆固醇介导的siRNA摄取。尽管有这些努力,这些类型化合物的摄取看来被生物流体的存在所抑制,导致对体内基因沉默效力的极大限制,限制了这些化合物在临床中的应用。

[0009] 因此,通过设计具有改进的体内递送特性的寡核苷酸来改进现有技术的寡核苷酸具有很大益处,并且很有临床意义。

发明内容

[0010] 本文公开了具有尽可能小的双链区的不对称化学修饰的核酸分子，以及这些分子在基因沉默中的应用。与本发明相关的RNAi分子包含单链区和双链区，并可在分子的单链区和双链区两者中包含多种化学修饰。此外，可将RNAi分子连接到疏水结合物(如常规和改进的固醇类分子)上。这种RNAi分子新类型与上述RNAi分子相比在体外和体内均具有更好的效力。

[0011] 本发明的一些方面涉及不对称核酸分子，其包含最小长度为16核苷酸的引导链(guide strand)，以及负载链(passenger strand)，它们形成具有双链区和单链区的双链核酸，所述双链区长度为8-15个核苷酸，所述单链区长度为5-12个核苷酸，其中所述负载链与亲脂基团连接，其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰，并且其中单链区具有至少2个硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中，引导链的1位被5'磷酸化。在一些实施方案中，引导链的1位被2'-0-甲基修饰和5'磷酸化。

[0012] 本发明的一些方面涉及分离的双链核酸分子，其包含15-21个核苷酸长并与miRNA序列互补的较长链、8-15个核苷酸长并在3'末端与亲脂基团连接的较短链，其中所述较长链和负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述较长链具有2-13个核苷酸长的3'单链区，其包含至少2个硫代磷酸酯修饰，并且至少50%的核苷酸被修饰。

[0013] 本发明的另一些方面涉及分离的双链核酸分子，其包含17-21个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16个核苷酸长并且3'末端与亲脂基团连接的负载链，其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有2-13个核苷酸长的3'单链区，所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰，并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含至少一个2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰。

[0014] 在另一个方面，本发明为分离的双链核酸分子，其包含17-21个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、10-16个核苷酸长并且3'末端与亲脂基团连接的负载链，其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有5-11个核苷酸长的3'单链区，所述单链区中的至少2个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰，并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸被2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰。

[0015] 本发明的另一方面为分离的双链核酸分子，其具有17-21个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16个核苷酸长并且3'末端与亲脂基团连接的负载链，其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有6-8个核苷酸长的3'单链区，所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰，其中所述负载链包含至少2个硫代磷酸酯修饰，其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰，并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0016] 本发明的另一些方面提供了分离的双链核酸分子，其具有17-21个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16个核苷酸长并且3'末端与亲脂基团连接的负载链，其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子，其中所述引导链具有3'单链区，所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5'磷酸酯修

饰,其中所述 引导链11-18位的每个C和U核苷酸具有2' 0-甲基修饰,其中所述负载 链的每个核苷酸为2' 0-甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末 端为平末端或包含1-2核苷酸的突出端。

[0017] 本发明的另一个方面为分离的双链核酸分子,其具有17-21个核苷酸 长并与靶基因互补的引导链、8-15个核苷酸长并且3' 末端与亲脂基团连 接的负载链,其中所述亲脂基团选自胆固醇和具有5-7或9-18个碳长度 的C17多碳链的固醇类分子,其中所述引导链和所述负载链形成具有双 链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有3' 单链区,所述单链 区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修 饰,其中所述引导链11-18位的每个C和U核苷酸具有2' 0-甲基修饰, 其中所述引导链2-10位的每个C和U核苷酸具有2' F修饰,其中所述负 载链的每个核苷酸为2' 0-甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个 末端为平末端或包含1-2核苷酸的突出端。

[0018] 本发明的又一个方面为分离的核酸分子,其具有与靶基因互补的引导 链和3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成 具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有2-13个核苷 酸长的3' 单链区,所述单链区中的每个核 苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中 所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50%的C和U核 苷酸包含至少一个2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰,并且其中所述双链核酸 分子的一个末端为平末端或包含1-2核苷酸的突出端。

[0019] 本发明的另一些方面提供了分离的双链核酸分子,其具有引导链和负 载链,其中 所述分子的双链区长度为8-14个核苷酸,其中所述引导链包 含4-12个核苷酸长的单链区, 并且其中所述引导链的单链区包含2-12个 硫代磷酸酯修饰。

[0020] 在一些实施方案中,所述引导链包含6-8个硫代磷酸酯修饰。在另 一 些实施方案 中,所述引导链的单链区长度为6个核苷酸。

[0021] 在另一些实施方案中,双链区长度为13个核苷酸。任选地,所述双 链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2核苷酸的突出端。

[0022] 本发明的另一个方面是分离的双链核酸分子,其具有引导链和负载 链,其中所述 引导链为16-28个核苷酸长并与靶基因互补,其中所述引导 链的3' 末端10个核苷酸包含至 少2个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链 具有5' 磷酸酯修饰并包括至少一个2' 0-甲基修饰 或2' -氟代修饰;其中所 述负载链长度为8-14核苷酸并且与所述引导链互补,其中所述负 载链与 亲脂基团连接,其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

[0023] 在一些实施方案中,所述引导链或序列的1位核苷酸具有2' -0-甲基 修饰。在另 一 些实施方案中,所述引导链或序列2-10位的至少一个C或 U核苷酸具有2' -氟代修饰。在另 一 些实施方案中,所述引导链2-10位的 每个C和U核苷酸具有2' -氟代修饰。所述引导链或 序列11-18位的至少 一个C或U核苷酸可具有2' -0-甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导 链或序列11-18位的每个C或U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。

[0024] 在另 一 些实施方案中,所述引导链3' 末端的10个核苷酸包含至少4 个磷酸酯修 饰。任选地,所述引导链3' 末端10个核苷酸包含至少8个磷 酸酯修饰。在一些实施方案中, 所述引导链包含4-14个磷酸酯修饰。在 另 一 些实施方案中,所述引导链包含4-10个磷酸酯 修饰。在另 一 些实施 方案中,所述引导链的3' 末端6个核苷酸均包含磷酸酯修饰。所述磷酸 酯 修饰可为硫代磷酸酯修饰。

[0025] 在一些实施方案中，所述负载链的每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在另一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一个实施方案中，所述负载链的至少一个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。在另一些实施方案中，所述负载链的至少2个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。

[0026] 所述亲脂分子可为固醇，如胆固醇。

[0027] 在一些实施方案中，所述引导链长为18-19个核苷酸。在另一些实施方案中，所述负载链长为11-13个核苷酸。

[0028] 在另一些实施方案中，双链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0029] 本发明的另一些方面为分离的双链核酸分子，其包含引导链和负载链，其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补，其中所述负载链为8-14个核苷酸长并与所述引导链互补，并且其中所述引导链具有至少2个化学修饰。在一些实施方案中，所述至少2个化学修饰包括至少2个硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中，双链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0030] 本发明的一些方面为分离的双链核酸分子，其包含引导链和负载链，其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补，其中所述负载链为8-14个核苷酸长并与所述引导链互补，并且其中所述引导链具有5个核苷酸长或更长的单链3'区和1个核苷酸或更少的单链5'区。所述单链区可包含至少2个硫代磷酸酯修饰。

[0031] 本发明的另一些方面提供分离的双链核酸分子，其具有引导链和负载链，其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补，其中所述负载链为8-16个核苷酸长并与所述引导链互补，并且其中所述引导链具有5个核苷酸长或更长的单链3'区，并且所述负载链具有长度大于9的C17连接链的固醇类分子。

[0032] 本发明的另一些方面提供了双链体多核苷酸。所述多核苷酸具有第一多核苷酸和第二多核苷酸，其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补，其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短6个核苷酸，其中所述第一多核苷酸包含含有以下修饰的单链区，所述修饰选自40-90%的疏水碱基修饰、40-90%的硫代磷酸酯和40-90%的核糖部分修饰或任何其组合。

[0033] 本发明的另一些方面为双链体多核苷酸。所述多核苷酸具有第一多核苷酸和第二多核苷酸，其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补，其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短6个核苷酸，其中所述双链体多核苷酸在所述第一多核苷酸的9、11、12、13或14位核苷酸与所述第二多核苷酸的对应核苷酸之间包含错配。

[0034] 本发明的另一些方面是在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法，其包括将所述哺乳动物细胞与权利要求1-41中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求43或44所述双链体多核苷酸接触。

[0035] 本发明的另一些方面提供了在对象中诱导RNAi的方法。所述方法涉及向对象施用有效量的用于诱导靶基因mRNA之RNAi的权利要求1-41中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求43或44所述双链体多核苷酸。在另一些实施方案中，所述对象是人。在另一些实施方案中，所述靶基因是PPIB、MAP4K4或SOD1。

[0036] 在另一些方面中提供了含有多核苷酸的分离的疏水修饰多核苷酸，其中所述多

核苷酸为与疏水分子连接的双链RNA,其中所述疏水分子与非末端核苷酸的碱基、核糖或骨架连接,并且其中所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链长为16-29个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长为8-14个核苷酸并且与所述引导链互补。

[0037] 在一个实施方案中,所述疏水分子与所述双链RNA的引导链连接。在另一个实施方案中,所述引导链的3'末端10个核苷酸包含至少2个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰并包含至少一个2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰。在又一个实施方案中,所述疏水分子与所述双链RNA的负载链连接。

[0038] 本发明提供分离的疏水修饰的多核苷酸,其具有与疏水分子非共价复合的多核苷酸,其中所述疏水分子是多阳离子分子。在一些实施方案中,所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

[0039] 本发明的另一些方面为具有多核苷酸的分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸为不使用接头而直接与疏水分子复合的双链RNA,其中所述疏水分子不是胆固醇。

[0040] 本发明的另一些方面提供了组合物,其含有疏水修饰多核苷酸、中性脂肪混合物以及任选地货物分子(cargo molecule),其中所述多核苷酸是与疏水分子连接的双链RNA,其中所述双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为8-14个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链的1位为5'磷酸化或具有2'-0-甲基修饰,其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2核苷酸的突出端;其中所述疏水修饰多核苷酸和中性脂肪混合物形成胶束。

[0041] 在一些实施方案中,负载链的3'末端与疏水分子相连接。在另一些实施方案中,所述组合物为无菌的。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物包含DOPC(二油酰基磷脂酰胆碱)。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物包含DSPC(二硬脂酰基磷脂酰胆碱)。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物还包含固醇,如胆固醇。

[0042] 在另一些实施方案中,所述组合物包含至少20%的DOPC和至少20%的胆固醇。在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分为固醇。所述固醇可为胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基。在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分选自胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸(oleyl lithocholic acid)、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯(isoprenoids)、维生素、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、脂肪酸酯、甘油三酯、芘、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吖啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基(digoxigenin)、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料(例如Cy3或Cy5)、Hoechst 33258染料、补骨脂素和布洛芬。

[0043] 在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分为多阳离子分子,如,精蛋白、精氨酸富含肽和/或精胺。

[0044] 所述组合物任选地包含货物分子(cargo molecule),如脂质、肽、维生素和/或小分子。在一些实施方案中,所述货物分子为市售脂肪乳剂,其用于多种选自肠胃外给养的目的。在一些实施方案中,所述市售脂肪乳剂为英脱利匹特(intralipid)或nutralipid。在另一些实施方案中,所述货物分子为含有大于74%的亚油酸的脂肪酸混合物、含有至少

6%心磷脂的脂肪酸混合物、或含有至少74%的亚油酸和至少6%的心磷脂的脂肪酸混合物。在另一个实施方案中,所述货物分子为融合脂(dusogenic lipid) (例如DOPE),优选地为至少10%的融合脂。

[0045] 在一些实施方案中,所述多核苷酸包含化学修饰。例如其可有至少 40%被修饰。

[0046] 本发明的另一方面提供了在对象中诱导RNAi的方法。所述方法涉及 向对象施用有效量的用于诱导靶基因mRNA之RNAi的本发明分离的双 链核酸分子或双链体多核苷酸或组合物,其中所述多核苷酸至少具有对应 于靶基因的序列区,其中施用步骤为全身地、静脉内、腹膜内、真皮内、局部、鼻内、吸入、经口、粘膜内、局部注射、皮下、经口气管或眼内。

[0047] 在另一些实施方案中,所述对象是人。在另一些实施方案中,所述靶 基因是PPIB、MAP4K4或SOD1。

[0048] 在一些方面中,本发明为形成发夹结构的长度少于35个核苷酸的单 链RNA,所述发夹包含双链茎和单链环,所述双链茎包含具有5' 末端的 5' -茎序列和具有3' 末端的3' -茎序列;并且所述5' -茎序列和所述环的至少 一部分形成与靶基因转录本互补的引导序列,其中所述多核苷酸介导所述 靶基因表达的序列依赖基因沉默,其中单链环区的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含2' 0- 甲基修饰或2' -氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链11-18位的每 个C和U核苷酸具有2' 0-甲基修饰。

[0049] 另一些方面提供了多核苷酸构建体,所述多核苷酸具有两个相同的单 链多核苷酸,每个所述单链多核苷酸包含具有5' 末端的5' 茎序列、具有3' 末端的3' 茎序列以及连接 5' 茎序列和3' 茎序列的接头序列,其中:(1)第一单链多核苷酸的5' 茎序列与第二单链多核苷酸的3' 茎序列杂交,形成 第一双链茎区;(2)第二单链多核苷酸的5' 茎序列与第一单链多核苷酸的3' 茎序列杂交,形成第二双链茎区;并且(3)所述第一和第二单链多核苷酸的接头序列形成连接所述第一和所述第二双链茎区的环或凸出部 (bulge),其中所述5' 茎序列和接头序列的至少一部分形成与靶基因转录 本互补的引导序列,其中所述多核苷酸构建体介导所述靶基因表达的序列 依赖基因沉默,其中所述单链环区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰, 并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含2' 0-甲基修饰或2' - 氟代修饰。

[0050] 在一个实施方案中,所述引导序列11-18位的每个C和U核苷酸具 有2' 0-甲基修饰。

[0051] 在一些实施方案中,所述引导链长为16、17、18、19、20、21、22、 23、24、25、26、27、28或29个核苷酸。在一些实施方案中,所述负载 链长为8、9、10、11、12、13或14个核苷酸。在一些实施方案中,所述 核酸分子具有小于-20kkal/mol的热力学稳定性 (ΔG)。

[0052] 本发明的一些方面涉及化学修饰的核酸分子。在一些实施方案中,所 述化学修饰选自5' 磷酸酯、2' -0-甲基、2' -0-乙基、2' -氟代、核糖胸昔、C-5丙炔基-dC (pdC)、C-5丙炔基-dU (pdU)、C-5丙炔基-C (pC)、C-5 丙炔基-U (pU)、5-甲基C、5-甲基U、5-甲基dC、5-甲基dU 甲氧基、(2,6- 二氨基嘌呤)、5'-二甲氧基三苯甲基-N4-乙基-2'-脱氧胞昔、C-5丙炔基-fC (pfC)、C-5丙炔基-fU (pfU)、5-甲基fC、5-甲基fU、C-5丙炔基-mC (pmC)、 C-5丙炔基-fU (pmU)、5-甲基mC、5-甲基mU、LNA (locked nucleic acid, 锁核酸)、MGB (minor groove binder, 小沟结合剂) 和其它提高碱基疏水性 的碱基修饰。在同一分子中可能存在多于一种

化学修饰。在一些实施方案中，化学修饰提高稳定性和/或提高热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中，核酸分子上至少90%的CU残基被修饰。

[0053] 在一些实施方案中，所述引导链的1位核苷酸具有2' -0-甲基修饰和/ 或5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的至少一个C 或U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的 每个C和U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链 11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链每个C和U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2' -0-甲基修饰。

[0054] 在一些实施方案中，与本发明相关的核酸分子包含至少为4个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中，该硫代磷酸酯修饰核苷酸区段的长度为至少12个核苷酸。在一些实施方案中，该硫代磷酸酯修饰核苷酸区段不完全是单链的。

[0055] 与本发明相关的核酸分子可与缀合物连接。在一些实施方案中，所述 缀合物连接到引导链，而在另一些实施方案中，所述缀合物连接到负载链。在一些实施方案中，所述缀合物是疏水的。在一些实施方案中，所述缀合物是固醇，如胆固醇。在一些实施方案中，与本发明相关的核酸分子为平末端的。

[0056] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链双链核酸分子，其中所述 分子的双链区长为8-14个核苷酸，并且其中所述分子具有小于-13 kkcal/mol的热力学稳定性(ΔG)。

[0057] 在一些实施方案中，所述分子的双链区长为8、9、10、11、12、13 或14个核苷酸。在一些实施方案中，所述分子具有小于-20kkcal/mol的热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中，所述核酸分子是化学修饰的。在一些实施方案中，所述化学修饰选自5' 磷酸酯、2' -0-甲基、2' -0-乙基、2' -氟代、核糖胸昔、C-5丙炔基-dC (pdC)、C-5丙炔基-dU (pdU)、C-5 丙炔基-C (pC)、C-5丙炔基-U (pU)、5-甲基C、-5-甲基U、5-甲基dC、5-甲基dU甲氧基、(2,6-二氨基嘌呤)、5'-二甲氧基三苯甲基-N4-乙基-2' - 脱氧胞昔、C-5丙炔基-fC (pfC)、C-5丙炔基-fU (pfU)、5-甲基fC、5-甲 基fU、C-5丙炔基-mC (pmC)、C-5丙炔基-fU (pmU)、5-甲基mC、5-甲 基mU、LNA (锁核酸)、MGB (小沟结合剂) 和其它提高碱基疏水性的碱基 修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中，化学 修饰提高稳定性和/或提高热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中，核 酸分子上至少90%的CU残基被修饰。

[0058] 在一些实施方案中，所述引导链的1位核苷酸具有2' -0-甲基修饰和/ 或5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的至少一个C 或U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的 每个C和U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链 11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链每个C和U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2' -0-甲基修饰。

[0059] 与本发明相关的核酸分子可包含至少为4个硫代磷酸酯修饰核苷酸 的区段。在一些实施方案中，硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段长至少12核 苷酸。在一些实施方案中，硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段不完全是单链的。在一些实施方案中，所述核酸分子与缀合物连接。在一些实施方案中，所 述缀合物连接到引导链，而在另一些实施方案，所述缀合物连接

到负载链。在一些实施方案中，所述缀合物是疏水的。在一些实施方案中，所述缀合物是固醇，如胆固醇。在一些实施方案中，与本发明相关的核酸分子为平末端的。在一些实施方案中，所述核酸分子的5'末端为平末端。在一些实施方案中，所述核酸分子的5'末端为平末端，并且该分子两链之间的互补区从这里开始。

[0060] 本发明的一些方面涉及抑制哺乳动物细胞中靶基因表达的方法。该方法包括将所述哺乳动物细胞与分离的双链核酸分子接触，所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链，其中所述引导链长16-29个核苷酸并与靶基因互补，其中所述负载链长8-14个核苷酸并与所述引导链互补，并且其中所述双链核酸分子的热力学稳定性(ΔG)为小于-13kcal/mol。

[0061] 所述细胞可在体内或体外接触。在一些实施方案中，所述引导链长度为16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29个核苷酸。在一些实施方案中，所述负载链长为8、9、10、11、12、13或14个核苷酸。在一些实施方案中，所述核酸分子具有小于-20kcal/mol的热力学稳定性(ΔG)。

[0062] 与本文所述方法相关的核酸分子可以是化学修饰的。在一些实施方案中，所述化学修饰选自5'磷酸酯、2'-0-甲基、2'-0-乙基、2'-氟代、核糖胸昔、C-5丙炔基-dC(pdC)、C-5丙炔基-dU(pdU)、C-5丙炔基-C(pC)、C-5丙炔基-U(pU)、5-甲基C、5-甲基U、5-甲基dC、5-甲基dU甲氧基、(2,6-二氨基嘌呤)、5'-二甲氧基三苯甲基-N4-乙基-2'-脱氧胞昔、C-5丙炔基-fC(pfC)、C-5丙炔基-fU(pfU)、5-甲基fC、5-甲基fU、C-5丙炔基-mC(pmC)、C-5丙炔基-fU(pmU)、5-甲基mC、5-甲基mU、LNA(锁核酸)、MGB(小沟结合剂)和其它提高碱基疏水性的碱基修饰。在同一分子中可能存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中，化学修饰提高稳定性和/或提高热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中，核酸分子上至少90%的CU残基被修饰。

[0063] 在一些实施方案中，所述引导链的1位核苷酸具有2'-0-甲基修饰和/或5'磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的至少一个C或U核苷酸具有2'-氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的每个C和U核苷酸具有2'-氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述引导链11-18位的每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2'-0-甲基修饰。

[0064] 在一些实施方案中，与本发明相关的核酸分子包含至少为4个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中，硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段长至少12核苷酸。在一些实施方案中，硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段不完全是单链的。

[0065] 与本发明相关的核酸分子可与缀合物连接。在一些实施方案中，所述缀合物连接到引导链，而在另一些实施方案中，所述缀合物连接到负载链。在一些实施方案中，所述缀合物是疏水的。在一些实施方案中，所述缀合物是固醇，如胆固醇。在一些实施方案中，与本发明相关的核酸分子为平末端的。

[0066] 本文所述的用于抑制哺乳动物细胞中靶基因表达的方法包括将所述哺乳动物细胞与分离的双链核酸分子接触，所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链，其中所述分子的双链区长8-14个核苷酸，并且其中所述分子的热力学稳定性(ΔG)小于-13kcal/

mol。

[0067] 在一些实施方案中,所述分子的双链区长为8、9、10、11、12、13 或14个核苷酸。在一些实施方案中,所述分子具有小于-20kkal/mol的热 力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中,所述核酸分子是化学修饰的。在一些实施方案中,所述化学修饰选自5' 磷酸酯、2' -0-甲基、2' -0-乙基、2' -氟代、核糖胸昔、C-5丙炔基-dC (pdC)、C-5丙炔基-dU (pdU)、C-5 丙炔基-C (pC)、C-5丙炔基-U (pU)、5-甲基C、-5-甲基U、5-甲基dC、5-甲基dU甲氧基、(2,6-二氨基嘌呤)、5'-二甲氧基三苯甲基-N4-乙基-2'- 脱氧胞昔、C-5丙炔基-fC (pfC)、C-5丙炔基-fU (pfU)、5-甲基fC、5-甲 基fU、C-5丙炔基-mC (pmC)、C-5丙炔基-fU (pmU)、5-甲基mC、5-甲 基mU、LNA (锁核酸)、MGB (小沟结合物) 和其它提高碱基疏水性的碱基 修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中,化学 修饰提高稳定性和/或提高热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中,核 酸分子上至少90%的CU残基被修饰。

[0068] 在一些实施方案中,所述引导链的1位核苷酸具有2' 0-甲基修饰和/ 或5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链2-10位的至少一个C 或U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链2-10位的 每个C和U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2' 0-甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链每个C和U核苷酸具有2' -0-甲基修饰。在一 些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有2' -0-甲基修饰。

[0069] 与本发明相关的核酸分子可包含至少为4个硫代磷酸酯修饰核苷酸 的区段。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段长至少12核 苷酸。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰核苷酸区段不完全是单链的。在一些实施方案中,所述核酸分子可与缀合物连接。在一些实施方案中, 所述缀合物连接到引导链,而在另一些实施方案中,所述缀合物连接到负 载链。在一些实施方案中,所述缀合物是疏水的。在一些实施方案中,所 述缀合物是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分 子为平末端的。

[0070] 在另一个实施方案中,本发明提供选择用于基因沉默的siRNA的方 法,其通过以下来实现: (a) 选择靶基因,其中所述靶基因包含靶序列; (b) 选择候选siRNA,其中所述候选siRNA包含16-29个核苷酸碱基对的引 导链和8-14个核苷酸碱基对的负载链,所述引导链和负载链形成含有反 义区和有义区的双链体,并且所述候选siRNA的所述反义区与所述 靶序 列的区域至少80%互补; (c) 测定候选siRNA的热力学稳定性(ΔG); 和 (e) 如果所述热力学稳定性小于-13kkal/mol,则选择所述候选siRNA作为 用于基因沉默的siRNA。

[0071] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子, 其中所述 引导链长18-19核苷酸并与靶基因互补,其中所述互补链长11-13 核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述双链核酸分子的热力学稳定性 (ΔG) 小于-13kkal/mol。

[0072] 在一些实施方案中,所述引导链的1位核苷酸具有2' 0-甲基修饰和/ 或5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链2-10位的至少一个C 或U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链2-10位的 每个C和U核苷酸具有2' -氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2' 0-甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链11-18位的每个C和U核苷酸具有2' -0甲基修饰。

[0073] 在一些实施方案中,所述引导链包含至少为4个硫代磷酸酯修饰核苷 酸的区段。

在一些实施方案中，所述引导链包含至少为8个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中，所述负载链每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的至少1或至少2个核苷酸被硫代磷酸酯修饰。所述核酸分子可在引导链或负载链上与缀合物连接。在一些实施方案中，所述缀合物是固醇，如胆固醇。

[0074] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子，其中所述引导链长16-28个核苷酸并与靶基因互补，其中所述引导链3'末端10个核苷酸包含至少2个磷酸酯修饰，并且其中所述引导链包含至少一个2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰；其中所述负载链长8-28个核苷酸并与所述引导链互补，其中所述负载链与亲脂基团连接，其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

[0075] 在一些实施方案中，所述引导链的1位核苷酸具有2'-0-甲基修饰和/或5'磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的至少一个C或U核苷酸具有2'-氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链2-10位的每个C和U核苷酸具有2'-氟代修饰。在一些实施方案中，所述引导链11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述引导链11-18位的每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。

[0076] 在一些实施方案中，所述引导链3'末端的10个核苷酸包括至少4或至少8个磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链包含2-14或4-10个磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述引导链3'末端的6个核苷酸均包含磷酸酯修饰。在一些实施方案中，所述磷酸酯修饰是硫代磷酸酯修饰。

[0077] 在一些实施方案中，所述负载链的每个C和U核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的每个核苷酸具有2'-0-甲基修饰。在一些实施方案中，所述负载链的至少1或至少2个核苷酸被硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中，亲脂分子是固醇，如胆固醇。在一些实施方案中，所述引导链长18-19个核苷酸并且所述负载链长11-13个核苷酸。

[0078] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子，其中所述引导链长16-29个核苷酸并与靶基因基本互补，其中所述负载链长8-14个核苷酸并与所述引导链互补，并且其中所述引导链具有至少2个化学修饰。在一些实施方案中，所述2个化学修饰为硫代磷酸酯修饰。

[0079] 本发明的另一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子，其中所述引导链长16-29个核苷酸并且基本与靶基因互补，其中所述负载链长8-14个核苷酸并且与所述引导链互补，并且其中所述引导链具有5个核苷酸或更长的单链3'区。在一些实施方案中，所述单链区包含至少2个硫代磷酸酯修饰。

[0080] 本发明的另一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子，其中所述引导链长18-21个核苷酸并与靶基因基本互补，其中所述负载链长11-14个核苷酸并与所述引导链互补，并且其中所述引导链的1位具有2'-OMe和5'磷酸酯修饰，所述引导链2至11位的每个C和U为2-F修饰，所述引导链12-18位的每个C和U为2'-OMe修饰，并且所述负载链上80%的C和U为2'-OMe修饰。

[0081] 本发明的另一个方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子，其中所述引导链长18-21个核苷酸并且与靶基因基本互补，其中所述负载链长11-14个核苷酸并

与所述引导链互补，并且其中所述引导链的1位具有2'-OMe和5'磷酸酯修饰，所述引导链2至11位的每个C和U为2'-F修饰，所述引导链12-18位的每个C和U为2'-OMe修饰，所述负载链中80%的C和U为2'-OMe修饰并且负载链的3'末端与缀合物连接。在一些实施方案中，所述缀合物选自固醇、固醇类分子、疏水维生素或脂肪酸。

[0082] 本发明的每种限定可涵盖本发明的多种实施方案。因此，预计本发明涉及任一要素或要素组合的每个限定可包含在本发明的各个方面中。本发明在其应用中不受限于以下说明中所公开或附图所展示组件的构建和排列的细节。本发明可包括其它实施方案或者以多种方式操作或实施。

附图说明

[0083] 附图并未按比例绘制。在附图中，在多个图中显示的每个相同或几乎相同的组件由相似的标号表示。为清楚起见，并没有标出每个图中的每个组件。在图中：

[0084] 图1是显示所提出的不对称双链RNA分子(asymmetric double stranded RNA, adsRNA)的示意图。粗线表示带有与RISC装载相容的修饰模式的序列。条纹线表示带有与负载链相容的修饰的多核苷酸。平线表示针对细胞相互作用和摄取而优化了修饰模式的单链多核苷酸。图1A显示了具有延长的引导或负载链的adsRNA。图1B显示了具有不同长度的细胞透过性多核苷酸的adsRNA；图1C显示了具有3'和5'缀合物的adsRNA；图1D显示了具有错配的adsRNA。

[0085] 图2是显示具有不同化学修饰模式的不对称dsRNA分子的示意图。所显示的可用于提高疏水性的几种化学修饰的实例包括4-吡啶基、2-吡啶基、异丁基和吲哚基的5位尿苷修饰。

[0086] 图3是显示采用dsRNA结合结构域、精蛋白(或其它Arg富含肽)、亚精胺或相似化学结构来屏蔽双链体电荷以便于细胞进入的示意图。

[0087] 图4是显示可用于多核苷酸电荷屏蔽的带正电化学品的示意图。

[0088] 图5是显示进入RISC的单链多核苷酸的结构和化学组成的示意图。可采用一种或多种修饰(包括2'd、2'OMe、2'F、疏水和硫代磷酸酯修饰)的组合来优化单链的RISC进入。

[0089] 图6是显示RISC底物抑制剂的结构和化学组成的实例的示意图。可采用一种或多种化学修饰的组合来介导有效摄取和与预装载的RISC复合物的有效结合。

[0090] 图7是显示连接有固醇类分子的多核苷酸的结构的示意图，其中R表示9个碳或更长的多碳尾。图7A表示adsRNA分子；图7B表示约17-30bp长的siRNA分子；图7C表示进入RISC的链；图7D表示底物类似物链。可优化如图7所示的化学修饰模式以促进期望的功能。

[0091] 图8是显示天然植物固醇的实例的示意图，所述植物固醇具有长于8的多碳链，连接到17位。已知多于250种不同类型的植物固醇。

[0092] 图9是显示固醇样结构的实例的示意图，所述固醇样结构中连接到17位的多碳链的大小不同。

[0093] 图10显示的示意图和图表证明，连接到17位的多碳链的大小直接影响包含固醇类分子的脂质乳剂的肝摄取和血浆清除百分比。该图修改自 Martins等，Journal of Lipid Research (1998) 的图。

[0094] 图11是显示胶束形成的示意图。图11A显示具有疏水缀合物的多核苷酸；图11B显

示亚油酸；图11C显示由包含疏水缀合物的多核苷酸与 脂肪酸组合的混合物所形成的胶束。

[0095] 图12是显示脂质组成的改变可如何影响疏水修饰和/或疏水缀合的多 核苷酸的药代动力学行为和组织分布的示意图。特别地，采用富含亚油酸 和心磷脂的脂质混合物导致心肌的偏好性摄取。

[0096] 图13是显示用于靶向MAP4K4表达的RNAi构建体和对照的实例的 示意图。RNAi构建体12083对应于SEQ ID NO:597和598。RNAi构建 体12089对应于SEQ ID NO:599。

[0097] 图14是显示转染本发明RNAi构建体后MAP4K4表达的图。所测试 的RNAi构建体为：12083 (缺口) ,12085 (13nt双链体) ,12089 (无茎配对) 和12134 (13nt miniRNA) 。转染结果与未转染的对照样品相比较。RNAi 构建体12083对应于SEQ ID NO:597和598。RNAi构建体12085对应于SEQ ID NO:600和601。RNAi构建体12089对应于SEQ ID NO:599。RNAi 构建体12134对应于SEQ ID NO:602和603。

[0098] 图15是显示用本发明RNAi构建体转染24小时后MAP4K4表达的 图。所测试的RNAi 构建体为：11546 (MAP4K4 rxRNA) 、12083 (MAP4K4 缺口构建体) 、12134 (12bp soloRNA) 和 12241 (14/3/14 soloRNA) 。转染结 果与填充物对照样品相比较。RNAi构建体11546对应于 SEQ ID NO:604 和605。RNAi构建体12083对应于SEQ ID NO:597和598。RNAi构建 体12134 对应于SEQ ID NO:602和603。RNAi构建体12241对应于SEQ ID NO:606和607。

[0099] 图16是显示转染本发明RNAi构建体后MAP4K4表达沉默相关参数 之比较的图和几个表格。rxRNA构建体对应于SEQ ID NO:604和605。 14-3-14 soloRNA构建体对应于SEQ ID NO:606和607.13/19双链体 (缺 口构建体) 对应于SEQ ID NO:597和598。12-bp soloRNA构建体对应于 SEQ ID NO:602和603。

[0100] 图17是显示用于靶向SOD1表达的RNAi构建体和对照的实例的示 意图。12084 RNAi构建体对应于SEQ ID NO:612和613。

[0101] 图18是显示转染本发明RNAi构建体后SOD1表达的图。所测试的 RNAi构建体为 12084 (缺口) 、12086 (13nt双链体) 、12090 (无茎配对) 和 12035 (13nt MiniRNA) 。转染结果与未转染对照样品相比较。12084 RNAi 构建体对应于SEQ ID NO:612和613。12086 RNAi构建体对应于SEQ ID NO:608和609。12035 RNAi构建体对应于SEQ ID NO:610和611。

[0102] 图19是显示转染本发明RNAi构建体后24小时SOD1表达的图。所 测试的RNAi构建体为：10015 (SOD1 rxRNA) 和12084 (SOD1缺口构建 体) 。转染结果与填充物对照样品相比较。10015 RNAi构建体对应于SEQ ID NO:614和615。12084 RNAi构建体对应于SEQ ID NO: 612和613。

[0103] 图20是说明具有小于10个核苷酸的双链区的RNA分子不被Dicer 切割的示意图。

[0104] 图21为显示用于RNA诱导基因沉默的假想RNAi模型的示意图。

[0105] 图22为显示不对称RNAi化合物的化学优化的图。化学修饰的存在 (尤其是引导链上的2' F UC、硫代磷酸酯修饰以及负载链上的完全CU 2' OMe修饰) 产生了功能性化合物。显示了采用特定修饰的RNAi分子 进行的脂质介导转染后的MAP4K4沉默。所测试的RNAi分子具有13个 核苷酸长的有义链并包含以下修饰：未修饰；C和U 2' OMe；C和U 2' OMe并且3' Ch1；rxRNA 2' Ome模式；除1位碱基外全部2' OMe。此外， 所测试的RNAi分子的引导(反义) 链包含以下修饰：未修饰；未修饰并 具有5' P；C和U 2' F；C和U 2' F并且3' 末端8PS；以及未修

饰(长17nt)。还显示了rxRNA 12/10双链体和阴性对照的结果。

[0106] 图23证明,本文所述的化学修饰显著提高了HeLa细胞中RNAi分子的体外无协助递送的效力。没有改变化合物的结构和序列;只改变了分子的化学修饰模式。无2' F、2' O-me、硫代磷酸酯修饰或胆固醇缀合物的化合物完全没有被动摄取活性。所有4种这些修饰类型的组合产生了最高水平的活性(化合物12386)。

[0107] 图24是显示在被动摄取转染了NT Accell修饰siRNA、MAP4K4 Accell siRNA、Non-Chl nanoRNA (12379) 和sd-nanoRNA (12386) 后HeLa 细胞中MAP4K4表达的图。

[0108] 图25是显示在被动摄取转染了包含以下参数的多种浓度的RNA分子后HeLa细胞中MAP4K4表达的图:Nano Lead无3' Chl;Nano Lead; Accell MAP4K4;21mer GS,8PS尾; 21mer GS,12PS尾;以及25mer GS,12PS尾。

[0109] 图26为证明寡核苷酸含量的降低提高了无协助摄取效率的图。对不对称化合物、传统siRNA化合物和25mer RNAi化合物进行相似的化学修饰。证明不对称小化合物具有最显著的效力。

[0110] 图27为证明硫代磷酸酯含量对无协助递送的重要性的图。图27A显示了系统性筛选的结果,其揭示引导链中至少2-12个硫代磷酸酯的存在显著提高了摄取;在一些实施方案中,发现4-8个硫代磷酸酯修饰是优选的。图27B揭示有义链中硫代磷酸酯修饰的存在与否不改变效力。

[0111] 图28是显示被动摄取转染Accell Media-Ctrl-UTC;MM APOB Alnylam;活性APOB Alnylam;nanoRNA无ch1;nanoRNA MAP4K4;小鼠MAP4K4 Accell Smartpool;DY547 Accell 对照;具有Dy547的Luc对照rxRNA;具有DY547的MAP4K4 rxRNA;和单独的AS链(nano)后原代小鼠肝细胞中MAP4K4表达的图。

[0112] 图29是显示被动摄取转染Accell Media-Ctrl-UTC;MM APOB Alnylam;活性APOB Alnylam;nanoRNA无ch1;nanoRNA MAP4K4;小鼠MAP4K4 Accell Smartpool;DY547 Accell 对照;具有Dy547的Luc对照rxRNA;具有DY547的MAP4K4 rxRNA;和单独的AS链(nano)后原代小鼠肝细胞中ApoB表达的图。

[0113] 图30是显示被动摄取转染11550 MAP4K4 rxRNA;12544 MM MAP4K4 nanoRNA;12539活性MAP4K4 nanoRNA;Accell培养基;和 UTC后原代人肝细胞中MAP4K4表达的图。

[0114] 图31显示被动摄取转染12505活性ApoB chol-siRNA;12506 MM ApoB chol-siRNA;Accell Media;和UTC后原代人肝细胞中ApoB表达的图。

[0115] 图32是显示sd-rxRNA^{nano}定位位置的图。

[0116] 图33是显示Chol-siRNA (Alnylam) 定位的图。

[0117] 图34为本发明第一代(G1) sd-rxRNA^{nano}分子的示意图,显示了修饰所靶向的区域以及分子不同区域的相关功能。

[0118] 图35显示为优化sd-rxRNA^{nano} (G1) 而筛选的修饰模式。在引导链 上筛选的修饰包括19、21和25个核苷酸的长度,0-18个核苷酸的硫代磷酸酯修饰,以及用2' OMe、5甲基C和/或核糖胸昔修饰替换2' F修饰。所筛选的有义链修饰包括11、13和19个核苷酸的长度,0-4个核苷酸的 硫代磷酸酯修饰和用2' OMe进行修饰。

[0119] 图36为显示为优化而进行筛选的sd-rxRNA^{nano}修饰的示意图。

[0120] 图37为显示转染Risc游离siRNA;rxRNA;Nano (未修饰);单独的 GS;Nano Lead (无

Ch1) ; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 8PS, 19 nt) ; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 8PS, 21nt) ; Nano (GS: 1、18 和19位的 (3) 2' OMe, 12PS, 21nt) ; 和Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 12PS, 25nt) 后Hek293细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0121] 图38为显示被动摄取转染了单独的GS; Nano Lead; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 8PS, 19nt) ; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 8PS, 21nt) ; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 12PS, 21nt) ; Nano (GS: 1、18和19位的 (3) 2' OMe, 12PS, 25nt) 后HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0122] 图39为显示脂质介导转染了单独的引导链 (GS: 8PS, 19nt) ; 单独的 引导链 (GS: 18PS, 19nt) ; Nano (GS: 无PS, 19nt) ; Nano (GS: 2PS, 19nt) ; Nano (GS: 4PS, 19nt) ; Nano (GS: 6PS, 19nt) ; Nano Lead (GS: 8PS, 19 nt) ; Nano (GS: 10PS, 19nt) ; Nano (GS: 12PS, 19nt) ; 和 Nano (GS: 18 PS, 19nt) 后Hek293细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0123] 图40为显示脂质介导转染了单独的引导链 (GS: 8PS, 19nt) ; 单独的 引导链 (GS: 18PS, 19nt) ; Nano (GS: 无PS, 19nt) ; Nano (GS: 2PS, 19nt) ; Nano (GS: 4PS, 19nt) ; Nano (GS: 6PS, 19nt) ; Nano Lead (GS: 8PS, 19 nt) ; Nano (GS: 10PS, 19nt) ; Nano (GS: 12PS, 19nt) ; 和 Nano (GS: 18 PS, 19nt) 后Hek293细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0124] 图41为显示被动摄取转染了Nano Lead (无Ch1) ; 单独的引导链 (18 PS) ; Nano (GS: 0PS, 19nt) ; Nano (GS: 2PS, 19nt) ; Nano (GS: 4PS, 19 nt) ; Nano (GS: 6PS, 19nt) ; Nano Lead (GS: 8PS, 19nt) ; Nano (GS: 10 PS, 19nt) ; Nano (GS: 12PS, 19nt) ; 和Nano (GS: 18PS, 19nt) 后HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0125] 图42为显示被动摄取转染了Nano Lead (无Ch1) ; 单独的有义链 (18 PS) ; Nano (GS: 0PS, 19nt) ; Nano (GS: 2PS, 19nt) ; Nano (GS: 4PS, 19 nt) ; Nano (GS: 6PS, 19nt) ; Nano Lead (GS: 8PS, 19nt) ; Nano (GS: 10 PS, 19nt) ; Nano (GS: 12PS, 19nt) ; 和Nano (GS: 18PS, 19nt) 后HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0126] 图43为显示为优化而筛选的引导链化学修饰的示意图。

[0127] 图44为显示反向转染 (reverse transfection) 了RISC游离 siRNA; 单独的GS (2' F C和U) ; 单独的GS (2' OMe C和U) ; Nano Lead (2' F C和 U) ; nano (GS: (3) 2' OMe, 16-18位) ; nano (GS: (3) 2' OMe, 16、17和19位) ; nano (GS: (4) 2' OMe, 11、16-18位) ; nano (GS: (10) 2' OMe, C和U) ; nano (GS: (6) 2' OMe, 1和5-9位) ; nano (GS: (3) 2' OMe, 1、18和19位) ; 以及 nano (GS: (5) 2' OMe C) 后Hek293细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0128] 图45为展示多种化学修饰模式的效力的图。特别地, 1和11-18位的 2'-OMe修饰的容忍度很高。种子区的2' OMe修饰导致效力的轻微降低(但 效力仍旧很高)。种子区的核糖修饰的容忍度很高。这些数据使得可以产生减少2' F修饰或无2' F修饰的自递送化合物。这具有重要意义, 因为2' F 修饰可与体内毒性相关。

[0129] 图46为有义链修饰的示意图。

[0130] 图47为显示有义链长度优化的图。在该测定中发现10-15个碱基长 的有义链是最佳的。增加有义链长度导致这些化合物被动摄取的降低, 但 对于其它化合物来说是可容忍的。包含LNA修饰的有义链显示出与不包 含LNA的化合物具有相似的效力。在一些实施方案中, 加入LNA或其 它热动力稳定性化合物可为有益的, 导致将非功能性序列转化为功能性序 列。

[0131] 图48为显示被动摄取转染了单独的有义链(2' F C和U) ; Nano Lead; Nano Lead(无Ch1); Nano (SS:11nt 2' OMe C和U, Ch1); Nano (SS:11nt, 完全2' OMe, Ch1); Nano (SS:19nt, 2' OMe C和U, Ch1); Nano (SS:19nt, 2' OMe C和U, 无Ch1) 后HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0132] 图49为显示被动摄取转染Nano Lead(无Ch1); Nano (SS无PS); Nano Lead (SS:2PS); Nano (SS:4PS) 后HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的图。

[0133] 图50是表示第二代(GII) sd-rxRNA^{nano}lead分子的示意图。

[0134] 图51为显示sd-rxRNA存在下MAP4K4沉默的EC50值的图, 和显示DY547标记的rxRNA^{ori}和DY547标记的sd-rxRNA的定位的图。

[0135] 图52为优化的sd-rxRNA分子存在下HeLa细胞中MAP4K4表达百分比的显示图。

[0136] 图53为表示化学修饰含量在sd-rxRNA效力优化中的相关性的图。

[0137] 图54为表示固醇类分子的示意图, 和表明具有多种接头化学结构的sd-rxRNA化合物具有完整功能的图。用通过TEG和氨基己酸接头连接固醇类分子来合成GII不对称化合物。两种接头显示相同的效能。这种接头化学结构的功能独立性显示了本文所述分子和之前所述分子的显著不同, 并为本文所述分子的规模扩大和合成提供了显著优势。

[0138] 图55展示了与未修饰RNA相比, 化学修饰的sd-rxRNA化合物在人血清中的稳定性。将寡核苷酸在37℃下在75%的血清中孵育所示的小时数。通过将样品在非变性凝胶上电泳并用SYBGR染色来确定降解水平。

[0139] 图56为通过使寡核苷酸含量尽可能小来优化sd-rxRNA细胞摄取的图。

[0140] 图57为显示小鼠PEC衍生巨噬细胞中sd-rxRNA自发细胞摄取后 MAP4K4表达的百分比的图, 以及显示sd-rxRNA定位的相和荧光图。

[0141] 图58为显示小鼠原代肝细胞中sd-rxRNA(靶向) 和sd-rxRNA(错配) 自发细胞摄取后MAP4K4表达百分比的图, 以及显示sd-rxRNA位置的相和荧光图。

[0142] 图59为显示不使用制剂递送到RPE细胞的DY547标记sd-rxRNA 的定位的示意图。

[0143] 图60为显示不使用制剂用sd-rxRNA^{nano}处理的RPE细胞中MAP4K4 表达沉默的图。

[0144] 图61为RNAi化合物的图和示意图, 其显示了高效sd-rxRNA化合物的化学/结构组成。发现高效化合物具有以下特征: 17-21个核苷酸的反义链, 10-15个核苷酸的有义链, 含有2-12个硫代磷酸酯修饰(优选6-8个硫代磷酸酯修饰)的单链区, 和大部分核苷酸被2' OMe修饰(有或没有硫代磷酸酯修饰)的有义链。可采用任何接头化学结构将这些分子在有义链3'末端与疏水部分(如胆固醇)连接。这些RNA化合物的GII a-b 形式证明2' F含量的消除对效力无影响。

[0145] 图62显示了RNAi化合物的图和示意图, 其证明与Wolfrum等 Nature Biotech, 2007发表的化合物, 相比sd-rxRNA化合物具有更好的性能。本文开发的I代和II代化合物(GI和GIIa) 均显示很好的效力。与之不同, 当将Wolfrum等所述的化学结构(所有寡聚物包含缀合到有义链3'末端的胆固醇)应用于常规siRNA(19bp双链体, 有2突出端)的相同序列上时, 化合物基本无活性。这些数据强调了将本文所述的化学修饰和不对称分子组合而产生高效RNA化合物的重要性。

[0146] 图63为显示sd-rxRNA在细胞内累积, 而其它效力较低的缀合RNA 在细胞表面累积的图。

- [0147] 图64为显示sd-rxRNA分子在几分钟内内化入细胞中,而其他分子 则不然。
- [0148] 图65显示了证明与常规胆固醇缀合siRNA(如在Soucheck等中发 表的那些)相比, sd-rxRNA化合物具有明显更佳的细胞和组织摄取特征 的图。图65A、B比较了RPE细胞中的摄取,图65C、D比较了局部施 用到皮肤后的摄取,图65E、F比较了全身施用后的肝摄取。与普通siRNA- 胆固醇化合物相比, sd-rxRNA化合物的摄取水平至少高一个数量级。
- [0149] 图66为显示局部递送后rxRNA^{ori}和sd-rxRNA的定位的图。
- [0150] 图67为显示局部递送后sd-rxRNA和其它缀合RNA的定位的图。
- [0151] 图68为显示筛选结果的图,所述筛选用sd-rxRNAGII化学结构进行, 以鉴定靶向SPP1基因的功能性化合物。鉴定出多种有效化合物,其中 14131最有效。将化合物加入A-549细胞并在48小时后通过B-DNA确定 SPP1/PPIB的比值水平。
- [0152] 图69为显示在几分钟的接触中sd-rxRNA的有效细胞摄取的图和几 个图像。这是本文所述的sd-rxRNA化合物的独特特征,在其它任何RNAi 化合物中未观察到。用Soutschek等的化合物作为阴性对照。
- [0153] 图70为证明多种细胞类型中多种序列的sd-rxRNA化合物有效摄取 及沉默的图和几个图像。在每种情况下通过用分支DNA测定来观察靶基 因表达,以测定沉默。
- [0154] 图71为显示在存在和不存在血清的情况下sd-rxRNA有活性的图。在存在血清时观察到效力的微小降低(2-5倍)。这种在血清存在时效力的 极小降低将本文所述的sd-rxRNA化合物与之前所述的RNAi化合物区分开来,后者的效力有极大的降低,因此这是本文所述的sd-rxRNA分子体 内效力的基础。
- [0155] 图72是证明在单次真皮内注射本文所述sd-rxRNA化合物后有效组 织渗透和细胞 摄取的图。这代表了局部递送sd-rxRNA化合物的模型,并 有效证明了皮肤施用时sd-rxRNA 化合物的递送和基因沉默。
- [0156] 图73是证明真皮内注射后sd-rxRNA有效细胞摄取和体内沉默的图 像和图。
- [0157] 图74是证明sd-rxRNA在全身施用后具有改善的血液清除并在肝中 体内诱导有效 基因沉默的图。
- [0158] 图75为证明5-甲基C在RNAi化合物中的存在导致脂质介导转染效 率提高的图,这 证明在RNAi化合物中C和U的疏水修饰可以是有利的。在一些实施方案中,可在2' 核糖修饰 碱基的情况下采用这种类型的修饰, 以保证最佳的稳定性和效力。
- [0159] 图76为显示被动摄取转染了单独的引导链;Nano Lead;Nano Lead (无胆固醇); 引导链w/5MeC和单独的2' F U;Nano Lead w/GS 5MeC和 2' F U;Nano Lead w/GS riboT和5 甲基C; 和Nano Lead w/引导dT和5 甲基C后MAP4K4表达百分比的图。
- [0160] 图77为在全身递送至肝后比较sd-rxRNA和其它RNA缀合物的定位 的图。
- [0161] 图78为证明5-尿苷修饰具有改进的疏水特征的示意图。将这种修饰 掺入sd- rxRNA化合物可提高细胞和组织摄取特性。图78A代表用于掺入 RNA具有改进的疏水特征的 5-尿苷修饰之5' -O-DMT3' -亚磷酸酰胺形式的 合成子。图78B为可应用于化合物以提高细胞 摄取和药代动力学行为的 新型RNAi化合物修饰。当用于sd-rxRNA化合物时,该类型的修饰 可促 使这种化合物经口使用。
- [0162] 图79为显示合成的经修饰固醇类分子的结构的示意图,其中C17连 接尾的长度和 结构被修饰。不希望局限于任何理论,C17连接尾的长度可 提高sd-rxRNA化合物的体外和

体内效力。

- [0163] 图80为显示用石胆酸作为长侧链胆固醇的示意图。
- [0164] 图81为显示5-尿苷亚磷酰胺合成途径的示意图。
- [0165] 图82显示用于3' -胆固醇连接的三功能羟基脯氨酸接头的合成示意 图。
- [0166] 图83为显示用于制造更短的不对称RNAi化合物链的固体支持物合 成示意图。
- [0167] 图84显示了SPP1 sd-rxRNA化合物的选择。将靶向SPP1的 sd-rxRNA化合物加入A549细胞(采用被动转染)中,并在48小时后评 价SPP1的表达水平。鉴定了在SPP1沉默中有效的几种新化合物,其中 最具效力的为化合物14131。
- [0168] 图85显示sd-rxRNA化合物14116、14121、14131、14134、14139、 14149和14152在SPP1沉默中效力的独立验证。
- [0169] 图86显示了鉴定在CTGF敲低中具有功能的sd-rxRNA化合物的 sd-rxRNA化合物筛选结果。
- [0170] 图87显示了鉴定在CTGF敲低中具有功能的sd-rxRNA的sd-rxRNA 化合物筛选结果。
- [0171] 图88显示了鉴定不对称化合物最小长度的系统性筛选。将10-19碱 基的负载链与 17-25碱基的引导链杂交。在本测定中,发现双链体区短至 10碱基的化合物在诱导中有效。
- [0172] 图89证明有义链与引导链的相对位置对RNAi活性很重要。在该测 定中,发现平末端是最佳的,3' 突出端是可容忍的,而5' 突出端导致功能 的完全丧失。
- [0173] 图90证明只在2-17位核苷酸与靶标同源的引导链在与不同长度的有 义链杂交时能产生有效的RNAi。通过脂质介导的转染将化合物引入HeLa 细胞。
- [0174] 图91为可代替胆固醇用作疏水实体的一组固醇类分子的示意图。在 一些情况下,采用包含更长链的固醇类分子产生了具有显著更佳的细胞摄 取和组织分布特性的sd-rxRNA化合物。
- [0175] 图92为可代替胆固醇用作疏水实体的一组疏水分子的示意图。这些 列举只提供代表性实例;可采用本质上具有疏水性的任何小分子。

具体实施方式

[0176] 本发明的一些方面涉及与基因沉默相关的方法和组合物。本发明至少 部分基于以下惊人的发现,即具有极小长度(如8-14个核苷酸)双链区 的不对称核酸分子在基因表达沉默中有效。之前没有证明具有如此之短的 双链区的分子在介导RNA干扰中有效。之前推测,双链区必须为19个 核苷酸或更长。本文所述的分子通过化学修饰进行优化,并且在一些情况 下通过连接疏水缀合物进行优化。

[0177] 本发明至少部分基于另一个惊人的发现,即与常规siRNA相比,双 链区减小的不对称核酸分子的细胞摄取更加高效得多。这些分子在沉默靶 基因表达中具有很高效,并且与之前所述的RNAi分子相比提供了显著的 益处,包括在血清存在下具有高活性、有效的自递送、与多种接头相容、与毒性相关的化学修饰更少或完全不存在。

[0178] 与单链多核苷酸不同,很难将双链体多核苷酸递送到细胞,这是因为 它们具有刚 性结构以及大量的负电荷,这使膜转运很困难。出人意料的是,发现本发明的多核苷酸尽 管部分为双链,却在体内被识别为单链,因此, 其能透过细胞膜有效递送。因此本发明的多

核苷酸在多种自递送的情况下 可用。因此,本发明的多核苷酸可以类似于常规RNAi试剂的方式被制备,或可将它们单独地(或与非递送型载体一起)递送到细胞或对象,并使其 自递送。在本发明的一个实施方案中,提供了自递送不对称双链RNA分子,其中所述分子的一部分类似于常规RNA双链体,而所述分子的第二 部分为单链。

[0179] 本发明多核苷酸在本文中称为为本发明的分离的双链或双链体核酸、寡核苷酸或多核苷酸、纳米分子、纳米RNA、sd-rxRNA^{nano}、sd-rxRNA 或RNA分子。

[0180] 本发明的寡核苷酸在一些方面中具有以下特征的组合:包含双链区和5个核苷酸或更长的单链区的不对称结构、特定化学修饰模式以及与亲脂 或疏水分子缀合。这种新类型的RNAi样化合物在体外和体内具有极佳的 效力。根据本文所述的数据,认为减小刚性双链体区域大小与应用于单链 区的硫代磷酸酯修饰相组合是新颖的,并对所观察到的极佳效力是重要的。因此,本文所述的RNA分子在结构和组成以及体外和体内活性方面 均不同。

[0181] 在一个优选的实施方案中,本发明的RNAi分子包含不对称化合物,其包含双链区(有效RISC进入所需,10-15个碱基长)和4-12个核苷酸 长的单链区;并具有13核苷酸的双链体。在一些实施方案中优选6个核 苷酸的单链区。新RNAi化合物的单链区还包含2-12个硫代磷酸酯核苷 酸间连接(称为硫代磷酸酯修饰)。在一些实施方案中优选6-8个硫代磷酸酯核苷酸间连接。此外,本发明的RNAi化合物还包含独特的化学修饰 模式,这提供了稳定性并与RISC进入相容。这些要素的组合产生了对 RNAi试剂体外和体内递送非常有用的出人意料的特性。

[0182] 提供稳定性并与RISC进入相容的化学修饰模式包括对有义链(或负 载链)以及反义链(或引导链)的修饰。例如可采用加强稳定性并且不干 扰活性的任何化学实体修饰负载链。这些修饰包括2' 核糖修饰(0-甲基、2' F、2脱氧和其它)和骨架修饰,如硫代磷酸酯修饰。负载链中优选的 化学修饰模式包括负载链中C和U核苷酸的0甲基修饰,或者负载链可完全被0甲基修饰。

[0183] 例如,引导链也可被任何加强稳定性而不干扰RISC进入的化学修饰 进行修饰。引导链中优选的化学修饰模式包括大部分C和U核苷酸被2' F 修饰并且5' 末端被磷酸化。引导链中另一个优选的化学修饰模式包括1 位和11-18位的C/U的2' 0甲基修饰以及5' 末端的化学磷酸化。引导链 的另一个优选的化学修饰模式包括1位和11-18位的2' 0甲基修饰和5' 末端的化学磷酸化以及2-10位的C/U的2' F修饰。

[0184] 本发明出乎意料地发现,上述本发明寡核苷酸的化学修饰模式被很好 地容忍,并且实际上增强了不对称RNAi化合物的效力。参见如图22。

[0185] 本文还通过实验证明,在多核苷酸中使用RNAi修饰的组合时获得了 RNAi被动摄取的最佳效力。去除任何上述元素(引导链稳定化、硫代磷酸酯区段、有义链稳定化和疏水缀合物)或增加大小导致了亚最佳的效力,并且在一些情况下完全失去效力。要素的组合导致开发了在被动递送到细 胞(如HeLa细胞)后具有完全活性的化合物(图23)。要素组合所导致 的RNAi分子有效自递送程度是完全意想不到的。

[0186] 图26、27和43中显示的数据证明了RNAi的多种修饰在实现稳定性 和活性中的重要性。例如,图26证明采用不对称构型对被动摄取中效力 的实现非常重要。当将相同的化学组成应用于传统构型的化合物(19-21 个碱基的双链体和25mer双链体)时,效力以长度

依赖性方式显著降低。图27显示了硫代磷酸酯化学修饰对活性之影响的系统性筛选。将序列、结构、稳定化学修饰、疏水缀合物保持不变，并改变化合物的硫代磷酸酯含量(0至18个PS键)。无硫代磷酸酯键和具有18个硫代磷酸酯键的化合物均在被动摄取中完全无活性。具有2-16个硫代磷酸酯键的化合物是有活性的，其中具有4-10个硫代磷酸酯键的化合物为活性最高的化合物。

[0187] 以下实施例中的数据证明了本发明寡核苷酸在体外多种细胞类型中(支持数据)和体内在局部和全身施用后均具有高效力。例如，在数据中比较了具有不同化学结构的几种竞争RNAi分子使基因沉默的能力。将应用于相同靶标区域的sd-rxRNA(本发明寡核苷酸)和Soucheck等和Wolfrum等所述RNA进行的比较证明，只有sd-rxRNA化学结构在被动摄取中显示出显著的功能性。本发明的组合物达到10-50pM的EC50值。该效力水平是如Sauthceck等所述和Accell的常规化学结构不能达到的。在其它系统和其它基因中进行了类似地比较(图65和68)，所述系统如体外(RPE细胞系)，体内局部施用(受伤皮肤)和全身施用(50mg/kg)。在每种情况下本发明的寡核苷酸均达到更佳的结果。图64所包含的数据证明sd-rxRNA化合物在仅1分钟的接触后就发生有效的细胞摄取并导致沉默。这种效力是该组合物独有的，并且在该种类其他类型的分子中未发现。图70证明了在多种细胞类型中多种序列的sd-rxRNA化合物的有效摄取和沉默。所述sd-rxRNA化合物在存在或不存在血清和其它生物流体的情况下在细胞中也具有活性。图71证明在血清存在下活性只有少量降低。这种在不利生物环境中有效行使功能的能力进一步将sd-rxRNA化合物与其它该类所述化合物(如Accell和Soucheck等)区分开来，后者在血清存在下摄取被强烈抑制。

[0188] 大量数据还证明了本发明化合物的体内效力。例如图72-74涉及本发明化合物体内递送的多种途径均产生明显活性。例如图72证明在单次真皮内注射后有效的组织渗透和细胞摄取。这是sd-rxRNA化合物局部递送的模型和在任何皮肤施用中sd-rxRNA递送和基因沉默的有效模式。图73证明了体内局部真皮内注射sd-rxRNA化合物后的有效组织渗透、细胞摄取和沉默。图74的数据证明，sd-rxRNA化合物在IV施用后导致高效的肝摄取。与Souicheck等的分子进行的比较显示，相同剂量水平下肝摄取水平相当惊人，sd-rxRNA化合物比Souicheck等的分子至少高50倍。

[0189] 在一些情况下，可通过用新型化学结构改善化合物的疏水性来进一步改进sd-rxRNA。例如一个化学结构涉及采用疏水碱基修饰。只要修饰导致碱基的分配系数提高，则任何位置的任何碱基都可被修饰。修饰化学结构的优选位置为嘧啶碱基的4和5位。这些位置的主要优点为(a)易于合成，并且(b)对碱基配对和A型螺旋形成没有干扰，这对RISC复合体装载和靶标识别很重要。图75-83显示了这些化学结构的实例。所采用的一种sd-rxRNA化合物形式为存在多个脱氧尿苷并且不干扰整体化合物效力。此外，可通过优化疏水缀合物的结构来实现组织分布和细胞摄取的重大改进。在一些优选的实施方案中，修饰固醇的结构以改变(增加/减少)C17连接链。该类修饰导致细胞摄取的显著增加以及体内组织摄取特性的改进。

[0190] 本发明在应用中不受在以下说明或图示中给出的构建细节和组件安排的限制。本发明可以有其它的实施方案并以多种方式操作或实施。并且，本文所用的措辞和术语是为说明目的而不应作为限制。本文中“包括”、“包含”或“具有”、“含有”、“涉及”及其改变形式的使用旨在涵盖其后列举的条目和其等同方案以及另外的条目。

[0191] 因此,本发明的一些方面涉及包含引导(反义)链和负载(有义)链的分离的双链核酸分子。本文所用术语“双链”是指一个或更多个核酸分子,其中至少部分核酸单体为互补的并且具有氢键而形成双链区。在一些实施方案中,所述引导链长度为16-29个核苷酸。在一些实施方案中,所述引导链长度为16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29个核苷酸。所述引导链与靶基因具有互补性。引导链和靶基因之间的互补性可存在于所述引导链的任何部分中。本文所用的互补性可为完全互补性或不完全互补性,只要引导链与靶标的互补足以介导RNAi即可。在一些实施方案中,互补性是指引导链和靶标之间有少于25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%或1%的错配。完全互补性是指100%互补性。因此,本发明具有能容忍序列改变的优点,预计所述改变可由于基因突变、种系多态性或进化分支而产生。例如,也发现相对于靶序列具有插入、缺失和单点突变的siRNA序列在抑制中有效。此外,不是siRNA上的所有位置对靶识别都具有等效的作用。siRNA中央的错配是最致命的并且基本消除了靶标RNA切割。中央部分上游和对应反义链切割位点上游的错配可被允许,但显著降低靶RNA切割。中央部分或对应反义链的切割位点下游的错配(优选地位于反义链的3'末端附近,例如距离反义链3'末端1、2、3、4、5或6个核苷酸)可被允许,并且只是轻微地降低靶RNA的切割。

[0192] 不期望限制于任何特定理论,在一些实施方案中,所述引导链至少长16个核苷酸并且锚定于RISC中的Argonaute蛋白。在一些实施方案中,当引导链装载入RISC时,其具有确定的种子区(seed region)并且mRNA靶向切割发生在引导链10-11位。在一些实施方案中,引导链的5'末端被磷酸化或能被磷酸化。本文所述的核酸分子可称为最小触发RNA。

[0193] 在一些实施方案中,所述负载链的长度范围为8-14个核苷酸。在一些实施方案中,所述负载链为8、9、10、11、12、13或14个核苷酸长。所述负载链与引导链互补。负载链和引导链之间的互补性可存在于所述负载链或引导链的任何部分中。在一些实施方案中,在分子的双链区中引导链和负载链之间具有100%的互补性。

[0194] 本发明的一些方面涉及具有最小双链区的双链核酸分子。在一些实施方案中,所述分子的双链区的范围为8-14个核苷酸长。在一些实施方案中,所述分子的双链区为8、9、10、11、12、13或14个核苷酸长。在一些实施方案中所述双链区为13个核苷酸长。引导和负载链之间可有100%的互补性,或者引导链和负载链之间可有一个或更多个错配。在一些实施方案中,在双链分子的一个末端,所述分子为平末端或具有一个核苷酸的突出端。在一些实施方案中所述分子的单链区长4-12个核苷酸。例如所述单链区可为4、5、6、7、8、9、10、11或12个核苷酸长。然而,在一些实施方案中,单链区还可短于4个或长于12个核苷酸。在一些实施方案中,单链区长6个核苷酸。

[0195] 本发明的RNAi构建体可具有小于-13kkal/mol的热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中,所述热力学稳定性(ΔG)小于-20kkal/mol。在一些实施方案中,当(ΔG)小于-21kkal/mol时有效力丧失。在一些实施方案中,高于-13kkal/mol的(ΔG)值适用于本发明的一些方面。不希望限制于任何理论,在一些实施方案中,具有相对更高(ΔG)值的分子可在相对更高的浓度下变为有活性,而具有相对更低(ΔG)值的分子可在相对更低的浓度下变为有活性。在一些实施方案中,(ΔG)值可高于-9kkal/mol。包含最小双链区的本发明RNAi构建体所介导的基因沉默作用是意想不到的,这是由于已证明设计几乎相同但热力学稳定性更低的分子无活性(Rana等,2004)。

[0196] 不希望限制于任何理论,本文所述的结果表明8-10bp的dsRNA或 dsDNA区段将在结构上被RISC的蛋白组件或RISC的辅因子识别。此外,对于触发化合物有自由能需求,从而其可被蛋白质组分感应和/或足够稳定以与这些组分相互作用,从而使其可装载入Argonaute蛋白中。如果具有优化的热力学并且具有优选至少8个核苷酸的双链区,则双链体将被识别并装载入RNAi机器中。

[0197] 在一些实施方案中,通过采用LNA碱基提高热力学稳定性。在一些实施方案中,引入另外的化学修饰。化学修饰的一些非限制性实例包括:5' 磷酸酯、2' -O-甲基、2' -O-乙基、2' -氟代、核糖胸昔、C-5丙炔基-dC (pdC) 和C-5丙炔基-dU (pdU);C-5丙炔基-C (pC) 和C-5丙炔基-U (pU)、5-甲基C、5-甲基U、5-甲基dC、5-甲基dU甲氨基、(2,6-二氨基嘌呤)、5'-二甲氨基三苯甲基-N4-乙基-2'-脱氧胞昔和MGB(minor groove binder, 小沟结合剂)。应理解,可在同一分子中组合多于一种化学修饰。

[0198] 优化本发明的分子以增强效力和/或降低毒性。例如,引导链和/或负载链的核苷酸长度、和/或引导链和/或负载链的硫代磷酸酯修饰数可在一些方面影响RNA分子的效力,而用2' -O-甲基(2' OMe)修饰替换2' -氟(2' F)修饰可在一些方面影响分子的毒性。特别地,预计减少分子的2' F含量将减轻分子的毒性。实施例部分展示了去除2' F修饰的分子,其与之前所述的RNAi化合物相比,由于预计毒性降低而具有优势。此外, RNA 分子的硫代磷酸酯修饰数可影响分子的细胞摄取,例如分子被细胞被动摄取的效力。本文所述分子的优选实施方案不具有2' F修饰,而其特征为在细胞摄取和组织渗透中具有同样的效力。这些分子代表了相对于现有技术(如Accell和Wolfrum所述的分子,其通过大量使用2' F进行大规模修饰)的显著进步。

[0199] 在一些实施方案中,引导链长度约18-19核苷酸并具有约2-14个磷酸酯修饰。例如,引导链可包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14个或多于14个磷酸酯修饰的核苷酸。引导链可包含增加稳定性而不干扰RISC进入的一种或多种修饰。磷酸酯修饰的核苷酸(如硫代磷酸酯修饰的核苷酸)可在3' 末端、5' 末端或分散在整个引导链上。在一些实施方案中,所述引导链的3' 末端10个核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个硫代磷酸酯修饰核苷酸。所述引导链还可包含2' F和/或2' OMe修饰,其可位于整个分子上。在一些实施方案中,引导链1位的核苷酸(引导链最5' 末端位置的核苷酸)被2' OMe修饰和/或磷酸化。引导链中的C 和U核苷酸可被2' F修饰。例如,19nt引导链中2-10位(或不同长度引导链的相应位置)的C和U核苷酸可被2' F修饰。引导链中的C和U核苷酸也可被2' OMe修饰。例如,19nt引导链11-18位(或不同长度引导链的对应位置)的C和U核苷酸可被2' OMe修饰。在一些实施方案中,引导链3' 最末端的核苷酸未被修饰。在一些实施方案中,引导链中大部分 C和U为2' F修饰并且引导链的5' 末端被磷酸化。在另一些实施方案中,1位和11-18位的C或U被2' OMe修饰并且引导链的5' 末端被磷酸化。在另一些实施方案中,1位和11-18位的C或U被2' OMe修饰,引导链 5' 末端被磷酸化,并且2-10位的C或U被2' F修饰。

[0200] 在一些方面中,最佳的负载链长约11-14个核苷酸。负载链可包含增强稳定性的修饰。负载链的一个或更多个核苷酸可被2' OMe修饰。在一些实施方案中,负载链中一个或更多个C和/或U核苷酸被2' OMe修饰,或负载链中的所有C和U核苷酸被2' OMe修饰。在一些实施方案中,负载链的所有核苷酸被2' OMe修饰。负载链的一个或更多个核苷酸还可被磷酸酯修饰,如硫代磷酸酯修饰。负载链还可包含2' 核糖、2' F和2' 脱氧修饰或任何以上的组

合。如在实施例中证明的，引导链和负载链两者上的 化学修饰模式都被很好地容忍，并且本文表明化学修饰的组合产生增强的 效力和RNA分子的自递送。

[0201] 本发明的一些方面涉及RNAi构建体，其与之前用于RNAi的分子相 比，具有相对于双链区延长的单链区。可修饰分子的单链区以促进细胞摄 取或基因沉默。在一些实施方案中，单链区的硫代磷酸酯修饰影响细胞摄 取和/或基因沉默。引导链中硫代磷酸酯修饰的区域可包括分子双链和单 链区中的核苷酸。在一些实施方案中，单链区包含2-12个硫代磷酸酯修 饰。例如，单链区可包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个硫代 磷酸酯修饰。在一些 实施方案中，单链区包含6-8个硫代磷酸酯修饰。

[0202] 还优化了本发明分子的细胞摄取。在本文所述的RNA分子中，引导 和/或负载链可与缀合物结合。在一些实施方案中所述缀合物为疏水的。疏水缀合物可为分配系数高于10 的小分子。缀合物可为固醇类分子，如 胆固醇，或在C17上连接有长度提高的多碳链的分 子，并且缀合物的存 在可影响RNA分子在有或无脂质转染试剂的情况下被摄取入细胞的能力。缀合物可通过疏水接头与负载或引导链连接。在一些实施方案中，疏 水接头的长度为 5-12C₁，和/或基于羟基吡咯烷。在一些实施方案中，疏水 缀合物连接到负载链，并且负载 和/或引导链的CU残基被修饰。在一些 实施方案中，负载链和/或引导链中至少50%、55%、 60%、65%、70%、 75%、80%、85%、90%或95%的CU残基被修饰。在一些方面，本发 明的 分子是自递送 (self-delivering, sd) 的。本文所用的“自递送”是指 分子无需另外的递送载体(如转染试剂)被递送入细胞的能力。

[0203] 本发明的一些方面涉及选择用于RNAi的分子。根据本文所述的数 据，具有8-14个 核苷酸的双链区的分子可被选用于RNAi。在一些实施方 案中，根据分子的热力学稳定性 (ΔG) 选择分子。在一些实施方案中，可选择 (ΔG) 小于-13kkal/mol的分子。例如，(ΔG) 值 可为-13、-14、-15、 -16、-17、-18、-19、-21、-22或小于-22kkal/mol。在另一些实施方案中， (ΔG) 值可高于-13kkal/mol。例如，(ΔG) 值可为-12、-11、-10、-9、-8、 -7或大于-7kkal/ mol。应理解，可采用本领域已知任何方法计算 ΔG 。在 一些实施方案中，采用从Mfold网站 (<http://mfold.bioinfo.rpi.edu/cgi-bin/rna-form1.cgi>) 获得的Mfold计算 ΔG 。在一 些参考文献中描述了计算 ΔG 的方法，并且将这些参考文献通 过引用并入本文：Zuker, M. (2003) Nucleic Acids Res., 31 (13) :3406-15; Mathews, D.H., Sabina, J., Zuker, M. and Turner, D.H. (1999) J. Mol. Biol. 288:911-940; Mathews, D.H., Disney, M.D., Childs, J.L., Schroeder, S.J., Zuker, M., and Turner, D.H. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. 101: 7287-7292; Duan, S., Mathews, D.H., and Turner, D.H. (2006) Biochemistry 45:9819- 9832; Wuchty, S., Fontana, W., Hofacker, I.L., and Schuster, P. (1999) Biopolymers 49: 145-165。

[0204] 本发明的一些方面涉及将本文所述的核酸分子用于基因沉默，所述核 酸分子具有最小双链区和/或 (ΔG) 小于-13kkal/mol。RNAi分子可在体 内或体外施用，并且可在体 内或体外实现基因沉默效果。

[0205] 在一些实施方案中，多核苷酸包含5' 和/或3' 末端突出端。多核苷酸 一个末端的 突出端核苷酸的数量和/或序列可与多核苷酸另一末端的相同 或不同。在一些实施方案中，一个或更多个突出端核苷酸可包含化学修饰，如硫代磷酸酯修饰或2' OMe修饰。

[0206] 在一些实施方案中，多核苷酸未被修饰。在另一些实施方案，至少一 个核苷酸被

修饰。在另一些实施方案，所述修饰包括引导链5'末端第二个核苷酸的2' H或2'修饰核糖。所述“第二个核苷酸”被定义为多核苷酸5'末端的第二个核苷酸。

[0207] 本文所用“2'修饰核糖”包括不具有2' OH基团的那些核糖。“2'修饰核糖”不包括2'脱氧核糖(可见于未修饰的常规DNA核苷酸中)。例如，2'修饰核糖可为2'-0-烷基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟代核苷酸、2'-脱氧核苷酸或其组合。

[0208] 在一些实施方案中，2'修饰的核苷酸为嘧啶核苷酸(例如，C/U)。2'-0-烷基核苷酸的实例包括2'-0-甲基核苷酸或2'-0-烯丙基核苷酸。

[0209] 在一些实施方案中，具有上述5'末端修饰的本发明miniRNA多核苷酸与无所述5'末端修饰的类似构建体相比，显示显著更少(例如，至少约25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多)的“脱靶”基因沉默，因此极大地提高了RNAi试剂或疗法的整体特异性。

[0210] 本文所用“脱靶”基因沉默是指非预期的基因沉默，例如由于反义(引 导)序列与非预期靶mRNA序列之间的干扰性序列同源性。

[0211] 根据本发明的该方面，一些引导链修饰进一步增强核酸酶稳定性和/或减少干扰素诱导，而不会显著降低RNAi活性(或者完全不降低RNAi活性)。

[0212] 在一些实施方案中，5'茎序列可在多核苷酸的5'末端第二个核苷酸包含2'修饰核糖(如2'-0-甲基修饰核苷酸)，并且在一些实施方案中，无其它被修饰的核苷酸。具有这种修饰的发夹结构与所述位点无2'-0-甲基修饰的类似构建体相比，可具有增强的靶标特异性或减少的脱靶沉默。

[0213] 特定5'茎序列和3'茎序列修饰的一些组合可导致其它未意想不到的益处，部分表现为抑制靶基因表达能力增强、增强的血清稳定性和/或增强的靶标特异性等。

[0214] 在一些实施方案中，引导链在所述引导链5'末端的第二个核苷酸包含2'-0-甲基修饰的核苷酸，并且没有其它被修饰的核苷酸。

[0215] 在另一些方面中，本发明的miniRNA结构通过小RNA(microRNA)机制介导序列依赖性基因沉默。本文所用术语“小RNA”(“miRNA”)在本领域中也称为“小瞬时RNA”(“small temporal, sRNA”)，是指基因编码(例如由病毒、哺乳动物或植物基因组编码)的并能指导或介导RNA沉默的小(10-50个核苷酸)RNA。“miRNA病症”是指特征为miRNA表达或活性异常的疾病或病症。

[0216] 小RNA在小鼠、蠕虫和哺乳动物中参与关键途径(如发育和癌症)中靶基因的下调。小RNA机制的基因沉默通过miRNA与其靶信使RNA(mRNA)之间特异性但不完全匹配的碱基配对来实现。小RNA介导的靶mRNA表达下调中可利用多种机制。

[0217] miRNA为约22个核苷酸长的非编码RNA，其可在植物和动物发育过程中在转录后或翻译水平调节基因表达。miRNA一个普遍特征是它们均是从约70个核苷酸的前体RNA茎环(称为前miRNA)中切割所得(可能通过RNase III型酶Dicer或其同源物切割)。天然miRNA在体内由内源基因表达，并由Dicer或其它RNase从发夹或茎环前体(pre-miRNA或pri-miRNA)加工而得。miRNA可在体内以双链体形式瞬时存在，但只有一条链被RISC复合体利用以介导基因沉默。

[0218] 在一些实施方案中描述了在细胞摄取和抑制miRNA活性方面有效的sd-rxRNA化合物形式。基本上所述化合物与进入RISC的形式相似，但是优化了长链化学修饰模式以阻

止切割并作为RISC作用的有效抑制剂。例如，化合物可被完全或大部分被0甲基修饰并具有上述的PS含量。对于这种类型的化合物，5' 磷酸化不是必要的。优选具有双链区，由于这促进细胞摄取和高效的RISC装载。

[0219] 将小RNA用作序列特异调节剂的另一种途径为RNA干扰 (RNAi) 途径，其是对细胞中双链RNA (dsRNA) 存在的进化保守性应答。dsRNA 通过Dicer被切割成~20碱基 (bp) 的小干扰RNA (siRNA)。这些小RNA 组装成称为RNA诱导沉默复合体 (RISC) 的多蛋白效应物。而后 siRNA 引导完全互补的靶mRNA的切割。

[0220] siRNA途径和miRNA途径的生物起源、蛋白质复合体和功能的一些 方面相同。单链多核苷酸对象可在siRNA机制中模拟dsRNA，或在 miRNA机制中模拟microRNA。

[0221] 在一些实施方案中，修饰的RNAi构架体与具有相同序列的未修饰 RNAi构建体相比，可在血清和/或脑脊液中具有改进的稳定性。

[0222] 在一些实施方案中，RNAi构建体的结构不在原代细胞中诱导干扰素 应答，所述原代细胞如哺乳动物原代细胞，包括人、小鼠和其它啮齿动物 或其它非人哺乳动物的原代细胞。在一些实施方案中，也可用RNAi构建 体在无脊椎生物中抑制靶基因的表达。

[0223] 为了进一步增强本发明构建体在体内的稳定性，可用保护基团封闭发 夹结构的3' 末端。例如，可采用诸如反向核苷酸、反向无碱基结构或氨基 末端修饰的核苷酸的保护基团。反向核苷酸可包括反向脱氧核苷酸。反向 无碱基结构可包含反向脱氧无碱基结构，如3' ,3' 连接或5' ,5' 连接的脱氧 无碱基结构。

[0224] 本发明的RNAi构建体能抑制靶基因所编码的任何靶蛋白质的合成。本发明包括在体外或体内细胞中抑制靶基因表达的方法。因此，本发明的 RNAi构建体可用于治疗患有特征为靶基因过表达的疾病的患者。

[0225] 靶基因可为细胞内源或外源的(例如通过病毒或采用重组DNA技术 引入细胞的)。这种方法可包括将RNA以足以抑制所述靶基因表达的量 引入细胞。例如，这种RNA分子可具有与靶基因核苷酸序列互补的引导 链，以使所述组合物抑制所述靶基因的表达。

[0226] 本发明还涉及表达本发明核酸的载体，以及包含这种载体或核酸的细 胞。所述细胞可为体内或培养物中的哺乳动物细胞，如人细胞。

[0227] 本发明还涉及含有本发明RNAi构建体以及可药用载体或稀释剂的 组合物。

[0228] 本发明的另一方面提供了在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法，其包括使所述哺乳动物细胞与任何本发明RNAi构建体接触。

[0229] 所述方法可在体外、离体或体内进行，如在培养的哺乳动物细胞中(如 培养的人细胞)。

[0230] 靶细胞(例如哺乳动物细胞)可在递送试剂(如脂质(例如阳离子脂 质)或脂质体)的存在下进行接触。

[0231] 本发明的另一方面提供了在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法，其包括使所述哺乳动物细胞与表达本发明RNAi构建体的载体接触。

[0232] 在本发明的一个方面，提供了更长的双链体多核苷酸，其包括大小约 16至约30个核苷酸的第一多核苷酸和大小约26至约46个核苷酸的第二 多核苷酸，其中所述第一多核苷酸(反义链)与所述第二多核苷酸(有义 链) 和靶基因两者都互补，并且其中两个多核苷酸形成双链体，并且其中 所述第一多核苷酸包含长度长于6个碱基的单链区并且用备选化

学修饰 模式修饰,和/或包含便于细胞递送的缀合物结构。在本实施方案中,约 40%至约 90%的负载链核苷酸,约40%至约90%的引导链核苷酸和约 40%至约90%的第一多核苷酸单链区的核苷酸是化学修饰核苷酸。

[0233] 在一个实施方案中,双链体多核苷酸中的化学修饰核苷酸可为本领域 已知的任何化学修饰核苷酸,如以上详细讨论的那些。在一个具体实施方案中,化学修饰核苷酸选自2' F修饰的核苷酸、2' -O-甲基修饰的核苷酸 和2' 脱氧核苷酸。在另一个具体实施方案中,化学修饰的核苷酸是由所述 核苷酸碱基的“疏水修饰”所产生的。在另一个具体实施方案中,化学修饰的核苷酸为硫代磷酸酯。在另一具体实施方案中,化学修饰的核苷酸为 硫代磷酸酯、2' -O-甲基、2' 脱氧、疏水修饰和硫代磷酸酯的组合。由于这些修饰基团是指对核糖环、骨架和核苷酸的修饰,可行的是一些经修饰的 核苷酸具有所有三种修饰的组合。

[0234] 在另一个实施方案中,在双链体不同区域之间化学修饰不同。在一个 具体实施方案中,第一多核苷酸(负载链)在多个位置具有大量不同的化 学修饰。对于该多核苷酸而言,多达90%的核苷酸可被化学修饰和/或具 有引入的错配。

[0235] 在另一个实施方案中,第一或第二多核苷酸的化学修饰包括但不限于 尿苷和胞苷的5' 位修饰(4-吡啶基、2-吡啶基、吲哚基、苯基(C_6H_5OH) ;色 氨酰基(C_8H_6N) $CH_2CH(NH_2)CO$)、异丁基、丁基、氨基苄基;苯基;萘 基等),其中化学修饰可能改变核苷酸的碱基配对能力。对于引导链,本 发明该方面的一个重要特征是化学修饰相对于反义序列5' 末端的位置。例 如,引导链5' 末端的化学磷酸化通常对效力有利。有义链种子区(对于5' 末端的2-7 位)的O-甲基修饰通常不易被容忍,而2' F和脱氧修饰被很 好地容忍。在应用的化学修饰类型中,引导链的中间部分和引导链的3' 末端更易容忍。引导链3' 末端的脱氧修饰无法容忍。

[0236] 本发明该方面的独特特点涉及在碱基上使用疏水修饰。在一个实施方案中,疏水修饰优选地位于引导链5' 末端附近,在另一些实施方案中,它们位于引导链的中央,在另一些实施方案中,它们位于引导链的3' 末端, 在又一实施方案中,它们分布在多核苷酸的全长上。对于双链体中的负载 链可应用相同类型的模式。

[0237] 分子的其它部分为单链区。预计单链区为7至40个核苷酸。

[0238] 在一些实施方案中,第一多核苷酸的单链区包含选自以下的修饰, 40%至90%的疏水碱基修饰,40%至90%的硫代磷酸酯,40%-90%的核 糖结构修饰,以及上述的任何组合。

[0239] 引导链(第一多核苷酸)装载入RISC复合体的效力对于大量修饰的 多核苷酸来说可能改变,因此在一个实施方案中,双链体多核苷酸在引导 链(第一多核苷酸)9、11、12、13 或14位核苷酸和有义链(第二多核 苷酸)的相对核苷酸之间含有错配,以促进引导链的高 效装载。

[0240] 在以下部分描述本发明的更详细方面。

[0241] 双链体特征

[0242] 本发明的双链寡核苷酸可由两个独立的互补核酸链形成。双链体形成 可在含有 靶基因的细胞之内或之外发生。

[0243] 本文所用术语“双链体”包括与互补序列氢键连接的双链核酸分子区。本发明的 双链寡核苷酸可包含与靶基因同义的核苷酸序列和与靶基因反 义的互补序列。例如对应

于靶基因的有义和反义核苷酸序列与靶基因序列 相同,或具有实现靶基因抑制作用的充分同一性(例如,约具有至少约 98% 的同一性、96% 的同一性、94%、90% 的同一性、85% 的同一性或 80% 的同一性)。

[0244] 在一些实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在其全长上均为双链的,即在分子的两个末端无突出的单链序列,即为平末端。在另一些实施方案,个体核酸分子的长度可不同。也就是说,本发明的双链寡核苷酸并非在其 全长上都是双链。例如,当采用两个独立的核酸分子时,一个分子(例如,包含反义序列的第一分子)可比与其杂交的第二分子更长(使得分子的一 部分为单链)。同样,当使用单个核酸分子时,该分子任一末端的部分可 保持单链。

[0245] 在一个实施方案中,本发明的双链寡核苷酸包含错配和/或环或凸出 部,但在所述寡核苷酸的至少约70%的长度上为双链。在另一实施方案 中,本发明的双链寡核苷酸在所述寡核苷酸至少约80%的长度上为双链 的。在另一实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在所述寡核苷酸至少约 90-95%的长度上为双链的。在另一实施方案中,本发明的双链寡核苷酸 在所述寡核苷酸至少约96-98%的长度上为双链的。在一些实施方案中, 本发明的双链寡核苷酸包含至少或至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、 11、12、13、14或15个错配。

[0246] 修饰

[0247] 本发明的核苷酸可在多个位点被修饰,包括糖部分、磷酸二酯键和/ 或碱基。

[0248] 糖部分包括天然、未修饰的糖(例如单糖(如戊糖,如核糖、脱氧核 糖))、修饰的糖 和糖类似物。一般地,对核酸单体尤其是糖部分的可能修 饰包括,例如,用卤素、杂原子、脂 肪族基团替换一个或更多个羟基,或 将羟基功能化为醚、胺、硫醇等。

[0249] 一组特别有用的修饰核酸单体为2'-0-甲基核苷酸。这种2'-0-甲基核 苷酸可被 称为“甲基化”,相应的核苷酸可从未甲基化的核苷酸进行烷基 化而制得,或直接由甲基化的核苷酸试剂制得。修饰的核酸单体可与未修 饰的核酸单体组合使用。例如,本发明的寡 核苷酸可包含甲基化和未甲基 化的核酸单体两者。

[0250] 修饰的核酸单体的一些实例包括糖或骨架修饰的核糖核苷酸。修饰的 核糖核苷 酸可包含非天然的碱基(而不是天然碱基),如5' 位修饰的尿苷 或胞苷(例如,5' -(2-氨基)丙基尿苷和5' -溴代尿苷);8位修饰的腺苷和 鸟苷(例如,8-溴代鸟苷);脱氮核苷酸(如7- 脱氮腺苷)和N-烷基化核 苷酸(例如N6-甲基腺苷)。并且,糖修饰的核糖核苷酸可将2' -OH 基团 替换为H、烷氧基(或OR)、R或烷基、卤素、SH、SR、氨基(如NH₂、 NHR、NR₂)、或CN基团,其 中R为低级烷基、烯基或炔基。

[0251] 修饰的核糖核苷酸还可将连接相邻核糖核苷酸的磷酸二酯基团替换 为修饰基 团,如硫代磷酸酯基团。更通常地,可组合多种核苷酸修饰。

[0252] 尽管至少对于碱基配对特性而言,反义(引导)链可与靶基因(或多 个靶基因)的 至少一部分基本相同,但序列不必完全相同才能用于如抑制 靶基因表型的表达。一般地, 可用较高同源性来补偿更短反义基因的使用。在一些情况下,反义链通常与靶基因基本一 致(尽管以反义方向)。

[0253] 在需要使细胞胁迫应答尽可能小的情况下,2' -0-甲基修饰RNA的使 用也可为有 利的。具有2' -0-甲基核酸单体的RNA可能不会被认为识别 未修饰RNA的细胞机制所识别。 采用2' -0-甲基或部分2' -0-甲基RNA 可避免对双链核酸的干扰素应答,同时保持对靶RNA

的抑制。这可用于 例如在诱导干扰素应答的短RNAi (例如, siRNA) 序列以及诱导干扰素 应答的更长RNAi序列的情况下避免干扰素或其它细胞胁迫应答。

[0254] 总体上,修饰的糖可包括D-核糖、2'-O-烷基(包括2'-O-甲基和2'-O-乙基),即2'-烷氧基、2'-氨基、2'-S-烷基、2'-卤代(包括2'-氟代)、2'-甲氧基乙氧基、2'-烯丙氧基(-OCH₂CH=CH₂)、2'-炔丙基、2'-丙基、乙炔基、乙烯基、丙烯基和氰基等。在一个实施方案中,糖部分可为己糖并如所述 地掺入寡核苷酸中(Augustyns, K. 等, Nucl. Acids. Res. 18: 4711 (1992))。如美国专利No. 5,849,902中有示例性核酸单体,其通过引用并入本文。

[0255] 术语“烷基”包括饱和脂肪族基团,其包括直链烷基基团(例如,甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基等)、有支链的烷基基团(异丙基、叔丁基、异丁基等)、环烷基(脂环族)基团(环丙基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基)、烷基取代的环烷基基团 和环烷基取代的烷基基团。在一些实施方案中,直链或有支链的烷基在其 骨架中具有6或更少的碳原子(例如对于直链为C₁-C₆,对于支链为 C₃-C₆),并更优选地具有4个或更少。同样,优选的环烷基在其环结构中 具有3-8个碳原子,并且更优选地在环结构中具有5或6个碳原子。术语 C₁-C₆包括包含1-6个碳原子的烷基基团。

[0256] 而且除非另外特别说明,术语烷基包括“未取代烷基”和“取代烷基”两者,后者是指其中烃骨架的一个或多个碳上的氢被独立选择的取代基替 换的烷基结构。这种取代基可包括,例如,烯基、炔基、卤素、羟基、烷 基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰 氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷 基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基(包括烷基 氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包 括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧化物、硫酸、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基 芳基或芳烃或杂芳烃部分。环烷基可被进一步取代,例如,用上述取代基 进一步取代。“烷基芳基”或“芳基烷基”结构是芳基取代的烷基(例如, 苯甲基(苄基))。术语“烷基”还包括天然或非天然氨基酸的侧链。术语 “正烷基”是指直链(即无支链)的未取代烷基基团。

[0257] 术语“烯基”包括不饱和脂肪族基团,其在长度并可能在取代基上与 上述烷基相似,但其包含至少一个双键。例如,术语“烯基”包括直链烯 基基团(例如,乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛 烯基、壬烯基、癸烯基等)、有支链的烯基基团、环烯基(脂环族)基团(环丙烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、环辛烯基)、烷基或烯基 取代的环烯基基团,和环烷基或环烯基取代的烯基基团。在一些实施方案 中,直链或有支链的烯 基基团在其骨架中具有6或更少的碳原子(例如对 于直链为C₂-C₆,对于支链为C₃-C₆)。同样,环烯基基团在其环结构中具 有3-8个碳原子,并且更优选地在环结构中具有5或6个碳 原子。术语 C₂-C₆包括包含2-6个碳原子的烯基基团。

[0258] 而且除非另外特别说明,术语烯基包括“未取代烯基”和“取代烯基”两者,后者是指其中烃骨架的一个或更多个碳上的氢被独立选择的取代基 替换的烯基部分。这种取代基可包括,例如,烷基基团、炔基基团、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰 氧基、芳氧基羰基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基 羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基 (包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基

羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒 基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰 基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃部分。

[0259] 术语“炔基”包括不饱和脂肪族基团，其在长度并可能在取代基上与 上述烷基相似，但包含至少一个三键。例如，术语“炔基”包括直链炔基 基团(例如，乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔 基、壬炔基、癸炔基等)、有支链的炔基基团以及环烷基或环烯基取代的 炔基基团。在一些实施方案中，直链或有支链的炔基基团在其骨架中具有6或更少的碳原子(例如对于直链为C₂-C₆，对于支链为C₃-C₆)。术语C₂-C₆包括包含2-6个碳原子的炔基基团。

[0260] 而且除非另外特别说明，术语炔基包括“未取代炔基”和“取代炔基”两者，后者是指其中烃骨架的一个或更多个碳上的氢被独立选择的取代基 替换的炔基结构。这种取代基可包括，例如，烷基基团、炔基基团、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基 羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基 (包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基 羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒 基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰 基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃部分。

[0261] 除非另外说明了碳的数目，否则本文所用的“低级烷基”是指在其骨 架结构中具有1至5个碳原子的上述烷基基团。“低级烯基”和“低级炔 基”具有的链长度为例如2-5个碳原子。

[0262] 术语“烷氧基”包括与氧原子共价连接的取代和未取代的烷基、烯基 和炔基基团。烷氧基基团的实例包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丙氧基、 丁氧基和戊氧基基团。取代烷氧基的实例包括卤代的烷氧基。烷氧基基团 可被独立地选自下组的取代基取代，所述取代基如烯基、炔基、卤素、羟 基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷 基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基 羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基(包 括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰 基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒 基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰基、磺 酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环 基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃结构。卤素取代的烷氧基基团的实例包括但 不限于氟代甲氧基、二氟代甲氧基、三氟 代甲氧基、氯代甲氧基、二氯代 甲氧基、三氯代甲氧基等。

[0263] 术语“杂原子”包括除碳或氢外任何元素的原子。优选的杂原子为氮、氧、硫和磷。

[0264] 术语“羟基”包括具有-OH或-O⁻(与适当的平衡离子一起) 的基团。

[0265] 术语“卤素”包括氟、溴、氯、碘等。术语“全卤素化”通常是指其 中全部氢被卤原子 替换的部分。

[0266] 术语“取代”包括独立选择的取代基，其可被置于部分中并使分子执 行其预想功能。取代基的实例包括烷基、烯基、炔基、芳基、(CR'R'')₀₋₃NR'R''、(CR'R'')₀₋₃CN、NO₂、卤素、(CR'R'')₀₋₃C(卤素)₃、(CR'R'')₀₋₃CH(卤素)₂、(CR'R'')₀₋₃CH₂(卤素)、(CR'R'')₀₋₃CONR'R''、

$(CR'R'')_{0-3}S(O)_{1-2}NR'R''$ 、 $(CR'R'')_{0-3}CHO$ 、 $(CR'R'')_{0-3}O(CR'R'')_{0-3}H$ 、 $(CR'R'')_{0-3}S(O)_{0-2}R'$ 、 $(CR'R'')_{0-3}O(CR'R'')_{0-3}H$ 、 $(CR'R'')_{0-3}COR'$ 、 $(CR'R'')_{0-3}CO_2R'$ 或 $(CR'R'')_{0-3}OR'$ 基团；其中每个R'和R''各自独立地为氢、C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基、C₂-C₅炔基或芳基基团，或者R'和R''连在一起为亚苄基基团或-(CH₂)₂O(CH₂)₂基团。

[0267] 术语“胺”或“氨基”包括其中氮原子与至少一个碳或杂原子共价键合的化合物或部分。术语“烷基氨基”包括其中氮原子与至少一个另外的烷基基团键合的基团或化合物。术语“二烷基氨基”包括其中氮原子与至少2个另外的烷基基团键合的基团。

[0268] 术语“醚”包括其中氧与两个不同的碳原子或杂原子键合的化合物或部分。例如，所述术语包括“烷氧基烷基”，其是指烷基、烯基或炔基与氧原子共价键合，其中所述氧原子与另一个烷基基团共价键合。

[0269] 术语“碱基”包括已知的嘌呤和嘧啶杂环碱基、去氮嘌呤和其类似物（包括杂环取代类似物，如氨基乙氧基吩噁嗪）、衍生物（例如，1-烷基-、1-烯基-、杂芳基和1-炔基衍生物）和互变异构体。嘌呤的实例包括腺嘌呤、鸟嘌呤、次黄嘌呤、二氨基嘌呤和黄嘌呤以及其类似物（例如，8-氧化代-N⁶-甲基腺嘌呤或7-二氮黄嘌呤）和衍生物。嘧啶包括例如，胸腺嘧啶、尿嘧啶和胞嘧啶及其类似物（例如，5-甲基胞嘧啶、5-甲基尿嘧啶、5-(1-丙炔基)尿嘧啶、5-(1-丙炔基)胞嘧啶和4,4-桥亚乙基胞嘧啶）。其它适合的碱基的实例包括非嘌呤和非嘧啶的碱基，如2-氨基吡啶和三嗪。

[0270] 在一个优选的实施方案中，本发明寡核苷酸的核酸单体为RNA核苷酸。在另一个优选的实施方案中，本发明寡核苷酸的核酸单体为修饰的RNA核苷酸。因此，所述寡核苷酸包含修饰的RNA核苷酸。

[0271] 术语“核苷”包括与糖部分共价连接的碱基，所述糖部分优选为核糖和脱氧核糖。优选核苷的实例包括核糖核苷和脱氧核糖核苷。核苷还包括与氨基酸或氨基酸类似物连接的碱基，其可包含游离羧基、游离氨基或保护基。本领域已知适合的保护基（参见P.G.M.Wuts和T.W.Greene，“Protective Groups in Organic Synthesis”，第二版，Wiley-Interscience，New York, 1999）。

[0272] 术语“核苷酸”包括进一步包含磷酸基团或磷酸类似物的核苷。

[0273] 本文所用术语“连接”包括天然、未修饰的磷酸二酯部分(-O-(PO²⁻)-O-)，其共价偶联相邻的核酸单体。本文所用术语“取代的连接”包括共价偶联相邻核酸单体的任何天然磷酸二酯键的类似物或衍生物。取代的连接包括磷酸二酯类似物（例如，硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯和P-乙氧基磷酸二酯、P-乙氧基磷酸二酯、P-烷氧基磷酸三酯、甲基磷酸酯）以及不含磷的连接，如乙缩醛或酰胺。本领域已知这种取代的连接（例如，Bjergarde等1991.Nucleic Acids Res.19:5843;Caruthers等1991. Nucleosides Nucleotides.10:47）。在一些实施方案中，优选不能水解的连接，如硫代磷酸酯连接。

[0274] 在一些实施方案中，本发明的寡核苷酸包含疏水修饰的核苷酸或“疏水修饰”。本文所用“疏水修饰”是指碱基被修饰以使(1)碱基的整体疏水性显著提高和/或(2)碱基仍能形成与正常Watson-Crick相互作用类似的相互作用。碱基修饰的几个非限制性实例包括尿苷和胞苷的5位修饰，如苯基、4-吡啶基、2-吡啶基、吲哚基和异丁基、苯基(C₆H₅O_H)；色氨酰基((C₈H₆N)CH₂CH(NH₂)CO)、异丁基、丁基、氨基苄基；苯基；和萘基。

[0275] 在一些实施方案中，本发明的寡核苷酸包含3'和5'末端（环状寡核苷酸除外）。在

一个实施方案中，寡核苷酸的3' 和5' 末端可通过如修饰3' 或5' 键受到保护而基本不受核酸酶作用(例如,美国专利No.5,849,902和 WO 98/13526)。例如,可通过加入“封闭基”使寡核苷酸具有抗性。本文所用术语“封闭基”是指可作为保护基或合成偶联基(例如,FITC、丙基($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$)、二醇(-0- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$)磷酸(PO_3^{2-})、亚磷酸或亚磷酰胺)而连接到寡核苷酸或核酸单体上的取代基(例如,除了OH基团)。“封闭基”还包括保护寡核苷酸5' 和3' 末端的“末端封闭基”或“核酸外切酶封闭基”,其包括修饰的核苷酸和非核苷酸的核酸外切酶抗性结构。

[0276] 末端封闭基团的实例包括帽结构(例如,7-甲基鸟苷帽)、反向核酸单体(例如具有3' -3' 或5' -5' 末端反转)(参见,例如,Ortiagao等,1992. Antisense Res. Dev. 2:129)、甲基膦酸酯、亚磷酰胺、非核苷酸基团(如非核苷酸接头、氨基接头、缀合物)等。核酸单体的3' 末端可包含修饰的糖部分。核酸单体的3' 末端包含3' -0,其可任选地替换为封闭基,所述封闭基防止3' -核酸外切酶降解该寡核苷酸。例如,3' -羟基可通过3' →3' 核苷酸间键酯化到核苷酸上。例如,烷氧基可为甲氧基、乙氧基或异丙氧基,并优选地为乙氧基。任选地,3' 末端的3' →3' 连接的核苷酸可通过取代的键连接。为了减少核酸酶降解,5' 最末端的3' →5' 键可为修饰的键,例如,硫代磷酸酯或P-烷氧基磷酸三酯键。优选地,5' 最末端的两个3' →5' 键为经修饰的键。任选地,5' 末端的羟基基团可与含磷部分(例如,磷酸,硫代磷酸或P-乙氧基磷酸)发生酯化。

[0277] 可连接到末端(3' 或5' 末端)、环区或miniRNA其它任何部分的另一缀合物类型可包括固醇、固醇类分子、肽、小分子、蛋白质等。在一些实施方案中,miniRNA可包含多于一个缀合物(其化学性质相同或不同)。在一些实施方案中,所述缀合物为胆固醇。

[0278] 增加靶基因特异性或减少脱靶沉默作用的另一种方式是在对应于引导序列5' 末端第二核苷酸的位置引入2' -修饰(如2' -0甲基修饰)。这允许将该2' 修饰置于Dicer抗性发夹结构中,从而能设计沉默脱靶更少或没有的更佳RNAi构建体。

[0279] 在一个实施方案中,本发明的发夹多核苷酸可包含为DNA的一个核酸部分以及为RNA的一个核酸部分。本发明的反义(引导)序列可为含有RNA样和DNA样区域的“嵌合寡核苷酸”。

[0280] 术语“RNase H激活区”包括寡核苷酸(例如嵌合寡核苷酸)中能募集RNase H来切割与该寡核苷酸结合的靶RNA链的区域。通常地,RNase 激活区包含DNA或DNA样核酸单体的最小核(至少约3-5,通常约3-12,更特别地,约5-12,更优选地约5-10个连续核酸单体)(参见,例如,美国专利5,849,902)。优选地,RNase H激活区包含约9个连续的含有脱氧核糖的核酸单体。

[0281] 术语“非激活区”包括不募集或激活RNase H的反义序列区域(例如,嵌合寡核苷酸)。优选地,非激活区不包含硫代磷酸酯DNA。本发明的寡核苷酸包含至少一个非激活区。在一个实施方案中,可稳定非激活区以使其免受核酸酶作用,或非激活区可通过与靶标互补并与(待与该寡核苷酸结合的)靶标核酸分子形成氢键来提供对靶标的特异性。

[0282] 在一个实施方案中,至少一部分连续的多核苷酸是通过取代键(例如 硫代磷酸酯键)连接的。

[0283] 在一些实施方案中,除引导序列外的大部分或全部核苷酸(2' 修饰或 不修饰)通过硫代磷酸酯键连接。由于其与血清蛋白质的更高亲和性,这种构建体通常具有改进的药

代动力学。一旦引导链装载入RISC,多核苷酸非引导序列部分中的硫代磷酸酯键通常不干扰引导链的活性。

[0284] 本发明的反义(引导)序列可包含“吗啉代寡核苷酸”。吗啉代寡核苷酸为非离子式的,并且通过RHase H非依赖性机制发挥功能。吗啉代寡核苷酸中4种遗传碱基(腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶/尿嘧啶)中的每一种均与6元的吗啉环连接。通过如非离子型二硫代磷酸酯亚基间连接将4种不同的亚基类型连接在一起,来产生吗啉代寡核苷酸。吗啉代寡核苷酸具有很多优点,包括:对核酸酶的完全抗性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1996.6:267);靶向性可预计(Biochemica Biophysica Acta. 1999.1489:141);细胞中的可靠活性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997.7:63);极佳的序列特异性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997.7:151);最小非反义活性(Biochemica Biophysica Acta. 1999.1489:141);以及简单的渗透或刮擦(scrape)递送(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997.7:291)。吗啉代寡核苷酸还由于其在高剂量时无毒性而被优选。Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997.7:187中有吗啉代寡核苷酸制备的讨论。

[0285] 根据本文所述的数据,认为本文所述的化学修饰促进单链多核苷酸在RISC中的装载。已证明单链多核苷酸具有转载入RISC并诱导基因沉默的活性。然而,单链多核苷酸的活性水平与双链体多核苷酸相比似乎低2至4个数量级。

[0286] 本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式可(a)显著增加单链多核苷酸的稳定性(b)促进多核苷酸在RISC复合体中的有效装载,和(c)促进细胞对单链核苷酸的摄取。图5提供了可对实现细胞中单链多核苷酸效力有利的化学修饰模式的一些非限制性实例。化学修饰模式可包括核糖、骨架、疏水核苷和缀合物类型的修饰的组合。此外,在一些实施方案中,单个多核苷酸的5'末端可被化学磷酸化。

[0287] 在另一个实施方案中,本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式提高RISC抑制性多核苷酸的功能。已经证明单链多核苷酸通过底物竞争机制抑制预装载的RISC复合体的活性。对于这些类型的分子(通常称为antagonomer),所述活性的实现通常需要高浓度,并且体内递送不是非常有效。本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式可(a)显著增加单链多核苷酸的稳定性(b)促进多核苷酸在RISC复合体中作为底物的有效识别,和/or(c)促进细胞对单链核苷酸的摄取。图6提供了可对实现细胞中单链多核苷酸效力有利的化学修饰模式的一些非限制性实例。化学修饰模式可包括核糖、骨架、疏水核苷修饰和缀合物类型的修饰的组合。

[0288] 本发明提供的修饰可对所有多核苷酸应用。这包括进入RISC的单链多核苷酸、抑制RISC的单链多核苷酸、多种长度(15-40bp)的常规双链体多核苷酸、不对称双链体多核苷酸等。可用多种不同的化学修饰模式修饰多核苷酸,所述模式包括5'末端、核糖和疏水核苷修饰。

[0289] 合成

[0290] 本发明的寡核苷酸可通过本领域任何已知方法合成,所述方法如酶合成和/或化学合成。所述寡核苷酸可在体外(例如通过酶合成和化学合成)或在体内(采用本领域公知的重组DNA技术)合成。

[0291] 在一个优选的实施方案中,采用对修饰的多核苷酸使用化学合成。线性寡核苷酸的化学修饰为本领域公知,并且可通过溶液或固相技术实现。优选地,合成是通过固相方

法进行的。可通过几种不同的合成方法中的任一种产生寡核苷酸，所述方法包括亚磷酰胺、亚磷酸三酯、H-膦酸酯和磷酸三酯法，通常通过自动合成法。

[0292] 本领域公知寡核苷酸合成方案，并且可在如下文献中找到：美国专利 No.5,830,653; WO 98/13526; Stec 等 1984. J. Am. Chem. Soc. 106:6077; Stec 等 1985. J. Org. Chem. 50:3908; Stec 等, J. Chromatog. 1985. 326:263; LaPlanche 等, 1986. Nucl. Acid. Res. 1986. 14: 9081; Fasman G.D., 1989. Practical Handbook of Biochemistry and Molecular Biology. 1989. CRC Press, Boca Raton, Fla.; Lamone. 1993. Biochem. Soc. Trans. 21:1; 美国专利 No.5,013,830; 美国专利 No.5,214,135; 美国专利 No.5,525,719; Kawasaki 等, 1993. J. Med. Chem. 36:831; WO 92/03568; 美国专利 No. 5,276,019; 和美国专利 No.5,264,423。

[0293] 可根据所需的寡核苷酸的长度选择合成方法，并且该选择在本领域普通技术人员知识范围内。例如，亚磷酰胺和亚磷酸三酯法可产生具有 175 或更多个核苷酸的寡核苷酸，而 H-膦酸酯法对于小于 100 核苷酸的寡核苷酸效果良好。如果将修饰的碱基掺入寡核苷酸中，并且尤其是采用修饰的磷酸二酯键时，则根据已知方法按照需要改变合成方法。对此，Uhlmann 等 (1990, Chemical Reviews 90:543-584) 提供了用修饰的碱基和修饰的磷酸二酯键产生寡核苷酸的参考和方法概述。其它用于产生寡核苷酸的示例性方法在 Sonveaux. 1994. "Protecting Groups in Oligonucleotide Synthesis"; Agrawal. Methods in Molecular Biology 26:1 中教导。还在 "Oligonucleotide Synthesis-A Practical Approach" (Gait, M.J. IRL Press at Oxford University Press. 1984) 中教导了示例性合成方法。此外，从几个供应商处可方便地获得序列确定(包括具有修饰核苷酸的一些序列)的线性寡核苷酸。

[0294] 可通过聚丙烯酰胺凝胶电泳或多种色谱法的任一种(包括凝胶色谱和高效液相色谱)纯化寡核苷酸。为了证实核苷酸序列尤其是未修饰核苷酸序列，可将寡核苷酸通过任何已知方法进行 DNA 测序，所述方法包括 Maxam 和 Gilbert 测序、Sanger 测序、毛细管电泳测序、漂移点测序 (wandering spot sequencing)，或通过使用结合到 Hybond 纸的寡核苷酸选择性化学降解。还可通过激光解析质谱或快原子轰击来分析短寡核苷酸序列 (McNeal 等, 1982, J. Am. Chem. Soc. 104:976; Viari 等, 1987, Biomed. Environ. Mass Spectrom. 14: 83; Grotjahn 等, 1982, Nuc. Acid Res. 10:4671)。对于 RNA 寡核苷酸也有测序方法。

[0295] 可通过毛细管电泳和变性强阴离子 HPLC (SAX-HPLC)，使用如 Bergot 和 Egan. 1992. J. Chrom. 599:35 的方法来检测寡核苷酸，以验证合成的寡核苷酸的质量。

[0296] 本领域公知其它示例性的合成技术(参见如 Sambrook 等, Molecular Cloning: a Laboratory Manual, Second Edition (1989); DNA Cloning, I 和 II 卷 (DN Glover 编 1985); Oligonucleotide Synthesis (M J Gait Ed, 1984); Nucleic Acid Hybridisation (B D Hames 和 S J Higgins 编 1984); A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); 或 Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.) 丛书)。

[0297] 在一些实施方案中，本发明的 RNAi 构建体或至少其一部分从编码本发明构建体的表达载体中转录。任何本领域已知载体均可用于此目的。可在进行所需的修饰前(如用修饰的有义链替换未修饰的有义链等)分离和纯化所转录的 RNAi 构建体。

[0298] 递送/载体

[0299] 细胞对寡核苷酸的摄取

[0300] 将寡核苷酸和寡核苷酸组合物与一个或多个细胞或细胞裂解物接触(即,使其相接触,本文中也称为施用或递送到)并被其摄取。术语“细胞”包括原核和真核细胞,优选为脊椎动物细胞并且更优选地为哺乳动物细胞。在一个优选的实施方案中,使本发明的寡核苷酸组合物与人细胞接触。

[0301] 本发明的寡核苷酸组合物可在体外(例如在试管或培养皿中(并可引入对象中或不引入对象中))或体内(在对象中如哺乳动物对象中)与细胞接触。寡核苷酸通过胞吞作用以低速率被细胞摄取,但是胞吞的寡核苷酸通常被隔离而不可用(例如用于与靶核酸分子杂交)。在一个实施方案中,可通过电穿孔或磷酸钙沉淀来促进细胞摄取。然而,这些方法仅用于体外或离体实施方案中,不方便并且在一些情况下与细胞毒性相关。

[0302] 在另一个实施方案中,可通过本领域公知的适合方法增强寡核苷酸到细胞中的递送,所述方法包括磷酸钙、DMSO、甘油或葡聚糖、电穿孔或通过转染(例如采用本领域已知方法通过阳离子、阴离子或中性脂质组合物或脂质体)(参见如WO 90/14074; WO 91/16024; WO 91/17424; 美国专利No. 4,897,355; Bergan等,1993. Nucleic Acids Research. 21:3567)。增强的寡核苷酸递送还可用载体(参见例如Shi, Y. 2003. Trends Genet 2003 Jan. 19:9; Reichhart J M et al. Genesis. 2002. 34 (1-2): 1604, Yu等2002. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:6047; Sui等2002. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:5515)病毒、聚胺或聚阳离子缀合物(采用如聚赖氨酸、精蛋白或Ni,N12-bis(乙基)精胺的化合物)来介导(参见例如Bartzatt, R等,1989. Biotechnol. Appl. Biochem. 11:133; Wagner E等1992. Proc. Natl. Acad. Sci. 88:4255)。

[0303] 在一些实施方案中,本发明的miniRNA可通过采用多种含β-葡聚糖的颗粒进行递送,如在US 2005/0281781A1, WO 2006/007372和WO 2007/050643(所有均通过引用并入本文)中所述的那些。在一些实施方案中,所述β-葡聚糖颗粒源自酵母。在一些实施方案中,有效负载的捕获分子为聚合物,如分子量至少为约1000Da、10,000Da、50,000Da、100kDa、500kDa等的那些。优选的聚合物包括(但不限于)阳离子聚合物、壳聚糖或PEI(聚乙烯亚胺)等。

[0304] 这种基于β-葡聚糖的递送系统可制备为经口递送,其中经口递送的β-葡聚糖/miniRNA构建体可被巨噬细胞或其它相关吞噬细胞吞噬,所述细胞继而在所选的体内位点释放miniRNA构建体。作为替代方案或另外地,miniRNA可改变一些巨噬细胞靶向基因的表达。

[0305] 寡核苷酸摄取的最佳方案将取决于多种因素,最关键的是采用的细胞类型。在摄取中重要的其它因素包括但不限于寡核苷酸的性质和浓度、细胞的汇合度、细胞所在的培养物类型(例如悬浮培养物或铺板的)以及细胞生长所用的培养基类型。

[0306] 包封剂

[0307] 包封剂将寡核苷酸捕获在载体中。在本发明的另一个实施方案中,寡核苷酸可与运载体或载体(例如,脂质体或胶束)相连,但本领域技术人员理解,也可使用其它的载体。脂质体为脂双层制成的载体,具有与生物膜类似的结构。这种载体用于促进细胞摄取或寡核苷酸的靶向,或改善寡核苷酸的药代动力学或毒理特性。

[0308] 例如,本发明的寡核苷酸还可包封在脂质体、药物组合物中施用,其中所包含

的活性成分分散或多样地存在于微粒中,所述微粒由贴附在脂质层的同心水层组成。所述寡核苷酸根据其溶解性可存在于水层和脂质层两者中,或存在于通常所谓的脂质体悬液中。疏水层通常(但不必然)包含磷脂(如卵磷脂或鞘磷脂)、类固醇(如胆固醇)、或多或少的离子型表面活性剂(如二乙酰磷酸、硬脂酰胺或磷脂酸)或其它疏水性质的材料。脂质体的直径通常为约15nm至约5微米。

[0309] 采用脂质体作为药物递送载体有几个优点。脂质体提高了细胞内稳定性,提高摄取效率并提高生物活性。脂质体为中空的球状载体,其中的脂质以与构成细胞膜的那些脂质相类似的方式排布。它们具有捕获水溶性化合物的内部水性空间,大小为直径0.05至几微米。若干研究表明,脂质体可将核酸递送至细胞并且核酸保有生物活性。例如,起初设计为研究工具的脂质递送载体(如Lipofectin或LIPOFECTAMINETM2000)可将完整的核酸分子递送至细胞。

[0310] 采用脂质体的特有优点包括以下几点:在组合物中它们无毒并且可生物降解;它们显示出长的循环半衰期;以及对于组织靶向而言,识别分子可容易地贴附在它们表面。最后,基于脂质体的药物(在液体悬液中或为冻干产品)的高生产性价比证明该技术作为可应用的药物递送系统的可行性。

[0311] 在一些方面中,本发明的制剂可选自天然或化学合成的或者修饰的饱和及不饱和脂肪酸残基的种类。脂肪酸可以甘油三酯、甘油二酯或单独脂肪酸的形式存在。在另一个实施方案中,可采用目前在药学中用于肠胃外给养的已验证良好的脂肪酸和/或脂肪乳剂混合物。

[0312] 基于脂质体的制剂广泛地用于寡核苷酸递送中。然而,大部分市售脂质或脂质体制剂包含至少一种正电荷脂质(阳离子脂质)。认为该正电荷脂质的存在对寡核苷酸的高程度装载和增强脂质体的融合特性很重要。已经实施并发表了鉴定最佳正电荷脂质化学结构的几种方法。然而,包含阳离子脂质的市售脂质体制剂的特征是高水平毒性。受限制的体内治疗指标显示,在仅稍微高于实现RNA沉默所需浓度的浓度下,含有正电荷脂质的脂质体制剂与毒性相关(即肝酶升高)。

[0313] 本发明开发了无现有技术中脂质体毒性的新脂质体制剂。这些新脂质体制剂为基于中性脂肪的制剂,其用于有效递送寡核苷酸,尤其用于递送本发明的RNA分子。将所述组合物称为中性纳米转运体,因为它们能定量地将寡核苷酸掺入不带电的脂质混合物中。本发明中性纳米转运体组合物中没有阳离子脂质毒性水平,这是一个重要的特征。

[0314] 所述中性纳米转运体组合物能将寡核苷酸有效装载入中性脂肪制剂中。所述组合物包含寡核苷酸,该寡核苷酸被修饰以提高所述分子的疏水性(例如将疏水分子(共价或非共价)连接到寡核苷酸末端或非末端核苷酸、碱基、糖或骨架上的疏水分子上),所述修饰的与中性脂肪制剂(例如含有至少25%的胆固醇和25%的DOPC或其类似物)混合。还可将货物分子(如另一种脂质)包含在所述组合物中。该组合物(其中部分制剂构建在寡核苷酸本身中)能将寡核苷酸有效包封在中性脂质颗粒中。

[0315] 与本发明相关的几个意想不到的发现之一是本发明的寡核苷酸能被有效地掺入无阳离子脂质的脂质混合物中,并且该组合物能将治疗性寡核苷酸以发挥其功能的方式有效地递送至细胞。另一个意想不到的发现是当脂肪混合物由基于磷脂酰胆碱的脂肪酸和固醇(如胆固醇)构成时观察到高水平的活性。例如,中性脂肪混合物的一个优选制剂由

至少20%的DOPC或DSPC和至少20%的固醇(如胆固醇)构成。甚至脂质与寡核苷酸的比值在低至1:5时也足以在无电荷制剂中获得寡核苷酸的完全包封。现有技术显示,只有1-5%的寡核苷酸被包封在无电荷制剂中,这不足以达到体内效力的所需量。与使用中性脂质的现有技术相比,对细胞进行寡核苷酸递送的水平是非常意想不到的。

[0316] 将疏水寡核苷酸与优选的制剂复合形成大小为50至140nm的稳定颗粒。有意思的是,制剂本身通常不形成小颗粒而是形成凝集块,其在加入疏水修饰的寡核苷酸后转化成稳定的50-120nm颗粒。

[0317] 本发明的中性纳米转运体组合物包含疏水修饰的多核苷酸、中性脂肪混合物以及任选地包含货物分子。本文所用“疏水修饰多核苷酸”为本发明的多核苷酸(即,sd-rxRNA),其具有使多核苷酸比修饰前的多核苷酸更疏水的至少一种修饰。所述修饰可通过将疏水分子(共价或非共价)连接到多核苷酸上来实现。在一些情况下,疏水分子为亲脂基团或包含亲脂基团。

[0318] 术语“亲脂基团”是指对脂的亲和性比对水的亲和性更高的基团。亲脂基团的实例包括但不限于胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基、金刚化合物(adamantine)、二氢睾酮、长链烷基、长链烯基、长链炔基、十八烯基石胆酸、胆酸、十八烯基胆酸、十六烷基、十七烷基、肉豆蔻酰基、胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯如类固醇、维生素如维生素E、饱和或不饱和的脂肪酸、脂肪酸酯如甘油三酯、茋、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吖啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料(例如Cy3或Cy5)、Hoechst 33258染料、补骨脂素或布洛芬。胆固醇部分可被还原(例如,在胆甾烷中)或被取代(例如被卤素)。还可在一个分子中组合不同的亲脂基团。

[0319] 可将疏水分子连接到多核苷酸的多个位置。如以上所述,疏水分子可连接到多核苷酸的末端残基,如多核苷酸的3'或5'末端。或者,其可连接到内部核苷酸或多核苷酸支链的核苷酸上。例如,还可将疏水分子连接到核苷酸的2'位置。疏水分子还可连接到多核苷酸中核苷酸的杂环碱基、糖或骨架上。

[0320] 疏水分子可通过接头部分与多核苷酸相连。任选地,所述接头部分为非核苷酸接头部分。非核苷酸接头为,例如无碱基残基(dSpacer)、寡聚乙二醇如三甘醇(间隔物9)或六聚乙二醇(间隔物18)或烷二醇如丁二醇。间隔物单元优选地通过磷酸二酯或硫代磷酸酯键连接。接头单元可在分子中只出现一次或者掺入几次,例如通过磷酸二酯、硫代磷酸酯、甲基磷酸酯或酰胺键。

[0321] 典型的缀合方案涉及合成在序列一个或更多个位置具有氨基接头的多核苷酸,然而,接头不是必需的。而后采用适合的偶联或激活剂将氨基基团与缀合分子反应。缀合反应可在多核苷酸仍结合在固相支持物时进行,或在将其切割后的溶液相中进行。通过HPLC纯化修饰的多核苷酸通常得到纯物质。

[0322] 在一些实施方案中,疏水分子为固醇类缀合物、植物甾醇缀合物、胆固醇缀合物、侧链长度改变的固醇类缀合物、脂肪酸缀合物、任何其它疏水基团缀合物和/或内部核苷的疏水修饰,其提供足以掺入胶束的充分疏水性。

[0323] 为本发明目的,术语“固醇”是指甾类醇,其为A环的3位具有羟基的甾类化合物亚

类。它们是通过HMG-CoA还原酶途径从乙酰辅酶A合成的两亲脂质。分子整体相当扁平。A环上的羟基是极性的。脂肪链上的其它部分是非极性的。通常认为固醇在17位具有8碳链。

[0324] 为本发明目的,术语“固醇类分子”是指甾类醇,其与固醇的结构相似。主要区别是环结构和21位连接侧链的碳原子数。

[0325] 为本发明目的,术语“植物甾醇”(也称为植物固醇)为甾类醇的亚类,为植物中的天然植物化学物。有多于200种不同的已知植物甾醇。

[0326] 为本发明目的,术语“固醇侧链”是指侧链连接到固醇类分子17位的化学组成。在标准定义中,固醇被限制为在17位具有8个碳原子链的4环结构。在本发明中,固醇类分子所具有的侧链比通常所述的更长或更短。侧链可为分支的或含有两个骨架。

[0327] 因此,本发明所用的固醇包括,例如胆固醇以及在17位连接有2-7或长于9个碳原子的侧链的独特固醇。在一个具体实施方案中,多碳尾的长度为5-9个碳原子不等。图9证实血浆清除度、肝摄取与多碳链长度之间有相关性。这种缀合物可具有显著更好的体内效力,尤其是肝递送。预计这种类型的分子可在比常规胆固醇缀合的寡核苷酸低5至9倍的浓度下工作。

[0328] 或者,多核苷酸可与发挥疏水分子功能的蛋白质、肽或正电化合物连接。所述蛋白质可选自精蛋白、dsRNA结合结构域和精氨酸富含肽。示例性的正电化合物包括精胺、亚精胺、尸胺和腐胺。

[0329] 在另一个实施方案中,当与多核苷酸的最佳化学修饰模式(如本文详细描述的)(包含但不限于疏水修饰、硫代磷酸酯修饰和2'核糖修饰)相组合时,疏水分子缀合物可具有甚至更高的效率。

[0330] 在另一个实施方案中,固醇类分子可为天然的植物甾醇,如在图8中显示的那些。多碳链可长于9并可为线性、支链和/或含有双键。一些含有植物甾醇的多核苷酸缀合物可在多核苷酸到多个组织的递送中显著更强并更有活性。一些植物甾醇可显示出组织偏好性,并因此用作将RNAi特异性递送到特定组织的方法。

[0331] 将疏水修饰的多核苷酸与中性脂肪混合物混合以形成胶束。中性脂肪酸混合物为脂肪的混合物,其净电荷在生理pH或其附近为中性或稍带负电,并可与疏水修饰的多核苷酸形成胶束。为本发明目的,术语“胶束”是指由无电荷脂肪酸和磷脂混合物形成的小纳米颗粒。中性脂肪混合物可包含阳离子脂质,只要其存在的量不会导致毒性即可。在一些优选的实施方案中,中性脂肪混合物中没有阳离子脂质。无阳离子脂质的混合物是总脂质的少于1%(优选地0%)是阳离子脂质的那些。术语“阳离子脂质”包括在生理pH或其附近静电荷为正电的脂质和合成脂质。术语“阴离子脂质”包括在生理pH或其附近静电荷为负电的脂质和合成脂质。

[0332] 中性脂肪通过强但非共价吸引(例如,静电、范德华力、π堆积等相互作用)与本发明寡核苷酸结合。

[0333] 中性脂肪混合物可包括选自天然或化学合成的或者修饰的饱和及不饱和脂肪酸残基类型的制剂。脂肪酸可以甘油三酯、甘油二酯或单独脂肪酸的形式存在。在另一个实施方案中,可使用目前在药学中用于肠胃外给养的已验证良好的脂肪酸和/或脂肪乳剂。

[0334] 中性脂肪混合物优选为基于胆碱的脂肪酸和固醇的混合物。基于胆碱的脂肪酸包括,例如,合成的磷酸胆碱衍生物,如DDPC、DLPC、DMPC、DPPC、DSPC、DOPC、POPC和DEPC。

DOPC(化学登记号4235-95-4)为二油酰磷脂酰胆碱(也称为dielaidoylphosphatidylcholine、二油酰-PC、二油酰磷酸胆碱、二油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱、二-十八烯基磷脂酰胆碱)。DSPC(化学登记号816-94-4)为二硬脂酰磷脂酰胆碱(也称为1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱)。

[0335] 中性脂肪混合物中的固醇可为例如胆固醇。中性脂肪混合物可完全由基于胆固醇的脂肪酸和固醇构成,或其可任选地包含货物分子。例如,中性脂肪混合物可具有至少20%或25%的脂肪酸和20%或25%的固醇。

[0336] 为本发明目的,术语“脂肪酸”涉及脂肪酸的常规描述。其可以单个实体存在或以甘油二酯或甘油三酯的形式存在。为本发明目的,术语“脂肪乳剂”指经静脉内给予不能从其饮食中获得足够脂肪的对象的安全脂肪制剂。其是大豆油(或其它天然油)和卵磷脂的乳剂。脂肪乳剂被用于制备一些不可溶麻醉剂。在本公开内容中,脂肪乳剂可以是市售制剂(如Intralipid、Liposyn、Nutrilipid)的一部分、富含特定脂肪酸的修饰的市售制剂或全部重新制备的脂肪酸和磷脂的组合。

[0337] 在一个实施方案中,待与本发明寡核苷酸组合物相接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约12至约24小时。在另一个实施方案中,待与寡核苷酸组合物相接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约1至约5天。在一个实施方案中,将细胞与包含脂质和寡核苷酸的混合物接触约3天至多达约30天。在另一个实施方案中,将含有脂质的混合物与细胞接触至少约5至约20天。在另一个实施方案中,将含有脂质的混合物与细胞接触至少约7至约15天。

[0338] 制剂的50-60%可任选地为任何其它脂质或分子。本文中将这种脂质或分子称为货物脂质或货物分子。货物分子包括但不限于英脱利匹特、小分子、融合肽(fusogenic peptide)或脂质或其它可被加入以改变细胞摄取、内体释放或组织分布特性的小分子。耐受货物分子的能力对这些颗粒特性的调节很重要(如果需要这些特性)。例如,一些组织特异代谢物的存在可显著地改变组织分布谱。例如采用具有富含多种饱和程度的更短或更长脂肪链的英脱利匹特型制剂影响了这些制剂类型的组织分布谱(和它们的装载)。

[0339] 用于本发明的货物脂质的实例为融合脂质。例如两性脂质DOPE(化学登记号4004-5-1,1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺)为优选的货物脂质。

[0340] 英脱利匹特可包含以下组成:1000mL中包含:纯化的大豆油90g,纯化的卵磷脂12g,无水甘油22g,注射用水适量添加至1000mL。pH用氢氧化钠调节至约pH 8。能量含量/L:4.6MJ(190kcal)。摩尔渗透压浓度(约):300mOsm/kg水。在另一个实施方案中,脂肪乳剂是liposyn,其含有注射用水中的5%红花油、5%大豆油、作为乳化剂加入的多至1.2%的卵磷脂以及2.5%甘油。其还可包含用于调整pH的氢氧化钠。pH 8.0(6.0-9.0)。Liposyn的摩尔渗透压浓度为276m Osmol/升(实际)。

[0341] 货物脂质的密度、量和比例的变化影响这些化合物的细胞摄取和组织分布特性。例如,脂质尾的长度和饱和水平影响肝、肺、脂肪和心肌的差异性摄取。特定疏水分子(如维生素或不同类型的固醇)的添加可利于分布到参与特定化合物代谢的特定组织中。以不同寡核苷酸浓度形成复合物,更高的浓度有利于更有效的复合物形成(图21-22)。

[0342] 在另一个实施方案中,脂肪乳剂基于脂质的混合物。这种脂质可包括天然化合

物、化学合成化合物、纯化的脂肪酸或任何其它脂质。在又一个实施方案中，脂肪乳剂是完全人工的。在又一个实施方案中，脂肪乳剂是多于70%的亚油酸。在又一个特定实施方案中，脂肪乳剂是至少1%的心磷脂。亚油酸(LA)是不饱和的omega-6脂肪酸。其是由具有18碳链和两个顺式双键的羧酸构成的无色液体。

[0343] 在本发明的又一个实施方案中，改变脂肪乳剂的组成用于改变疏水修饰多核苷酸的组织分布的方法。提供该方法用于多核苷酸到特定组织的特异性递送(图12)。

[0344] 在另一个实施方案中，所述货物分子的脂肪乳剂包含多于70%的亚油酸(C18H32O2)和/或用于将RNAi特异递送到心肌的心磷脂。

[0345] 之前已经使用脂肪乳剂(如英脱利匹特)作为一些非水溶药物的递送制剂(如Propofol，重新制备为Diprivan)。本发明的独特特征包括(a)将修饰多核苷酸与疏水化合物组合以使其能掺入脂肪胶束中的构思和(b)将其与脂肪乳剂混合以提供可逆载体。在注射入血流后，胶束通常与血清蛋白(包括白蛋白、HDL、LDL和其它)结合。该结合是可逆的并且最终脂肪被细胞吸收。而后作为胶束一部分掺入的多核苷酸被递送到细胞表面附近。其后可通过多种机制(包括但不限于固醇类递送)进行细胞摄取。

[0346] 复合剂

[0347] 复合剂通过强但非共价的吸引(例如，静电、范德华、 π 堆积等相互作用)与本发明的寡核苷酸结合。在一个实施方案中，本发明的寡核苷酸可与复合剂复合以提高寡核苷酸的细胞摄取。复合剂的实例包括阳离子脂质。可采用阳离子脂质将寡核苷酸递送到细胞。然而，如上所述，在一些实施方案中优选无阳离子脂质的制剂。

[0348] 术语“阳离子脂质”包括脂质和合成脂质，其具有极性和非极性结构域，并可在生理pH或生理pH附近带正电荷，并且其能结合聚阴离子(如核酸)并利于核酸到细胞的递送。一般地，阳离子脂质包括饱和及不饱和的烷基和脂环醚以及胺的酯、酰胺或其衍生物。阳离子脂质的直链和支链烷基和烯基基团可包含，如1至约25个碳原子。优选的直链或支链烷基或烯烃基团具有6或更多个碳原子。脂环基团包括胆固醇和其它类固醇基团。阳离子脂质可用多种平衡离子(阴离子)制备，包括如，Cl⁻、Br⁻、I⁻、F⁻、乙酸根、三氟乙酸根、硫酸根、亚硝酸根和硝酸根。

[0349] 阳离子脂质的实例包括聚乙烯亚胺、聚酰胺基胺(PAMAM)超分支树状分子、Lipofectin(DOTMA和DOPE的组合)、Lipofectase、LIPOFECTAMINETM(如LIPOFECTAMINETM2000)、DOPE、Cytofectin(Gilead Sciences, Foster City, Calif.)和Eufectins(JBL, San Luis Obispo, Calif.)。示例性阳离子脂质体可从N-[1-(2,3-二油酰氧基)-丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)-丙基]-N,N,N-三甲基铵甲基硫酸酯(DOTAP)、3 β -[N-(N',N'-二甲基氨基乙烷)氨基甲酰基]胆固醇(DC-Chol)、2,3,-二油烯基氧基-N-[2(精胺甲酰胺)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸酯(DOSPA)、1,2-二肉豆蔻基氧基丙基-3-二甲基-羟基乙基铵溴；和二甲基二(十八烷基)溴化铵(DDAB)制成。发现阳离子脂质(如，N-(1-(2,3-二油烯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA))将硫代磷酸酯寡核苷酸的反义作用增强1000倍(Vlassov等, 1994, Biochimica et Biophysica Acta 1197:95-108)。寡核苷酸还可与如多聚(L-赖氨酸)或抗生素蛋白复合并且该混合物中可包含或不包含脂质，例如固醇基-多聚(L-赖氨酸)。

[0350] 在本领域已经使用阳离子脂质将寡核苷酸递送到细胞(参见，例如，美国专利

No. 5,855,910; 5,851,548; 5,830,430; 5,780,053; 5,767,099; Lewis 等, 1996. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:3176; Hope 等 1998. Molecular Membrane Biology 15: 1)。用于促进摄取本发明寡核苷酸的其它脂质组合物可与要求保护的方法联合使用。除以上列出的外,本领域已知其它脂质组合物,例如在美国专利No.4,235,871;美国专利No.4,501,728;4,837,028; 4,737,323中教导的那些。

[0351] 在一个实施方案中,脂质组合物还可包含试剂(如病毒蛋白质以增强寡核苷酸的脂质介导转染(Kamata等,1994.Nucl.Acids.Res.22:536))。在另一个实施方案中,如在美国专利5,736,392中教导的,寡核苷酸可作为包含寡核苷酸、肽和脂质的组合物的一部分与细胞接触。已经描述了具有血清抗性的改进的脂质(Lewis等,1996.Proc.Natl.Acad.Sci. 93:3176)。阳离子脂质和其它复合剂的作用是增加通过胞吞作用进入细胞的寡核苷酸的数目。

[0352] 在另一个实施方案中,可采用N-取代的甘氨酸寡核苷酸(拟肽(peptoid))优化寡核苷酸的摄取。已经采用拟肽生成用于转染的阳离子脂质样化合物(Murphy等,1998.Proc.Natl.Acad.Sci.95:1517)。拟肽可采用标准方法合成(例如,Zuckermann,R.N.等,1992.J.Am.Chem.Soc. 114:10646;Zuckermann,R.N.等1992.Int.J.Peptide Protein Res. 40:497)。还可采用阳离子脂质和拟肽、liptoid的组合来优化本发明寡核苷酸的摄取(Hunag等,1998.Chemistry and Biology.5:345)。Liptoid可通过产生拟肽寡核苷酸并将氨基末端亚单体(submonomer)通过其氨基与脂质相偶联来合成(Hunag等,1998.Chemistry and Biology.5:345)。

[0353] 本领域已知带正电的核酸可用于生成高活性的阳离子脂质(Lewis等,1996.Proc.Natl.Acad.Sci.US.A.93:3176)。在一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含与亲脂部分相连的一定数量的精氨酸、赖氨酸、组氨酸或鸟氨酸残基(参见例如美国专利No.5,777,153)。

[0354] 在另一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含具有约1至约4个碱性残基的肽。这些残基可位于如,氨基末端、C末端或所述肽的内部区域。本领域中已经定义了有相似侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、无电荷极性侧链(例如,甘氨酸(也可认为是非极性的)、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β -支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。除了碱性氨基酸以外,所述肽的大部分或全部其它残基可选自非碱性氨基酸,例如除赖氨酸、精氨酸或组氨酸外的氨基酸。优选地主要采用具有长中性侧链的中性氨基酸。

[0355] 在一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含具有一个或更多个 γ -羧谷氨酸残基或 γ -Gla残基的天然或合成多肽。这些 γ -羧谷氨酸残基能使所述多肽彼此之间结合并与膜表面结合。也就是说,具有一系列 γ -Gla的多肽可用作通用递送模式,其帮助RNAi构建体粘附到与其接触的任何膜。这至少可减缓RNAi构建体的血流清除并增强它们结合到靶标的机会。

[0356] 所述 γ -羧谷氨酸残基可存在于天然蛋白质中(例如,凝血酶原具有10个 γ -Gla残基)。或者,它们可通过羧化(例如采用维生素K依赖性羧化酶)被引入到纯化的、重组产

生的或化学合成的多肽中。所述 γ -羧 谷氨酸残基可为连续的或非连续的，并且可调节/微调所述 γ -羧谷氨酸残 基在多肽中的总数和位置，以达到所述多肽不同水平的“粘性”。

[0357] 在一个实施方案中，待与本发明寡核苷酸组合物接触的细胞与包含寡 核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合 物)接触约12小时至约24小时。在另一个实施方案中，待与本发明寡核 苷酸组合物接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例 如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约1至约5天。在一个实施方案中，细胞与含有脂质和寡核苷酸的混合物接触约3天至长达约30天。在另一 个实施方案中，含有脂质的混合物与细胞接触至少约5至约20天。在另 一个实施方案中，含有脂质的混合物与细胞接触至少约7至约15天。

[0358] 例如，在一个实施方案中，可在脂质(如cytoseptin CS或GSV(购自 Glen Research;Sterling,Va.)、GS3815、GS2888)的存在下将寡核苷酸组 合物与细胞接触本文所述的延长的孵育时间。

[0359] 在一个实施方案中，将细胞与包含脂质和寡核苷酸组合物的混合物一 起孵育不降低细胞的活性。优选地，在转染阶段后细胞仍基本是存活的。在一个实施方案中，在转染后，细胞存活至少约70%至至少约100%之间。在另一个实施方案中，细胞存活至少约80% 至至少约95%之间。在又一 个实施方案中，细胞存活至少约85%至至少约90%之间。

[0360] 在一个实施方案中，通过连接将寡核苷酸转运入细胞的肽序列而对寡 核苷酸进行修饰，所述肽在本文中称为“转运肽”。在一个实施方案中，组合物包含寡核苷酸和共价连接的转运肽，所述寡核苷酸与编码蛋白质的 靶标核酸分子互补。

[0361] 术语“转运肽”包括促进将寡核苷酸转运入细胞的氨基酸序列。本领 域已知促进将其连接的部分转运入细胞的示例性肽，其包括如HIV TAT 转录因子、乳铁蛋白、疱疹VP22 蛋白和成纤维细胞生长因子2(Pooga 等,1998.Nature Biotechnology.16:857; 和Derossi 等,1998.Trends in Cell Biology.8:84;Elliott and O'Hare.1997.Cell 88:223)。

[0362] 可采用已知技术将寡核苷酸连接到转运肽，如(Prochiantz ,A. 1996 . Curr.Opin.Neurobiol.6:629;Derossi等,1998.Trends Cell Biol.8:84; Troy等, 1996.J.Neurosci.16:253) ,Vives等1997.J.Biol.Chem. 272:16010)。例如，在一个实施方案中，带有活化的硫醇基团的寡核苷酸 通过所述硫醇基团与转运肽中存在的半胱氨酸连接(例如，如在Derossi 等1998.Trends Cell Biol.8:84;Prochiantz.1996.Current Opinion in Neurobiol.6:629;Allinquant等1995.J Cell Biol.128:919中教导的，与存 在于触角足同源异型域的第二和第三螺旋之间的 β 转角中的半胱氨酸连 接)。在另一个实 施方案中，Boc-Cys- (Npys) OH基团可作为最末端(N末 端)氨基酸与转运肽偶联，并且具有 SH基团的寡核苷酸可与所述肽偶联 (Troy等,1996.J.Neurosci.16:253)。

[0363] 在一个实施方案中，连接基团可连接到核酸单体并且转运肽可与所述 接头共价连接。在一个实施方案中，接头的功能可以是作为转运肽的粘附 位点并提供针对核酸酶的稳定性。适合的接头的实例包括取代或未取代的C₁-C₂₀烷基链、C₂-C₂₀烯基链、C₂-C₂₀炔基链、肽和杂原子(例如,S、O、NH等)。其它示例性接头包括双功能性交联剂，如碘基琥珀酰亚胺基-4- (马 来酰亚苯胺基) -丁酸酯(SMPB) (参见例如Smith等,Biochem J 1991.276: 417-2)。

[0364] 在一个实施方案中，本发明的寡核苷酸可作为分子缀合物被合成，其 利用受体介

导的胞吞机制将基因递送入细胞(参见例如Bunnett等,1992. Somatic Cell and Molecular Genetics.18:559以及其中引用的参考文献)。

[0365] 靶向剂

[0366] 可通过使寡核苷酸靶向细胞受体来增强寡核苷酸的递送。靶向结构可 缀合到寡核苷酸上,或可连接到与寡核苷酸连接的载体基团上(即,多聚(L-赖氨酸)或脂质体)。该方法尤其适用于显示特异性受体介导胞吞作用 的细胞。

[0367] 例如,与游离的寡核苷酸相比,与6-磷酸甘露糖化蛋白质缀合的寡核苷酸被表达6-磷酸甘露糖特异性受体的细胞内化的效率高20倍。寡核苷酸还可用可生物降解接头与细胞受体的配体偶联。在另一个实例中,递送 构建体是甘露糖化的链霉抗生物素蛋白,其与生物素化的寡核苷酸形成紧 密的复合物。发现甘露糖化的链霉抗生物素蛋白将生物素化寡核苷酸的内 化提高20倍(Vlassov等,1994.Biochimica et Biophysica Acta 1197: 95-108)。

[0368] 此外,特异性配体可与基于聚赖氨酸递送系统的聚赖氨酸组分缀合。例如,在真核细胞中转铁蛋白-聚赖氨酸、腺病毒-聚赖氨酸和流感病毒血 凝素HA-2-N末端融合肽-聚赖氨酸缀合物极大地提高了受体介导的DNA 递送。已经利用了缀合到肺泡巨噬细胞聚(L-赖氨酸)的甘露糖化糖蛋白以 增强寡核苷酸的细胞摄取.Liang等,1999.Pharmazie 54: 559-566。

[0369] 由于恶性细胞对如叶酸和转铁蛋白的基本营养物的需求增加,因此可 采用这些营养物将寡核苷酸靶向到癌细胞。例如,当将叶酸连接到聚(L- 赖氨酸)时,在早幼粒细胞白血病(HL-60) 细胞和人黑素瘤(M-14) 细 胞中可观察到增强的寡核苷酸摄取.Ginobbi等, 1997.Anticancer Res. 17:29。在另一个实例中,用甘露糖化牛血清白蛋白、叶酸或高铁血红素 IX包被的脂质体在鼠巨噬细胞、KB细胞和人2.2.15肝细胞中显示寡核苷 酸细胞摄取的增强.Liang等,1999.Pharmazie 54:559-566。

[0370] 脂质体在肝、脾和网状内皮系统中自然累积(所谓的被动靶向)。通 过将脂质体与 多种配体(如蛋白A抗体)偶联,它们可主动靶向到特定 的细胞类群。例如,具有蛋白A的脂质体可用H-2K特异性抗体预处理, H-2K特异性抗体靶向在L细胞中表达的小鼠主要组织相容性复合体编码 的H-2K蛋白。(Vlassov等,1994.Biochimica et Biophysica Acta 1197: 95-108)

[0371] 本领域已知其它RNAi试剂的体外和/或体内递送,并且可用于递送 本发明RNAi构 建体。参见例如,美国专利申请公开20080152661、 20080112916、20080107694、 20080038296、20070231392、20060240093、 20060178327、20060008910、20050265957、 20050064595、20050042227、 20050037496、20050026286、20040162235、20040072785、 20040063654、 20030157030、WO 2008/036825、W004/065601和AU2004206255B2,其 上只是 几个实例(均通过引用并入)。

[0372] 施用

[0373] 寡核苷酸的施用或递送的最佳途径可根据所需的结果和/或待处理的 对象而异。本文所用“施用”是指将细胞与寡核苷酸接触,并且可在体外 或体内实施。可无需过度试验地调整寡核苷酸的剂量以最优地降低靶核酸 分子翻译所得蛋白质的表达,例如,通过RNA 稳定性的数据或通过治疗 反应来测量。

[0374] 例如,可测量靶核酸所编码蛋白质的表达,以确定是否需要相应地调整剂量配方。此外,可采用任何本领域公知的技术测量细胞中或细胞产生的RNA或蛋白质水平的升高或降低。通过确定转录是否降低,可确定寡核苷酸诱导靶RNA切割的效率。

[0375] 任何上述寡核苷酸组合物可单独使用或与可药用载体组合使用。本文所用“可药用载体”包括适合的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、渗透剂和吸收延缓剂等。本领域公知这种介质和试剂在药物活性物质中的应用。任何常规介质或试剂除非与活性成分不相容,否则均可用在治疗组合物中。还可将补充性活性成分整合入组合物中。

[0376] 可将寡核苷酸整合入脂质体或用聚乙二醇修饰的脂质体中或与阳离子脂质混合用于肠胃外施用。将另外的物质(例如对特定靶细胞上的膜蛋白有反应性的抗体)整合入脂质体可帮助寡核苷酸对特定细胞类型的靶向。

[0377] 此外,本发明提供用渗透泵对本发明寡核苷酸进行施用,所述渗透泵提供这种寡核苷酸的持续灌注,例如,如在Rataiczak等(1992 Proc.Natl. Acad.Sci.USA 89:11823-11827)中所述。这种渗透泵可购得,例如从Alzet Inc.(Palo Alto,Calif.)。优选在阳离子脂质载体中的局部施用和肠胃外施用。

[0378] 对于体内应用,本发明的制剂可以适于所选施用途径(例如,肠胃外、经口或腹膜内)的多种方式施用给患者。优选的是肠胃外施用,其包括以下途径的施用:静脉内;肌内;间质内;动脉内;皮下;眼内;滑膜内;透表皮包括透皮;经吸入的经肺;经眼;舌下和经颊粘膜;局部,包括经眼;皮肤;眼;直肠以及通过吹入的鼻吸入。

[0379] 用于肠胃外施用的药物制剂包括水溶性或水中分散形式的活性化合物的水溶液。此外,可施用作为适合的含油注射悬液的活性化合物的悬液。适合的亲脂溶剂或载体包括脂肪油(例如芝麻油)或合成的脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)。含水注射悬液可包含增加悬液粘度的物质,包括例如羟甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖,任选地,所述悬液还可包含稳定剂。本发明的寡核苷酸可在液体溶液中制备,优选地在生理相容性缓冲液(如Hank溶液或Ringer溶液)中。此外,寡核苷酸可制备为固体形式并在临用前重新溶解或悬浮。本发明还包括冻干形式。

[0380] 局部施用的药物制剂包括透皮贴剂、软膏、洗液、乳霜、凝胶、滴剂、喷剂、栓剂、液体和粉末。此外,可在局部施用的药物制剂中使用常规的药物载体、含水、粉末或含油基质或增稠剂。

[0381] 经口施用的药物制剂包括粉末或颗粒、水或非水基质中的悬液或溶液、胶囊、扁囊剂或片剂。此外,在经口施用的药物制剂中可采用增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂。

[0382] 对于透粘膜或透皮施用,在制剂中使用适用于待渗透屏障的渗透剂。本领域已知这种渗透剂,并包括,例如,用于透粘膜施用的胆汁酸夫西地酸衍生物以及去污剂。透粘膜施用可通过鼻喷雾或采用栓剂。对于经口施用,寡核苷酸可制备成常规的口服施用形式,如胶囊、片剂和滋补品。对于局部施用,本发明的寡核苷酸被制备成本领域已知的软膏、油膏、凝胶或乳霜。

[0383] 可选择用于如体外、全身或局部施用的药物递送载体。可将这些载体设计成缓慢释放库,或设计成将其内含物直接递送到靶细胞。采用一些直接递送药物载体的优点是每次摄取递送多个分子。已经显示这些载体提高药物的循环半衰期,否则药物将从血流中快

速清除。属于该类型的这种专门药物递送载体的一些实例包括脂质体、水凝胶、环糊精、可生物降解纳米颗粒和生物黏附性微球。

[0384] 所需的寡核苷酸可全身地施用给对象。全身吸收是指药物进入血流而后分布在全身中。导致全身吸收的施用途径包括：静脉内、皮下、腹膜内和鼻内。这些施用途径的每一种将寡核苷酸递送到可到达的疾病细胞。在皮下施用后，治疗剂流入局部淋巴结并继续通过淋巴网进入循环。已经证明循环的进入速率是分子量或分子大小的函数。脂质体或其他药物载体的使用将寡核苷酸定位在淋巴结。可修饰寡核苷酸以使其扩散入细胞，或者脂质体可直接参与未修饰或修饰的寡核苷酸到细胞的递送。

[0385] 所选的递送方法会导致进入细胞中。优选的递送方法包括脂质体(10-400nm)、水凝胶、控制释放聚合物和其它可药用载体，以及显微注射或电穿孔(对于离体治疗)。

[0386] 可将本发明的药物制剂可制备和配制成乳剂。乳剂通常为一种液体以液滴形式分散在另一种液体中的异质系统，所述液滴的直径通常超过0.1 μm。本发明的乳剂可包含赋形剂，如乳化剂、稳定剂、染料、脂肪、油、蜡、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、湿润剂、疏水胶体、防腐剂，并且抗氧化剂也可根据需要存在于乳化剂中。这些赋形剂可以水相、油相中的溶液存在或其自身为独立的相。

[0387] 可用于本发明乳剂制剂的天然乳化剂的实例包括羊毛脂、蜂蜡、磷脂、卵磷脂和阿拉伯胶。精细分割的固体也可用作良好的乳化剂，尤其是在与表面活性剂联合和在粘性制剂中。可用作乳化剂的精细分割的固体的实例包括极性无机固体(如重金属氢氧化物、不膨胀粘土(如膨润土、硅镁土、锂蒙脱石、高岭土、montrnorillonite、胶体硅酸铝、胶体硅酸铝镁)、色素和非极性固体(如碳或硬脂酸甘油三脂)。

[0388] 可包含在乳剂制剂中的防腐剂的实例包括甲基苯甲酸酯、丙基苯甲酸酯、季铵盐、苯扎氯铵、对羟基苯甲酸酯和硼酸。可包含在乳剂制剂中的抗氧化剂的实例包括自由基清除剂(如生育酚、烷基羧酸盐、丁基化羟基茴醚、丁基化羟基甲苯)或还原剂(如抗坏血酸和焦亚硫酸钠)和抗氧化增效剂(如柠檬酸、酒石酸和卵磷脂)。

[0389] 在一个实施方案中，寡核苷酸的组合物被制备为微乳剂。微乳剂是水、油和两亲分子的系统，其为单光学等向性并且热力学稳定的液体溶液。通常，通过首先将油分散在表面活性剂的水溶液中，而后加入足量的第四组分(通常为中等链长的醇)以形成透明系统来制备微乳剂。

[0390] 可用于制备微乳剂的表面活性剂包括但不限于单独或与助表面活性剂组合的离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂、Brij 96、聚氧乙烯油基醚、聚甘油脂肪酸酯、四甘油单月桂酸酯(ML310)、四甘油单油酸酯(MO310)、六甘油单油酸酯(P0310)、六甘油五油酸酯(P0500)、十甘油单癸酸酯(MCA750)、十甘油单油酸酯(M0750)、十甘油倍半油酸酯(S0750)、十甘油十油酸酯(DA0750)。助表面活性剂(通常为短链醇，如乙醇、1-丙醇和1-丁醇)的作用是通过穿透表面活性剂膜并随后由于在表面活性剂分子之间产生空隙而产生混乱的膜来增加界面间流动性。

[0391] 然而，微乳剂的制备可不采用助表面活性剂，并且本领域已知无醇自乳化微乳剂系统。通常水相可为(但不限于)水、药物的水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇和乙二醇的衍生物。油相可包括但不限于如Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯、中链(C₈-C₁₂)单、双和三甘油脂、聚氧乙烯化的甘油脂肪酸酯、脂肪醇、多糖基化的甘

油酯、饱和多糖基化的C₈-C₁₀甘油酯、植物油和硅酮油的材料。

[0392] 微乳剂在药物增溶和增加药物的吸收的角度而言尤其有意义。已提出 基于脂质的微乳剂(油/水和水/油两种) 增加药物的口服生物利用度。

[0393] 微乳剂提供了增强的药物溶解,保护药物免受酶水解,由于表面活性 剂诱导的膜流动性和渗透性的改变而可能增强药物的吸收,易于制备、与 固体剂型相比易于口服施用,提高临床效力并降低毒性 (Constantinides 等,Pharmaceutical Research,1994,11: 1385;Ho等,J.Pharm.Sci.,1996, 85:138-143)。微乳剂也在化妆品和药物应用中活性组分的透皮递送中有 效。预计本发明微乳剂组合物和制剂有利于寡核苷酸从胃肠道的全身吸收,并促进胃肠道、阴道、颊间和其它施用区域中寡核苷酸的局部细胞摄 取。

[0394] 在一个实施方案中,本发明采用多种穿透增强剂来使核酸(尤其是寡 核苷酸) 有效递送到动物的皮肤。如果用穿透增强剂处理待穿过的膜,甚 至非亲脂性药物也可穿过细胞膜。除增加非亲脂药物穿过细胞膜的扩散 外,穿透增强剂的作用还有增强亲脂药物的渗透性。

[0395] 在本发明中可用的5类穿透增强剂包括:表面活性剂、脂肪酸、胆汁 盐、螯合剂和非螯合非表面活性剂。其它可用于增强所施用寡核苷酸的穿 透的试剂包括:二醇如乙二醇和丙二醇,吡咯如2-15吡咯、氮酮和萜烯 如萜二烯以及薄荷酮。

[0396] 寡核苷酸(尤其是在脂质制剂中) 还可通过与阳离子脂质制剂一起包 被医疗装置来进行施用,例如导管(如血管成形术气囊导管)。例如,可 通过将医疗装置放入脂质制剂或脂质制剂和适合的溶剂(如基于水的缓冲 液、含水溶剂、乙醇、二氯甲烷、氯仿等) 的混合物中来进行包被。一定 量的制剂将自然粘附到装置的表面,随后将装置适当地施用给患者。或者, 可将脂质制剂的冻干混合物与装置的表面特异性地结合。在如K.Ishihara 等, Journal of Biomedical Materials Research,27卷,1309-1314页(1993) (其公开内容通过整体引用并入本文) 中描述了这种结合技术。

[0397] 待施用的有效剂量和具体施用方式根据以下因素而异,如细胞类型, 或对于体内施用而言的年龄,体重和特定动物以及待处理的部位,特定的 寡核苷酸和所用的递送方法,预想的治疗或诊断应用和制剂形式(如悬液、乳剂、胶束或脂质体),这对本领域技术人员是显而易见的。通常,以较 低的水平施用剂量而后增加剂量直至达到所需的效果。当采用脂质递送寡 核苷酸时,被施用的脂质化合物的量可不同,并且通常取决于施用的寡核苷酸试剂的量。例如,脂质化合物与寡核苷酸试剂的重量比优选为约1:1 至约15:1,更优选的重量比为约5:1至约10:1。通常,施用的阳离子脂质 化合物的量为约0.1毫克 (mg) 至约1 毫克 (mg) 不等。作为一般性指 导,通常对于每千克患者体重施用约0.1mg至约10mg的特定寡核苷酸药 剂和约1mg至约100mg的脂质组合物,但也可采用更高和更低的量。

[0398] 本发明的试剂以适于药物施用的生物相容形式施用给患者或与细胞 接触。“适于施用的生物相容形式”是指寡核苷酸以这样的形式施用,其中所述寡核苷酸的任何毒性作用被治疗作用超过。在一个实施方案中,可 将寡核苷酸施用给对象。对象的实例包括哺乳动物,例如任何其它灵长类 动物;牛、猪、马和畜牧(农业) 动物;狗、猫和其它家养宠物;小鼠、大鼠和转基因非人动物。

[0399] 施用活性量的本发明寡核苷酸定义为在达成期望结果所需的剂量和 时间下的有量。例如。寡核苷酸的活性量可根据以下因素变化,如细胞 类型,所用的寡核苷酸,并且

对于体内使用为个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及寡核苷酸在个体中引发所需应答的能力。细胞中寡核苷酸治疗水平的确定取决于摄取和流出或降解的速率。降低降解程度延长了寡核苷酸的细胞内半衰期。因此，化学修饰的寡核苷酸（例如，具有磷酸骨架的修饰）可需要不同的剂量。

[0400] 寡核苷酸的精确剂量和施用剂量的次数取决于实验和临床试验中获得的数据。如所需作用、递送载体、疾病适应症和施用途径等因素会影响剂量。本领域普通技术人员可容易地确定剂量并制备成本发明药物组合物。优选地，治疗的持续时间将至少持续到疾病症状过程中。

[0401] 可调整剂量方案以提供最佳的治疗应答。例如，可重复地施用寡核苷酸，例如，可每天施用几个剂量或如治疗情况的实际状况所指示的成比例地减少。不论将寡核苷酸施用给细胞或对象，本领域普通技术人员能容易地确定施用对象寡核苷酸的适合剂量和施用时间表。

[0402] 引入核酸的物理方法包括注射含有核酸的溶液、用涂覆有核酸的颗粒轰击，将细胞或组织浸入核酸溶液中或在核酸的存在下对细胞膜进行电穿孔。包装入病毒颗粒的病毒构建体能有效地将表达构建体引入细胞并转录表达构建体所编码的核酸。可采用其它本领域已知的将核酸引入细胞的方法，如脂质介导的载体转运，化学介导的转运（如磷酸钙）等。因此，核酸可与发挥一种或更多种以下活性的组分一起被引入：增强细胞的核酸摄取，抑制单链的退火，稳定单链或者以其他方式增强对靶基因的抑制。

[0403] 可将核酸直接引入细胞（即细胞内方式）；或细胞外地引入腔、间隙，引入生物的循环，经口或通过吸入引入，或可通过在含有核酸的溶液中浸泡细胞或生物体引入。血管或血管外循环，血液或淋巴系统和脑脊液是可引入核酸的部位。

[0404] 具有靶基因的细胞可源自或包含在任何生物体中。所述生物体可为植物、动物、原生动物、细菌、病毒或真菌。植物可为单子叶、双子叶或裸子植物；动物可为脊椎动物或非脊椎动物。优选的微生物是在农业或工业中使用的，以及对植物或动物为致病性的那些。

[0405] 或者，可使用本领域公知技术将载体（例如编码本发明siRNA的转基因）改造到宿主细胞或转基因动物中。

[0406] 本发明核酸（或其编码载体或转基因）的另一用途是在真核细胞或真核非人生物（优选哺乳动物细胞或生物，最优先选人细胞（例如像HeLa或293的细胞系）或啮齿类动物（例如大鼠和小鼠））中进行功能性分析。通过施用与靶mRNA序列充分互补以指导靶标特异性RNA干扰的适当的本发明核酸，可在靶细胞中（例如在细胞培养物中或在靶生物体中）实现特异性敲除或敲低现象。

[0407] 因此，本发明的另一主题为显示包含至少一个内源靶基因全部或至少部分缺陷表达的靶基因特异性敲除或敲低现象的真核细胞或真核非人生物，其中所述细胞或生物被至少一种载体转染，所述载体包含编码能抑制靶基因表达的RNAi剂的DNA。应注意，由于RNAi剂的特异性，本发明可靶标特异性地敲除或敲低几个不同内源基因。

[0408] 可在分析方法中利用细胞或非人生物（特别是人细胞或非人哺乳动物）的基因特异敲除或敲低现象，如在复杂生理过程的功能和/或表型分析中（如分析基因表达谱和/或蛋白质组）。优选地，采用如基于寡核苷酸的芯片通过高通量方法进行所述分析。

[0409] 寡核苷酸稳定性测定

[0410] 在一些实施方案中,可使本发明的寡核苷酸稳定化,即对核酸内切酶 和核酸外切酶降解具有显著抗性。当寡核苷酸对细胞内源核酸酶的抗性为 对应寡核苷酸的约至少3倍时,将前者定义为对核酸酶具有显著抗性,当 抗性为对应寡核苷酸的至少6倍时,将前者定义为具有高核酸酶抗性。这 可以通过利用本领域已知技术显示本发明寡核苷酸对核酸酶具有显著抗 性来证实。

[0411] 证明显著稳定性的一种方法是例如通过测定蛋白质水平或通过检测 mRNA切割来表明本发明寡核苷酸递送到细胞后发挥功能,例如它们减 少靶核酸分子的转录或翻译。可在转染后约24小时进行靶RNA稳定性 的测定(例如,采用本领域已知的Northern印迹技术, RNase保护测定 或QC-PCR测定)。或者,可测量靶蛋白质的水平。优选地,除检测目的 RNA或蛋白质水平外,检测对照的非靶标基因的RNA或蛋白质水平(例 如,肌动蛋白,或优选的与 靶标具有序列相似性的对照)作为特异性参照。可利用任何本领域公知技术进行RNA或蛋白 质测定。优选地,在转染后 约16-24小时开始进行测定(M.Y.Chiang等,1991.J Biol Chem. 266:18162-71;T.Fisher等,1993.Nucleic Acids Research.21 3857)。

[0412] 可利用本领域已知技术测定本发明寡核苷酸组合物抑制蛋白质合成 的能力,例如通过检测对基因转录或蛋白质合成的抑制。例如,可进行核 酸酶S1作图(Nuclease S1 mapping)。在另一个实施方案中,可采用Northern印迹分析来检测编码特定蛋白质的RNA的存在。例如,可通过 氯化铯垫 (cesium chloride cushion) 制备总RNA (参见例如Ausebel 等, 1987.Current Protocols in Molecular Biology (Greene & Wiley,New York))。然后可采用RNA进行Northern印迹并检测(参见例如同前)。在另一个实例中,可采用如PCR测定靶蛋白质产生的特异mRNA的水平。在又一个实例中,可采用Western印迹检测存在的靶蛋白 质的量。在另一 个实施方案中,可检测被蛋白质量影响的表型。本领域公知进行 Western 印迹的技术(参见例如Chen等,J.Biol.Chem.271:28259)。

[0413] 在另一个实例中,靶基因的启动子序列可与报告基因连接并且可监测 报告基因的转录(例如,如下文详细描述的)。或者,可通过将靶核酸分 子的一部分与报告基因融合以转录报告基因来鉴定不靶向启动子的寡核 苷酸组合物。通过在寡核苷酸组合物的存在下监测报告基因表达的变化, 可以确定寡核苷酸组合物抑制报告基因表达的效力。例如,在一个实施方 案中,有效的寡核苷酸组合物将减少报告基因的表达。

[0414] “报告基因”为表达可检测基因产物(其可为RNA或蛋白质)的核 酸。可通过 Northern印迹进行mRNA表达的检测,并且可通过用对蛋白 质特异的抗体染色来进行蛋白 质的检测。优选的报告基因产生容易检测的 产物。报告基因可与调控DNA序列可操作性连 接,以使对报告基因产物 的检测为调控序列的转录活性提供检测手段。在一些优选的实施方案中,通过与产物相关的固有活性来检测报告基因的基因产物。例如,报告基因 可编码这样的基因产物,即其通过酶活性产生基于颜色、荧光或发光的可 检测信号。报告基因的 实例包括但不限于编码氯霉素乙酰转移酶(CAT)、萤光素酶、β-半乳糖苷酶和碱性磷酸酶 的基因。

[0415] 本领域技术人员能容易地识别适用于本发明的多种报告基因。这些包 括但不限于氯霉素乙酰转移酶(CAT)、萤光素酶、人生长激素(hGH) 和β-半乳糖苷酶。F.A.Ausubel等 编,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley & Sons,New York,(1989) 中

有这种报告基因的实例。编码可检测产物(例如具有可检测酶活性或可产生针对其的特异性抗体)的任何基因均可用作本发明的报告基因。

[0416] 一个报告基因系统是萤火虫萤光素酶报告系统(Gould,S.J.和Subramani,S.1988.Anal.Biochem.,7:404-408,通过引用并入本文)。萤光素酶测定是快速和灵敏的。在本测定中,制备测试细胞的裂解物并与ATP和底物萤光素组合。所编码的酶萤光素酶催化底物快速发生ATP依赖性氧化以产生发光产物。测量光输出总量,并且其在大范围的酶浓度下与存在的萤光素酶量成比例。

[0417] CAT是另一个常用的报告基因系统;该系统的主要优点是其被大量地证实并作为启动子的测量方法被广泛接受(Gorman C.M.,Moffat,L.F.,和Howard,B.H.1982.Mol.Cell.Biol.,2:1044-1051)。在该系统中,用CAT表达载体转染测试细胞,并转染最初的2-3天内与候选底物一起孵育。其后制备细胞提取物。将提取物与乙酰辅酶A和放射性氯霉素一起孵育。在孵育后,通过薄层层析将乙酰化氯霉素从未乙酰化形式中分离。在此测定中,乙酰化的程度反映了具有特定启动子的CAT基因的活性。

[0418] 另一个适合的报告基因系统基于hGH的免疫检测。该系统也很迅速并易于使用。(Selden,R.,Burke-Howie,K.Rowe,M.E.,Goodman,H.M.,和Moore,D.D.(1986),Mol.Cell.Biol.,6:3173-3179,通过引用并入本文)。该hGH系统的优点是表达的hGH多肽在培养基中而不是在细胞提取物中进行测定。因此,该系统不需要破坏测试细胞。应理解,该报告基因系统的原理不限于hGH,而是可以适用于任何可获得或可制备特异性可接受抗体的任何多肽。

[0419] 在一个实施方案中,测量本发明双链寡核苷酸的核酸酶稳定性并与对照比较,所述对照如本领域通常采用的RNAi分子(例如长度小于25个核苷酸并包含2核苷酸碱基突出端的双链体寡核苷酸)或平末端的未修饰RNA二聚体。

[0420] 采用本发明siRNA实现的靶RNA切割是高度序列特异的。可通过序列比较和本领域已知的比对算法确定序列同一性。为了确定两个核酸序列(或两个氨基酸序列)的同一性百分比,以进行最佳比较为目的进行序列比对(例如为了最佳比对可在第一序列或第二序列中引入缺口)。用于序列比较的局部比对算法的优选的、非限制性实例是Karlin和Altschul(1990)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:2264-68的算法,在Karlin和Altschul(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-77中进行了改进。该算法被整合入Altschul等(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的BLAST程序(2.0版)中。或者,多个商业实体(如Dharmacon和Invitrogen)在其网站中提供了算法。Whitehead Institute也提供了免费的siRNA选择程序。优选地,siRNA和靶基因部分之间具有大于90%的序列同一性(例如91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或甚至100%的序列同一性)。或者,可将siRNA在功能上限定为能与靶基因转录本的一部分杂交的核苷酸序列(或寡核苷酸序列)。多核苷酸杂交的严格条件的实例在Sambrook,J.,E.F.Fritsch和T.Maniatis,1989,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,9和11章,以及Current Protocols in Molecular Biology,1995,F.M.Ausubel等编,John Wiley & Sons,Inc.,sections 2.10 and 6.3-6.4中提供。

[0421] 治疗用途

[0422] 通过抑制基因表达,本发明的寡核苷酸组合物可用于治疗任何涉及蛋白质表达

的疾病。可用寡核苷酸组合物治疗的疾病的说明性实例包括：癌症、视网膜病变、自身免疫病、炎性疾病(即ICAM-1相关疾病、牛皮癣、溃疡性结肠炎、克罗恩病)、病毒疾病(即HIV、丙肝)、miRNA障碍和心血管疾病。

[0423] 在一个实施方案中，寡核苷酸的体外细胞治疗可用于从对象中取出的细胞的离体治疗(例如用于治疗白血病或病毒感染)，或用于处理不源自对象但施用给对象的细胞(例如消除待移植给对象的细胞上表达的移植抗原)。此外，细胞的体外处理可用于非治疗背景(例如评价基因功能)，以研究基因调控和蛋白质合成或评价设计用于调节基因表达或蛋白质合成的寡核苷酸的改进。细胞的体内处理可用于一些需要抑制蛋白质表达的治疗背景。据报道反义治疗适于多种医学病症(参见例如美国专利No. 5,830,653)以及呼吸道合胞体病毒感染(WO 95/22,553)、流感病毒(WO 94/23,028)和恶性肿瘤(WO 94/08,003)。其它反义序列临床应用的实例在如Glaser.1996.Genetic Engineering News 16:1中综述。寡核苷酸切割的示例性靶标包括，例如蛋白激酶Ca、ICAM-1、c-raf激酶、p53、c-myb 和在慢性髓细胞性白血病中发现的bcr/abl融合基因。

[0424] 本发明核酸可在任何具有RNAi途径的动物中用于基于RNAi的治疗，所述动物如人、非人灵长类动物、非人哺乳动物、非人脊椎动物、啮齿类动物(小鼠、大鼠、仓鼠、兔等)、家畜、宠物(猫、狗等)、爪蟾、鱼、昆虫(果蝇等)和蠕虫(线虫)等。

[0425] 本发明提供通过向对象施用本发明核酸来抑制或预防对象中与异常或有害的靶基因表达或活性相关的疾病和病症的方法。适当时，首先用引发剂处理对象以使其对随后的RNAi治疗的应答性更高。可通过如本领域已知的任何诊断或预后测定或其组合来鉴定有发生由异常或有害靶基因表达或活性引起或有其参与的疾病之风险的对象。预防剂的施用可在表现出靶基因异常的症状之前进行，以预防疾病或异常，或者作为替代地延缓其发展。例如，根据靶基因异常的类型，可采用靶基因、靶基因激动剂或靶基因拮抗剂来治疗对象。

[0426] 在另一个方面，本发明涉及为治疗目的而调节靶基因表达、蛋白质表达或活性的方法。因此，在一个示例性实施方案中，本发明方法涉及将能表达靶基因的细胞与对靶基因或蛋白质具有特异性的本发明核酸(即对所述基因编码的mRNA具有特异性或特异性靶向所述蛋白质的氨基酸序列)接触以调节靶蛋白质的表达或一种或更多种活性。这些方法可在体外(例如，通过用试剂培养细胞)、体内(例如，通过将试剂施用给对象)或离体进行。可首先用引发剂处理对象以使其对随后的RNAi治疗的应答性更高。因此，本发明提供治疗患疾病或异常的对象的方法，所述疾病或异常的特征在于靶基因多肽或核酸分子的异常或不想要的表达或活性。在靶基因异常地不受调控和/或靶基因活性降低可能有有利作用的情况下，期望抑制靶基因活性。

[0427] 因此可将本发明的治疗剂施用给对象以(预防性地或治疗性地)治疗与异常或不想要的靶基因活性相关的疾病。可考虑将药物基因组学(即研究个体基因型与该个体对外界化合物或药物反应之间的关系)与该治疗结合。通过改变剂量与药理学活性药物的血液浓度之间的关系，治疗剂代谢的差异可导致严重的毒性或治疗失败。因此，内科医生或临床医生可考虑将从相关药物基因组学研究中获得的知识用于确定是否施用治疗剂并依据个体确定治疗剂的剂量和/或治疗方案。药物基因组学涉及对药物应答(由于改变的药物特性和在患者中的异常作用)的具有临床意义的遗传改变。

[0428] 为本发明目的,本文中可将范围表示为从“约”一个特定值和/或至“约”另一个特定值。当这样表示范围时,另一个实施方案包括从一个特定值和/或至另一个特定值。类似地,当值通过采用前置的“约”被表达为约数时,应理解其它特定值形成另一个实施方案。还应理解,每个范围的端点在与另一个端点相关和与另一个端点无关的情况下都是有意义的。

[0429] 此外,为本发明目的,当未限定实体的数量时是指一个或更多个该实体;例如,“蛋白质”或“核酸分子”是指一个或多个这种化合物或至少一个化合物。因此,本文中不限定数量的用法可与“一或更多”和“至少一”相互替换使用。还应注意术语“包含”、“包括”和“具有”可相互替换使用。此外,“选自……”的化合物是指以下列出的一个或更多个化合物,包括两个或更多个化合物的混合物(即组合)。根据本发明,分离的、生物纯的蛋白质或核酸分子是从其天然环境中分离的化合物。因此,“分离的”和“生物纯”不一定反映所述化合物被纯化的程度。本发明的分离化合物可从其天然来源获得,可采用分子生物学技术产生或可通过化学合成生成。

[0430] 本发明还通过以下实施例进行说明,不应将所述实施例作为进一步的限制。本申请中引用的所有参考文献(包括文献参考文献、授权专利、公开的专利申请和待批的专利申请)的全部内容均通过引用特意地并入。

[0431] 实施例

[0432] 实施例1:利用最小长度的触发RNA抑制基因表达

[0433] 转染最小长度的触发RNA (Minimum Length Trigger RNA, m1tRNA)

[0434] 化学合成m1tRNA构建体(Integrated DNA Technologies, Coralville, IA)并根据生产商说明采用Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA) 转染入HEK293细胞(ATCC, Manassas, VA)。简单来讲,将RNA稀释为12X浓度而后与12X浓度的Lipofectamine RNAiMAX组合以进行复合。使RNA和转染试剂在室温下复合20分钟制成6X浓度。在复合的同时,清洗HEK293细胞,用胰酶消化并计数。将细胞稀释到制造商建议和之前所述条件的浓度,即 1×10^5 个细胞/ml。当RNA完成与RNAiMAX转染试剂的复合时,将20ul复合物一式三份加入96孔板的适当孔中。将细胞加到每个孔中(100ul体积)以使每孔的最终细胞数为 1×10^4 个细胞/孔。细胞的体积将6X浓度的复合物稀释至1X,与记录的浓度相等(10-0.05nM)。将细胞在正常生长条件下孵育24小时或48小时。

[0435] 在24或48小时的孵育后,裂解细胞,并用QuantiGene测定(Panomics, Freemont, CA, 其利用bDNA杂交技术)检测基因沉默活性。根据制造商的说明进行所述测定。

[0436] ΔG 计算

[0437] 采用从Mfold网站(<http://mfold.bioinfo.rpi.edu/cgi-bin/rna-form1.cgi>)上获得的Mfold计算 ΔG 。在以下文献中描述了 ΔG 的计算方法,它们均通过引用并入: Zuker, M. (2003) Nucleic Acids Res., 31(13):3406-15; Mathews, D.H., Sabina, J., Zuker, M 和 Turner, D.H. (1999) J. Mol. Biol. 288:911-940; Mathews, D.H., Disney, M.D., Childs, J. L., Schroeder, S.J., Zuker, M. 和 Turner, D.H. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. 101:7287-7292; Duan, S., Mathews, D.H. 和 Turner, D.H. (2006) Biochemistry 45:9819-9832; Wuchty, S., Fontana, W., Hofacker, I.L. 和 Schuster, P. (1999) Biopolymers 49:145-165。

[0438] 实施例2:优化用于基因沉默的sd-rxRNA^{nano}分子

[0439] 本文开发了具有最小双链区的不对称双链RNAi分子，其在基因沉默中高效。这些分子可在有义和/或反义链上包含多种化学修饰，并可与固醇样分子（如胆固醇）缀合。

[0440] 图1-3显示本发明RNAi分子的示意图。在包含有义和反义链的不对称分子中，任一条链可为较长链。任一条链还可包含单链区。如图1D所示，有义和反义链之间还可有错配。优选地，双链分子的一个末端为平末端或包含短的突出端，如一个核苷酸的突出端。图2表示应用于有义和反义链上的化学修饰类型，包括 $2'$ F、 $2'$ OMe、疏水修饰和硫代磷酸酯修饰。优选地，分子的单链区包含多个硫代磷酸酯修饰。可使用诸如5-U的4-吡啶基、5-U的2-吡啶基、5-U的异丁基和5-U的吲哚基的化合物增加分子的疏水性（图2）。还可采用如精蛋白（或其它Arg富含肽）、亚精胺或类似化学结构的蛋白质或肽来屏蔽双链体电荷以便于细胞进入（图3）。可通过共价或非共价修饰获得增强的疏水性。图4显示了几种正电荷的化学物质，其可用于封闭多核苷酸电荷。

[0441] 多核苷酸的化学修饰（例如双链体分子的引导链）可促进RISC进入。图5显示了单链多核苷酸，其代表双链体分子的引导链，其上具有多种化学修饰，包括 $2'$ d、 $2'$ OMe、 $2'$ F、疏水修饰、硫代磷酸酯修饰和缀合物附着（如图5中的“X”，其中X可为与PAZ结构域具有高亲和性的分子或固醇类实体）。类似地，图6显示单链多核苷酸，代表双链体分子中的负载链，其具有预测的RISC底物抑制剂的结构和化学构成。化学修饰的组合可保证有效摄取和与预装载的RISC复合物的有效结合。

[0442] 图7显示连接有固醇类分子的多核苷酸的结构，其中R表示9碳或更长的多碳尾。图8显示17位连接有长于8的多碳链的天然植物甾醇的实例。已知多于250种的不同植物甾醇类型。图9显示固醇样结构的实例，其中连接到17位的多碳链的大小不同。图91代表可代替胆固醇用作疏水实体的固醇类分子的其它实例。图92代表可代替胆固醇用作疏水实体的疏水分子的其它实例。这些特性的优化可增强RNAi分子的摄取特性。图10显示从Martins等（J Lipid Research）获取的数据，其表明连接到17位的多碳链的大小直接影响包含固醇类分子的脂质乳剂的肝摄取和血浆清除百分率。图11显示由与疏水缀合物连接的多核苷酸和脂肪酸的混合物形成的胶束。图12显示脂质组成的改变可如何影响疏水修饰和/或疏水缀合的多核苷酸的药代动力学行为和组织分布。特别地，采用富含亚油酸和心磷脂的脂质混合物导致心肌的偏好性摄取。

[0443] 图13显示设计为靶向MAP4K4表达的RNAi构建体和对照的实例。图14和15揭示具有最小双链区（如约13个核苷酸的双链区）的RNAi构建体在介导细胞培养物的RNA沉默中有效。图16显示了与这些RNA分子相关的参数。图17显示设计用于靶向SOD1表达的RNAi构建体和对照的实例。图18和19揭示采用这些RNAi分子靶向细胞中SOD1的基因沉默实验的结果。图20为说明具有小于10个核苷酸的双链区的RNA分子不被Dicer切割的示意图，图21为显示用于RNA诱导基因沉默的假想RNAi模型的示意图。

[0444] 将本文所述的RNA分子在有义和反义链上进行多种化学修饰，并且观察这种修饰的作用。合成RNAi分子并通过测试多种修饰对其进行优化。在第一代的优化中，将sd-rxRNA^{nano}分子的有义（负载）和反义（引导）链进行修饰，所述修饰如通过掺入C和U的 $2'$ OMe修饰、 $2'$ F修饰、硫代磷酸酯修饰、磷酸化和胆固醇缀合。测试分子通过脂质介导和被动摄取转染对细胞（包括HeLa、原代小鼠肝细胞和原代人肝细胞）MAP4K4表达的抑制。

[0445] 图22揭示化学修饰可增强基因沉默。特别地，将引导链的 $2'$ F UC修饰和硫代磷酸

酯修饰区段与负载链上的完全CU 0' Me修饰组合,产生 了在基因沉默中高效的分子。还检测了化学修饰在HeLa细胞中体外无协助递送中的作用。图23证明无任何2' F、2' OMe、硫代磷酸酯区段或胆固醇缀合物的化合物在被动摄取中完全无活性。全部4种化学修饰的组合(例如12386化合物中)显示在基因沉默中非常高效。图24还显示了12386 化合物在基因沉默中的有效性。

[0446] 还研究了寡核苷酸长度的优化。图25和26揭示与25个核苷酸长的 寡核苷酸相比,21个核苷酸长的寡核苷酸更有效,这表明减小RNA分子 的大小可提高效力,可能是通过促进其摄取。还进行了筛选以优化双链 RNA分子双链区的大小。图88揭示具有10个核苷酸双链体的化合物在 诱导基因沉默中有效。有义链相对于引导链的位置也可对基因表达沉默很 关键(图89)。在此测定中,发现平末端是最有效的。3' 突出端是可容忍 的,但5' 突出端导致功能的完全丧失。当与多种长度的有义链杂交时,引 导链可在基因沉默中有效(图 90)。在图90显示的测定中,通过脂质介 导的转染将化合物引入HeLa细胞。

[0447] 还研究了RNA分子的硫代磷酸酯含量对于无协助递送的重要性。图 27显示了证明引导链中至少2-12个硫代磷酸酯(优选4-8个)的存在对 达成摄取极为有利的系统性筛选的结果。图27还表明有义链硫代磷酸酯 修饰的存在与否不改变效力。

[0448] 图28-29揭示RNA化合物的被动摄取对原代小鼠肝细胞的基因沉默 的作用。发现 nanoRNA分子是高效的,特别是浓度为1 μ M时 (图28)。图30和31揭示本发明的RNA化合物在原代人肝细胞的被动摄取后的基 因沉默中也是有效的。如图32和33所示,检测了本发明 RNA分子的细 胞定位并将其与Chol-siRNA (Alnylam) 分子的定位比较。

[0449] 图21显示了对第一代sd-rxRNA分子的概述。将化学修饰引入RNA 分子的至少一部分中,以增加效力(例如通过优化核苷酸长度和硫代磷酸 酯含量)、减少毒性(例如通过用其它修饰替换引导链上的2' F修饰)、增 强递送(例如通过将接头和固醇模式添加或缀合到 RNA分子) 并提高制 造RNA分子的方便性。图35显示在第一代分子中所筛选的一些化学修饰的示意图。在引导链上进行优化的参数包括核苷酸长度(例如19、21 和25个核苷酸)、硫代磷酸酯含量(例如,0-18个硫代磷酸酯连接) 和用 2' OMe、5MeC或核糖胸昔替换2' F基团。所优化的有义链参数包括核苷 酸长度(11、13和19个核苷酸)、硫代磷酸酯含量(例如,0-4 个硫代磷 酸酯连接) 和2' OMe修饰。图36概括了所筛选的参数。例如,以优化为 目的修饰和筛选了核苷酸长度和硫代磷酸酯尾长度,也筛选了2' OMe C 和U修饰的添加。发现引导链长度和核苷酸硫代磷酸酯修饰区段的长度 影响效力(图37-38)。引导链中可容忍硫代磷酸酯修饰并发现其影响被动 摄取(图39-42)。

[0450] 图43显示所筛选的引导链化学修饰的示意图。图44和45表明引导 链3' 末端可容忍2' OMe修饰。特别地,1和11-18位的2' OMe修饰被很 好地容忍。种子区的2' OMe修饰可容忍,但导致效力的轻微降低。种子 区的核糖修饰也被很好地容忍。这些数据表明,本发明分子具有减少2' F 修饰或无2' F修饰的显著优势。这是有利的,因为认为2' F修饰在体内产 生毒性。在一些情况下,发现用2' OMe完全替换2' F修饰导致效力的部 分降低。然而,2' OMe取代的分子仍具有相当高的活性。发现2' F含量 降低50%的分子(包括11、16-18位替换成2' OMe修饰) 与完全2' F C 和U修饰的化合物具有类似的效力。发现在一些情况下位置上的2' OMe 修饰降低效力,尽管其可部分被1位(具有化学磷酸酯) 的2' OMe修饰 补偿。在一些情况下,用5Me C和/或核糖胸昔替换2' F修饰导致被动摄 取效力的降低,但与2' F修饰相比增强

了脂质介导转染的效力。脂质介导 转染的优化结果不一定与被动摄取的相同。

[0451] 如图46所示,还开发和测试了有义链上的修饰。图47揭示在一些情 况下,发现约10-15碱基的有义链长度是最优的。对于图47中测试的分 子,有义链长度的增加导致被动摄取的减少,然而对于一些化合物有义链 长度的增加是可容忍的。图47还揭示有义链的LNA修饰显示出与不含 LNA修饰的化合物相似的效力。一般地,发现添加LNA或其它热力学 稳定性化合物是有利的,在一些情况下导致无功能序列转变为有功能序 列。图48也显示了有义链长度优化的数据,而图49显示对于被动摄取不 需要有义链的硫代磷酸酯修饰。

[0452] 根据上述优化试验,开发了第二代RNA分子。如图50所示,这些 分子相对于第一代 RNA分子包含减少的硫代磷酸酯修饰含量和减少的 2' F修饰含量。重要的是,这些RNA分子显示在无递送载体的情况下自 发的细胞摄取和效力(图51)。这些分子可实现自递送(即无 转染试剂), 并且在自递送之后可在细胞培养物中显示纳摩尔活性。还可用脂质介导的 转染递送这些分子,并在转染后显示皮摩尔活性。重要的是,这些分子显 示高效的摄取,为被 细胞培养物中95%的细胞摄取,并在100%人血清的 存在下稳定多于3天。这些分子也是高 特异性的并不显示或显示极少的免 疫诱导。图52和53显示了化学修饰和这些修饰的构型 对影响本发明RNA 分子特性的重要性。

[0453] 还测试了与本发明RNA分子相连的接头化学结构。如图54中所示, 合成了第二代 RNA分子,其中将固醇类分子通过TEG和氨基己酸接头 连接。两种接头显示相同的效能。这种不依赖于接头化学结构的RNA分 子功能为规模扩大和合成提供了额外的优势,并证明这些RNA分子的功 能机制和之前所述RNA分子的显著不同。

[0454] 图55证明了与未修饰RNA相比,本文所述化学修饰的sd-rxRNA化 合物在人血清中的稳定性。将双链体分子在37℃下在75%的血清中孵育 所示时间。通过将样品在非变性凝胶上电泳并用SYBGR染色确定降解水 平。

[0455] 图56和57表示sd-rxRNA分子细胞摄取的数据。图56表明最小化 RNA分子长度对细胞摄取很重要,而图57所显示的数据显示小鼠PEC 衍生巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶基因沉默。图58证明原代细胞中的 自发摄取和靶基因沉默。图59显示不使用制剂将本发明的 sd-rxRNA分 子递送到RPE细胞的结果。Hoechst和DY547成像显示在sd-rxRNA样 品中清晰 存在代表RNA分子的信号,而在其它样品(包括与竞争复合物、 rxRNA样品和未转染对照的 样品)中没有检测到信号。图60揭示不使用 转染制剂用本发明sd-rxRNA处理RPE细胞24-48 小时后靶基因表达的 沉默。

[0456] 图61显示了sd-rxRNA化合物化学/结构组成的进一步优化。在一些 情况下,优选 的特征包括17-21个核苷酸长的反义链,10-15个核苷酸长 的有义链,在分子的单链区含有 2-12个硫代磷酸酯修饰核苷酸(优选在 单链区中具有6-8个硫代磷酸酯修饰核苷酸),和大部分位点被2' OMe修 饰的具有或不具有硫代磷酸酯修饰的有义链。可采用任何接头化学结构将 疏水部分(如胆固醇)与有义链3' 末端连接。如图61所示GIIb类型分 子不具有2' F修 饰。重要的是,这对这些分子的效力无影响。

[0457] 图62证明sd-rxRNA化合物与Wolfrum等Nature Biotech,2007发 表的化合物相比更好的性能。本文开发的I代和II代化合物(GI和GIIa) 均在减少靶基因表达中显示很好的 效力。与之不同,当将Wolfrum等所 述的化学结构(所有寡聚物包含缀合到有义链3' 末端的 胆固醇)应用于传 统siRNA(19bp具有两端突出端的双链体)的相同序列上时,化合物基 本

无活性。这些数据强调了将本文所述的化学修饰和不对称分子组合产生高效RNA化合物的重要性。

[0458] 图63显示了本文中开发的sd-rxRNA分子的定位与如Soutschek等 (2004) Nature, 432:173所述的那些其它RNA分子定位的比较。sd-rxRNA 分子在细胞内累积,而竞争缀合RNA在细胞表面累积。重要的是,图64 表明sd-rxRNA分子(而不是如Soutschek等描述的那些竞争分子)在几 分钟内被内化。图65将sd-rxRNA分子的定位与通常的siRNA-胆固醇(如在Soucheck等中所述的那些)进行比较。在组织培养的RPE细胞中,在 局部递送到受损皮肤后和在全身递送后进行摄取的肝中明显地检测到代 表RNA分子的信号。在每种情况下,对于通常的siRNA-胆固醇分子均检 测不到信号。因此,与如Soutschek等描述的常规胆固醇缀合siRNA相 比, sd-rxRNA化合物具有明显更佳的细胞和组织摄取特性。摄取水平至 少高一个数量级,并且至少部分是由于化学结构与缀合结构的独特组合。也在图66和67中证明了sd-rxRNA相对于之前所述的RNA分子的更好 递送。

[0459] 根据对本发明第二代RNA分子的分析,进行了鉴定靶向SPP1/PPIB 基因的功能性分子的筛选。如图68所揭示的,鉴定出了几个有效的分子, 其中14131最有效。将所述化合物加入A-549细胞而后在48小时后通过 B-DNA确定SPP1/PPIB比值水平。

[0460] 图69证明在几分钟的暴露中sd-rxRNA的有效细胞摄取。这是这些 分子的独特特征,在其它任何RNAi化合物中未观察到。用Soutschek等 的化合物作为阴性对照。图70证明多种细胞类型 (包括SH-SY5Y成神 经细胞瘤衍生细胞、ARPE-19 (视网膜色素上皮) 细胞、原代肝细胞和原 代巨噬细胞) 中sd-rxRNA化合物有效摄取和基因沉默。在每种情况下通 过用分支DNA测定观察靶基因表达来确定沉默。

[0461] 图70表明在存在和不存在血清的情况下sd-rxRNA均有活性。在存 虽然在血清存 在时观察到效力的微小降低(2-5倍),这种在血清存在时效 力的微小降低将sd-rxRNA分子与之前所述的分子区分开来(后者在血清 存在下效力有极大的降低)。这种血清存在下的效力水平是体内效力的基 础。

[0462] 图72证明在单次真皮内注射后有效组织渗透和细胞摄取。该数据表 明本文所述 sd-rxRNA化合物在任何皮肤学应用中用于沉默基因的潜力, 并且也代表了sd-rxRNA化合物局部递送的模型。图73也证明真皮内注 射后sd-rxRNA有效的细胞摄取和体内沉默。通过将几个单独注射位点的 生物活检样品与注射了阴性对照的位点的生物活检样品中MAP4K4 敲低 水平进行比较来确定沉默。图74揭示sd-rxRNA化合物在全身施用后具 有改善的血液清除并在肝中诱导体内有效基因沉默。与Soutschek等所述 的RNA分子相比,相同剂量水平下sd-rxRNA分子肝摄取水平至少高50 倍。所述摄取导致有效的沉默。Sd-rxRNA化合物的特征还有改进的血液 清除动力学。

[0463] 还检测了5-甲基C修饰的作用。图75证明5-甲基C在RNAi化合物 中的存在导致脂质介导转染的效率提高。这证明在RNAi化合物中C和U 的疏水修饰可为有利的。可在2' 核糖修饰碱基的情况下采用这种类型的修 饰以保证稳定性和效力的优化。图76所显示的数据表明在一些情况下在 引导链中整合5-甲基C和/或核糖胸昔降低了效力。

[0464] 图77揭示在对肝的全身递送中sd-rxRNA分子比如Soutschek等所 述分子的竞争分子相比更有效。在含有sd-rxRNA的样品中清晰可见代表 RNA分子的信号,而在含有竞争 RNA分子的样品中未见到代表RNA分 子的信号。

[0465] 还研究了在sd-rxRNA分子上疏水缀合物的添加(图78-83)。图78 为证明5-尿苷基修饰具有改进的疏水特性的示意图。将这种修饰整合入 sd-rxRNA化合物可提高细胞和组织摄取特性。图78B为可应用于化合物 以提高细胞摄取和药代动力学行为的新型RNAi化合物修饰。重要的是, 当用于sd-rxRNA化合物时, 该种类型的修饰可使这种化合物经口获取。图79为显示合成的经修饰固醇类分子的结构的示意图, 其中C17连接尾 的长度和结构被改变。不希望局限于任何理论,C17连接尾的长度可提高 sd-rxRNA化合物的体外和体内效力。

[0466] 图80为显示用石胆酸作为长侧链胆固醇的示意图。图81为显示5- 尿苷亚磷酰胺合成途径的示意图。图82显示用于3' -胆固醇连接的三功能 羟基脯氨酸接头合成的示意图。图83为显示用于制造更短的不对称RNAi 化合物链的固体支持物的合成示意图。

[0467] 进行筛选以鉴定能有效沉默SPP1(骨桥蛋白)表达的化合物。将靶 向SPP1的化合物加入A549细胞(采用被动转染)并在48小时后评价 SPP1的表达水平。鉴定了在SPP1沉默中有效的几种新化合物。在SPP1 沉默中有效的化合物包括14116、14121、14131、14134、14139、14149 和14152(图84-86)。在该测定中最具效力的化合物为14131(图84)。独立证实了这些sd-rxRNA化合物在SPP1沉默中的效力(图85)。

[0468] 进行了类似的筛选以鉴定能有效沉默CTGF表达的化合物(图 86-87)。在CTGF沉默中有效的化合物包括14017、14013、14016、14022、 14025、14027。

[0469] 方法

[0470] sd-rxRNA^{nano}的转染

[0471] 脂质介导的转染

[0472] 化学合成sd-rxRNA^{nano}构建体(Dharmacon,Lafayette,CO) 并根据 生产商说明采用Lipofectamine RNAiMAX(Invitrogen,Carlsbad,CA) 转 染入HEK293细胞(ATCC, Manassas,VA)。简单来讲,在**Opti-MEM®1** 血清减少培养基(Invitrogen,Carlsbad, California) 中将RNA稀释为 12X浓度,而后与12X浓度的Lipofectamine RNAiMAX组合。使RNA 和转染试剂在室温下复合20分钟制成6X浓度。在复合的同时,清洗 HEK293细胞,用胰酶消化并计数。将细胞稀释到制造商建议和之前所述 的浓度,即 1×10^5 个细胞/ml。当RNA 完成与RNAiMAX转染试剂的复 合时,将20u1复合物一式三份加入96孔板的适当孔中。将细 胞加到每个 孔中(100u1体积)以使每孔的最终细胞数为 1×10^4 个细胞/孔。细胞的 体积将 6X浓度的复合物稀释至1X (10-0.05nM)。将细胞在正常生长条 件下孵育24小时或48小时。在24或48小时的孵育后,裂解细胞,并用 QuantiGene测定(Panomics,Freemont,CA,采用 bDNA杂交技术)检 测基因沉默活性。根据制造商的说明进行所述测定。

[0473] 被动摄取转染

[0474] 化学合成sd-rxRNA^{nano}构建体(Dharmacon,Lafayette,CO)。在转 染前24小时,将 HeLa细胞(ATCC,Manassas,VA) 在正常生长条件下 (DMEM,10%FBS和1%青霉素和链霉素) 以 1×10^4 个细胞/孔铺在96 孔板中。在转染HeLa细胞前,在Accell siRNA递送基质中 (Dharmacon, Lafayette,CO) 将sd-rxRNA^{nano}稀释为0.01uM至1uM的终浓度。从细 胞中吸出 正常生长培养基并将含有适合浓度sd-rxRNA^{nano}的100uL Accell 递送培养基加入细胞。转 染后48小时,从细胞中吸出递送培养基,并将 正常生长培养基加入细胞并继续培养24小时。

[0475] 在48或72小时的孵育后,裂解细胞,并用QuantiGene测定(Panomics, Freemont,

CA) 根据制造商的说明检测基因沉默活性。

[0476]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-10167- 20-12138	12138	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167- 20-12139	12139	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -13-12266	12266	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12293	12293	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12383	12383	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12384	12384	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12385	12385	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12386	12386	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12387	12387	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -15-12388	12388	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -13-12432	12432	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -13-12266.2	12266. 2	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB--21-12	12434	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
434				
APOB--21-12 435	12435	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -16-12451	12451	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12452	12452	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12453	12453	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -17-12454	12454	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -17-12455	12455	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-12456	12456	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
--27-12480	12480			
--27-12481	12481			
APOB-10167- 21-12505	12505	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167- 21-12506	12506	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -16-12539	12539	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB-10167- 21-12505.2	12505. 2	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167-	12506.	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
21-12506.2	2			
MAP4K4--13-12565	12565			MAP4K4
MAP4K4-2931-16-12386.2	12386.2	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931-13-12815	12815	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB--13-12957	12957	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16-12983	12983		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12984	12984		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12985	12985		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12986	12986		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12987	12987		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12988	12988		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12989	12989		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12990	12990		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-12991	12991		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4	MAP4K4

[0478]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
12991			(MAP4K4), 转录变体 1	
MAP4K4--16- 12992	12992		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12993	12993		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12994	12994		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12995	12995		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-13012	13012	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-13016	13016	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
PPIB--13-13 021	13021	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
pGL3-1172-1 3-13038	13038	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 3-13040	13040	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
--16-13047	13047			
SOD1-530-13 -13090	13090	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-523-13 -13091	13091	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-535-13 -13092	13092	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SOD1-536-13 -13093	13093	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-396-13 -13094	13094	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-385-13 -13095	13095	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-195-13 -13096	13096	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
APOB-4314-1 3-13115	13115	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3384-1 3-13116	13116	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3547-1 3-13117	13117	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4318-1 3-13118	13118	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3741-1 3-13119	13119	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
PPIB--16-13 136	13136	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
APOB-4314-1 5-13154	13154	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3547-1 5-13155	13155	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4318-1 5-13157	13157	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0480]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-3741-1 5-13158	13158	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--13-13 159	13159	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	
APOB--15-13 160	13160	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	
SOD1-530-16 -13163	13163	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-523-16 -13164	13164	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-535-16 -13165	13165	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-536-16 -13166	13166	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-396-16 -13167	13167	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-385-16 -13168	13168	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
SOD1-195-16 -13169	13169	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	
pGL3-1172-1 6-13170	13170	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 6-13171	13171	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4k4

[0482]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1222-1 3-13190	13190	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-813-13 -13192	13192	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-747-13 -13194	13194	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-817-13 -13196	13196	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1174-1 3-13198	13198	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1005-1 3-13200	13200	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-814-13 -13202	13202	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-816-13 -13204	13204	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1001-1 3-13206	13206	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1173-1 3-13208	13208	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-749-13 -13210	13210	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-792-13 -13212	13212	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1162-1 3-13214	13214	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0483]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-811-13 -13216	13216	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-797-13 -13218	13218	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1175-1 3-13220	13220	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1172-1 3-13222	13222	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1177-1 3-13224	13224	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1176-1 3-13226	13226	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-812-13 -13228	13228	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-745-13 -13230	13230	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1230-1 3-13232	13232	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-920-13 -13234	13234	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-679-13 -13236	13236	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-992-13 -13238	13238	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1045-1 3-13240	13240	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0484]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1231-1 3-13242	13242	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-991-13 -13244	13244	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-998-13 -13246	13246	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1049-1 3-13248	13248	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1044-1 3-13250	13250	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1327-1 3-13252	13252	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1196-1 3-13254	13254	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-562-13 -13256	13256	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-752-13 -13258	13258	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-994-13 -13260	13260	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1040-1 3-13262	13262	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1984-1 3-13264	13264	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2195-1 3-13266	13266	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-2043-1 3-13268	13268	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1892-1 3-13270	13270	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1567-1 3-13272	13272	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1780-1 3-13274	13274	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2162-1 3-13276	13276	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1034-1 3-13278	13278	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2264-1 3-13280	13280	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1032-1 3-13282	13282	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1535-1 3-13284	13284	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1694-1 3-13286	13286	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1588-1 3-13288	13288	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-928-13 -13290	13290	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1133-1 3-13292	13292	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0485]

[0486]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-912-13 -13294	13294	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-753-13 -13296	13296	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-918-13 -13298	13298	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-744-13 -13300	13300	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-466-13 -13302	13302	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-917-13 -13304	13304	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1038-1 3-13306	13306	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1048-1 3-13308	13308	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1235-1 3-13310	13310	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-868-13 -13312	13312	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1131-1 3-13314	13314	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1043-1 3-13316	13316	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-751-13 -13318	13318	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1227-1 3-13320	13320	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-867-13 -13322	13322	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1128-1 3-13324	13324	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-756-13 -13326	13326	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1234-1 3-13328	13328	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-916-13 -13330	13330	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-925-13 -13332	13332	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1225-1 3-13334	13334	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-445-13 -13336	13336	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-446-13 -13338	13338	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-913-13 -13340	13340	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-997-13 -13342	13342	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-277-13 -13344	13344	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0487]

[0488]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1052-1 3-13346	13346	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-887-13 -13348	13348	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-914-13 -13350	13350	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1039-1 3-13352	13352	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-754-13 -13354	13354	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1130-1 3-13356	13356	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-919-13 -13358	13358	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-922-13 -13360	13360	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-746-13 -13362	13362	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-993-13 -13364	13364	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-825-13 -13366	13366	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-926-13 -13368	13368	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-923-13 -13370	13370	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0489]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-866-13 -13372	13372	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-563-13 -13374	13374	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-823-13 -13376	13376	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1233-1 3-13378	13378	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-924-13 -13380	13380	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-921-13 -13382	13382	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-443-13 -13384	13384	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1041-1 3-13386	13386	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1042-1 3-13388	13388	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-755-13 -13390	13390	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-467-13 -13392	13392	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-995-13 -13394	13394	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-927-13 -13396	13396	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1025-1 3-13398	13398	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1049-1 3-13400	13400	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1051-1 3-13402	13402	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1048-1 3-13404	13404	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1050-1 3-13406	13406	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1047-1 3-13408	13408	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-800-13 -13410	13410	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-492-13 -13412	13412	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-612-13 -13414	13414	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-481-13 -13416	13416	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-614-13 -13418	13418	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-951-13 -13420	13420	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-482-13 -13422	13422	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0490]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-856-13 -13424	13424	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-857-13 -13426	13426	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-365-13 -13428	13428	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-359-13 -13430	13430	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-357-13 -13432	13432	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-858-13 -13434	13434	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1012-1 3-13436	13436	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1014-1 3-13438	13438	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-356-13 -13440	13440	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-368-13 -13442	13442	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1011-1 3-13444	13444	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-754-13 -13446	13446	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1021-1 3-13448	13448	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0491]

[0492]

ID 编号 寡聚物 编号	登录号	基因名		基因符 号
SPP1-1330-1 3-13450	13450	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-346-13 -13452	13452	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-869-13 -13454	13454	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-701-13 -13456	13456	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-896-13 -13458	13458	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1035-1 3-13460	13460	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1170-1 3-13462	13462	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1282-1 3-13464	13464	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1537-1 3-13466	13466	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-692-13 -13468	13468	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-840-13 -13470	13470	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1163-1 3-13472	13472	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-789-13 -13474	13474	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-841-13 -13476	13476	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-852-13 -13478	13478	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-209-13 -13480	13480	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1276-1 3-13482	13482	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-137-13 -13484	13484	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-711-13 -13486	13486	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-582-13 -13488	13488	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-839-13 -13490	13490	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1091-1 3-13492	13492	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-884-13 -13494	13494	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-903-13 -13496	13496	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1090-1 3-13498	13498	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-474-13 -13500	13500	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0493]

[0494]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-575-13 -13502	13502	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-671-13 -13504	13504	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-924-13 -13506	13506	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1185-1 3-13508	13508	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1221-1 3-13510	13510	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-347-13 -13512	13512	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-634-13 -13514	13514	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-877-13 -13516	13516	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1033-1 3-13518	13518	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-714-13 -13520	13520	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-791-13 -13522	13522	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-813-13 -13524	13524	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-939-13 -13526	13526	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0495]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1161-1 3-13528	13528	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1164-1 3-13530	13530	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1190-1 3-13532	13532	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1333-1 3-13534	13534	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-537-13 -13536	13536	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-684-13 -13538	13538	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-707-13 -13540	13540	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-799-13 -13542	13542	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-853-13 -13544	13544	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-888-13 -13546	13546	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1194-1 3-13548	13548	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1279-1 3-13550	13550	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1300-1 3-13552	13552	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1510-1 3-13554	13554	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1543-1 3-13556	13556	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-434-13 -13558	13558	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-600-13 -13560	13560	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-863-13 -13562	13562	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-902-13 -13564	13564	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-921-13 -13566	13566	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-154-13 -13568	13568	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-217-13 -13570	13570	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-816-13 -13572	13572	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-882-13 -13574	13574	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-932-13 -13576	13576	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1509-1 3-13578	13578	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0496]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-157-13 -13580	13580	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-350-13 -13582	13582	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-511-13 -13584	13584	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-605-13 -13586	13586	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-811-13 -13588	13588	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-892-13 -13590	13590	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-922-13 -13592	13592	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1169-1 3-13594	13594	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1182-1 3-13596	13596	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1539-1 3-13598	13598	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1541-1 3-13600	13600	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-427-13 -13602	13602	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-533-13 -13604	13604	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0497]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB--13-13 763	13763	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--13-13 764	13764	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16- 13766	13766			MAP4K4
PPIB--13-13 767	13767	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--15-13 768	13768	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--17-13 769	13769	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
MAP4K4--16- 13939	13939			MAP4K4
APOB-4314-1 6-13940	13940	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4314-1 7-13941	13941	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 942	13942	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--18-13 943	13943	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 944	13944	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--19-13 945	13945	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0498]

[0499]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-4314-1 6-13946	13946	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4314-1 7-13947	13947	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 948	13948	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 949	13949	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 950	13950	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--18-13 951	13951	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 952	13952	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--19-13 953	13953	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16- 13766.2	13766. 2			MAP4K4
CTGF-1222-1 6-13980	13980	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-813-16 -13981	13981	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-747-16 -13982	13982	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-817-16 -13983	13983	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0500]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1174-1 6-13984	13984	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1005-1 6-13985	13985	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-814-16 -13986	13986	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-816-16 -13987	13987	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1001-1 6-13988	13988	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1173-1 6-13989	13989	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-749-16 -13990	13990	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-792-16 -13991	13991	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1162-1 6-13992	13992	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-811-16 -13993	13993	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-797-16 -13994	13994	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1175-1 6-13995	13995	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1172-1 6-13996	13996	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0501]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1177-1 6-13997	13997	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1176-1 6-13998	13998	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-812-16 -13999	13999	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-745-16 -14000	14000	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1230-1 6-14001	14001	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-920-16 -14002	14002	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-679-16 -14003	14003	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-992-16 -14004	14004	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1045-1 6-14005	14005	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1231-1 6-14006	14006	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-991-16 -14007	14007	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-998-16 -14008	14008	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1049-1 6-14009	14009	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0502]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1044-1 6-14010	14010	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1327-1 6-14011	14011	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1196-1 6-14012	14012	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-562-16 -14013	14013	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-752-16 -14014	14014	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-994-16 -14015	14015	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1040-1 6-14016	14016	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1984-1 6-14017	14017	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2195-1 6-14018	14018	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2043-1 6-14019	14019	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1892-1 6-14020	14020	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1567-1 6-14021	14021	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1780-1 6-14022	14022	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0503]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-2162-1 6-14023	14023	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1034-1 6-14024	14024	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2264-1 6-14025	14025	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1032-1 6-14026	14026	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1535-1 6-14027	14027	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1694-1 6-14028	14028	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1588-1 6-14029	14029	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-928-16 -14030	14030	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1133-1 6-14031	14031	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-912-16 -14032	14032	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-753-16 -14033	14033	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-918-16 -14034	14034	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-744-16 -14035	14035	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0504]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-466-16 -14036	14036	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-917-16 -14037	14037	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1038-1 6-14038	14038	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1048-1 6-14039	14039	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1235-1 6-14040	14040	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-868-16 -14041	14041	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1131-1 6-14042	14042	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1043-1 6-14043	14043	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-751-16 -14044	14044	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1227-1 6-14045	14045	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-867-16 -14046	14046	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1128-1 6-14047	14047	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-756-16 -14048	14048	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0505]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1234-1 6-14049	14049	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-916-16 -14050	14050	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-925-16 -14051	14051	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1225-1 6-14052	14052	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-445-16 -14053	14053	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-446-16 -14054	14054	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-913-16 -14055	14055	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-997-16 -14056	14056	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-277-16 -14057	14057	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1052-1 6-14058	14058	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-887-16 -14059	14059	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-914-16 -14060	14060	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1039-1 6-14061	14061	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0506]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-754-16 -14062	14062	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1130-1 6-14063	14063	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-919-16 -14064	14064	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-922-16 -14065	14065	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-746-16 -14066	14066	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-993-16 -14067	14067	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-825-16 -14068	14068	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-926-16 -14069	14069	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-923-16 -14070	14070	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-866-16 -14071	14071	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-563-16 -14072	14072	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-823-16 -14073	14073	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1233-1 6-14074	14074	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-924-16 -14075	14075	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-921-16 -14076	14076	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-443-16 -14077	14077	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1041-1 6-14078	14078	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1042-1 6-14079	14079	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-755-16 -14080	14080	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-467-16 -14081	14081	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-995-16 -14082	14082	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-927-16 -14083	14083	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
SPP1-1091-1 6-14131	14131	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
PPIB--16-14 188	14188	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--17-14 189	14189	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--18-14 190	14190	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB

[0507]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
pGL3-1172-1 6-14386	14386	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 6-14387	14387	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
MAP4K4-2931 -25-14390	14390	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
miR-122--23 -14391	14391			miR-12 2
	14084	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14085	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14086	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14087	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14088	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14089	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14090	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14091	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14092	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0508]

[0509]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14093	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14094	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14095	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14096	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14097	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14098	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14099	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14100	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14101	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14102	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14103	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14104	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14105	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14106	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14107	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14108	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14109	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14110	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0510]	14111	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14112	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14113	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14114	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14115	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14116	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14117	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14118	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14119	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14120	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14121	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14122	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14123	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0511]	14124	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14125	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14126	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14127	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14128	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14129	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14130	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14132	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14133	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14134	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14135	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14136	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14137	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0512]	14138	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14139	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14140	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14141	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14142	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14143	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14144	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14145	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14146	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14147	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14148	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14149	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14150	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0513]	14151	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14152	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14153	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14154	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14155	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14156	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14157	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14158	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14159	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14160	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14161	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14162	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14163	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0514]	14164	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14165	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14166	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14167	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14168	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14169	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14170	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14171	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14172	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14173	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14174	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14175	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14176	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
[0515]	14177	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14178	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14179	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14180	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14181	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14182	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14183	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14184	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
[0516]	14185	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14186	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14187	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0517] 表1

[0518]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB-10167- 20-12138	12138	oooooooooooooo ooooooo	0000000000000000 000000m	AUUGGUAUUCAGUGUGA UG	1
APOB-10167- 20-12139	12139	ooooooooooooooo ooooooo	0000000000000000 000000m	AUUCGUAUUGAGUCUGA UC	2
MAP4K4-2931 -13-12266	12266				
MAP4K4-2931 -16-12293	12293	oooooooooooooo ooooooo	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	3
MAP4K4-2931 -16-12383	12383	oooooooooooooo ooooooo	0000000000000000 00000	UAGACUUCCACAGAACU CU	4
MAP4K4-2931 -16-12384	12384	oooooooooooooo ooooooo	P00000000000000 000000	UAGACUUCCACAGAACU CU	5
MAP4K4-2931 -16-12385	12385	oooooooooooooo ooooooo	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	6
MAP4K4-2931 -16-12386	12386	ooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	7
MAP4K4-2931 -16-12387	12387	ooooooooooss ssssso	P00000000000000 000000	UAGACUUCCACAGAACU CU	8
MAP4K4-2931 -15-12388	12388	oooooooooooooo oooo	0000000000000000 000	UAGACUUCCACAGAACU	9
MAP4K4-2931 -13-12432	12432				
MAP4K4-2931 -13-12266.2	12266 .2				
APOB--21-12	12434	oooooooooooooo	0000000000000000	AUUGGUAUUCAGUGUGA	10

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
434		ooooooooo	000000m	UGAC	
APOB--21-12 435	12435	oooooooooooooo ooooooooo	00000000000000 000000m	AUUCGUAUUGAGUCUGA UCAC	11
MAP4K4-2931 -16-12451	12451	oooooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00ffmm	UAGACUUCCACAGAACU CU	12
MAP4K4-2931 -16-12452	12452	oooooooooooooss ssssso	Pm000fffff0f00 00ffmm	UAGACUUCCACAGAACU CU	13
MAP4K4-2931 -16-12453	12453	oooooooooooooss ssssso	Pm000fffff0f00 00ffmm	UAGACUUCCACAGAACU CU	14
MAP4K4-2931 -17-12454	12454	ooooooooooooos ssssssso	Pm000fffff0f00 00ffffmm	UAGACUUCCACAGAACU CUUC	15
MAP4K4-2931 -17-12455	12455	oooooooooooooss ssssssso	Pm000fffff0f00 00ffffmm	UAGACUUCCACAGAACU CUUC	16
MAP4K4-2931 -19-12456	12456	ooooooooooooos ssssssssssso	Pm000fffff0f00 00ffffff00mm	UAGACUUCCACAGAACU CUUCAAAG	17
--27-12480	12480				
--27-12481	12481				
APOB-10167- 21-12505	12505	ooooooooooooooo ooooooooos	00000000000000 000000m	AUUGGUAAUCAGUGUGA UGAC	18
APOB-10167- 21-12506	12506	ooooooooooooooo ooooooooos	00000000000000 000000m	AUUCGUAUUGAGUCUGA UCAC	19
MAP4K4-2931 -16-12539	12539	oooooooooooooss ssssss	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	20
APOB-10167-	12505	ooooooooooooooo	00000000000000	AUUGGUAAUCAGUGUGA	21

[0520]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
21-12505.2	.2	ooooooooo	000000m	UGAC	
APOB-10167-	12506	oooooooooooooo	00000000000000	AUUCGUAUUGAGUCUGA	
21-12506.2	.2	ooooooooo	000000m	UCAC	22
MAP4K4--13- 12565	12565				
MAP4K4-2931 -16-12386.2	12386 .2	oooooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	23
MAP4K4-2931 -13-12815	12815				
APOB--13-12 957	12957				
MAP4K4--16- 12983	12983	ooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmm0	uagacuuuccacagaacu cu	24
MAP4K4--16- 12984	12984	ooooooooooooos sssss	Pm000fffff0m00 00mmmo	uagacuuuccacagaacu cu	25
MAP4K4--16- 12985	12985	ooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmmo	uagacuuuccacagaacu cu	26
MAP4K4--16- 12986	12986	oooooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	27
MAP4K4--16- 12987	12987	ooooooooooooooo	P0000f00ff0m00 00m0m0	UagacUUccacagaacU cU	28
MAP4K4--16- 12988	12988	ooooooooooooooo	P0000f00ff0m00 00m0m0	UagacUUccacagaacU cu	29
MAP4K4--16- 12989	12989	ooooooooooooooo	P0000ff0ff0m00 00m0m0	UagacuUccacagaacU cu	30

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
MAP4K4--16-12990	12990	ooooooooooooooo ssssss	Pf0000ff000000 000m00	uagaCuuCCaCagaaCu Cu	31
MAP4K4--16-12991	12991	ooooooooooooooo ssssss	Pf0000fff00m00 000mm0	uagaCuuCcACagaaCu cu	32
MAP4K4--16-12992	12992	ooooooooooooooo ssssss	Pf000fffff0000 000m00	uagacuuccaCagaaCu Cu	33
MAP4K4--16-12993	12993	ooooooooooooooo ssssss	P00000000000000 000000	UagaCUUCCaCagaaCU CU	34
MAP4K4--16-12994	12994	ooooooooooooooo ssssss	P0000f0f0f0000 000m00	UagacUuCcaCagaaCu Cu	35
MAP4K4--16-12995	12995	oooooooooooooos ssssso	Pf000fffff0000 000000	uagacuuccaCagaaCU CU	36
MAP4K4-2931-19-13012	13012				
MAP4K4-2931-19-13016	13016				
PPIB---13-13 021	13021				
pGL3-1172-1 3-13038	13038				
pGL3-1172-1 3-13040	13040				
--16-13047	13047	oooooooooooooos ssssss	Pm000000000m00 00mmmm0	UAGACUUCCACAGAACU CU	37
SOD1-530-13 -13090	13090				

[0521]

[0522]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SOD1-523-13 -13091	13091				
SOD1-535-13 -13092	13092				
SOD1-536-13 -13093	13093				
SOD1-396-13 -13094	13094				
SOD1-385-13 -13095	13095				
SOD1-195-13 -13096	13096				
APOB-4314-1 3-13115	13115				
APOB-3384-1 3-13116	13116				
APOB-3547-1 3-13117	13117				
APOB-4318-1 3-13118	13118				
APOB-3741-1 3-13119	13119				
PPIB--16-13 136	13136	ooooooooooooos ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUJGUAGCCAAU CC	38
APOB-4314-1 5-13154	13154				

[0523]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB-3547-1 5-13155	13155				
APOB-4318-1 5-13157	13157				
APOB-3741-1 5-13158	13158				
APOB--13-13 159	13159				
APOB--15-13 160	13160				
SOD1-530-16 -13163	13163	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff0mm mmm0m0	UACUUUCUUCAUUCCAA CC	39
SOD1-523-16 -13164	13164	ooooooooooooos ssssso	Pmff0ffff0fmm mm0mm0	UUCAUUUCCACCUUUGC CC	40
SOD1-535-16 -13165	13165	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f0ffffmm mm0mm0	CUUUGUACUUUCUUCAU UU	41
SOD1-536-16 -13166	13166	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0ffffmm mmm0m0	UCUUJGUACUUUCUUCA UU	42
SOD1-396-16 -13167	13167	ooooooooooooos ssssso	Pmf00f0ff0f0m m0mmmm0	UCAGCAGUCACAUUGCC CA	43
SOD1-385-16 -13168	13168	ooooooooooooos ssssso	Pmff0fff000fmm mm00m0	AUUGCCCAAGUCUCCAA CA	44
SOD1-195-16 -13169	13169	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0fff0000m m00m00	UUCUGCUCGAAAUUGAU GA	45
pGL3-1172-1 6-13170	13170	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffm0f f00mm0	AAAUCGUAUUUGUCAAU CA	46

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
pGL3-1172-1 6-13171	13171	oooooooooooooo ssssss	Pm00ff0f0ffm0f f00mm0	AAAUCGUAUJUGUCAAU CA	47
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	oooooooooooooooo ooooooo	0000000000000000 00000	UAGACUUCCACAGAACU CU	48
CTGF-1222-1 3-13190	13190				
CTGF-813-13 -13192	13192				
CTGF-747-13 -13194	13194				
CTGF-817-13 -13196	13196				
CTGF-1174-1 3-13198	13198				
CTGF-1005-1 3-13200	13200				
CTGF-814-13 -13202	13202				
CTGF-816-13 -13204	13204				
CTGF-1001-1 3-13206	13206				
CTGF-1173-1 3-13208	13208				
CTGF-749-13 -13210	13210				

[0524]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-792-13 -13212	13212				
CTGF-1162-1 3-13214	13214				
CTGF-811-13 -13216	13216				
CTGF-797-13 -13218	13218				
CTGF-1175-1 3-13220	13220				
CTGF-1172-1 3-13222	13222				
CTGF-1177-1 3-13224	13224				
CTGF-1176-1 3-13226	13226				
CTGF-812-13 -13228	13228				
CTGF-745-13 -13230	13230				
CTGF-1230-1 3-13232	13232				
CTGF-920-13 -13234	13234				
CTGF-679-13 -13236	13236				

[0525]

[0526]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-992-13 -13238	13238				
CTGF-1045-1 3-13240	13240				
CTGF-1231-1 3-13242	13242				
CTGF-991-13 -13244	13244				
CTGF-998-13 -13246	13246				
CTGF-1049-1 3-13248	13248				
CTGF-1044-1 3-13250	13250				
CTGF-1327-1 3-13252	13252				
CTGF-1196-1 3-13254	13254				
CTGF-562-13 -13256	13256				
CTGF-752-13 -13258	13258				
CTGF-994-13 -13260	13260				
CTGF-1040-1 3-13262	13262				

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1984-1 3-13264	13264				
CTGF-2195-1 3-13266	13266				
CTGF-2043-1 3-13268	13268				
CTGF-1892-1 3-13270	13270				
CTGF-1567-1 3-13272	13272				
CTGF-1780-1 3-13274	13274				
CTGF-2162-1 3-13276	13276				
CTGF-1034-1 3-13278	13278				
CTGF-2264-1 3-13280	13280				
CTGF-1032-1 3-13282	13282				
CTGF-1535-1 3-13284	13284				
CTGF-1694-1 3-13286	13286				
CTGF-1588-1 3-13288	13288				

[0527]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-928-13 -13290	13290				
CTGF-1133-1 3-13292	13292				
CTGF-912-13 -13294	13294				
CTGF-753-13 -13296	13296				
CTGF-918-13 -13298	13298				
CTGF-744-13 -13300	13300				
CTGF-466-13 -13302	13302				
CTGF-917-13 -13304	13304				
CTGF-1038-1 3-13306	13306				
CTGF-1048-1 3-13308	13308				
CTGF-1235-1 3-13310	13310				
CTGF-868-13 -13312	13312				
CTGF-1131-1 3-13314	13314				

[0528]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1043-1 3-13316	13316				
CTGF-751-13 -13318	13318				
CTGF-1227-1 3-13320	13320				
CTGF-867-13 -13322	13322				
CTGF-1128-1 3-13324	13324				
CTGF-756-13 -13326	13326				
CTGF-1234-1 3-13328	13328				
CTGF-916-13 -13330	13330				
CTGF-925-13 -13332	13332				
CTGF-1225-1 3-13334	13334				
CTGF-445-13 -13336	13336				
CTGF-446-13 -13338	13338				
CTGF-913-13 -13340	13340				

[0529]

[0530]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-997-13 -13342	13342				
CTGF-277-13 -13344	13344				
CTGF-1052-1 3-13346	13346				
CTGF-887-13 -13348	13348				
CTGF-914-13 -13350	13350				
CTGF-1039-1 3-13352	13352				
CTGF-754-13 -13354	13354				
CTGF-1130-1 3-13356	13356				
CTGF-919-13 -13358	13358				
CTGF-922-13 -13360	13360				
CTGF-746-13 -13362	13362				
CTGF-993-13 -13364	13364				
CTGF-825-13 -13366	13366				

[0531]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-926-13 -13368	13368				
CTGF-923-13 -13370	13370				
CTGF-866-13 -13372	13372				
CTGF-563-13 -13374	13374				
CTGF-823-13 -13376	13376				
CTGF-1233-1 3-13378	13378				
CTGF-924-13 -13380	13380				
CTGF-921-13 -13382	13382				
CTGF-443-13 -13384	13384				
CTGF-1041-1 3-13386	13386				
CTGF-1042-1 3-13388	13388				
CTGF-755-13 -13390	13390				
CTGF-467-13 -13392	13392				

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-995-13 -13394	13394				
CTGF-927-13 -13396	13396				
SPP1-1025-1 3-13398	13398				
SPP1-1049-1 3-13400	13400				
SPP1-1051-1 3-13402	13402				
SPP1-1048-1 3-13404	13404				
SPP1-1050-1 3-13406	13406				
SPP1-1047-1 3-13408	13408				
SPP1-800-13 -13410	13410				
SPP1-492-13 -13412	13412				
SPP1-612-13 -13414	13414				
SPP1-481-13 -13416	13416				
SPP1-614-13 -13418	13418				

[0532]

[0533]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-951-13 -13420	13420				
SPP1-482-13 -13422	13422				
SPP1-856-13 -13424	13424				
SPP1-857-13 -13426	13426				
SPP1-365-13 -13428	13428				
SPP1-359-13 -13430	13430				
SPP1-357-13 -13432	13432				
SPP1-858-13 -13434	13434				
SPP1-1012-1 3-13436	13436				
SPP1-1014-1 3-13438	13438				
SPP1-356-13 -13440	13440				
SPP1-368-13 -13442	13442				
SPP1-1011-1 3-13444	13444				

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-754-13 -13446	13446				
SPP1-1021-1 3-13448	13448				
SPP1-1330-1 3-13450	13450				
SPP1-346-13 -13452	13452				
SPP1-869-13 -13454	13454				
SPP1-701-13 -13456	13456				
SPP1-896-13 -13458	13458				
SPP1-1035-1 3-13460	13460				
SPP1-1170-1 3-13462	13462				
SPP1-1282-1 3-13464	13464				
SPP1-1537-1 3-13466	13466				
SPP1-692-13 -13468	13468				
SPP1-840-13 -13470	13470				

[0534]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1163-1 3-13472	13472				
SPP1-789-13 -13474	13474				
SPP1-841-13 -13476	13476				
SPP1-852-13 -13478	13478				
SPP1-209-13 -13480	13480				
SPP1-1276-1 3-13482	13482				
SPP1-137-13 -13484	13484				
SPP1-711-13 -13486	13486				
SPP1-582-13 -13488	13488				
SPP1-839-13 -13490	13490				
SPP1-1091-1 3-13492	13492				
SPP1-884-13 -13494	13494				
SPP1-903-13 -13496	13496				

[0535]

[0536]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1090-1 3-13498	13498				
SPP1-474-13 -13500	13500				
SPP1-575-13 -13502	13502				
SPP1-671-13 -13504	13504				
SPP1-924-13 -13506	13506				
SPP1-1185-1 3-13508	13508				
SPP1-1221-1 3-13510	13510				
SPP1-347-13 -13512	13512				
SPP1-634-13 -13514	13514				
SPP1-877-13 -13516	13516				
SPP1-1033-1 3-13518	13518				
SPP1-714-13 -13520	13520				
SPP1-791-13 -13522	13522				

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-813-13 -13524	13524				
SPP1-939-13 -13526	13526				
SPP1-1161-1 3-13528	13528				
SPP1-1164-1 3-13530	13530				
SPP1-1190-1 3-13532	13532				
SPP1-1333-1 3-13534	13534				
SPP1-537-13 -13536	13536				
SPP1-684-13 -13538	13538				
SPP1-707-13 -13540	13540				
SPP1-799-13 -13542	13542				
SPP1-853-13 -13544	13544				
SPP1-888-13 -13546	13546				
SPP1-1194-1 3-13548	13548				

[0537]

[0538]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1279-1 3-13550	13550				
SPP1-1300-1 3-13552	13552				
SPP1-1510-1 3-13554	13554				
SPP1-1543-1 3-13556	13556				
SPP1-434-13 -13558	13558				
SPP1-600-13 -13560	13560				
SPP1-863-13 -13562	13562				
SPP1-902-13 -13564	13564				
SPP1-921-13 -13566	13566				
SPP1-154-13 -13568	13568				
SPP1-217-13 -13570	13570				
SPP1-816-13 -13572	13572				
SPP1-882-13 -13574	13574				

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-932-13 -13576	13576				
SPP1-1509-1 3-13578	13578				
SPP1-157-13 -13580	13580				
SPP1-350-13 -13582	13582				
SPP1-511-13 -13584	13584				
SPP1-605-13 -13586	13586				
SPP1-811-13 -13588	13588				
SPP1-892-13 -13590	13590				
SPP1-922-13 -13592	13592				
SPP1-1169-1 3-13594	13594				
SPP1-1182-1 3-13596	13596				
SPP1-1539-1 3-13598	13598				
SPP1-1541-1 3-13600	13600				

[0539]

[0540]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-427-13 -13602	13602				
SPP1-533-13 -13604	13604				
APOB--13-13 763	13763				
APOB--13-13 764	13764				
MAP4K4--16- 13766	13766	ooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmm0	UAGACUUCCACAGAACU CU	49
PPIB--13-13 767	13767				
PPIB--15-13 768	13768				
PPIB--17-13 769	13769				
MAP4K4--16- 13939	13939	ooooooooooooos ssssso	m000f0ffff0m0m 00m0m	UAGACAUCUACACAGC AC	50
APOB-4314-1 6-13940	13940	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffffff000m mmmm00	UGUUUCUCCAGAUCCUU GC	51
APOB-4314-1 7-13941	13941	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffffff000m mmmm00	UGUUUCUCCAGAUCCUU GC	52
APOB--16-13 942	13942	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f000mm m0mmm0	UAGCAGAUGAGUCCAUU UG	53
APOB--18-13 943	13943	oooooooooooooo ooosssssso	Pm00f000f000mm m0mmm00000	UAGCAGAUGAGUCCAUU UGGAGA	54

[0541]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB--17-13 944	13944	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f000mm m0mmm0	UAGCAGAUGAGGUCCAUU UG	55
APOB--19-13 945	13945	oooooooooooooo ooosssssso	Pm00f000f000mm m0mmm00000	UAGCAGAUGAGGUCCAUU UGGAGA	56
APOB-4314-1 6-13946	13946	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0ffffmmmm 000mm0	AUGUUGUUUCUCCAGAU CC	57
APOB-4314-1 7-13947	13947	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0ffffmmmm 000mm0	AUGUUGUUUCUCCAGAU CC	58
APOB--16-13 948	13948	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000000mm mm0m00	UGUUUGAGGGACUCUGU GA	59
APOB--17-13 949	13949	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000000mm mm0m00	UGUUUGAGGGACUCUGU GA	60
APOB--16-13 950	13950	ooooooooooooos ssssso	Pmff00f0fff00m 0m0m0	AUUGGUAAUCAGUGUGA UG	61
APOB--18-13 951	13951	oooooooooooooo ooosssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m00m00	AUUGGUAAUCAGUGUGA UGACAC	62
APOB--17-13 952	13952	ooooooooooooos ssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m0	AUUGGUAAUCAGUGUGA UG	63
APOB--19-13 953	13953	oooooooooooooo ooosssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m00m00	AUUGGUAAUCAGUGUGA UGACAC	64
MAP4K4--16- 13766.2	13766 .2	ooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmmm0	UAGACUUCCACAGAACU CU	65
CTGF-1222-1 6-13980	13980	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0fffffm0m 00m0m0	UACAUCUCCUGUAGUA CA	66
CTGF-813-16 -13981	13981	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ffff0mmmm 0m000	AGGCACUCCACUCUGUG GU	67

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-747-16 -13982	13982	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff00mm0 m0000	UGUCUUCCAGUCGGUAA GC	68
CTGF-817-16 -13983	13983	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f0fmmm 0mmmm0	GAACAGGCGCUCCACUC UG	69
CTGF-1174-1 6-13984	13984	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f00f00m 000m00	CAGUJGUAAUGGCAGGC AC	70
CTGF-1005-1 6-13985	13985	ooooooooooooos ssssso	Pmff000000mmmm0 00mm0	AGCCAGAAAGCUAAC UU	71
CTGF-814-16 -13986	13986	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0ffff0mm mm0m00	CAGGCGCUCCACUCUGU GG	72
CTGF-816-16 -13987	13987	ooooooooooooos ssssso	Pm0f000f0ffmm0 mmmm00	AACAGGCGCUCCACUCU GU	73
CTGF-1001-1 6-13988	13988	ooooooooooooos ssssso	Pm0000fff000mm m00m0	AGAAAGCUAAACUUGA UA	74
CTGF-1173-1 6-13989	13989	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00f00m00 0m0m0	AGUJGUAAUGGCAGGCA CA	75
CTGF-749-16 -13990	13990	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff00mm 00m00	CGUGUCUUCCAGUCGGU AA	76
CTGF-792-16 -13991	13991	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff000f00mm 00mmmm0	GGACCAGGCAGUUGGC CU	77
CTGF-1162-1 6-13992	13992	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f000mmmm m00m00	CAGGCACAGGCUUAGAU GA	78
CTGF-811-16 -13993	13993	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ffff0ffmm0 m00mm0	GCGCUCCACUCUGUGGU CU	79
CTGF-797-16 -13994	13994	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000ff000 m00mm0	GGUCUGGACCAGGCAGU UG	80

[0542]

[0543]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1175-1 6-13995	13995	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0f00m00 m000m0	ACAGUUGUAAUGGCAGG CA	81
CTGF-1172-1 6-13996	13996	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00f00m00 0m0m00	GUUGUAAUGGCAGGCAC AG	82
CTGF-1177-1 6-13997	13997	ooooooooooooos ssssso	Pm00f00ff0f00m 00m000	GGACAGUUGUAAUGGCA GG	83
CTGF-1176-1 6-13998	13998	ooooooooooooos ssssso	Pm0f00ff0f00m0 0m0000	GACAGUUGUAAUGGCAG GC	84
CTGF-812-16 -13999	13999	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ffff0fm0mm 0m00m0	GGCGCUCCACUCUGUGG UC	85
CTGF-745-16 -14000	14000	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff00ff00m 000mm0	UCUUCCAGUCGGUAAGC CG	86
CTGF-1230-1 6-14001	14001	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff0f0m0m mmmmmm0	UGUCUCCGUACAUUC CU	87
CTGF-920-16 -14002	14002	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0f0000mm m00m0	AGCUUCGCAAGGCCUGA CC	88
CTGF-679-16 -14003	14003	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff0f00m 0mmmm0	CACUCCUCGCAGCAUU CC	89
CTGF-992-16 -14004	14004	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff00f000m mm0000	AAACUJGAUAGGCUUJGG AG	90
CTGF-1045-1 6-14005	14005	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0f0000mm m00mm0	ACUCCACAGAAUUUAGC UC	91
CTGF-1231-1 6-14006	14006	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff0f0m0 mmmmmm0	AUGUCUCCGUACAUUU CC	92
CTGF-991-16 -14007	14007	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff00f000mm m00000	AACUJGAUAGGCUUJGG GA	93

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-998-16 -14008	14008	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffff000fmm0 0m0000	AAGCUAAACUJUGAUAG GC	94
CTGF-1049-1 6-14009	14009	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ffff0m00 00mmm0	ACAUACUCCACAGAAUU UA	95
CTGF-1044-1 6-14010	14010	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0000mmm 00mmm0	CUCCACAGAAUUUAGCU CG	96
CTGF-1327-1 6-14011	14011	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ff0ff0000 mm0mm0	UGUGCUACUGAAAUCAU UU	97
CTGF-1196-1 6-14012	14012	ooooooooooooos ssssso	Pm0000f0ff0mm0 mmmmmm0	AAAGAUGUCAUUGUCUC CG	98
CTGF-562-16 -14013	14013	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00f0mm m0m000	GUGCACUGGUACUUGCA GC	99
CTGF-752-16 -14014	14014	ooooooooooooos ssssso	Pm00f0f0ffffmm 00mm00	AAACGUGUCUCCAGUC GG	100
CTGF-994-16 -14015	14015	ooooooooooooos ssssso	Pmf000fff00m00 0mmm00	UCAAACUUGAUAGGCCU GG	101
CTGF-1040-1 6-14016	14016	ooooooooooooos ssssso	Pmf0000fff00mm m00m00	ACAGAAUUUAGCUCGGU AU	102
CTGF-1984-1 6-14017	14017	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ffff0mm 0m00m0	UUACAUUCUACCUAUGG UG	103
CTGF-2195-1 6-14018	14018	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff00ff00mm 0m0m00	AAACUGAUCAGCUAUAU AG	104
CTGF-2043-1 6-14019	14019	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000f0000 mmmmmm0	UAUCUGAGCAGAAUUC CA	105
CTGF-1892-1 6-14020	14020	ooooooooooooos ssssso	Pmf00fff000m00 mm0m00	UUAACUUAGAUACUGU AC	106

[0544]

[0545]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1567-1 6-14021	14021	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0fff0f0m0 000m00	UAUUACUCGUUAAGAU GC	107
CTGF-1780-1 6-14022	14022	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0fff00mm m00mm0	AAGCUGUCCAGUCUAAU CG	108
CTGF-2162-1 6-14023	14023	ooooooooooooos ssssso	Pm00f00000fm0m mm0mm0	UAAAUAAGGCCAUJUGU UC	109
CTGF-1034-1 6-14024	14024	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fff00m0m 0mmmm0	UUUAGCUCGGUAUGUCU UC	110
CTGF-2264-1 6-14025	14025	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff00m00 0m0000	ACACUCUCAACAAUAA AC	111
CTGF-1032-1 6-14026	14026	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff00f0m0m mmmm00	UAGCUCGGUAUGUCUUC AU	112
CTGF-1535-1 6-14027	14027	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffffffff0mm 00m0m0	UAACCUUUCUGCUGGUA CC	113
CTGF-1694-1 6-14028	14028	ooooooooooooos ssssso	Pmf000000f00mm m00mm0	UUAAGGAACAAACUUGAC UC	114
CTGF-1588-1 6-14029	14029	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ffff000m 00m000	UUACACUUCAAAUAGCA GG	115
CTGF-928-16 -14030	14030	ooooooooooooos ssssso	Pmff000ff00mmm m0m000	UCCAGGUCAGCUUCGCA AG	116
CTGF-1133-1 6-14031	14031	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0f00mm mm0mm0	CUUCUUCAUGACCUCGC CG	117
CTGF-912-16 -14032	14032	ooooooooooooos ssssso	Pm000fff00fm0m 0m0m00	AAGGCCUGACCAUGCAC AG	118
CTGF-753-16 -14033	14033	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f0ffmmm m00mm0	CAAACGUGUCUUCCAGU CG	119

[0546]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-918-16 -14034	14034	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0000mmm 00mm00	CUUCGCAAGGCCUGACC AU	120
CTGF-744-16 -14035	14035	ooooooooooooos ssssso	Pmffff00ff00m0 00mm00	CUUCCAGUCGGUAAGCC GC	121
CTGF-466-16 -14036	14036	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ffff0f00m m00mm0	CCGAUCUJGCGGUJGGC CG	122
CTGF-917-16 -14037	14037	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f0000fmm0 0mm0m0	UUCGCAAGGCCUGACCA UG	123
CTGF-1038-1 6-14038	14038	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff00fmm0m 0m00	AGAAUUUAGCUCGGUAU GU	124
CTGF-1048-1 6-14039	14039	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ffff0f000 0mmm00	CAUACUCCACAGAAUU AG	125
CTGF-1235-1 6-14040	14040	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffffmm 0m0m0	UGCCAUGUCUCCGUACA UC	126
CTGF-868-16 -14041	14041	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0ff0fm0m m00m00	GAGGCCUUGUCAUUGGU AA	127
CTGF-1131-1 6-14042	14042	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f00fm0mm 0mm0m0	UCUUCAUGACCUCGCCG UC	128
CTGF-1043-1 6-14043	14043	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f0000fmm0 0mmmm00	UCCACAGAAUUUAGCUC GG	129
CTGF-751-16 -14044	14044	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0ffffmm0 0mm000	AACGUGUCUUCCAGUCG GU	130
CTGF-1227-1 6-14045	14045	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0f0fm0mm mmmm0m0	CUCCGUACAUCUUCCUG UA	131
CTGF-867-16 -14046	14046	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ff0ff0mm0 0m000	AGGCGUUGUCAUUGGUA AC	132

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1128-1 6-14047	14047	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ffff0mm 0mm000	UCAUGACCUCGCCGUCA GG	133
CTGF-756-16 -14048	14048	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff000f0f0mm mmmm00	GGCCAAACGUGUCUUCC AG	134
CTGF-1234-1 6-14049	14049	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f0ffffmm0 m0mm0	GCCAUGUCUCCGUACAU CU	135
CTGF-916-16 -14050	14050	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0000ffm00 mm0m00	UCGCAAAGGCCUGACCAU GC	136
CTGF-925-16 -14051	14051	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ffffmm00 00m0	AGGUCAGCUUCGCAAGG CC	137
CTGF-1225-1 6-14052	14052	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0f0ffffmm m0m000	CCGUACAUUCUCCUGUA GU	138
CTGF-445-16 -14053	14053	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0000fm0m 000000	GAGCCGAAGUCACAGAA GA	139
CTGF-446-16 -14054	14054	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff0000mm0 m00000	GGAGCCGAAGUCACAGA AG	140
CTGF-913-16 -14055	14055	ooooooooooooos ssssso	Pm0000ff00mm0 m0m0m0	CAAGGCCUGACCAUGCA CA	141
CTGF-997-16 -14056	14056	ooooooooooooos ssssso	Pmfff000ffm00m 000m0	AGCUAAACUUGAUAGG CU	142
CTGF-277-16 -14057	14057	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ffff00m m00m00	CUGCAGUUCUGGCCGAC GG	143
CTGF-1052-1 6-14058	14058	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0f0ffmm0 m00000	GGUACAUACUCCACAGA AU	144
CTGF-887-16 -14059	14059	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffffff00m mm0m00	CUGCUUCUCUAGCCUGC AG	145

[0547]

[0548]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-914-16 -14060	14060	ooooooooooooos ssssso	Pmf0000fff00mm 0m0m00	GCAAGGCCUGACCAUGC AC	146
CTGF-1039-1 6-14061	14061	ooooooooooooos ssssso	Pm0000fff00mmm 00m0m0	CAGAAUUUAGCUCGGUA UG	147
CTGF-754-16 -14062	14062	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f0f0fmmm mm00m0	CCAAACGUGUCUJCCAG UC	148
CTGF-1130-1 6-14063	14063	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f00ffmmm m0mm0	CUUCAUGACCUCGCCGU CA	149
CTGF-919-16 -14064	14064	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0000mm m00mm0	GCUUCGCAAGGCCUGAC CA	150
CTGF-922-16 -14065	14065	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ffff0f000 0mmm00	UCAGCUUCGCAAGGCCU GA	151
CTGF-746-16 -14066	14066	ooooooooooooos ssssso	Pmffffff00fm0m 000m0	GUCUUCCAGUCGGUAAG CC	152
CTGF-993-16 -14067	14067	ooooooooooooos ssssso	Pm000fff00f000 mmmm00	CAAACUUGAUAGGCUUG GA	153
CTGF-825-16 -14068	14068	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0000m00 0m0m0	AGGUCUJUGGAACAGGCG CU	154
CTGF-926-16 -14069	14069	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff00ffmmm 00000	CAGGUCAGCUUCGCAAG GC	155
CTGF-923-16 -14070	14070	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff0m00 00mmmm0	GUCAGCUUCGCAAGGCC UG	156
CTGF-866-16 -14071	14071	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ff0ff0mm0 0m00m0	GGCGUJUGUCAUUGGUAA CC	157
CTGF-563-16 -14072	14072	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00m0mm m0m00	CGUGCACUGGUACUUGC AG	158

[0549]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-823-16 -14073	14073	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0000f000 m0mmm0	GUCUUGGAACAGGCCU CC	159
CTGF-1233-1 6-14074	14074	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0fffff0m0 m0mmm0	CCAUGUCUCCGUACAU UU	160
CTGF-924-16 -14075	14075	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ffff0m0 000mm0	GGUCAGCUUCGCAAGGC CU	161
CTGF-921-16 -14076	14076	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffff0f0000 mmm000	CAGCUUCGCAAGGCCUG AC	162
CTGF-443-16 -14077	14077	ooooooooooooos ssssso	Pmff0000ff0m00 000000	GCCGAAGUCACAGAAGA GG	163
CTGF-1041-1 6-14078	14078	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0000fff00m mm00m0	CACAGAAUUUAGCUCGG UA	164
CTGF-1042-1 6-14079	14079	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0000ffm00 mmm000	CCACAGAAUUUAGCUCG GU	165
CTGF-755-16 -14080	14080	ooooooooooooos ssssso	Pmff000f0f0mmm mmm000	GCCAAACGUGUCUUCCA GU	166
CTGF-467-16 -14081	14081	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ffff0m0 mm00m0	GCCGAUCUUGC GG UJGG CC	167
CTGF-995-16 -14082	14082	ooooooooooooos ssssso	Pmff000fff00m0 00mmm0	CUCAAACUUGAUAGGCCU UG	168
CTGF-927-16 -14083	14083	ooooooooooooos ssssso	Pmf000ff00fmmm 0m0000	CCAGGUAGCUUCGCAA GG	169
SPP1-1091-1 6-14131	14131	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ff000m0m 0000m0	UUUGACUAAAUGCAAAG UG	170
PPIB--16-14 188	14188	oooooooooooooo ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUGUAGCCAAU CC	171

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
PPIB--17-14 189	14189	oooooooooooooo ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUJGUAGCCAAU CC	172
PPIB--18-14 190	14190	ooooooooooooooo ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUJGUAGCCAAU CC	173
pGL3-1172-1 6-14386	14386	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffm0m m00mm0	AAAUCGUAUUJGUCAAU CA	174
pGL3-1172-1 6-14387	14387	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffm0m m00mm0	AAAUCGUAUUJGUCAAU CA	175
MAP4K4-2931 -25-14390	14390				
miR-122--23 -14391	14391				
	14084	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fff0f000 000m00	UCUAAUJUCAUGAGAAU AC	616
	14085	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00fff0m00 0000m0	UAAUUGACCUCAGAAGA UG	617
	14086	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ff00fmmm 000000	UUUAAUJUGACCUCAGAA GA	618
	14087	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ffff000 000m00	AAUUGACCUCAGAAGAU GC	619
	14088	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff00ffmm0 000000	UUAAUJUGACCUCAGAAG AU	620
	14089	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff0000 00m0m0	AUUGACCUCAGAAGAUG CA	621
	14090	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff00ff00m mm0mm0	UCAUCCAGCUGACUCGU UU	622

[0550]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14091	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0ff0000m 00m00	AGAUUCAUCAGAAUGGU GA	623
	14092	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffff00fmm0 m000m0	UGACCUCAGUCCAUAAA CC	624
	14093	ooooooooooooos ssssso	Pm0f00f0000mmm 0mm000	AAUGGUGAGACUCAUCA GA	625
	14094	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff00mm m0m000	UUUGACCUCAGUCCAUAA AA	626
[0551]	14095	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00ff0m00 00mmm0	UUCAUGGCUGUGAAUJU CA	627
	14096	ooooooooooooos ssssso	Pm00f00f0000mm m0mm00	GAAUGGUGAGACUCAUC AG	628
	14097	ooooooooooooos ssssso	Pm00fffff0mmm 0m0m00	UGGCUUUCCGCUUUAU AA	629
	14098	ooooooooooooos ssssso	Pmf00fffff0mm m0m0m0	UUGGCUUUCCGCUUUA UA	630
	14099	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff0f0f00m m0m000	UCAUCCAUGUGGUCAUG GC	631
	14100	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ff0f00m mmmm00	AUGUGGUCAUGGCUUUC GU	632
	14101	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0f00mmm mm0mm0	GUGGUCAUGGCUUUCGU UG	633
	14102	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffffmm m0m00	AUUGGCUUUCCGCUUAU AU	634
	14103	ooooooooooooos ssssso	Pm00f0f0000mmm m000m0	AAAUACGAAAUUCAGG UG	635

[0552]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14104	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f0000mm mm000	AGAAAUAACGAAAUUCA GG	636
	14105	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f00fmmm m0mm00	UGGUCAUGGCUUUCGUU GG	637
	14106	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0fff0m0m 00mm00	AUAUCAUCCAUGUGGUC AU	638
	14107	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0000fmmm 000m00	AAUACGAAAUUCAGGU GU	639
	14108	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff000000mm0 mmm00	AAUCAGAAGGCGCGUUC AG	640
	14109	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f000000m 0m0000	AUUCAUGAGAAAUACGA AA	641
	14110	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff0f00000 00m000	CUAUCAUGAGAGAAUA AC	642
	14111	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0ff000mmm 0mmm00	UUUCGUJUGGACUUACUU GG	643
	14112	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff0fm0m m00mm0	UUGCUCUCAUCAUUGGC UU	644
	14113	ooooooooooooos ssssso	Pmff0fffffm0mm mmmm0	UUCAACUCCUCGCUUUC CA	645
	14114	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0ff00mm0 m0mm00	UGACUAUCAAUCACAUC GG	646
	14115	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0ff0mm0 0mmm0	AGAUGCACUAUCUAUU CA	647
	14116	ooooooooooooos ssssso	Pm0f000f0f0m0m mm00m0	AAUAGAUACACAUCAA CC	648

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14117	ooooooooooooos ssssso	Pmfffffff0f0000 m000m0	UUCUUCAUAGAAUGAA CA	649
	14118	ooooooooooooos ssssso	PmOffOff000m00 mm0m00	AAUUGCUGGACAAACCGU GG	650
	14119	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffffff0m0m 0m0000	UCGUUUCCAUUGUGUGA GG	651
	14120	ooooooooooooos ssssso	Pm0Offf000fm0m mm0m00	UAAUCUGGACUGCUUGU GG	652
	14121	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00mm0 0m0000	ACACAUUCAACCAAUA AC	653
[0553]	14122	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0ffff0m00 mm0mm0	ACUCGUUUCAUACUGU CC	654
	14123	ooooooooooooos ssssso	Pmf00fff000mm0 mmm0m0	AUAAUCUGGACUGCUUG UG	655
	14124	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0fff0m0m 00mmm0	UUUCCGUUAUAUAUAAUC UG	656
	14125	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff00ff00m0 m00m00	UGUUUAACUGGUUAUGGC AC	657
	14126	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0000f000m0 m000m0	UAUAGAAUGAACAUAGA CA	658
	14127	ooooooooooooos ssssso	Pmfffffff0fm0m 0mmm0	UUUCCUJGGUCGGCGUU UG	659
	14128	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0f0ff0mm 00mmm0	GUAUGCACCAUCAACU CC	660
	14129	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0ff0m0m 0m0mm0	UCGGCCAUCAUUAUGUGU CU	661

[0554]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14130	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000ff0mm m0m000	AAUCUGGACUGCUJUGUG GC	662
	14132	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0000f0mm m0mm00	ACAUCGGAAUGCUCAUU GC	663
	14133	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff00mm0 mm00m0	AAGUUCCUGACUAUCAA UC	664
	14134	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff000f0m0 000m00	UUGACUAAAUGCAAAGU GA	665
	14135	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0ff000mm 00m00	AGACUCAUCAGACUGGU GA	666
	14136	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0f0f0f0mm0 mm0m00	UCAUAUGUGUCUACUGU GG	667
	14137	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff0fmm0 m00m00	AUGUCCUCGUCUGUAGC AU	668
	14138	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0f00mm0 0mmmm0	GAAUUCACGGCUGACUU UG	669
	14139	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff000mm m000m0	UUAUUUCCAGACUAAA UA	670
	14140	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff0f000mm 000mm0	GAAGCCACAAACUAAAC UA	671
	14141	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0ff000mm m0mmmm0	CUUUCGUUGGACUUACU UG	672
	14142	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0000mmm mmmm000	GUCUGCGAACUUCUUA GA	673
	14143	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0fff0ff0mm mmmm0m0	AAUGCUCAUUGCUCUCA UC	674

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14144	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff0ffm00 mmmm0m0	AUGCACUAUCUAAUUCA UG	675
	14145	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f0f0f0mm0 mmmm000	CUUGUAUGCACCAUUCA AC	676
	14146	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0fff0m0 00mm00	UGACUCGUUUCAUAACU GU	677
	14147	ooooooooooooos ssssso	Pmff00f0fff0m0 mm0mm0	UUCAGCACUCUGGUCAU CC	678
	14148	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff0f00mm0 m00000	AAAUUCAUGGCUGUGGA AU	679
[0555]	14149	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff00ff00m 000mm0	ACAUUCAACCAAUAAC UG	680
	14150	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0fff00mm 00m000	UACACAUCAACCAAUA AA	681
	14151	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ff0ffmm 000mm0	AUUAGUUAUUCCAGAC UC	682
	14152	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0fff0m00 000000	UUUCUAUCAUGAGAGA AU	683
	14153	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ff0ff00m 000mm0	UUCGGUUGCUGGCAGGU CC	684
	14154	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0f0000m0 0m0mm0	CAUGUGUGAGGUGAUGU CC	685
	14155	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0fff00mm mmmm00	GCACCAUCAACUCCUC GC	686
	14156	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff00ff00mm m0mmmm0	CAUCCAGCUGACUCGUU UC	687

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14157	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0fff0m0 m00mm0	CUUUCCGCUUAUAAU CU	688
	14158	ooooooooooooos ssssso	PmOff0f0ff0000 m0mmm0	AAUCACAUCCGAAUGC CA	689
	14159	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00fm0m mmmm00	ACACAUUAGUUAUUCC AG	690
	14160	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f0000m00 0m0m00	UUCUAUAGAAUGAACAU AG	691
	14161	ooooooooooooos ssssso	Pm0f00f00f00mm m0m0m0	UACAGUGAUAGUUUGCA UU	692
	14162	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f00ff00m 0mm0m0	AUAAGCAAUUGACACCA CC	693
[0556]	14163	ooooooooooooos ssssso	Pmff0ff00ff0mm 000m00	UUUAUJAAUUGCUGGAC AA	694
	14164	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0000fmmm m0000	UCAUCAGAGUCGUUCGA GU	695
	14165	ooooooooooooos ssssso	Pmf000ff0f0mm0 mm0mm0	AUAAAACCACACUAUCAC CU	696
	14166	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0ff00mmm mmmm0m0	UCAUCAUUGGCUUUCG CU	697
	14167	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff00fm0mm 00mm0	AGUUCCUGACUAUCAAU CA	698
	14168	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00ff00mm mm0000	UUCACGGCUGACUUUGG AA	699
	14169	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0f00f00m 000mm0	UUCUCAUGGUAGUGAGU UU	700

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14170	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00fff0mmm 00mm00	AAUCAGCCUGUUUAACU GG	701
	14171	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffff00f0mmm m00mm0	GGUUUCAGCACUCUGGU CA	702
	14172	ooooooooooooos ssssso	Pmff0000f0fmm0 mm0mm0	AUCGGAAUGCUCAUJGC UC	703
	14173	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0000mm m0m000	UGGCUGUGGAAUUCACG GC	704
	14174	ooooooooooooos ssssso	Pm000f00ff00m0 mm0mm0	UAAGCAAUJUGACACCAC CA	705
[0557]	14175	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffff0f00m 00m000	CAAUUCUCAUGGUAGUG AG	706
	14176	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffff0fm00 0mmm00	UGGCUUUCGUUGGACUU AC	707
	14177	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00f00fm00 mmmm0m0	AAUCAGUGACCAGUCA UC	708
	14178	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f000mm0m 0mm00	AGUCCAUAACCACACU AU	709
	14179	ooooooooooooos ssssso	Pm00f0fff00mm 0mmmm00	CAGCACUCUGGUCAUCC AG	710
	14180	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ff0f0mm 0000m0	UAUCAAUCACAUCGGAA UG	711
	14181	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f00ff00m mmmm000	AUUCACGGCUGACUUUG GA	712
	14182	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f0f0f0mm m00mm0	AUAGAUACACAUUCAAC CA	713

[0558]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14183	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff000ffm00 0m0000	UUUCCAGACUCAAAUAG AU	714
	14184	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0ff000m 00mm00	UUAAUUGCUGGACAAACC GU	715
	14185	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ff0fm00 0m00m0	UAUUAUUGCUGGACAA CC	716
	14186	ooooooooooooos ssssso	Pmff0fff000mm0 0m000	AGUCGUUCGAGUCAAUG GA	717
	14187	ooooooooooooos ssssso	Pmff0ff00f000m mm0m00	GUUGCUGGCAGGUCCGU GG	718

[0559] 表2:有义骨架、化学修饰和序列信息。0:磷酸二酯;s:硫代磷酸酯;P:5' 磷酸化;O:
2' -OH; F:2' -氟;m:2' 0-甲基;+:LNA修饰。序列中的大写字母表示核糖核苷酸,小写字母表
示脱氧核糖核苷酸。

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB-10167- 20-12138	[0560]	12138	chl	oooooooooooooo	00000000000000	GUCAUCACACUGA
				oooooooooso	0000000	AUACCAAU
APOB-10167- 20-12139		12139	chl	oooooooooooooo	00000000000000	GUGAUCAGACUCA
				oooooooooso	0000000	AUACGAAU
MAP4K4-2931 -13-12266		12266	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12293		12293	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12383		12383	chl	oooooooooooooo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12384		12384	chl	oooooooooooooo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12385		12385	chl	oooooooooooooo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12386		12386	chl	oooooooooooooss o	0mm0m00000mmm 0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -16-12387		12387	chl	oooooooooooooo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -15-12388		12388	chl	oooooooooooooo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -13-12432		12432	chl	oooooooooooooo	DY547mm0m0000 0mmm0	CUGUGGAAGUCUA
MAP4K4-2931 -13-12266.2		12266 .2	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA
						187

[0561]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB--21-12 434	12434	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 0000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	188
APOB--21-12 435	12435	chl	oooooooooooooo oooooooooso	DY547000000000 0000000000000	GUGAUCAGACUCA AUACGAAU	189
MAP4K4-2931 -16-12451	12451	chl	ooooooooooooos s	0mm0m00000mmm 0	CUGUGGAAGUCUA	190
MAP4K4-2931 -16-12452	12452	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	191
MAP4K4-2931 -16-12453	12453	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	192
MAP4K4-2931 -17-12454	12454	chl	ooooooooooooos s	0mm0m00000mmm 0	CUGUGGAAGUCUA	193
MAP4K4-2931 -17-12455	12455	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	194
MAP4K4-2931 -19-12456	12456	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	195
--27-12480	12480	chl	oooooooooooooo oooooooooooooo ss0	DY547mm0f000f 0055f5f00mm00 000m000	UCAUAGGUAAACCU CUGGUUGAAAGUG A	196
--27-12481	12481	chl	oooooooooooooo oooooooooooooo ss0	DY547mm05f050 00f05ff0m0000 0000m00	CGGCUACAGGUGC UUaugaAGAAAGU A	197
APOB-10167- 21-12505	12505	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 00000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	198
APOB-10167-	12506	chl	oooooooooooooo	00000000000000	GUGAUCAGACUCA	199

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
21-12506			ooooooooos	00000000	AUACGAAU	
MAP4K4-2931 -16-12539	12539	chl	ooooooooooooos s	DY547mm0m0000 0mmm0	CUGUGGAAGUCUA	200
APOB-10167- 21-12505.2	12505 .2	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 0000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	201
APOB-10167- 21-12506.2	12506 .2	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 0000000	GUGAUCAGACCUA AUACGAAU	202
MAP4K4--13- 12565	12565	Chl	oooooooooooooo o	m0m0000m0mmm0	UGUAGGAUGUCUA	203
MAP4K4-2931 -16-12386.2	12386 .2	chl	oooooooooooooo o	0mm0m0000mmmm 0	CUGUGGAAGUCUA	204
MAP4K4-2931 -13-12815	12815	chl	oooooooooooooo o	m0m0m0m0m0m0m 0m0m0m0m0m0m0	CUGUGGAAGUCUA	205
APOB--13-12 957	12957	Chl TEG	ooooooooooooos s	0mmmmmmmmmmmm m	ACUGAAUACCAAU	206
MAP4K4--16- 12983	12983	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	207
MAP4K4--16- 12984	12984	Chl	oooooooooooooo oo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	208
MAP4K4--16- 12985	12985	chl	ooooooooooooos o	mmmmmmmmmmmmmm	CUGUGGAAGUCUA	209
MAP4K4--16- 12986	12986	chl	ooooooooooooos o	mmmmmmmmmmmmmm	CUGUGGAAGUCUA	210
MAP4K4--16- 12987	12987	chl	ooooooooooooos o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	211

[0562]

[0563]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
MAP4K4--16-12988	12988	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	212
MAP4K4--16-12989	12989	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	213
MAP4K4--16-12990	12990	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	214
MAP4K4--16-12991	12991	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	215
MAP4K4--16-12992	12992	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	216
MAP4K4--16-12993	12993	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	217
MAP4K4--16-12994	12994	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	218
MAP4K4--16-12995	12995	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	219
MAP4K4-2931-19-13012	13012	chl	ooooooooooooooo oooooooo	00000000000000 00000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	220
MAP4K4-2931-19-13016	13016	chl	ooooooooooooooo oooooooo	DY54700000000 00000000000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	221
PPIB--13-13021	13021	Chl	ooooooooooooooo o	0mmm00mm0m000	AUUJGGCUACAAA	222
pGL3-1172-13-13038	13038	chl	ooooooooooooooo o	00m000m0m00mm m	ACAAAUACGAUUU	223
pGL3-1172-13-13040	13040	chl	ooooooooooooooo o	DY5470m000m0m	ACAAAUACGAUUU	224

[0564]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13040			o	00mmm		
--16-13047	13047	Chl	oooooooooooooo oo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	225
SOD1-530-13 -13090	13090	chl	oooooooooooooo o	00m0000000m0	AAUGAAGAAAAGUA	226
SOD1-523-13 -13091	13091	chl	oooooooooooooo o	000m00000m000	AGGUGGAAAUGAA	227
SOD1-535-13 -13092	13092	chl	oooooooooooooo o	000000m0m0000	AGAAAGUACAAAG	228
SOD1-536-13 -13093	13093	chl	oooooooooooooo o	00000m0m00000	GAAAGUACAAAGA	229
SOD1-396-13 -13094	13094	chl	oooooooooooooo o	0m0m00mm0mm00	AUGUGACUGCUGA	230
SOD1-385-13 -13095	13095	chl	oooooooooooooo o	000mmm000m00m	AGACUJUGGGCAAU	231
SOD1-195-13 -13096	13096	chl	oooooooooooooo o	0mmmm000m0000	AUUUCGAGCAGAA	232
APOB-4314-1 3-13115	13115	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0000000m0	AUCUGGAGAACAA	233
APOB-3384-1 3-13116	13116	Chl	oooooooooooooo o	mm0000m000000	UCAGAACAAAGAAA	234
APOB-3547-1 3-13117	13117	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	235
APOB-4318-1 3-13118	13118	Chl	oooooooooooooo o	0000000m00m0m	GGAGAAACAAACAU	236

[0565]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB-3741-1 3-13119	13119	Chl	oooooooooooooo o	00mmmmmm000m0	AGUCCCUCAAAACA	237
PPIB--16-13 136	13136	Chl	oooooooooooooo oo	00mm0m00000m0	GGCUACAAAAACA	238
APOB-4314-1 5-13154	13154	chl	oooooooooooooo oo	000mmm0000000 m0	AGAUCUGGAGAAA CA	239
APOB-3547-1 5-13155	13155	chl	oooooooooooooo oo	m000mmm0mm0m m0	UGGACUCAUCUGC UA	240
APOB-4318-1 5-13157	13157	chl	oooooooooooooo oo	mm0000000m00m 0m	CUGGAGAAACAAAC AU	241
APOB-3741-1 5-13158	13158	chl	oooooooooooooo oo	0000mmmmmm000 m0	AGAGUCCUCAAA CA	242
APOB--13-13 159	13159	chl	oooooooooooooo	0mm000m0mm0m	ACUGAAUACCAAU	243
APOB--15-13 160	13160	chl	oooooooooooooo oo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	244
SOD1-530-16 -13163	13163	chl	oooooooooooooo o	00m00000000m0	AAUGAAGAAAGUA	245
SOD1-523-16 -13164	13164	chl	oooooooooooooo o	000m00000m000	AGGUGGAAUAGAA	246
SOD1-535-16 -13165	13165	chl	oooooooooooooo o	000000m0m0000	AGAAAGUACAAAG	247
SOD1-536-16 -13166	13166	chl	oooooooooooooo o	00000m0m00000	GAAAGUACAAAGA	248
SOD1-396-16	13167	chl	oooooooooooooo	0m0m0mm0mm00	AUGUGACUGCUGA	249

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13167			o			
SOD1-385-16 -13168	13168	chl	oooooooooooooo o	000mmm000m00m	AGACUUGGGCAAU	250
SOD1-195-16 -13169	13169	chl	oooooooooooooo o	0mmmm000m0000	AUUUCGAGCAGAA	251
pGL3-1172-1 6-13170	13170	chl	oooooooooooooo o	0m000m0m00mmm	ACAAAUAACGAUUU	252
pGL3-1172-1 6-13171	13171	chl	oooooooooooooo o	DY5470m000m0m 00mmm	ACAAAUAACGAUUU	253
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	chl	oooooooooooooo ooooooo	00000000000000 00000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	254
CTGF-1222-1 3-13190	13190	Chl	oooooooooooooo o	0m0000000m0m0	ACAGGAAGAUGUA	255
CTGF-813-13 -13192	13192	Chl	oooooooooooooo o	000m0000m0mmm	GAGUGGAGCGCCU	256
CTGF-747-13 -13194	13194	Chl	oooooooooooooo o	m00mm00000m0	CGACUGGAAGACA	257
CTGF-817-13 -13196	13196	Chl	oooooooooooooo o	0000m0mmm0mmm	GGAGCGCCUGUUC	258
CTGF-1174-1 3-13198	13198	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0m00mm0	GCCAUUACAAACUG	259
CTGF-1005-1 3-13200	13200	Chl	oooooooooooooo o	000mmmmmm00mm	GAGCUUUCUGGCCU	260
CTGF-814-13 -13202	13202	Chl	oooooooooooooo o	00m0000m0mmm0	AGUGGAGCGCCUG	261

[0566]

[0567]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-816-13 -13204	13204	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0mm0mm	UGGAGCGCCUGUU	262
CTGF-1001-1 3-13206	13206	Chl	oooooooooooooo o	0mm000mmmmmm	GUUUGAGCUUUCU	263
CTGF-1173-1 3-13208	13208	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0mm0m0mm	UGCCAUUACAAACU	264
CTGF-749-13 -13210	13210	Chl	oooooooooooooo o	0mm00000m0m0	ACUGGAAGACACG	265
CTGF-792-13 -13212	13212	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mm00mm	AACUGGCCUGGUCC	266
CTGF-1162-1 3-13214	13214	Chl	oooooooooooooo o	000mmm0m0mm0	AGACCUGUGGCCUG	267
CTGF-811-13 -13216	13216	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0000m0m	CAGAGUGGGAGCGC	268
CTGF-797-13 -13218	13218	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mmmm00mm	CCUGGUCCAGACC	269
CTGF-1175-1 3-13220	13220	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm0m0mm0m	CCAUUACAAACUGU	270
CTGF-1172-1 3-13222	13222	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm0mm0m00m	CUGCCAUUACAAAC	271
CTGF-1177-1 3-13224	13224	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m0mm0mm	AUUACAACUGUCC	272
CTGF-1176-1 3-13226	13226	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0m0mm0mm	CAUUACAACUGUC	273
CTGF-812-13	13228	Chl	oooooooooooooo	0000m0000m0mm	AGAGUGGGAGCGCC	274

[0568]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13228			o			
CTGF-745-13 -13230	13230	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm000000	ACCGACUGGAAAGA	275
CTGF-1230-1 3-13232	13232	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0m00000m0	AUGUACGGAGACA	276
CTGF-920-13 -13234	13234	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0m0000mm	GCCUUGCGAAGCU	277
CTGF-679-13 -13236	13236	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m000000m0	GCUGCGAGGAGUG	278
CTGF-992-13 -13238	13238	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0mm000mmm	GCCUAUCAAGUUU	279
CTGF-1045-1 3-13240	13240	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m0000m	AAUUCUGUGGAGU	280
CTGF-1231-1 3-13242	13242	Chl	oooooooooooooo o	m0m0m00000m0m	UGUACGGAGACAU	281
CTGF-991-13 -13244	13244	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mm000mm	AGCCUAUCAAGUU	282
CTGF-998-13 -13246	13246	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm000mmm	CAAGUUUGAGCUU	283
CTGF-1049-1 3-13248	13248	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000m0m0m	CUGUGGGAGUAUGU	284
CTGF-1044-1 3-13250	13250	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m0000	AAAUUCUGUGGAG	285
CTGF-1327-1 3-13252	13252	Chl	oooooooooooooo o	mmmm00m00m0m0	UUUCAGUAGCACA	286

[0569]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1196-1 3-13254	13254	Chl	oooooooooooooo o	m00m00m0mmmm	CAAUGACAUUU	287
CTGF-562-13 -13256	13256	Chl	oooooooooooooo o	00m0mm00m0m0m	AGUACCAGUGCAC	288
CTGF-752-13 -13258	13258	Chl	oooooooooooooo o	000000m0m0mm	GGAAGACACGUUU	289
CTGF-994-13 -13260	13260	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm000mmm00	CUAUCAAGUUUGA	290
CTGF-1040-1 3-13262	13262	Chl	oooooooooooooo o	00mm000mmmm0m	AGCUAAAUCUGU	291
CTGF-1984-1 3-13264	13264	Chl	oooooooooooooo o	000m0000m0m00	AGGUAGAAUGUAA	292
CTGF-2195-1 3-13266	13266	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm00mm	AGCUGAUCAGUU	293
CTGF-2043-1 3-13268	13268	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mmmm000m0	UUCUGCUCAGAU	294
CTGF-1892-1 3-13270	13270	Chl	oooooooooooooo o	mm0mmmm000mm00	UUAUCUAAGUUAA	295
CTGF-1567-1 3-13272	13272	Chl	oooooooooooooo o	m0m0m000m00m0	UAUACGAGUAAUA	296
CTGF-1780-1 3-13274	13274	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m00mm	GACUGGACAGCUU	297
CTGF-2162-1 3-13276	13276	Chl	oooooooooooooo o	0m0mmmmmm0mm0	AUGGCCUUUAUUA	298
CTGF-1034-1	13278	Chl	oooooooooooooo	0m0mm000mm000	AUACCGAGCUAAA	299

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13278			o			
CTGF-2264-1 3-13280	13280	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm00000m0m	UUGUUGAGAGUGU	300
CTGF-1032-1 3-13282	13282	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0mm000mm0	ACAUACCGAGCUA	301
CTGF-1535-1 3-13284	13284	Chl	oooooooooooooo o	00m000000mm0	AGCAGAAAGGUUA	302
CTGF-1694-1 3-13286	13286	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mmmmmm00	AGUUGUUCCUUA	303
CTGF-1588-1 3-13288	13288	Chl	oooooooooooooo o	0mmm0000m0m00	AUUGAAGUGUAA	304
CTGF-928-13 -13290	13290	Chl	oooooooooooooo o	000mm00mmmm00	AAGCUGACCUGGA	305
CTGF-1133-1 3-13292	13292	Chl	oooooooooooooo o	00mm0m0000000	GGUCAUGAAGAAG	306
CTGF-912-13 -13294	13294	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm000mmmm	AUGGUCAGGCCUU	307
CTGF-753-13 -13296	13296	Chl	oooooooooooooo o	00000m0m0mm0	GAAGACACGUUUG	308
CTGF-918-13 -13298	13298	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m0000	AGGCCUUGCGAAG	309
CTGF-744-13 -13300	13300	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0mm00000	UACCGACUGGAAAG	310
CTGF-466-13 -13302	13302	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m0000mm0	ACCGCAAGAUCGG	311

[0570]

[0571]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-917-13 -13304	13304	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm0m000	CAGGCCUUGCGAA	312
CTGF-1038-1 3-13306	13306	Chl	oooooooooooooo o	m000mm000mmmm	CGAGCUAAAUCU	313
CTGF-1048-1 3-13308	13308	Chl	oooooooooooooo o	mmm0m0000m0m0	UCUGUGGAGUAUG	314
CTGF-1235-1 3-13310	13310	Chl	oooooooooooooo o	m00000m0m00m0	CGGAGACAUGGCA	315
CTGF-868-13 -13312	13312	Chl	oooooooooooooo o	0m00m00m0mmmm	AUGACAAACGCCUC	316
CTGF-1131-1 3-13314	13314	Chl	oooooooooooooo o	0000mm0m00000	GAGGUCAUGAAGA	317
CTGF-1043-1 3-13316	13316	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm0m000	UAAAUCUGUGGA	318
CTGF-751-13 -13318	13318	Chl	oooooooooooooo o	m000000m0m0mm	UGGAAGACACGUU	319
CTGF-1227-1 3-13320	13320	Chl	oooooooooooooo o	0000m0m0m0000	AAGAUGUACGGAG	320
CTGF-867-13 -13322	13322	Chl	oooooooooooooo o	00m00m00m0mmmm	AAUGACAAACGCCU	321
CTGF-1128-1 3-13324	13324	Chl	oooooooooooooo o	00m0000mm0m00	GGCGAGGUCAUGA	322
CTGF-756-13 -13326	13326	Chl	oooooooooooooo o	00m0m0mmmm0mm	GACACGUUUGGCC	323
CTGF-1234-1	13328	Chl	oooooooooooooo	0m00000m0m00m	ACGGAGACAUGGC	324

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13328			o			
CTGF-916-13 -13330	13330	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmmm0m00	UCAGGCCUUGCAG	325
CTGF-925-13 -13332	13332	Chl	oooooooooooooo o	0m0000mm00mmm	GCGAAGCUGACCU	326
CTGF-1225-1 3-13334	13334	Chl	oooooooooooooo o	000000m0m0m00	GGAAGAUGUACGG	327
CTGF-445-13 -13336	13336	Chl	oooooooooooooo o	0m00mmmm00mmm	GUGACUUUCGGCUC	328
CTGF-446-13 -13338	13338	Chl	oooooooooooooo o	m00mmmm00mmmm	UGACUUCGGCUCC	329
CTGF-913-13 -13340	13340	Chl	oooooooooooooo o	m00mm000mmmm0	UGGUCAAGGCCUUG	330
CTGF-997-13 -13342	13342	Chl	oooooooooooooo o	mm000mm000mm	UCAAGUUUGAGCU	331
CTGF-277-13 -13344	13344	Chl	oooooooooooooo o	0mm0000mm0m00	GCCAGAACUGCAG	332
CTGF-1052-1 3-13346	13346	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0m0m0mm	UGGAGUAUGUACC	333
CTGF-887-13 -13348	13348	Chl	oooooooooooooo o	0mm0000000m00	GCUAGAGAACGCAG	334
CTGF-914-13 -13350	13350	Chl	oooooooooooooo o	00mm000mmmm0m	GGUCAGGCCUUGC	335
CTGF-1039-1 3-13352	13352	Chl	oooooooooooooo o	000mm000mmmm0	GAGCUAAAUCUG	336

[0572]

[0573]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-754-13 -13354	13354	Chl	oooooooooooooo o	0000m0m0mm00	AAGACACGUUUGG	337
CTGF-1130-1 3-13356	13356	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm0m0000	CGAGGUCAUGAAG	338
CTGF-919-13 -13358	13358	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m0000m	GGCCUUGCGAACG	339
CTGF-922-13 -13360	13360	Chl	oooooooooooooo o	mmm0m0000mm00	CUUGCAGAACUGA	340
CTGF-746-13 -13362	13362	Chl	oooooooooooooo o	mm00mm000000m	CCGACUGGAAGAAC	341
CTGF-993-13 -13364	13364	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mm000mm0	CCUAUCAAGUUUG	342
CTGF-825-13 -13366	13366	Chl	oooooooooooooo o	m0mmmm0000mmm	UGUUCCAAGACC	343
CTGF-926-13 -13368	13368	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm00mm0	CGAACUGACCCUG	344
CTGF-923-13 -13370	13370	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000mm00m	UUGCAGAACUGAC	345
CTGF-866-13 -13372	13372	Chl	oooooooooooooo o	m00m00m00m0mm	CAAUGACAACGCC	346
CTGF-563-13 -13374	13374	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00m0m00	GUACCAGUGGCACG	347
CTGF-823-13 -13376	13376	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mmmm0000m	CCUGUUCCAAGAC	348
CTGF-1233-1	13378	Chl	oooooooooooooo	m0m00000m0m00	UACGGAGACAUGG	349

[0574]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13378			o			
CTGF-924-13 -13380	13380	Chl	oooooooooooooo o	m0m0000mm00mm	UGCGAAGCUGACC	350
CTGF-921-13 -13382	13382	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m0000mm0	CCUUGCGAACGUG	351
CTGF-443-13 -13384	13384	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0mmmm00m	CUGUGACUUUCGGC	352
CTGF-1041-1 3-13386	13386	Chl	oooooooooooooo o	0mm000mmmm0m0	GCUAAAUUCUGUG	353
CTGF-1042-1 3-13388	13388	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmmm0m00	CUAAAUUCUGUGG	354
CTGF-755-13 -13390	13390	Chl	oooooooooooooo o	000m0m0mm00m	AGACACGUUUGGC	355
CTGF-467-13 -13392	13392	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000mm00m	CCGCAAGAUCGGC	356
CTGF-995-13 -13394	13394	Chl	oooooooooooooo o	m0mm000mm000	UAUCAAGUUUGAG	357
CTGF-927-13 -13396	13396	Chl	oooooooooooooo o	0000mm00mm00	GAAGCUGACCUGG	358
SPP1-1025-1 3-13398	13398	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m000mm000	CUCAUGAAUJAGA	359
SPP1-1049-1 3-13400	13400	Chl	oooooooooooooo o	mm0000mm00mm0	CUGAGGUCAAUJA	360
SPP1-1051-1 3-13402	13402	Chl	oooooooooooooo o	0000mm00mm000	GAGGUCAAUAAA	361

[0575]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1048-1 3-13404	13404	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0000mm00mm	UCUGAGGUCAAUU	362
SPP1-1050-1 3-13406	13406	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm00mm00	UGAGGUCAAUUAA	363
SPP1-1047-1 3-13408	13408	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0000mm00m	UUCUGAGGUCAAU	364
SPP1-800-13 -13410	13410	Chl	oooooooooooooo o	0mm00mm000m00	GUCAGCUGGAUGA	365
SPP1-492-13 -13412	13412	Chl	oooooooooooooo o	mmmm00m000mmm	UUCUGAUGAACU	366
SPP1-612-13 -13414	13414	Chl	oooooooooooooo o	m000mm0000mm0	UGGACUGAGGUCA	367
SPP1-481-13 -13416	13416	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0mm0mm	GAGUCUCACCAUU	368
SPP1-614-13 -13418	13418	Chl	oooooooooooooo o	00mm0000mm000	GACUGAGGUCAAA	369
SPP1-951-13 -13420	13420	Chl	oooooooooooooo o	mm0m00mm0m000	UCACAGCCAUGAA	370
SPP1-482-13 -13422	13422	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mm0mmm	AGUCUCACCAUUC	371
SPP1-856-13 -13424	13424	Chl	oooooooooooooo o	000m000000mm0	AAGCGGAAAGCCA	372
SPP1-857-13 -13426	13426	Chl	oooooooooooooo o	00m000000mm00	AGCGGAAAGCAA	373
SPP1-365-13	13428	Chl	oooooooooooooo	0mm0m0m000m00	ACCACAUGGAUGA	374

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13428			o			
SPP1-359-13 -13430	13430	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m00mm0m0m	GCCAUGACCACAU	375
SPP1-357-13 -13432	13432	Chl	oooooooooooooo o	000mm0m00mm0m	AAGCCAUGACCAC	376
SPP1-858-13 -13434	13434	Chl	oooooooooooooo o	0m000000mm00m	GC GGAA AGCCAU	377
SPP1-1012-1 3-13436	13436	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m0mmm	AAA UUUCGUAUUU	378
SPP1-1014-1 3-13438	13438	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0m0mmmm	AUUUCGUAUUUCU	379
SPP1-356-13 -13440	13440	Chl	oooooooooooooo o	0000mm0m00mm0	AAAGCCAUGACCA	380
SPP1-368-13 -13442	13442	Chl	oooooooooooooo o	0m0m000m00m0m	ACAUGGAUGAUAU	381
SPP1-1011-1 3-13444	13444	Chl	oooooooooooooo o	0000mmmm0m0mm	GAAA UUUCGUAUU	382
SPP1-754-13 -13446	13446	Chl	oooooooooooooo o	0m0mmmmmm00mm	GCGCCUUUCUGAUU	383
SPP1-1021-1 3-13448	13448	Chl	oooooooooooooo o	0mmmmmm0m000m	AUUUCUCAUGAAU	384
SPP1-1330-1 3-13450	13450	Chl	oooooooooooooo o	mmmmmm0m000m00	CUCUCAUGAAUAG	385
SPP1-346-13 -13452	13452	Chl	oooooooooooooo o	000mmm00m0000	AAGUCCAACGAAA	386

[0576]

[0577]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-869-13 -13454	13454	Chl	oooooooooooooo o	0m00m00000m00	AUGAUGAGAGCAA	387
SPP1-701-13 -13456	13456	Chl	oooooooooooooo o	0m000000mm000	GCGAGGAGUUGAA	388
SPP1-896-13 -13458	13458	Chl	oooooooooooooo o	m00mm00m00mm0	UGAUUGAUAGUCA	389
SPP1-1035-1 3-13460	13460	Chl	oooooooooooooo o	000m00m0m0mm	AGAUAGUGCAUCU	390
SPP1-1170-1 3-13462	13462	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0m0mmmm0mm	AUGUGUAUCUAUU	391
SPP1-1282-1 3-13464	13464	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m0000000	UUCUAUAGAAGAA	392
SPP1-1537-1 3-13466	13466	Chl	oooooooooooooo o	mm0mmm00m00mm	UUGUCCAGCAAUU	393
SPP1-692-13 -13468	13468	Chl	oooooooooooooo o	0m0m000000m00	ACAUGGAAAGCGA	394
SPP1-840-13 -13470	13470	Chl	oooooooooooooo o	0m0mmmm000mm0	GCAGUCCAGAUUA	395
SPP1-1163-1 3-13472	13472	Chl	oooooooooooooo o	m00mm000m0m0m	UGGUUGAAUGUGU	396
SPP1-789-13 -13474	13474	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000m000m	UU AUGAACGAGU	397
SPP1-841-13 -13476	13476	Chl	oooooooooooooo o	m00mmmm000mm0m	CAGUCCAGAUUAU	398
SPP1-852-13	13478	Chl	oooooooooooooo	0m0m000m00000	AUUAAGCGGAAA	399

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13478			o			
SPP1-209-13 -13480	13480	Chl	oooooooooooooo o	m0mm00mm000m0	UACCAGUUAAACA	400
SPP1-1276-1 3-13482	13482	Chl	oooooooooooooo o	m0mmm0mmmm0m0	UGUUCAUUCUAUA	401
SPP1-137-13 -13484	13484	Chl	oooooooooooooo o	mm00mm000000	CCGACCAAGGAAA	402
SPP1-711-13 -13486	13486	Chl	oooooooooooooo o	000m00m0m0m0m	GAAUGGUGCAUAC	403
SPP1-582-13 -13488	13488	Chl	oooooooooooooo o	0m0m00m0mm00	AUAUGAUGGCCGA	404
SPP1-839-13 -13490	13490	Chl	oooooooooooooo o	00m00mmm000mm	AGCAGUCCAGAUU	405
SPP1-1091-1 3-13492	13492	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00mm000	GCAUUUAGUCAAA	406
SPP1-884-13 -13494	13494	Chl	oooooooooooooo o	00m0mmmm00m0m	AGCAUUCCGAUGU	407
SPP1-903-13 -13496	13496	Chl	oooooooooooooo o	m00mm00000mmm	UAGUCAGGAACUU	408
SPP1-1090-1 3-13498	13498	Chl	oooooooooooooo o	m0m0mmmm00mm00	UGCAUUUAGUCAA	409
SPP1-474-13 -13500	13500	Chl	oooooooooooooo o	0mmm00m000mmm	GUCUGAUGAGUCU	410
SPP1-575-13 -13502	13502	Chl	oooooooooooooo o	m000m0m0m0m00	UAGACACAUUAUGA	411

[0578]

[0579]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-671-13 -13504	13504	Chl	oooooooooooooo o	m000m00000m0m	CAGACGAGGACAU	412
SPP1-924-13 -13506	13506	Chl	oooooooooooooo o	m00mm0m000mmm	CAGCCGUGAAUUC	413
SPP1-1185-1 3-13508	13508	Chl	oooooooooooooo o	00mmm00000m00	AGUCUGGAAUUA	414
SPP1-1221-1 3-13510	13510	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m00mmmm	AGUUUUGUGGCUUC	415
SPP1-347-13 -13512	13512	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm00m00000	AGUCCAACGAAAG	416
SPP1-634-13 -13514	13514	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m000m	AAGUUUCGCAGAC	417
SPP1-877-13 -13516	13516	Chl	oooooooooooooo o	00m00m000m0mm	AGCAAUGAGCAU	418
SPP1-1033-1 3-13518	13518	Chl	oooooooooooooo o	mm000m00m0m0m	UUAGAUAGUGCAU	419
SPP1-714-13 -13520	13520	Chl	oooooooooooooo o	m00m0m0m0m000	UGGUGCAUACAAG	420
SPP1-791-13 -13522	13522	Chl	oooooooooooooo o	0m0000m000mm0	AUGAACGAGUCA	421
SPP1-813-13 -13524	13524	Chl	oooooooooooooo o	mm0000m0mm000	CCAGAGUGCUGAA	422
SPP1-939-13 -13526	13526	Chl	oooooooooooooo o	m00mm0m000mmm	CAGCCAUGAAUUU	423
SPP1-1161-1	13528	Chl	oooooooooooooo	0mm00mm000m0m	AUUGGUUGAAUGU	424

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13528			o			
SPP1-1164-1 3-13530	13530	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m0m0m0	GGUUGAAUGUGUA	425
SPP1-1190-1 3-13532	13532	Chl	oooooooooooooo o	00000m00mm00m	GGAAAUAACUAAU	426
SPP1-1333-1 3-13534	13534	Chl	oooooooooooooo o	mm0m000m00000	UCAUGAAUAGAAA	427
SPP1-537-13 -13536	13536	Chl	oooooooooooooo o	0mm00m00mm000	GCCAGCAACCGAA	428
SPP1-684-13 -13538	13538	Chl	oooooooooooooo o	m0mmmm0m0m0m0	CACCUCACACAUG	429
SPP1-707-13 -13540	13540	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m00m0m	AGUUGAAUGGUGC	430
SPP1-799-13 -13542	13542	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm000m0	AGUCAGCUGGAUG	431
SPP1-853-13 -13544	13544	Chl	oooooooooooooo o	m0m000m000000	UAUAAGCGGAAAG	432
SPP1-888-13 -13546	13546	Chl	oooooooooooooo o	mmmm00m0m0mm	UUCCGAUGUGAUU	433
SPP1-1194-1 3-13548	13548	Chl	oooooooooooooo o	0m00mm00m0m0m	AUAACUAAUGUGU	434
SPP1-1279-1 3-13550	13550	Chl	oooooooooooooo o	mm0mmmm0m00000	UCAUUCUAUAGAA	435
SPP1-1300-1 3-13552	13552	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mm0mm0m0	AACUAUCACUGUA	436

[0580]

[0581]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1510-1 3-13554	13554	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0mmm0m	GUCAAUUGCUUAU	437
SPP1-1543-1 3-13556	13556	Chl	oooooooooooooo o	00m00mm00m000	AGCAAUUAAAUA	438
SPP1-434-13 -13558	13558	Chl	oooooooooooooo o	0m00mmmm00m00	ACGACUCUGAUGA	439
SPP1-600-13 -13560	13560	Chl	oooooooooooooo o	m00m0m00mmmm0m	UAGUGUGGUUUAU	440
SPP1-863-13 -13562	13562	Chl	oooooooooooooo o	000mm00m00m00	AAGCCAAUGAUGA	441
SPP1-902-13 -13564	13564	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00000mm	AUAGUCAGGAACU	442
SPP1-921-13 -13566	13566	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm0m000	AGUCAGCCGUGAA	443
SPP1-154-13 -13568	13568	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0m00000	ACUACCAUGAGAA	444
SPP1-217-13 -13570	13570	Chl	oooooooooooooo o	000m000mm0mm	AAACAGGCUGAUU	445
SPP1-816-13 -13572	13572	Chl	oooooooooooooo o	000m0mm0000mm	GAGUGCUGAACCC	446
SPP1-882-13 -13574	13574	Chl	oooooooooooooo o	m000m0mmmm00m	UGAGCAUUCCGAU	447
SPP1-932-13 -13576	13576	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m00mm0	AAUUCCACAGCCA	448
SPP1-1509-1	13578	Chl	oooooooooooooo	m0mm00mm0mmmm0	UGUCAAUUGCUAL	449

[0582]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13578			o			
SPP1-157-13 -13580	13580	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m00000mm0	ACCAUGAGAAUJG	450
SPP1-350-13 -13582	13582	Chl	oooooooooooooo o	mm00m00000mm0	CCAACGAAAGCCA	451
SPP1-511-13 -13584	13584	Chl	oooooooooooooo o	mm00mm0mm0mm	CUGGUUCACUGAUU	452
SPP1-605-13 -13586	13586	Chl	oooooooooooooo o	m00mmm0m000mm	UGGUUUUAUGGACU	453
SPP1-811-13 -13588	13588	Chl	oooooooooooooo o	00mm0000m0mm0	GACCAGAGUGCUG	454
SPP1-892-13 -13590	13590	Chl	oooooooooooooo o	00m0m00mm0m0	GAUGUGAUUGAU	455
SPP1-922-13 -13592	13592	Chl	oooooooooooooo o	0mm00mm0m000m	GUCAGCCGUGAAU	456
SPP1-1169-1 3-13594	13594	Chl	oooooooooooooo o	00m0m0m0mmmm0m	AAUGUGUAUCUAU	457
SPP1-1182-1 3-13596	13596	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmm00000	UUGAGUCUGGAAA	458
SPP1-1539-1 3-13598	13598	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm00m00mm00	GUCCAGCAAUUAA	459
SPP1-1541-1 3-13600	13600	Chl	oooooooooooooo o	mm00m00mm00m0	CCAGCAAUUAAUA	460
SPP1-427-13 -13602	13602	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm000m00mm	GACUCGAACGACU	461

[0583]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-533-13 -13604	13604	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0mm00m00m	ACCUGGCCAGCAAC	462
APOB--13-13 763	13763	Chl TEG	oooooooooooooo o	0m+00+m0+m0+m	ACTGAaUAcCAaU	463
APOB--13-13 764	13764	Chl TEG	oooooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	464
MAP4K4--16-- 13766	13766	Chl	oooooooooooooo o	DY547mm0m0000 0mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	465
PPIB--13-13 767	13767	Chl	oooooooooooooo o	mmmmmmmmmmmmmm	GGCUACAAAAACA	466
PPIB--15-13 768	13768	Chl	oooooooooooooo ooo	mm00mm0m00000 m0	UUGGCUACAAAAA CA	467
PPIB--17-13 769	13769	Chl	oooooooooooooo ooooo	0mmmm0mm0m000 00m0	AUJUJGGCUACAAA AACAA	468
MAP4K4--16-- 13939	13939	Chl	oooooooooooooo o	m0m0000m0mmmm0	UGUAGGAUGUCUA	469
APOB-4314-1 6-13940	13940	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0000000m0	AUCUGGAGAAACA	470
APOB-4314-1 7-13941	13941	Chl	oooooooooooooo ooo	000mmm0000000 m0	AGAUCUGGAGAAA CA	471
APOB--16-13 942	13942	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	472
APOB--18-13 943	13943	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	473
APOB--17-13	13944	Chl	oooooooooooooo	m000mmmm0mmmm0m	UGGACUCAUCUGC	474

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
944			ooo	m0	UA	
APOB--19-13 945	13945	Chl	oooooooooooooo ooo	m000mmmm0mmmm0m m0	UGGACUCAUCUGC UA	475
APOB-4314-1 6-13946	13946	Chl	oooooooooooooo o	0000000m00m0m	GGAGAAACAACAU	476
APOB-4314-1 7-13947	13947	Chl	oooooooooooooo ooo	mm0000000m00m 0m	CUGGAGAAACAAC AU	477
APOB--16-13 948	13948	Chl	oooooooooooooo o	00mmmmmm000m0	AGUCCCUCAAACA	478
APOB--17-13 949	13949	Chl	oooooooooooooo ooo	0000mmmmmm000 m0	AGAGUCCCUCAAA CA	479
APOB--16-13 950	13950	Chl	oooooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	480
APOB--18-13 951	13951	Chl	oooooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	481
APOB--17-13 952	13952	Chl	oooooooooooooo ooo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	482
APOB--19-13 953	13953	Chl	oooooooooooooo ooo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	483
MAP4K4--16- 13766.2	13766 .2	Chl	oooooooooooooo o	DY547mm0m0000 0mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	484
CTGF-1222-1 6-13980	13980	Chl	oooooooooooooo o	0m0000000m0m0	ACAGGAAAGAUGUA	485
CTGF-813-16 -13981	13981	Chl	oooooooooooooo o	000m0000mmmm	GAGUGGAGCGCCU	486

[0584]

[0585]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-747-16 -13982	13982	Chl	oooooooooooooo o	m0mm000000m0	CGACUGGAAGACA	487
CTGF-817-16 -13983	13983	Chl	oooooooooooooo o	0000mmmm0mmm	GGAGCGCCUGUUC	488
CTGF-1174-1 6-13984	13984	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0m00mm0	GCCAUUACAAACUG	489
CTGF-1005-1 6-13985	13985	Chl	oooooooooooooo o	000mmmmmm00mm	GAGCUUUCUGGCU	490
CTGF-814-16 -13986	13986	Chl	oooooooooooooo o	00m0000mmmm0	AGUGGAGCGCCUG	491
CTGF-816-16 -13987	13987	Chl	oooooooooooooo o	m0000mmmm0mm	UGGAGCGCCUGUU	492
CTGF-1001-1 6-13988	13988	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm000mmmmmm	GUUUGAGCUUUCU	493
CTGF-1173-1 6-13989	13989	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0mm0m00mm	UGCCAUUACAAACU	494
CTGF-749-16 -13990	13990	Chl	oooooooooooooo o	0mm000000m0m	ACUGGAAGACACG	495
CTGF-792-16 -13991	13991	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mmmm00mmm	AACUGGCCUGGUCC	496
CTGF-1162-1 6-13992	13992	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m0mmmm0	AGACCUGUGGCCUG	497
CTGF-811-16 -13993	13993	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0000mm	CAGAGUGGAGCGC	498
CTGF-797-16	13994	Chl	oooooooooooooo	mmmm0mmmm00mm	CCUGGUCCAGACC	499

[0586]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13994			o			
CTGF-1175-1 6-13995	13995	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm0m0mm0m	CCAUUACAAUCUGU	500
CTGF-1172-1 6-13996	13996	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm0mm0m0m	CUGCCAUUACAAAC	501
CTGF-1177-1 6-13997	13997	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m00mm0mm	AUUACAAUCUGUCC	502
CTGF-1176-1 6-13998	13998	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0m00mm0mm	CAUUACAAUCUGUC	503
CTGF-812-16 -13999	13999	Chl	oooooooooooooo o	0000m0000mm	AGAGUGGAGCGCC	504
CTGF-745-16 -14000	14000	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm000000	ACCGACUGGAAGA	505
CTGF-1230-1 6-14001	14001	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0m0000m0	AUGUACGGAGACA	506
CTGF-920-16 -14002	14002	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0m000mm	GCCUUGCAGAACU	507
CTGF-679-16 -14003	14003	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m00000m0	GCUGCGAGGAGUG	508
CTGF-992-16 -14004	14004	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0mm00mm	GCCUAUCAAGUUU	509
CTGF-1045-1 6-14005	14005	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m0000m	AAUUCUGUGGGAGU	510
CTGF-1231-1 6-14006	14006	Chl	oooooooooooooo o	m0m0m0000m0m	UGUACGGAGACAU	511

[0587]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-991-16 -14007	14007	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mm000mm	AGCCUAUCAAGUU	512
CTGF-998-16 -14008	14008	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm000mmm	CAAGUUUGAGCUU	513
CTGF-1049-1 6-14009	14009	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000m0m0m	CUGUGGAGUAUGU	514
CTGF-1044-1 6-14010	14010	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m0000	AAAUUCUGUGGAG	515
CTGF-1327-1 6-14011	14011	Chl	oooooooooooooo o	mmmm00m00m0m0	UUUCAGUAGCACA	516
CTGF-1196-1 6-14012	14012	Chl	oooooooooooooo o	m00m00m0mmmm	CAAUGACAUUU	517
CTGF-562-16 -14013	14013	Chl	oooooooooooooo o	00m0mm00m0m0m	AGUACCAGUGCAC	518
CTGF-752-16 -14014	14014	Chl	oooooooooooooo o	000000m0mmmm	GGAAGACACGUUU	519
CTGF-994-16 -14015	14015	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm000mm00	CUAUCAAGUUUGA	520
CTGF-1040-1 6-14016	14016	Chl	oooooooooooooo o	00mm000mmmm0m	AGCUAAAUCUGU	521
CTGF-1984-1 6-14017	14017	Chl	oooooooooooooo o	000m0000m0m00	AGGUAGAAUGUAA	522
CTGF-2195-1 6-14018	14018	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm00mm	AGCUGAUCAUUU	523
CTGF-2043-1	14019	Chl	oooooooooooooo	mmmm0mmmm00m0	UUCUGCUAGAU	524

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
6-14019			o			
CTGF-1892-1 6-14020	14020	Chl	oooooooooooooo o	mm0mmm000mm00	UUAUCUAAGUUAA	525
CTGF-1567-1 6-14021	14021	Chl	oooooooooooooo o	m0m0m00m00m0	UAUACGAGUAAUA	526
CTGF-1780-1 6-14022	14022	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m00mm	GACUGGACAGCUU	527
CTGF-2162-1 6-14023	14023	Chl	oooooooooooooo o	0m00mmmmmm0mm0	AUGGCCUUUAUUA	528
CTGF-1034-1 6-14024	14024	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00mm000	AUACCGAGCUAAA	529
CTGF-2264-1 6-14025	14025	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm00000m0m	UUGUUGAGAGUGU	530
CTGF-1032-1 6-14026	14026	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0mm00mm0	ACAUACCGAGCUA	531
CTGF-1535-1 6-14027	14027	Chl	oooooooooooooo o	00m0000000mm0	AGCAGAAAGGUUA	532
CTGF-1694-1 6-14028	14028	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mmmmmm00	AGUUGUUCCUUA	533
CTGF-1588-1 6-14029	14029	Chl	oooooooooooooo o	0mmm0000m0m00	AUUUGAAGUGUAA	534
CTGF-928-16 -14030	14030	Chl	oooooooooooooo o	000mm00mmmm00	AAGCUGACCUGGA	535
CTGF-1133-1 6-14031	14031	Chl	oooooooooooooo o	00mm0m0000000	GGUCAUGAAGAAG	536

[0588]

[0589]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-912-16 -14032	14032	Chl	oooooooooooooo o	0m00mm000mmmm	AUGGUCAAGGCCUU	537
CTGF-753-16 -14033	14033	Chl	oooooooooooooo o	00000m0mmmm0	GAAGACACGUUUG	538
CTGF-918-16 -14034	14034	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0m000	AGGCCUUGCGAAG	539
CTGF-744-16 -14035	14035	Chl	oooooooooooooo o	m0mm0mm00000	UACCGACUGGAAAG	540
CTGF-466-16 -14036	14036	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm0000mm0	ACCGCAAGAUCCGG	541
CTGF-917-16 -14037	14037	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm0m00	CAGGCCUUGCGAA	542
CTGF-1038-1 6-14038	14038	Chl	oooooooooooooo o	m00mm000mmmm	CGAGCUAAAUCU	543
CTGF-1048-1 6-14039	14039	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m0000m0m0	UCUGUGGAGUAUG	544
CTGF-1235-1 6-14040	14040	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0m00m0	CGGAGACAUGGCA	545
CTGF-868-16 -14041	14041	Chl	oooooooooooooo o	0m00m00mmmm	AUGACAACGCCUC	546
CTGF-1131-1 6-14042	14042	Chl	oooooooooooooo o	0000mm0m00000	GAGGUCAUGAAGA	547
CTGF-1043-1 6-14043	14043	Chl	oooooooooooooo o	m000mmmm0m000	UAAAUCUGUGGA	548
CTGF-751-16	14044	Chl	oooooooooooooo	m000000m0mmm	UGGAAGACACGUU	549

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-14044			o			
CTGF-1227-1 6-14045	14045	Chl	oooooooooooooo o	0000m0m0m000	AAGAUGUACGGAG	550
CTGF-867-16 -14046	14046	Chl	oooooooooooooo o	00m00m00mmmm	AAUGACAAACGCCU	551
CTGF-1128-1 6-14047	14047	Chl	oooooooooooooo o	00m000mm0m00	GGCGAGGUCAUGA	552
CTGF-756-16 -14048	14048	Chl	oooooooooooooo o	00m0m0mmmm0mm	GACACGUUJUGGCC	553
CTGF-1234-1 6-14049	14049	Chl	oooooooooooooo o	0m00000m0m00m	ACGGAGACAUAGGC	554
CTGF-916-16 -14050	14050	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmmm0m00	UCAGGCCUUJCGA	555
CTGF-925-16 -14051	14051	Chl	oooooooooooooo o	0m0000mm00mmm	GCGAACUGACCU	556
CTGF-1225-1 6-14052	14052	Chl	oooooooooooooo o	000000m0m0m00	GGAAGAUGUACGG	557
CTGF-445-16 -14053	14053	Chl	oooooooooooooo o	0m00mmmm00mmm	GUGACUUUCGGCUC	558
CTGF-446-16 -14054	14054	Chl	oooooooooooooo o	m00mmmm00mmmm	UGACUUUCGGCUCC	559
CTGF-913-16 -14055	14055	Chl	oooooooooooooo o	m00mm000mmmm0	UGGUCAGGCCUUG	560
CTGF-997-16 -14056	14056	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmm000mm	UCAAGUUJUGAGCU	561

[0590]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:	
CTGF-277-16 -14057	14057	Chl	oooooooooooooo o	0mm0000mm0m00	GCCAGAACUGGCAG	562	
CTGF-1052-1 6-14058	14058	Chl	oooooooooooooo o	m0000m0m0m0mm	UGGAGUAUGUACC	563	
CTGF-887-16 -14059	14059	Chl	oooooooooooooo o	0mm0000000m00	GCUAGAGAAGCAG	564	
CTGF-914-16 -14060	14060	Chl	oooooooooooooo o	00mm000mmmm0m	GGUCAGGCCUUGC	565	
[0591]	CTGF-1039-1 6-14061	14061	Chl	oooooooooooooo o	000mm000mmmm0	GAGCUAAAUCUG	566
	CTGF-754-16 -14062	14062	Chl	oooooooooooooo o	0000m0m0mmmm0	AAGACACGUUJUGG	567
	CTGF-1130-1 6-14063	14063	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm0m0000	CGAGGUCAUGAAG	568
	CTGF-919-16 -14064	14064	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m0000m	GGCCUUGCGAAGC	569
	CTGF-922-16 -14065	14065	Chl	oooooooooooooo o	mmm0m0000mm00	CUUGCGAAGCUGA	570
	CTGF-746-16 -14066	14066	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm000000m	CCGACUGGAAGAC	571
	CTGF-993-16 -14067	14067	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mm000mmmm0	CCUAUCAAGUUJUG	572
	CTGF-825-16 -14068	14068	Chl	oooooooooooooo o	m0mmmm0000mmmm	UGUUUCCAAGACCU	573
	CTGF-926-16	14069	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm00mmmm0	CGAACUGACCCUG	574

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-14069			o			
CTGF-923-16 -14070	14070	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000mm0m	UUGCGAAGCUGAC	575
CTGF-866-16 -14071	14071	Chl	oooooooooooooo o	m00m00m00m0m	CAAUGACAAACGCC	576
CTGF-563-16 -14072	14072	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00m0m00	GUACCAGUGGCACG	577
CTGF-823-16 -14073	14073	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0mmmm0000m	CCUGUUCCAAGAC	578
CTGF-1233-1 6-14074	14074	Chl	oooooooooooooo o	m0m00000m0m00	UACGGAGACAUGG	579
CTGF-924-16 -14075	14075	Chl	oooooooooooooo o	m0m0000mm00mm	UGCGAAGCUGACC	580
CTGF-921-16 -14076	14076	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m0000mm0	CCUUGCGAAGCUG	581
CTGF-443-16 -14077	14077	Chl	oooooooooooooo o	mm0m00mmmm00m	CUGUGACUUUCGGC	582
CTGF-1041-1 6-14078	14078	Chl	oooooooooooooo o	0mm000mmmm0m0	GCUAAAUCUGUG	583
CTGF-1042-1 6-14079	14079	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmmm0m00	CUAAAUCUGUGG	584
CTGF-755-16 -14080	14080	Chl	oooooooooooooo o	000m0m0mm00m	AGACACCGUUJUGGC	585
CTGF-467-16 -14081	14081	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000mm00m	CCGCAAGAUJCGGC	586

[0592]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-995-16 -14082	14082	Chl	oooooooooooooo o	m0mm000mmm000	UAUCAAGUUUGAG	587
CTGF-927-16 -14083	14083	Chl	oooooooooooooo o	0000mm00mmm00	GAAGCUGACCUGG	588
SPP1-1091-1 6-14131	14131	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00mm000	GCAUUUAGUCAAA	589
PPIB--16-14 188	14188	Chl	oooooooooooooo o	mmmmmmmmmmmmmm	GGCUACAAAAACA	590
PPIB--17-14 189	14189	Chl	oooooooooooooo ooo	mm00mm0m00000 m0	UUGGCUACAAAAAA CA	591
PPIB--18-14 190	14190	Chl	oooooooooooooo ooooo	0mmm00mm0m000 00m0	AUUUGGCUACAAA AACAA	592
pGL3-1172-1 6-14386	14386	chl	oooooooooooooo o	0m000m0m00mmm	ACAAAUACGAUUU	593
pGL3-1172-1 6-14387	14387	chl	oooooooooooooo o	DY5470m000m0m 00mmm	ACAAAUACGAUUU	594
MAP4K4-2931 -25-14390	14390	Chl	oooooooooooooo oooooooooooooo o	Prmmmmmmmmmmmm 000mmmmmmmmmm	CUUUGAAGAGUUC UGUGGAAGUCUA	595
miR-122--23 -14391	14391	Chl	ssoooooooooo oooooooooooo	mmmmmmmmmmmmmm mmmmmmmmmmmm	ACAAACACCAUUG UCACACUCCA	596
	14084	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m000mm000	CUCAUGAAUJAGA	719
	14085	Chl	oooooooooooooo o	mm0000mm00mm0	CUGAGGUCAAUJA	720

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
[0594]	14086	Chl	oooooooooooooo o	0000mm00mm000	GAGGUCAAUUAAA	721
	14087	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0000mm00mm	UCUGAGGUCAAUU	722
	14088	Chl	oooooooooooooo o	m0000mm00mm00	UGAGGUCAAUUAA	723
	14089	Chl	oooooooooooooo o	mmmmmm0000mm00m	UUCUGAGGUCAAU	724
	14090	Chl	oooooooooooooo o	0mm00mm000m00	GUCAGCUGGAUGA	725
	14091	Chl	oooooooooooooo o	mmmm00m000mmm	UUCUGAUGAACU	726
	14092	Chl	oooooooooooooo o	m000mm0000mm0	UGGACUGAGGUCA	727
	14093	Chl	oooooooooooooo o	000mmmm0mm0mm	GAGUCUCACCAUU	728
	14094	Chl	oooooooooooooo o	00mm0000mm000	GACUGAGGUCAAA	729
	14095	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0mm0m000	UCACAGCCAUGAA	730
	14096	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0mm0mm	AGUCUCACCAUUC	731
	14097	Chl	oooooooooooooo o	000m00000mm0	AAGCGGAAAGCCA	732
	14098	Chl	oooooooooooooo	00m00000mm00	AGCGGAAAGCCAA	733

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
		○				
	14099	Chl	oooooooooooooo ○	0mm0m0m000m00	ACCACAUAGGAUGA	734
	14100	Chl	oooooooooooooo ○	0mm0m00mm0m0m	GCCAUGACCACAU	735
	14101	Chl	oooooooooooooo ○	000mm0m00mm0m	AAGCCAUGGACCAAC	736
	14102	Chl	oooooooooooooo ○	0m00000mm00m	GCGGAAAGCCAAU	737
[0595]	14103	Chl	oooooooooooooo ○	000mmmmmm0mmm	AAAUUUCGUAUUU	738
	14104	Chl	oooooooooooooo ○	0mmmmmm0mmmm	AUUUCGUAUJUCU	739
	14105	Chl	oooooooooooooo ○	0000mm0m00mm0	AAAGCCAUGACCA	740
	14106	Chl	oooooooooooooo ○	0m0m000m00m0m	ACAUGGAUGAUAU	741
	14107	Chl	oooooooooooooo ○	0000mmmmmm0mm	GAAAUUUCGUAUU	742
	14108	Chl	oooooooooooooo ○	0mmmmmmmm00mm	GCGCCUUCUGAUU	743
	14109	Chl	oooooooooooooo ○	0mmmmmmmm0m000m	AUUUCUCAUGAAU	744
	14110	Chl	oooooooooooooo ○	mmmmmm0m000m00	CUCUCAUGAAUAG	745

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
[0596]	14111	Chl	oooooooooooooo o	000mmm00m000	AAGUCCAACGAAA	746
	14112	Chl	oooooooooooooo o	0m00m00000m00	AUGAUGAGAGCAA	747
	14113	Chl	oooooooooooooo o	0m00000mm000	GCGAGGAGUJUGAA	748
	14114	Chl	oooooooooooooo o	m00mm00m00mm0	UGAUUGAUAGUCA	749
	14115	Chl	oooooooooooooo o	000m00m0m0mm	AGAUAGUGCAUCU	750
	14116	Chl	oooooooooooooo o	0m0m0m0mm0mm	AUGUGUAUCUAUU	751
	14117	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m000000	UUCUAUAGAAGAA	752
	14118	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm00m00mm	UUGUCCAGCAAUU	753
	14119	Chl	oooooooooooooo o	0m0m00000m0	ACAUGGAAAGCGA	754
	14120	Chl	oooooooooooooo o	0m0mmmm000mm0	GCAGUCCAGAUUA	755
	14121	Chl	oooooooooooooo o	m00mm000m0m0m	UGGUJUGAAUGUGU	756
	14122	Chl	oooooooooooooo o	mm0m0000m00m	UUAUGAAACGAGU	757
	14123	Chl	oooooooooooooo	m00mmmm000mm0m	CAGUCCAGAUUAU	758

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
		o				
	14124	Chl	oooooooooooooo o	0m0m000m0000	AUAUAAGCGGAAA	759
	14125	Chl	oooooooooooooo o	m0mm00mm000m0	UACCAGUUAAACA	760
	14126	Chl	oooooooooooooo o	m0mmm0mmmm0m0	UGUUCAUUCUUA	761
	14127	Chl	oooooooooooooo o	mm0mm0000000	CCGACCAAGGAAA	762
[0597]	14128	Chl	oooooooooooooo o	000m00m0m0m0	GAAUGGUGCAUAC	763
	14129	Chl	oooooooooooooo o	0m0m00m00mm0	AUAUGAUGGCCGA	764
	14130	Chl	oooooooooooooo o	00m00mm000mm	AGCAGUCCAGAUU	765
	14132	Chl	oooooooooooooo o	00m0mmmm0m0m	AGCAUUCCGAUGU	766
	14133	Chl	oooooooooooooo o	m00mm00000mm	UAGUCAGGAACUU	767
	14134	Chl	oooooooooooooo o	m0m0mmmm0mm00	UGCAUUUAGUCAA	768
	14135	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm00m000mm	GUCUGAUGAGUCU	769
	14136	Chl	oooooooooooooo o	m000m0m0m0m00	UAGACACAUUAUGA	770

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
[0598]	14137	Chl	oooooooooooooo o	m000m0000m0m	CAGACGAGGACAU	771
	14138	Chl	oooooooooooooo o	m00mmm000mmm	CAGCCGUGAAUUC	772
	14139	Chl	oooooooooooooo o	00mmm00000m00	AGUCUGGAAUAA	773
	14140	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m00mmmm	AGUUUGUGGCUUC	774
	14141	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm00m0000	AGUCCAACGAAAG	775
	14142	Chl	oooooooooooooo o	000mmmmmm000m	AAGUUUCGCAGAC	776
	14143	Chl	oooooooooooooo o	00m00m000m0mm	AGCAAUGAGCAUU	777
	14144	Chl	oooooooooooooo o	mm000m00m0m0m	UUAGAUAGUGCAU	778
	14145	Chl	oooooooooooooo o	m00m0m0m0m000	UGGUGCAUACAAG	779
	14146	Chl	oooooooooooooo o	0m0000m00mm0	AUGAAACGAGUCA	780
	14147	Chl	oooooooooooooo o	mm0000m0mm000	CCAGAGUGCUGAA	781
	14148	Chl	oooooooooooooo o	m00mm0m000mmm	CAGCCAUGAAUUU	782
	14149	Chl	oooooooooooooo	0mm00mm000m0m	AUUGGUUGAAUGU	783

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14150	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m0m0m0	GGUUGAAUGUGUA	784
	14151	Chl	oooooooooooooo o	00000m00mm0m	GGAAAUAACUAAU	785
	14152	Chl	oooooooooooooo o	mm0m000m00000	UCAUGAAUAGAAA	786
	14153	Chl	oooooooooooooo o	0mm00m00mm00	GCCAGCAACCGAA	787
[0599]	14154	Chl	oooooooooooooo o	m0mmmm0m0m0m0	CACCUCACACAUG	788
	14155	Chl	oooooooooooooo o	00mm000m00m0m	AGUJGAAUGGUGC	789
	14156	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm000m0	AGUCAGCUGGAUG	790
	14157	Chl	oooooooooooooo o	m0m000m00000	UAUAAGCGGAAAG	791
	14158	Chl	oooooooooooooo o	mmmm0m0m00mm	UUCCGAUGUGAUU	792
	14159	Chl	oooooooooooooo o	0m00mm00m0m0m	AUAACUAAUGUGU	793
	14160	Chl	oooooooooooooo o	mm0mmmm0m00000	UCAUUCUAUAGAA	794
	14161	Chl	oooooooooooooo o	00mm0mm0mm0m0	AACUAUCACUGUA	795

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
[0600]	14162	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0mm0m	GUCAAUUGCUUAU	796
	14163	Chl	oooooooooooooo o	00m00mm00m000	AGCAAUUAAAUA	797
	14164	Chl	oooooooooooooo o	0m0mmmm00m00	ACGACUCUGAUGA	798
	14165	Chl	oooooooooooooo o	m00m0m00mm0m	UAGUGUGGUUUAU	799
	14166	Chl	oooooooooooooo o	000mm00m00m00	AAGCCAAUUGAUGA	800
	14167	Chl	oooooooooooooo o	0m0mm00000mm	AUAGUCAGGAACU	801
	14168	Chl	oooooooooooooo o	00mm00mm000	AGUCAGCCGUGAA	802
	14169	Chl	oooooooooooooo o	0mm0mm0m00000	ACUACCAUGAGAA	803
	14170	Chl	oooooooooooooo o	000m000mm0mm	AAACAGGCUGAUU	804
	14171	Chl	oooooooooooooo o	000m0mm0000mm	GAGUGCUGAAACC	805
	14172	Chl	oooooooooooooo o	m000m0mmmm0m	UGAGCAUUCCGAU	806
	14173	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm0m00mm0	AAUUCCACAGCCA	807
	14174	Chl	oooooooooooooo	m0mm0mm0mm0m	UGUCAAUUGCUAL	808

[0601]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14175	Chl	oooooooooooooo o	0mm0m00000mm0	ACCAUGAGAAUJUG	809
	14176	Chl	oooooooooooooo o	mm00m0000mm0	CCAACGAAAGCCA	810
	14177	Chl	oooooooooooooo o	mm00mm0mm0mm	CUGGUUCACUGAUU	811
	14178	Chl	oooooooooooooo o	m00mmmm0m000mm	UGGUUUUAUGGACU	812
	14179	Chl	oooooooooooooo o	00mm0000m0mm0	GACCAGAGUGCUG	813
	14180	Chl	oooooooooooooo o	00m0m00mm0m0	GAUGUGAUJUGAUA	814
	14181	Chl	oooooooooooooo o	0mm00mmm000m	GUCAGCCGUGAAU	815
	14182	Chl	oooooooooooooo o	00m0m0m0mm0m	AAUGUGUAUCUAU	816
	14183	Chl	oooooooooooooo o	mm000mmm00000	UUGAGUCUGGAAA	817
	14184	Chl	oooooooooooooo o	0mmmm00m0mm00	GUCCAGCAAUUAA	818
	14185	Chl	oooooooooooooo o	mm00m00mm00m0	CCAGCAAUJAAUA	819
	14186	Chl	oooooooooooooo o	00mmmm00m0mm	GACUCGAACGACU	820

[0602]	ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
		14187	Ch1	oooooooooooooo o	0mmmm0mm00m00m	ACCUGGCCAGCAAC	821

[0603] 表3:有义骨架、化学修饰和序列信息。0:磷酸二酯;s:硫代磷酸酯;P:5' 磷酸化;0:2' -OH; F:2' -氟代;m:2' 0-甲基;+:LNA修饰。序列中的大写字母表示核糖核苷酸,小写字母表示脱氧核糖核苷酸。

[0604] 尽管已经描述了本发明至少一个实施方案的几个方面,应理解本领域技术人员可容易地设想多种变化、修改和改进。这些变化、修改和改进是本公开内容的一部分,并且在本发明的精神和范围内。因此,之前的说明和附图只是示例。

[0605] 只采用常规试验本领域技术人员能识别或能确定本发明特定实施方案的多个等同方案。以下权利要求旨在涵盖这些等同方案。

[0606] 本文公开的所有参考文献(包括专利文件)均通过全文引用并入。本申请通过引用将待批美国临时申请No.61/135,855(于2008年7月24日提交,题为“SHORT HAIRPIN RNAI CONSTRUCTS AND USES THEREOF,”)和美国临时申请No.61/197,768(于2008年10月30日提交,题为“MINIRNA CONSTRUCTS AND USES THEREOF.”)的全部内容(包括所有附图和说明书的所有部分(包括序列表或氨基酸/多核苷酸序列))并入。

[0607] 以下内容对应于母案申请中的原始权利要求书,现作为说明书的一部分并入此处:

[0608] 1. 分离的不对称核酸分子,其包含

[0609] 最小长度为16个核苷酸的引导链,以及负载链,它们形成具有双链区和单链区的双链核酸,所述双链区长度为8-15个核苷酸,所述单链区长度为5-12个核苷酸,其中所述负载链与亲脂基团连接,其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰,并且其中所述单链区具有至少2个硫代磷酸酯修饰。

[0610] 2. 项1的分离的不对称核酸分子,其中所述引导链的1位被5' 磷酸化。

[0611] 3. 项1的分离的不对称核酸分子,其中所述引导链的1位被2' 0-甲基修饰并被5' 磷酸化。

[0612] 4. 分离的双链核酸分子,其包含

[0613] 15-21个核苷酸长的较长链,其与miRNA序列互补,

[0614] 8-16个核苷酸长的较短链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

[0615] 其中所述较长链和负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述较长链具有2-13个核苷酸长的3' 单链区,其包含至少2个硫代磷酸酯修饰,并且至少50%的核苷酸被修饰。

[0616] 5. 分离的双链核酸分子,其包含

[0617] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

[0618] 8-16个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

[0619] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸 分子,其中所述引导链具有2-13个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中 的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修 饰,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含至少一个2' 0- 甲基修饰或2' -氟代修饰。

[0620] 6. 分离的双链核酸分子,其包含

[0621] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

[0622] 10-16个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

[0623] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸 分子,其中所述引导链具有5-11个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中 的至少2个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修 饰,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸被2' 0-甲基修饰或 2' -氟代修饰。

[0624] 7. 分离的双链核酸分子,其包含

[0625] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

[0626] 8-16个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

[0627] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸 分子,其中所述引导链具有6-8个核苷酸长的3' 单链区,所述单链区中的 每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰, 其中所述负载链包含至少2个硫代磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50%的C和U核苷酸包含2' 0-甲基修饰或2' -氟代修饰,并且其中所述双 链核酸分子的一个末端是平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0628] 8. 分离的双链核酸分子,其包含

[0629] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

[0630] 8-16个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,

[0631] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸 分子,其中所述引导链具有3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有 硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链中 11-18位的每个C和U核苷酸都具有2' 0-甲基修饰,其中所述负载链的 每个核苷酸都被2' 0-甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端 是平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0632] 9. 分离的双链核酸分子,其包含

[0633] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

[0634] 8-15个核苷酸长的负载链,其在3' 末端与亲脂基团连接,其中所述 亲脂基团选自 胆固醇和具有5-7个或9-18个碳长度的C17多碳链的固醇 类分子,

[0635] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸 分子,其中所述引导链具有3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有 硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链中 11-18位的每个C和U核苷酸都具有2' 0-甲基修饰,其中所述引导链中 2-10位的每个C和U核苷酸具有2' F修饰,其中所述负载链的每个核苷 酸都被2' 0-甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端 或包含1-2 个核苷酸的突出端。

[0636] 10. 分离的核酸分子,其包含

[0637] 与靶基因互补的引导链,

[0638] 在3'末端与亲脂基团连接的负载链，

[0639] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的核酸分子，其中所述引导链具有2-13个核苷酸长的3'单链区，所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰，其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰，其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸包含至少一个2'0-甲基修饰或2'-氟代修饰，并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含1-2核苷酸的突出端。

[0640] 11. 分离的双链核酸分子，其包含引导链和负载链，其中所述分子的双链区长度为8-14个核苷酸，其中所述引导链包含4-12个核苷酸长的单链区，并且其中所述引导链的单链区包含2-12个硫代磷酸酯修饰。

[0641] 12. 项11的核酸分子，其中所述引导链包含6-8个硫代磷酸酯修饰。13. 项11或12的核酸分子，其中所述引导链的单链区长度为6个核苷酸。

[0642] 14. 项11-13中任一项的核酸分子，其中所述双链区长度为13个核苷酸。

[0643] 15. 项11-14中任一项的核酸分子，其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含1-2个核苷酸的突出端。

[0644] 16. 分离的双链核酸分子，其包含

[0645] 引导链，其中所述引导链为16-28个核苷酸长并与靶基因互补，其中所述引导链3'末端的10个核苷酸包含至少2个磷酸酯修饰，并且其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰并包括至少一个2'0-甲基修饰或2'-氟代修饰；以及

[0646] 负载链，其中所述负载链长度为8-14个核苷酸并且与所述引导链互补，其中所述负载链与亲脂基团连接，

[0647] 其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

[0648] 17. 项1、7-10或16中任一项的核酸分子，其中所述引导链或序列的1位核苷酸具有2'0-甲基修饰。

[0649] 18. 项1-4、6-10或16-17中任一项的核酸分子，其中所述引导链或序列2-10位的至少一个C或U核苷酸具有2'-氟代修饰。

[0650] 19. 项18的核酸分子，其中所述引导链2-10位的每个C和U核苷酸都具有2'-氟代修饰。

[0651] 20. 项1-3、5、7、9或16-19中任一项的核酸分子，其中所述引导链或序列11-18位的至少一个C或U核苷酸具有2'0-甲基修饰。

[0652] 21. 项20的核酸分子，其中所述引导链或序列11-18位的每个C和U核苷酸都具有2'0-甲基修饰。

[0653] 22. 项1、2、4、5或16-21中任一项的核酸分子，其中所述引导链3'末端的10个核苷酸包含至少4个磷酸酯修饰。

[0654] 23. 项22的核酸分子，其中所述引导链3'末端的10个核苷酸包含至少8个磷酸酯修饰。

[0655] 24. 项16的核酸分子，其中所述引导链包含4-14个磷酸酯修饰。

[0656] 25. 项16的核酸分子，其中所述引导链包含4-10个磷酸酯修饰。

[0657] 26. 项1-5或16中任一项的核酸分子，其中所述引导链的3'末端6个核苷酸均包含磷酸酯修饰。

- [0658] 27. 项16-26中任一项的核酸分子, 其中所述磷酸酯修饰为硫代磷酸 酯修饰。
- [0659] 28. 项16-27中任一项的核酸分子, 其中所述负载链的每个C和U核 苷酸都具有2' -O-甲基修饰。
- [0660] 29. 项28的核酸分子, 其中所述负载链的每个核苷酸都具有2' -O-甲 基修饰。
- [0661] 30. 项16-30中任一项的核酸分子, 其中所述负载链的至少一个核苷 酸为硫代磷 酸酯修饰。
- [0662] 31. 项30的核酸分子, 其中所述负载链的至少2个核苷酸为硫代磷 酸酯修饰。
- [0663] 32. 项1-5或16-31中任一项的核酸分子, 其中所述亲脂分子为固醇。
- [0664] 33. 项32的核酸分子, 其中所述固醇为胆固醇。
- [0665] 34. 项16-33中任一项的核酸分子, 其中所述引导链长为18-19个核 苷酸。
- [0666] 35. 项16-34中任一项的核酸分子, 其中所述负载链长为11-13个核 苷酸。
- [0667] 36. 项16-35中任一项的核酸分子, 其中所述双链核酸分子的一个末 端是平末端 或包含1-2个核苷酸的突出端。
- [0668] 37. 分离的双链核酸分子, 其包含引导链和负载链, 其中所述引导链 为16-29个核 苷酸长并与靶基因基本互补, 其中所述负载链为8-14个核 苷酸长并与所述引导链互补, 并且其中所述引导链具有至少2个化学修 饰。
- [0669] 38. 项37的分离的双链核酸分子, 其中所述至少2个化学修饰包括 至少2个硫代磷 酸酯修饰。
- [0670] 39. 项37-38中任一项的核酸分子, 其中所述双链核酸分子的一个末 端是平末端 或包含1-2个核苷酸的突出端。
- [0671] 40. 分离的双链核酸分子, 其包含引导链和负载链, 其中所述引导链 为16-29个核 苷酸长并与靶基因基本互补, 其中所述负载链为8-14个核 苷酸长并与所述引导链互补, 并且其中所述引导链具有5个核苷酸长或更 长的单链3' 区以及1个核苷酸或更少的单链5' 区。
- [0672] 41. 项40的核酸分子, 其中所述单链区可包含至少2个硫代磷酸酯 修饰。
- [0673] 42. 分离的双链核酸分子, 其包含引导链和负载链, 其中所述引导链 为16-29个核 苷酸长并与靶基因基本互补, 其中所述负载链为8-16个核 苷酸长并与所述引导链互补, 并且其中所述引导链具有5个核苷酸长或更 长的单链3' 区并且所述负载链具有长于9的C17 连接链的固醇类分子。
- [0674] 43. 双链体多核苷酸, 其包含
- [0675] 第一多核苷酸, 其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互 补; 和
- [0676] 第二多核苷酸, 其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短6 个核苷酸,
- [0677] 其中所述第一多核苷酸包含含有以下修饰的单链区, 所述修饰选自 40-90% 疏水 碱基修饰、40-90% 硫代磷酸酯和40-90% 核糖部分修饰或其 任何组合。
- [0678] 44. 双链体多核苷酸, 其包含:
- [0679] 第一多核苷酸, 其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互 补; 以及
- [0680] 第二多核苷酸, 其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短6 个核苷酸,
- [0681] 其中所述双链体多核苷酸在所述第一多核苷酸的9、11、12、13或 14位核苷酸与第 二多核苷酸的对应核苷酸之间包含错配。

[0682] 45. 在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法,其包括将所述哺乳动物细胞与项1-41中任一项所述分离的双链核酸分子或项43或44所述双链体多核苷酸接触。

[0683] 46. 在对象中诱导RNAi的方法,其包括:

[0684] 向对象施用有效量的用于诱导靶基因mRNA之RNAi的项1-41中任一项所述分离的双链核酸分子或项43或44所述双链体多核苷酸。

[0685] 47. 项46的方法,其中所述对象是人。

[0686] 48. 项45的方法,其中所述靶基因是PPIB。

[0687] 49. 项45的方法,其中所述靶基因是MAP4K4。

[0688] 50. 项45的方法,其中所述靶基因是SOD1。

[0689] 51. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含

[0690] 多核苷酸,其中所述多核苷酸为与疏水分子连接的双链RNA,其中所述疏水分子与非末端核苷酸的碱基、核糖或骨架连接,并且其中所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链长为16-29个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长为8-14个核苷酸并且与所述引导链互补。

[0691] 52. 项51所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述疏水分子与所述双链RNA的引导链连接。

[0692] 53. 项51所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述引导链的3'末端10个核苷酸包含至少2个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰并包含至少一个2'-0-甲基修饰或2'-氟代修饰。

[0693] 54. 项51所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述疏水分子与所述双链RNA的负载链连接。

[0694] 55. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含:

[0695] 与疏水分子非共价复合的多核苷酸,其中所述疏水分子是多阳离子分子。

[0696] 56. 项55所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

[0697] 57. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含:

[0698] 多核苷酸,其中所述多核苷酸为不使用接头而直接与疏水分子复合的双链RNA,其中所述疏水分子不是胆固醇。

[0699] 58. 组合物,其包含:

[0700] 疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸是与疏水分子连接的双链RNA,其中所述双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链为16-29个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为8-14个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链的1位被5'磷酸化或具有2'-0-甲基修饰,其中所述双链核酸中至少40%的核苷酸被修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含1-2个核苷酸的突出端;

[0701] 中性脂肪混合物;以及

[0702] 任选地货物分子,

[0703] 其中所述疏水修饰多核苷酸与所述中性脂肪混合物形成胶束。

[0704] 59. 项58的组合物,其中所述负载链的3'末端与疏水分子相连接。

[0705] 60. 项58-60中任一项的组合物,其中所述组合物为无菌的。

[0706] 61. 项58-60中任一项的组合物, 其中所述中性脂肪混合物包含 DOPC(二油酰基磷脂酰胆碱)。

[0707] 62. 项58-60中任一项的组合物, 其中所述中性脂肪混合物包含DSPC(二硬脂酰基磷脂酰胆碱)。

[0708] 63. 项58-62中任一项的组合物, 其中所述中性脂肪混合物还包含固醇。

[0709] 64. 项62的组合物, 其中所述固醇为胆固醇。

[0710] 65. 项57-55中任一项的组合物, 其中所述组合物包含至少20%的DOPC和至少20%的胆固醇。

[0711] 66. 项57-64中任一项的组合物, 其中所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分为固醇。

[0712] 67. 项65的组合物, 其中所述固醇为胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基。

[0713] 68. 项57-64中任一项的组合物, 所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分选自胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯、维生素、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、脂肪酸酯、甘油三酯、茈、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吖啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料(例如Cy3或Cy5)、Hoechst 33258染料、补骨脂素和布洛芬。

[0714] 69. 项57-64或67中任一项的组合物, 其中所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分为多阳离子分子。

[0715] 70. 项18的组合物, 其中所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

[0716] 71. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为脂质、肽、维生素或小分子。

[0717] 72. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为市售的脂肪乳剂, 其用于多种选自肠胃外给养的目的。

[0718] 73. 项71的组合物, 其中所述市售的脂肪乳剂为英脱利匹特或nutralipid。

[0719] 74. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为含有大于74%的亚油酸的脂肪酸混合物。

[0720] 75. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为含有至少6%的心磷脂的脂肪酸混合物。

[0721] 76. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为含有至少74%的亚油酸和至少6%的心磷脂的脂肪酸混合物。

[0722] 77. 项57-75中任一项的组合物, 其中所述多核苷酸中至少40%的核苷酸被修饰。

[0723] 78. 项57-69中任一项的组合物, 其中所述货物分子为融合脂, 优选地为至少10%的融合脂。

[0724] 79. 项77的组合物, 其中所述融合脂为DOPE。

[0725] 80. 在对象中诱导RNAi的方法, 其包括:

[0726] 向对象施用有效量的用于诱导靶基因mRNA之RNAi的项1-41中任一项所述分离的双链核酸分子、或项43或44所述双链体多核苷酸或项57-78中任一项所述组合物, 其中所述多核苷酸至少具有对应于靶基因的序列区, 其中所述施用步骤为全身地、静脉内、腹膜内、真皮内、局部、鼻内、吸入、经口、粘膜内、局部注射、皮下、经口气管或眼内的。

- [0727] 81. 项79的方法,其中所述施用是全身的。
- [0728] 82. 项79的方法,其中所述施用是静脉内的。
- [0729] 83. 项79的方法,其中所述施用是腹膜内的。
- [0730] 84. 项79的方法,其中所述施用是真皮内的。
- [0731] 85. 项79的方法,其中所述施用是局部的。
- [0732] 86. 项79的方法,其中所述施用是眼内的。
- [0733] 87. 项79的方法,其中所述对象是人。
- [0734] 88. 项79的方法,其中所述靶基因是PPIB。
- [0735] 89. 项79的方法,其中所述靶基因是MAP4K4。
- [0736] 90. 项79的方法,其中所述靶基因是SOD1。
- [0737] 91. 分离的双链核酸分子,其包含:
 - [0738] 17-21个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,
 - [0739] 10-17个核苷酸长的负载链,其在3'末端与亲脂基团连接,
- [0740] 其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有5-11个核苷酸长的3'单链区,所述单链区中至少2个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有5'磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少50%的C和U核苷酸被2'0甲基修饰或2'-氟代修饰。

序列表

<110> RXi Pharmaceuticals Corporation
 <120> 减小大小的自递送RNAi化合物
 <130> R0659.70000W000
 <140> 未转让
 <141> 2009-09-22
 <150> US 61/192,954
 <151> 2008-09-22
 <150> US 61/149,946
 <151> 2009-02-04
 <150> US 61/224,031
 <151> 2009-07-08
 <160> 821
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> 人工序列
 [0001] <220>
 <223> 合成寡核苷酸
 <400> 1
 auugguaauuc agugugaug 19
 <210> 2
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成寡核苷酸
 <400> 2
 auucguauug agucugauac 19
 <210> 3
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成寡核苷酸
 <400> 3
 uagacuuucca cagaacucu 19
 <210> 4

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	4	
uagacuuucca cagaacucu		19
<210>	5	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	5	
uagacuuucca cagaacucu		19
<210>	6	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	6	
uagacuuucca cagaacucu		19
[0002]		
<210>	7	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	7	
uagacuuucca cagaacucu		19
<210>	8	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	8	
uagacuuucca cagaacucu		19
<210>	9	
<211>	17	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	9	
	uagacuucca cagaacu	17
<210>	10	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	10	
	auugguaauuc agugugaua c	21
<210>	11	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0003] <400>	11	
	auucguauug agucugauca c	21
<210>	12	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	12	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	13	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	13	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	14	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	14	
	uagacuucca cagaacucu	19
<210>	15	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	15	
	uagacuucca cagaacucuu c	21
<210>	16	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	16	
[0004]	uagacuucca cagaacucuu c	21
<210>	17	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	17	
	uagacuucca cagaacucuu caaag	25
<210>	18	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	18	
	auugguaauuc agugugauga c	21
<210>	19	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	19	
	auucguauug agucugauca c	21
<210>	20	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	20	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	21	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	21	
	auugguaauuc agugugauuga c	21
[0005]		
<210>	22	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	22	
	auucguauug agucugauca c	21
<210>	23	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	23	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	24	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	24	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	25	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	25	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	26	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	26	
	uagacuuucca cagaacucu	19
[0006]		
<210>	27	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	27	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	28	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	28	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	29	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	29	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	30	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	30	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	31	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	31	
	uagacuuucca cagaacucu	19
[0007]	<210>	32
	<211>	19
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	32	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	33	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	33	
	uagacuuucca cagaacucu	19
<210>	34	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 34 uagacuuucca cagaacucu	19
<210> 35 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 35 uagacuuucca cagaacucu	19
<210> 36 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 36 uagacuuucca cagaacucu	19
[0008] <210> 37 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 37 uagacuuucca cagaacucu	19
<210> 38 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 38 uguuuuugua gccaaaaucc	19
<210> 39 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400>	39	
uacuuuuuuuc	auuuuccacc	19
<210>	40	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	40	
uucauuuucca	ccuuuugccc	19
<210>	41	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	41	
cuuugguacuu	ucuuucauuu	19
[0009]		
<210>	42	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	42	
ucuuuguacu	uucuuucauu	19
<210>	43	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	43	
ucageaguga	cauugcccc	19
<210>	44	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	44	

auugcccaag ucuccaaaca	19
<210> 45 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 45 uucugcucgaa auuugauga	19
<210> 46 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 46 aaaucguauu ugucaaauca	19
[0010] <210> 47 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 47 aaaucguauu ugucaaauca	19
<210> 48 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 48 uagacuuucca cagaacucu	19
<210> 49 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 49 uagacuuucca cagaacucu	19

<210>	50	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	50	
	uagacaauccu acacagcac	19
<210>	51	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	51	
	uguuuucucca gauccuugc	19
<210>	52	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0011]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	52	
	uguuuucucca gauccuugc	19
<210>	53	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	53	
	uageagauga guccauuugg	19
<210>	54	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	54	
	uagcagauga guccauuugg aga	23

<210>	55	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	55	
	uagcagaua guccauuug	19
<210>	56	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	56	
	uagcagaua guccauuugg aga	23
<210>	57	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0012]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	57	
	auguuguuc uccagaucc	19
<210>	58	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	58	
	auguuguuc uccagaucc	19
<210>	59	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	59	
	uguuugaggg acucuguga	19

<210>	60	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	60	
	uguuugaggg acucuguga	19
<210>	61	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	61	
	auugguaauuc agugugaua	19
<210>	62	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
[0013]	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	62	
	auugguaauuc agugugaua cac	23
<210>	63	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	63	
	auugguaauuc agugugaua	19
<210>	64	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	64	
	auugguaauuc agugugaua cac	23
<210>	65	

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	65	
uagacauucca cagaacucu		19
<210>	66	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	66	
uacaucuucc uguaguaca		19
<210>	67	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	67	
aggcgccucca cucuguggu		19
<210>	68	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	68	
ugucuuuccag uegguaagc		19
<210>	69	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	69	
gaacaggcgc uccacucug		19
<210>	70	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	70	
	caguuguaau ggcaggcac	19
<210>	71	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	71	
	agccagaaag cucaaacuu	19
<210>	72	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0015] <400>	72	
	caggcgcucc acucugugg	19
<210>	73	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	73	
	aacaggcgcu ccacucugu	19
<210>	74	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	74	
	agaaagcuca aacuugaua	19
<210>	75	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	75	
	aguuguaaug gcaggcaca	19
<210>	76	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	76	
	cgugucuucc agucgguaa	19
<210>	77	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	77	
[0016]	ggaccagggca guuggcucu	19
<210>	78	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	78	
	caggcacagg ucuugauga	19
<210>	79	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	79	
	gcgcuccacu cuguggucu	19
<210>	80	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	80	
	ggucuggacc aggcaug	19
<210>	81	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	81	
	acaguuguaa ugcaaggca	19
<210>	82	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	82	
	guuguaaugg caggcacag	19
[0017]		
<210>	83	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	83	
	ggacaguugu aauggcagg	19
<210>	84	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	84	
	gacaguugua auggcaggc	19
<210>	85	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	85	
	ggcgccuccac ucugugguc	19
<210>	86	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	86	
	ucuuuccaguc gguaagccg	19
<210>	87	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	87	
	ugucuccguua caucuuuccu	19
[0018]		
<210>	88	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	88	
	agcuucgcgaa ggccugacc	19
<210>	89	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	89	
	cacuccucgca agcauuucc	19
<210>	90	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 90 aaacuugaua ggcuuggag		19
<210> 91 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 91 acuccacaga auuuagcuc		19
<210> 92 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 92 augucuccgu acaucuucc		19
[0019] <210> 93 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 93 aacuugauag gcuuggaga		19
<210> 94 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 94 aageucaaac uugauaggc		19
<210> 95 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		

<400> 95 acaauacucca cagaauuuua	19
<210> 96 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 96 cuccacagaa uuuagcucg	19
<210> 97 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 97 ugugcuacug aaaucuuuu	19
[0020] <210> 98 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 98 aaagauguca uugucuccg	19
<210> 99 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 99 gugcacuggu acuugcagc	19
<210> 100 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 100 aaacgugucu uccagucgg	19
<210> 101 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 101 ucaaacuuga uaggcuugg	19
<210> 102 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 102 acagaauuuu gcuucgguaau	19
[0021] <210> 103 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 103 uuacauucua ccuauggug	19
<210> 104 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 104 aaacugauca gcuaauauag	19
<210> 105 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 105	

uaucugagca gaa <u>uuucca</u>	19
<210> 106	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 106	
uuaacuuaga uaacuguac	19
<210> 107	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 107	
uauuacucgu auaaggaugc	19
<210> 108	
<211> 19	
<212> RNA	
[0022] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 108	
aagcugucca gucuaaucg	19
<210> 109	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 109	
uaauaaaggc cauuuguuc	19
<210> 110	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 110	
uuuagcucgg uaugucuuc	19

<210>	111	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	111	
	acacucucuaa caaaauaaac	19
<210>	112	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	112	
	uagcucggua uguuuucau	19
<210>	113	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0023]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	113	
	uaaccuuuucu gcugguacc	19
<210>	114	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	114	
	uuaaggaaaca acuugacuc	19
<210>	115	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	115	
	uuacacuuca aaauagcagg	19

<210>	116	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	116	
uccaggucag	cuucgcaag	19
<210>	117	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	117	
cuucuucaug	accuegccc	19
<210>	118	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0024]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	118	
aaggccugac	caugcacag	19
<210>	119	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	119	
caaacguguc	uuccagucg	19
<210>	120	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	120	
cuucgcaagg	ccugaccau	19

<210>	121	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	121	
	cuuccagucg guaaggccg	19
<210>	122	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	122	
	ccgaucuugc gguuggccg	19
<210>	123	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0025]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	123	
	uucgcaaggc cugaccaug	19
<210>	124	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	124	
	agaauuuuagc ucgguaugu	19
<210>	125	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	125	
	cauacuccac agaauuuuag	19
<210>	126	

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	126	
ugccaugucu ccguacau		19
<210>	127	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	127	
gaggcgugu cauugguaa		19
<210>	128	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	128	
ucuucaugac cucgcccuc		19
<210>	129	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	129	
uccacagaaau uuageucgg		19
<210>	130	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	130	
aacgugucuu ccagucggu		19
<210>	131	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	131	
	cuccguacau cuuccugua	19
<210>	132	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	132	
	aggcguguc auugguaac	19
<210>	133	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0027] <400>	133	
	ucaugaccuc gccgucagg	19
<210>	134	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	134	
	ggccaaacgu gucuuccag	19
<210>	135	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	135	
	gc cauguc uc cguaca cu	19
<210>	136	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	136	
	ucgcaaggcc ugaccaugc	19
<210>	137	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	137	
	aggucageuu cgcaaggcc	19
<210>	138	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	138	
[0028]	ccguacaucu uccuguagu	19
<210>	139	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	139	
	gagccgaagu cacagaaga	19
<210>	140	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	140	
	ggagccgaag ucacagaag	19
<210>	141	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	141	
	caaggccuga ccaugcaca	19
<210>	142	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	142	
	agcucaaacu ugauaggcu	19
<210>	143	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	143	
	cugcaguucu ggccgcacgg	19
[0029]		
<210>	144	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	144	
	gguacauacu ccacagaau	19
<210>	145	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	145	
	cugcuucucu agccugcag	19
<210>	146	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	146	
	gcaaggccug accaugcac	19
<210>	147	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	147	
	cagaauuuag cucguaua	19
<210>	148	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	148	
	ccaaacgugu cuuccaguc	19
[0030]		
<210>	149	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	149	
	cuucaugacc ucgccguca	19
<210>	150	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	150	
	gcuucgcaag gccugacca	19
<210>	151	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 151 ucagcuucgc aaggccuga		19
<210> 152 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 152 gucuuccagu cgguaagcc		19
<210> 153 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 153 caaacuugau aggcuugga		19
[0031] <210> 154 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 154 aggucuugga acaggcgcu		19
<210> 155 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 155 caggucageu ucgcaaggc		19
<210> 156 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		

<400> 156 gucagcuucg caaggccug	19
<210> 157 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 157 ggcguuguca uugguaacc	19
<210> 158 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 158 cgugcacugg uacuugcag	19
[0032] <210> 159 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 159 gcuuuggaac aggcgcucc	19
<210> 160 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 160 ccaugueucc guacaucuu	19
<210> 161 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 161		
ggucagcuuc gcaaggccu		19
<210> 162		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 162		
cagcuucgca aggccugac		19
<210> 163		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 163		
gccgaaguca cagaagagg		19
<210> 164		
<211> 19		
[0033] <212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 164		
cacagaauuu agcucggua		19
<210> 165		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 165		
ccacagaauu uagcucggu		19
<210> 166		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 166		

gccaaacgug ucuuccagu	19
<210> 167	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 167	
gccgaucuug cgguuggcc	19
<210> 168	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 168	
cucaaacuug auaggcuug	19
<210> 169	
<211> 19	
<212> RNA	
[0034] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 169	
ccaggucagc uucgcaagg	19
<210> 170	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 170	
uuugacuaaa ugcaaagug	19
<210> 171	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 171	
uguuuuugua gccaaaaucc	19

<210>	172	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	172	
	uguuuuugua gccaaaucc	19
<210>	173	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	173	
	uguuuuugua gccaaaucc	19
<210>	174	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0035]		
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	174	
	aaaucguauu ugucaauca	19
<210>	175	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	175	
	aaaucguauu ugucaauca	19
<210>	176	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	176	
	gucaucacac ugaauaccaa u	21

<210>	177	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	177	
	gugauacagac ucaauacgaa u	21
<210>	178	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	178	
	cuguggaagu cua	13
<210>	179	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0036]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	179	
	cuguggaagu cua	13
<210>	180	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	180	
	cuguggaagu cua	13
<210>	181	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	181	
	cuguggaagu cua	13

<210>	182	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	182	
	cuguggaagu cua	13
<210>	183	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	183	
	cuguggaagu cua	13
<210>	184	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0037]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	184	
	cuguggaagu cua	13
<210>	185	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	185	
	cuguggaagu cua	13
<210>	186	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	186	
	cuguggaagu cua	13
<210>	187	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	187	
cuguggaagu cua		13
<210>	188	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	188	
gucaucacac ugaauaccaa u		21
<210>	189	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	189	
gugaucagac ucaauacgaa u		21
<210>	190	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	190	
cuguggaagu cua		13
<210>	191	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	191	
cuguggaagu cua		13
<210>	192	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	192	
	cuguggaagu cua	13
<210>	193	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	193	
	cuguggaagu cua	13
<210>	194	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0039]	<400> 194	
	cuguggaagu cua	13
<210>	195	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	195	
	cuguggaagu cua	13
<210>	196	
<211>	27	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	196	
	ucauagguaa ccucugguug aaaguga	27
<210>	197	
<211>	27	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	197	
	cggcuacagg ugcuuauagaa gaaagua	27
<210>	198	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	198	
	gucaucacac ugaauuaccaa u	21
<210>	199	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	199	
[0040]	gugaucagac ucaauuacgaa u	21
<210>	200	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	200	
	cuguggaagu cua	13
<210>	201	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	201	
	gucaucacac ugaauuaccaa u	21
<210>	202	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	202	
	gugaucagac ucaauacgaa u	21
<210>	203	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	203	
	uguaggau gu cua	13
<210>	204	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	204	
	cuguggaagu cu a	13
[0041]		
<210>	205	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	205	
	cuguggaagu cu a	13
<210>	206	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	206	
	acugaaauacc aa u	13
<210>	207	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	207	
	cuguggaagu cua	13
<210>	208	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	208	
	cuguggaagu cua	13
<210>	209	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	209	
	cuguggaagu cua	13
[0042]		
<210>	210	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	210	
	cuguggaagu cua	13
<210>	211	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	211	
	cuguggaagu cua	13
<210>	212	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	212	
	cuguggaagu cua	13
<210>	213	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	213	
	cuguggaagu cua	13
<210>	214	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	214	
	cuguggaagu cua	13
[0043]	<210>	215
	<211>	13
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	215	
	cuguggaagu cua	13
<210>	216	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	216	
	cuguggaagu cua	13
<210>	217	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 217 cuguggaagu cua	13
<210> 218 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 218 cuguggaagu cua	13
<210> 219 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 219 cuguggaagu cua	13
[0044] <210> 220 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 220 agaguucugu ggaagucua	19
<210> 221 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 221 agaguucugu ggaagucua	19
<210> 222 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 222		
auuuggcuac aaa		13
<210> 223		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 223		
acaauauacga uuu		13
<210> 224		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 224		
acaauauacga uuu		13
<210> 225		
<211> 13		
[0045] <212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 225		
cuguggaagu cua		13
<210> 226		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 226		
aaugaagaaa gua		13
<210> 227		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 227		

agguggaaau gaa	13
<210> 228 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 228 agaaaguaca aag	13
<210> 229 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 229 gaaaguacaa aga	13
<210> 230 <211> 13 <212> RNA [0046] <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 230 augugacugc uga	13
<210> 231 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 231 agacuugggc aa	13
<210> 232 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 232 auuucgagca gaa	13

<210>	233	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	233	
	aucuggagaa aca	13
<210>	234	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	234	
	ucagaacaag aaa	13
<210>	235	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0047]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	235	
	gacucaucug cua	13
<210>	236	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	236	
	ggagaaaacaa cau	13
<210>	237	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	237	
	aguccccucaa aca	13

<210>	238	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	238	
ggcuacaaaa aca		13
<210>	239	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	239	
agaucuggag aaaca		15
<210>	240	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0048]		
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	240	
uggacucauc ugcua		15
<210>	241	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	241	
cuggagaaac aacau		15
<210>	242	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	242	
agaguccccuc aaaca		15

<210>	243	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	243	
	acugaauacc aau	13
<210>	244	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	244	
	acacugaaaua ccaau	15
<210>	245	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0049]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	245	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	246	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	246	
	agguggaaau gaa	13
<210>	247	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	247	
	agaaaguaca aag	13
<210>	248	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	248	
	gaaaguacaa aga	13
<210>	249	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	249	
	augugacugc uga	13
<210>	250	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
[0050]	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	250	
	agacuugggc aaau	13
<210>	251	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	251	
	auuucgagca gaa	13
<210>	252	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	252	
	acaaaauacga uuu	13
<210>	253	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	253	
	acaaaauacga uuu	13
<210>	254	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	254	
	agaguucugu ggaagucua	19
<210>	255	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0051]	<400>	255
	acaggaagau gua	13
<210>	256	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	256	
	gaguggagcg ccu	13
<210>	257	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	257	
	cgcacuggaaag aca	13
<210>	258	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	258	
ggagcgccug	uuc	13
<210>	259	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	259	
gccauuacaa	cug	13
<210>	260	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	260	
[0052]	gagcuuucug	13
gcu		
<210>	261	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	261	
aguggagcg	cug	13
g		
<210>	262	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	262	
uggagcgccu	guu	13
g		
<210>	263	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	263	
	guuugagcuu ucu	13
<210>	264	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	264	
	ugccauuuaca acu	13
<210>	265	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	265	
	acuggaagac acg	13
[0053]		
<210>	266	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	266	
	aacugccugg ucc	13
<210>	267	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	267	
	agaccugugc cug	13
<210>	268	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	268	
	cagaguggag cg	13
<210>	269	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	269	
	ccugguccag acc	13
<210>	270	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	270	
	ccauuacaac ugu	13
[0054]		
<210>	271	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	271	
	cugccauuac aac	13
<210>	272	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	272	
	auuacaacug ucc	13
<210>	273	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 273 cauuacaacu guc		13
<210> 274		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 274 agaguggagc gcc		13
<210> 275		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 275 accgacugga aga		13
[0055] <210> 276		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 276 auguacggag aca		13
<210> 277		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 277 gcuugcgaa gcu		13
<210> 278		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

<400> 278 gcugcgagga gug	13
<210> 279 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 279 gccuaaucaag uuu	13
<210> 280 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 280 aauucugugg agu	13
[0056] <210> 281 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 281 uguacggaga cau	13
<210> 282 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 282 agccuaaucaa guu	13
<210> 283 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 283 caaguuugag cuu	13
<210> 284 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 284 cuguggagua ugu	13
<210> 285 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 285 aaauucugug gag	13
[0057] <210> 286 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 286 uuucaguagc aca	13
<210> 287 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 287 caaugacauac uuu	13
<210> 288 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 288	

aguaccagug cac	13
<210> 289 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 289 ggaagacacg uuu	13
<210> 290 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 290 cuaucaaguu uga	13
<210> 291 <211> 13 <212> RNA [0058] <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 291 agcuaaaauuc ugu	13
<210> 292 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 292 agguaagaaug uaa	13
<210> 293 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 293 agcugaucag uuu	13

<210>	294	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	294	
	uucugcucag aua	13
<210>	295	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	295	
	uuauacuaagu uaa	13
<210>	296	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0059]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	296	
	uauacgagua aua	13
<210>	297	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	297	
	gacuggacag cuu	13
<210>	298	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	298	
	auggccuuua uua	13

<210>	299	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	299	
	auaccgagcu aaa	13
<210>	300	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	300	
	uuguugagag ugu	13
<210>	301	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0060]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	301	
	acauaccgag cua	13
<210>	302	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	302	
	agcagaaagg uua	13
<210>	303	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	303	
	aguuguuccu uaa	13

<210>	304	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	304	
	auuugaagug uaa	13
<210>	305	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	305	
	aagcugaccu gga	13
<210>	306	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0061]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	306	
	ggucaugaag aag	13
<210>	307	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	307	
	auggucaggc cuu	13
<210>	308	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	308	
	gaagacacgu uug	13
<210>	309	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	309	
	aggccuugcg aag	13
<210>	310	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	310	
	uaccgacugg aag	13
<210>	311	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	311	
	accgcaagau cg	13
[0062]		
<210>	312	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	312	
	caggecuugc gaa	13
<210>	313	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	313	
	cgagcuaaau ucu	13
<210>	314	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	314	
	ucuguggag <u>u</u> aug	13
<210>	315	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	315	
	cggagac <u>a</u> ug gca	13
<210>	316	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0063]	<400> 316	
	augacaacgc cuc	13
<210>	317	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	317	
	gagg <u>u</u> caug <u>a</u> aga	13
<210>	318	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	318	
	uaaa <u>uu</u> ucgu gga	13
<210>	319	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	319	
	uggaagacac guu	13
<210>	320	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	320	
	aagauguacg gag	13
<210>	321	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	321	
[0064]	aaugacaacg ccu	13
<210>	322	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	322	
	ggcgaggua uga	13
<210>	323	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	323	
	gacacguuug gcc	13
<210>	324	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	324	
	acggagacau ggc	13
<210>	325	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	325	
	ucaggccuug cga	13
<210>	326	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	326	
	gcgaagcuga ccu	13
[0065]		
<210>	327	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	327	
	ggaagaugua cgg	13
<210>	328	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	328	
	gugacuuucgg cuc	13
<210>	329	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	329	
	ugacuuucggc ucc	13
<210>	330	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	330	
	uggucaggcc uug	13
<210>	331	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	331	
	ucaaguuuga gcu	13
[0066]		
<210>	332	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	332	
	gccagaacug cag	13
<210>	333	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	333	
	uggaguaugu acc	13
<210>	334	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 334 gcuagagaag cag		13
<210> 335 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 335 ggucaggccu ugc		13
<210> 336 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 336 gagcuaaaauu cug		13
[0067] <210> 337 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 337 aagacacguu ugg		13
<210> 338 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 338 cgaggucucaug aag		13
<210> 339 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

<400> 339 ggccuugcga agc	13
<210> 340 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 340 cuugcgaaggc uga	13
<210> 341 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 341 ccgacuggaa gac	13
[0068] <210> 342 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 342 ccuaucagg uug	13
<210> 343 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 343 uguuccaaga ccu	13
<210> 344 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 344	cgaagcugac cug	13
<210> 345		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 345		
uugcgaagcu gac		13
<210> 346		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 346		
caaugacaac gcc		13
<210> 347		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 347		
guaccagugc acg		13
<210> 348		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 348		
ccuguuuccaa gac		13
<210> 349		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 349		

uacggagaca ugg	13
<210> 350 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 350 ugcgaaggcug acc	13
<210> 351 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 351 ccuugcgaag cug	13
<210> 352 <211> 13 <212> RNA [0070] <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 352 cugugacuuc ggc	13
<210> 353 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 353 gcuuaauucu gug	13
<210> 354 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 354 cuuaauucug ugg	13

<210>	355	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	355	
	agacacgguuu ggc	13
<210>	356	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	356	
	ccgcaagauc ggc	13
<210>	357	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0071]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	357	
	uaaucaaguuu gag	13
<210>	358	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	358	
	gaagecugacc ugg	13
<210>	359	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	359	
	cucuaugaaauu aga	13

<210>	360	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	360	
cugaggucuu	uua	13
<210>	361	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	361	
gaggucuuuu	aaa	13
<210>	362	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0072]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	362	
ucugaggucu	auu	13
<210>	363	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	363	
ugaggucuuu	uaa	13
<210>	364	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	364	
uucugagguc	aau	13

<210>	365	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	365	
	guccggcugga uga	13
<210>	366	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	366	
	uucugauagaa ucu	13
<210>	367	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0073]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	367	
	uggacugagg uca	13
<210>	368	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	368	
	gagucucacc auu	13
<210>	369	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	369	
	gacugagguc aaa	13
<210>	370	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	370	
	ucacagccau gaa	13
<210>	371	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	371	
	agucucacca uuc	13
<210>	372	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
[0074]	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	372	
	aaggcgaaag cca	13
<210>	373	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	373	
	agcgaaagc caa	13
<210>	374	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	374	
	accacacaugga uga	13
<210>	375	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	375	
	gccaugacca cau	13
<210>	376	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	376	
	aagccaugac cac	13
<210>	377	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0075]	<400> 377	
	gcggaaagcc aau	13
<210>	378	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	378	
	aaauuuucguauuu uuu	13
<210>	379	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	379	
	auuucguauuu ucu	13
<210>	380	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	380	
	aaagccaug a ca	13
<210>	381	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	381	
	acauggauga uau	13
<210>	382	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	382	
[0076]	gaaauuuucgu auu	13
<210>	383	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	383	
	gcgccuucug auu	13
<210>	384	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	384	
	auuucucaug aa	13
<210>	385	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	385	
	cucucaugaa uag	13
<210>	386	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	386	
	aaguccaacg aaa	13
<210>	387	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	387	
	augaugagag caa	13
[0077]		
<210>	388	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	388	
	gcgaggaguu gaa	13
<210>	389	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	389	
	ugauugauag uca	13
<210>	390	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	390	
	agauagugca ucu	13
<210>	391	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	391	
	auguguaucu auu	13
<210>	392	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	392	
	uucuauagaa gaa	13
[0078]		
<210>	393	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	393	
	uuguccagea auu	13
<210>	394	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	394	
	acauggaaag cga	13
<210>	395	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	395	
	gcaguccaga uua	13
<210>	396	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	396	
	ugguugaaug ugu	13
<210>	397	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	397	
	uuauagaaacg agu	13
[0079]	<210> 398	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	398	
	caguccagau uau	13
<210>	399	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	399	
	auauuaagcgg aaa	13
<210>	400	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 400 uaccaguuua aca	13
<210> 401 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 401 uguucaauuc uau	13
<210> 402 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 402 ccgaccaagg aaa	13
[0080] <210> 403 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 403 gaauggugca uac	13
<210> 404 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 404 auauggugc cga	13
<210> 405 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 405 agcaguccag auu	13
<210> 406 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 406 gcauuuaguc aaa	13
<210> 407 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 407 agcauuccga ugu	13
[0081] <210> 408 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 408 uagucaggaa cuu	13
<210> 409 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 409 ugcauuuagu caa	13
<210> 410 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 410	

gucugaugag ucu	13
<210> 411 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 411 uagacacaua uga	13
<210> 412 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 412 cagacgagga cau	13
<210> 413 <211> 13 <212> RNA [0082] <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 413 cagccgugaa uuc	13
<210> 414 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 414 agucuggaaa uaa	13
<210> 415 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 415 aguuuguggc uuc	13

<210>	416	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	416	
	aguccaacgaaag	13
<210>	417	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	417	
	aaguuuucgcaagac	13
<210>	418	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0083]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	418	
	agcaaugagc auu	13
<210>	419	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	419	
	uuagauagug cau	13
<210>	420	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	420	
	uggugcauac aag	13

<210>	421	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	421	
	augaaacgag uca	13
<210>	422	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	422	
	ccagagugcu gaa	13
<210>	423	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0084]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	423	
	cagccaugaa uuu	13
<210>	424	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	424	
	auugguugaa ugu	13
<210>	425	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	425	
	gguugaaugu gua	13

<210>	426	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	426	
	gaaaaauaacu aau	13
<210>	427	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	427	
	ucaugaaauag aaa	13
<210>	428	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0085]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	428	
	gccagcaacc gaa	13
<210>	429	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	429	
	caccucacac aug	13
<210>	430	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	430	
	aguugaaugg ugc	13
<210>	431	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	431	
	agucagcugg aug	13
<210>	432	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	432	
	uauaaggcgga aag	13
<210>	433	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	433	
	uuccgaaugug auu	13
<210>	434	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	434	
	auaacuaaua ugu	13
<210>	435	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	435	
	ucauucuaaua gaa	13
<210>	436	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	436	
	aacuaucacu gua	13
<210>	437	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	437	
	gucaauugcu uau	13
<210>	438	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0087] <400>	438	
	agcaauuaau aaa	13
<210>	439	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	439	
	acgacucuga uga	13
<210>	440	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	440	
	uagugugguu uau	13
<210>	441	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	441	
	aagccaauga uga	13
<210>	442	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	442	
	auagucagga acu	13
<210>	443	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	443	
[0088]	aguca <u>g</u> ccgu gaa	13
<210>	444	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	444	
	acuacc <u>g</u> ua gaa	13
<210>	445	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	445	
	aaacagg <u>c</u> ug auu	13
<210>	446	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	446	
	gagugcugaa acc	13
<210>	447	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	447	
	ugagcaaucc gau	13
<210>	448	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	448	
	aauuccacag cca	13
[0089]		
<210>	449	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	449	
	ugucaaaugc uua	13
<210>	450	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	450	
	accaugagaa uug	13
<210>	451	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	451	
ccaacgaaag cca		13
<210>	452	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	452	
cuggucacug auu		13
<210>	453	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	453	
ugguuuaugg acu		13
[0090]		
<210>	454	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	454	
gaccagagug cug		13
<210>	455	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	455	
gaugugauug aua		13
<210>	456	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	456	
	gucagccgug aau	13
<210>	457	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	457	
	aauguguauc uau	13
<210>	458	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	458	
	uugagucugg aaa	13
[0091]	<210>	459
	<211>	13
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	459	
	guccagcaau uaa	13
<210>	460	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	460	
	ccagcaauua aua	13
<210>	461	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 461 gacucgaacg acu	13
<210> 462 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 462 accugccagc aac	13
<210> 463 <211> 13 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 463 actgaauacc aa	13
[0092] <210> 464 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 464 acugaauacc aa	13
<210> 465 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 465 cuguggaagu cu	13
<210> 466 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 466 ggcuacaaaa aca	13
<210> 467 <211> 15 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 467 uuggcuacaa aaaca	15
<210> 468 <211> 17 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 468 auuuggcuac aaaaaca	17
[0093] <210> 469 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 469 uguaggau gua	13
<210> 470 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 470 aucuggagaa aca	13
<210> 471 <211> 15 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 471	

agaucuggag aaaca	15
<210> 472	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 472	
gacucaucug cua	13
<210> 473	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 473	
gacucaucug cua	13
<210> 474	
<211> 15	
<212> RNA	
[0094] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 474	
uggacucauc ugcua	15
<210> 475	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 475	
uggacucauc ugcua	15
<210> 476	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 476	
ggagaaacaa cau	13

<210>	477	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	477	
	cuggagaaac aacau	15
<210>	478	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	478	
	aguccccucaa aca	13
<210>	479	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0095]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	479	
	agagucccuc aaaca	15
<210>	480	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	480	
	acugaauuacc aaau	13
<210>	481	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	481	
	acugaauuacc aaau	13

<210>	482	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	482	
	acacugaaaua ccaau	15
<210>	483	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	483	
	acacugaaaua ccaau	15
<210>	484	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0096]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	484	
	cuguggaagu cua	13
<210>	485	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	485	
	acaggaagau gua	13
<210>	486	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	486	
	gaguggagcg ccu	13

<210>	487	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	487	
	cgacuggaaag aca	13
<210>	488	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	488	
	ggagcgccug uuc	13
<210>	489	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0097]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	489	
	gccauuacaa cug	13
<210>	490	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	490	
	gagcuuucug gcu	13
<210>	491	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	491	
	aguggagcgc cug	13
<210>	492	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	492	
	uggagcgccu guu	13
<210>	493	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	493	
	guuugagccuu ucu	13
<210>	494	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
[0098]	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	494	
	ugccauuaca acu	13
<210>	495	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	495	
	acuggaagac acg	13
<210>	496	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	496	
	aacugccugg ucc	13
<210>	497	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	497	
	agaccugugc cug	13
<210>	498	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	498	
	cagaguggag cg	13
<210>	499	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0099]	<400> 499	
	ccugguccag acc	13
<210>	500	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	500	
	ccauuacaac ugu	13
<210>	501	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	501	
	cugccauuac aac	13
<210>	502	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	502	
	auuacaacug ucc	13
<210>	503	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	503	
	cauuacaacu guc	13
<210>	504	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	504	
[0100]	agaguggagc gcc	13
<210>	505	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	505	
	accgacugga aga	13
<210>	506	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	506	
	auguacggag aca	13
<210>	507	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	507	
	gccuugcgaa gcu	13
<210>	508	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	508	
	gcugcgagga gug	13
<210>	509	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	509	
	gccuaaucaag uuu	13
[0101]		
<210>	510	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	510	
	aauucugugg agu	13
<210>	511	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	511	
	uguacggaga cau	13
<210>	512	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	512	
	agccuaaucaa guu	13
<210>	513	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	513	
	caaguuugag cuu	13
<210>	514	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	514	
	cuguggagua ugu	13
[0102]		
<210>	515	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	515	
	aaauucugug gag	13
<210>	516	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	516	
	uuucaguagc aca	13
<210>	517	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 517 caaugacauc uuu	13	
<210> 518 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 518 aguaccagug cac	13	
<210> 519 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 519 ggaaggacacg uuu	13	
[0103] <210> 520 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 520 cuaucaaguu uga	13	
<210> 521 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 521 agcuaaaauuc ugu	13	
<210> 522 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

<400> 522 agguagaaug uaa	13
<210> 523 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 523 agcugaucag uuu	13
<210> 524 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 524 uucugcucag aua	13
[0104] <210> 525 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 525 uuauacuaagu uaa	13
<210> 526 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 526 uauacgagua aua	13
<210> 527 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 527 gacuggacag cuu	13
<210> 528 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 528 auggccuuua uua	13
<210> 529 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 529 auaccgagcu aaa	13
[0105] <210> 530 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 530 uuguugagag ugu	13
<210> 531 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 531 acaauaccgag cua	13
<210> 532 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 532	

agcagaaaagg uua	13
<210> 533	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 533	
aguuguuccu uaa	13
<210> 534	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 534	
auuugaagug uaa	13
<210> 535	
<211> 13	
<212> RNA	
[0106] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 535	
aagcugaccu gga	13
<210> 536	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 536	
ggucaugaag aag	13
<210> 537	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 537	
aggucaggc cuu	13

<210>	538	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	538	
	gaagacacgu uug	13
<210>	539	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	539	
	aggccuugcg aag	13
<210>	540	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0107]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	540	
	uaccgacugg aag	13
<210>	541	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	541	
	accgcaagau cgg	13
<210>	542	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	542	
	caggccuugc gaa	13

<210>	543	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	543	
cgagcuauau	ucu	13
<210>	544	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	544	
ucuguggagu	aug	13
<210>	545	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0108]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	545	
cggagacaug	gca	13
<210>	546	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	546	
augacaacgc	cuc	13
<210>	547	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	547	
gaggucauga	aga	13

<210>	548	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	548	
	uaaauucugu gga	13
<210>	549	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	549	
	uggaagacac guu	13
<210>	550	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0109]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	550	
	aagauguacg gag	13
<210>	551	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	551	
	aaugacaacg ccu	13
<210>	552	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	552	
	ggcgaggguca uga	13
<210>	553	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	553	
	gacacguuug gcc	13
<210>	554	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	554	
	acggagacau ggc	13
<210>	555	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	555	
	ucaggccuug cga	13
<210>	556	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	556	
	gcgaagcuga ccu	13
<210>	557	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	557	
	ggaagaugua cgg	13
<210>	558	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	558	
	gugacuuucggc cuc	13
<210>	559	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	559	
	ugacuuucggc ucc	13
<210>	560	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0111] <400>	560	
	uggucaggcc uuug	13
<210>	561	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	561	
	ucaaguuuga gcu	13
<210>	562	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	562	
	gccagaacug cag	13
<210>	563	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	563	
	uggagugu acc	13
<210>	564	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	564	
	gcuagagaag cag	13
<210>	565	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	565	
[0112]	ggucaggccu ugc	13
<210>	566	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	566	
	gagcuaaauu cug	13
<210>	567	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	567	
	aagacacguu ugg	13
<210>	568	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	568	
	cgaggucuau g aag	13
<210>	569	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	569	
	ggccuungcga agc	13
<210>	570	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	570	
	cuugcgaaggc uga	13
[0113]		
<210>	571	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	571	
	ccgacuggaa gac	13
<210>	572	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	572	
	ccuaaucaagu uug	13
<210>	573	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	573	
	uguuccaaga ccu	13
<210>	574	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	574	
	cgaagcugac cug	13
<210>	575	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	575	
	uugcgaagcu gac	13
[0114]		
<210>	576	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	576	
	caaugacaac gcc	13
<210>	577	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	577	
	guaccagugc acg	13
<210>	578	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	578	
	ccuguuccaa gac	13
<210>	579	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	579	
	uacggagaca ugg	13
<210>	580	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	580	
	ugcgaagcug acc	13
[0115]	<210>	581
	<211>	13
	<212>	RNA
	<213>	人工序列
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	581	
	ccuugcgaag cug	13
<210>	582	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	582	
	cugugacuuuc ggc	13
<210>	583	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 583 gcuaaaauucu gug	13
<210> 584 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 584 cucaaauucug ugg	13
<210> 585 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 585 agacacgguuu ggc	13
[0116] <210> 586 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 586 ccgcaagaauc ggc	13
<210> 587 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 587 uaucaaguuu gag	13
<210> 588 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 588 gaagcugacc ugg	13
<210> 589 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 589 gcauuuaguc aaa	13
<210> 590 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 590 ggcuacaaaa aca	13
[0117] <210> 591 <211> 15 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 591 uuggcuacaa aaaca	15
<210> 592 <211> 17 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 592 auuuggcuac aaaaaca	17
<210> 593 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 593	

acaaauacga uuu	13
<210> 594 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 594 acaaauacga uuu	13
<210> 595 <211> 25 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 595 cuuugaagag uucuguggaa gucua	25
[0118] <210> 596 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 596 acaaacacca uugucacacu cca	23
<210> 597 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 597 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 598 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 598 cuguggaagu cua	13

<210>	599	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	599	
uagacuuucca cagaacucug acaccuucag au		32
<210>	600	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	600	
uagacuuucca cag		13
<210>	601	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0119]	<220>	
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	601	
cuguggaagu cuu		13
<210>	602	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	602	
uagacuuucca cagaacucuu guggaagucu a		31
<210>	603	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	603	
uagacuuucca cagaacucuu guggaagucu a		31

<210>	604	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	604	
	cuuugaagag uucuguggaa gucua	25
<210>	605	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	605	
	uagacuucca cagaacucuu caaag	25
<210>	606	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0120]		
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	606	
	uagacuuucca cagaacuuucu guggaagucu a	31
<210>	607	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	607	
	uagacuuucca cagaacuuucu guggaagucu a	31
<210>	608	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	608	
	uacuuuuuuuc auu	13

<210>	609	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	609	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	610	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	610	
	uacuuuuuuuc auuuuccacca augaagaaag ua	32
<210>	611	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0121] <220>		
[0121] <223>	合成寡核苷酸	
<400>	611	
	uacuuuuuuuc auuuuccacca augaagaaag ua	32
<210>	612	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	612	
	uacuuuuuuuc auuuuccacca	19
<210>	613	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	613	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	614	

<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	614	
	uacuuuucuuc auuuuccaccu uugcc	25
<210>	615	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	615	
	ggcaaaggug gaaaugaaga aagua	25
<210>	616	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	616	
	ucuaauucau gagaaauac	19
[0122]		
<210>	617	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	617	
	uaauugaccu cagaagaug	19
<210>	618	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	618	
	uuuaauugac cucagaaga	19
<210>	619	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	619	
	aauugaccuc agaagau	19
<210>	620	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	620	
	uuauuugacc ucagaagau	19
<210>	621	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0123]	<400> 621	
	auugaccuca gaagaugca	19
<210>	622	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	622	
	ucauccagcu gacucguuu	19
<210>	623	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	623	
	agauucauca gaaugguga	19
<210>	624	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	624	
	ugaccucagu ccauaaaccc	19
<210>	625	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	625	
	aauuggugaga cucaucaga	19
<210>	626	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	626	
[0124]	uuugaccuca guccauaaaa	19
<210>	627	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	627	
	uucauggcug ugaaauuca	19
<210>	628	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	628	
	gaauggugag acucaucag	19
<210>	629	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	629	
	uggcuuuccg cuuauauaa	19
<210>	630	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	630	
	uuggcuuucc gcuuauaua	19
<210>	631	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	631	
	ucauccaugh ggucauggc	19
[0125]		
<210>	632	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	632	
	auguggucau ggcuuucgu	19
<210>	633	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	633	
	guggucaagg cuuucguug	19
<210>	634	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	634	
auuggcuuuc	cgcuuauau	19
<210>	635	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	635	
aaaauacgaaa	uuucaggug	19
<210>	636	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	636	
agaaaauacga	aauuucagg	19
[0126]		
<210>	637	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	637	
uggucauggc	uuucguugg	19
<210>	638	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	638	
auaucaucca	uguggucau	19
<210>	639	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 639 aaauacgaaau uucaggugu		19
<210> 640 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 640 aaucagaagg cgcgguucag		19
<210> 641 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 641 auucaugaga aaauacgaaa		19
[0127] <210> 642 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 642 cuauucauga gagaauaac		19
<210> 643 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 643 uuuucguugga cuuacuugg		19
<210> 644 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

<400> 644		
uugcucucuau cauuggccuu		19
<210> 645		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 645		
uucaaacuccu cgccuuucca		19
<210> 646		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 646		
ugacuaaucaa ucacaucgg		19
[0128]		
<210> 647		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 647		
agaugcacua ucuaauuca		19
<210> 648		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 648		
aauagauaca caucaacc		19
<210> 649		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

<400> 649		
uucuuucuaaua gaaugaaca		19
<210> 650		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 650		
aauugcugga caaccgugg		19
<210> 651		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 651		
ucgcuuuucca ugugugagg		19
<210> 652		
<211> 19		
[0129] <212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 652		
uaaucuggac ugcuugugg		19
<210> 653		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 653		
acacauucaa ccaauaaac		19
<210> 654		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 654		

acucguuuca uaacugucc	19
<210> 655 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 655 auaaucugga cugcuugug	19
<210> 656 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 656 uuuccgcuua uauaaucug	19
[0130] <210> 657 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 657 uguuuuaacug guauggcac	19
<210> 658 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 658 uauagaauga acauagaca	19
<210> 659 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 659 uuuccuuggu cggcgguuug	19

<210>	660	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	660	
	guaugcacca uucaacucc	19
<210>	661	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	661	
	ucggccauca uaugugucu	19
<210>	662	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0131]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	662	
	aaucuggacu gcuuguggc	19
<210>	663	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	663	
	acaucggaa u gcucauugc	19
<210>	664	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	664	
	aaguuccuga cuaucaauc	19

<210>	665	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	665	
uugacuaaaau	gcaaaguga	19
<210>	666	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	666	
agacucauca	gacugguga	19
<210>	667	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0132]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	667	
ucauaugugu	cuacugugg	19
<210>	668	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	668	
auguccucgu	cuguagcau	19
<210>	669	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	669	
gaauucacgg	cugacuuug	19

<210>	670	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	670	
	uuauuuuccag acucaaaua	19
<210>	671	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	671	
	gaagccacaa acuaaacua	19
<210>	672	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0133]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	672	
	cuuucguugg acuuacuug	19
<210>	673	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	673	
	gucugcgaaa cuucuuaga	19
<210>	674	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	674	
	aaugcucauu gcucucauc	19
<210>	675	

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	675	
	augcacuauc uaauucaug	19
<210>	676	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	676	
	cuuguaugca ccauucaac	19
<210>	677	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	677	
	ugacucguuu cauaacugu	19
<210>	678	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	678	
	uucagcacuc uggcaucc	19
<210>	679	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	679	
	aaauucaagg cuguggaau	19
<210>	680	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	680	
	acauucaacc aauaaacug	19
<210>	681	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	681	
	uacacauuca accaauaaa	19
<210>	682	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0135] <400>	682	
	auuaguuauuu uccagacuc	19
<210>	683	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	683	
	uuucuaauuca ugagagaau	19
<210>	684	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	684	
	uucgguugcu ggcaggucc	19
<210>	685	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	685	
	caugugugag gugauguucc	19
<210>	686	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	686	
	gcaccuuauca acuccucgac	19
<210>	687	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	687	
[0136]	cauccagcug acuecguaauuc	19
<210>	688	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	688	
	cuuuccgcuu auauaaucu	19
<210>	689	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	689	
	aaucacacaucg gaaugcuaca	19
<210>	690	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	690	
	acacauuagu uauuuuccag	19
<210>	691	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	691	
	uucuauagaa ugaacauag	19
<210>	692	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	692	
	uacagugaua guuugcauu	19
[0137]		
<210>	693	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	693	
	auaagcaauu gacaccacc	19
<210>	694	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	694	
	uuuauuaauu gcuggacaa	19
<210>	695	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	695	
	ucaucagagu cguucgagu	19
<210>	696	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	696	
	auaaaccaca cuaucaccu	19
<210>	697	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	697	
	ucaucauugg cuuuccgcu	19
[0138]		
<210>	698	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	698	
	aguuccugac uaucaauca	19
<210>	699	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	699	
	uucacggcug acuuuggaa	19
<210>	700	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成寡核苷酸		
<400> 700 uucucauggu agugaguuu		19
<210> 701 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 701 aaucagccug uuuuacugg		19
<210> 702 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 702 gguuucagca cucugguca		19
[0139] <210> 703 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 703 aucggaaugc ucauugcuc		19
<210> 704 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		
<400> 704 uggcugugga auucacggc		19
<210> 705 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列		
<220> <223> 合成寡核苷酸		

<400> 705 uaagcaauug acaccacca	19
<210> 706 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 706 caauucuau gguagugag	19
<210> 707 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 707 uggcuuucgu uggacuuac	19
[0140] <210> 708 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 708 aaucagugac caguucauc	19
<210> 709 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 709 aguccauaaa ccacacuau	19
<210> 710 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 710	cagcacucug gucauccag	19
<210> 711		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 711		
uaucaaucac aucggaaug		19
<210> 712		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 712		
auucacggcu gacuuugga		19
<210> 713		
<211> 19		
[0141] <212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 713		
auagauacac auucaacca		19
<210> 714		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 714		
uuuccagacu caaaauagau		19
<210> 715		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 715		

uuauuuugcug gacaaccgu	19
<210> 716	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 716	
uauuaauugc uggacaacc	19
<210> 717	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 717	
agucguucga gucaaugga	19
<210> 718	
<211> 19	
<212> RNA	
[0142] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 718	
guugcuggca gguccgugg	19
<210> 719	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 719	
cucaugaaau aga	13
<210> 720	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 720	
cugagguaa uua	13

<210>	721	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	721	
	gagggucaauu aaa	13
<210>	722	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	722	
	ucugaggguca auu	13
<210>	723	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0143]	<220>	
	<223> 合成寡核苷酸	
<400>	723	
	ugagggucaau uaa	13
<210>	724	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	724	
	uucugagguc aau	13
<210>	725	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	725	
	guccggcugga uga	13

<210>	726	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	726	
uucugaugaa	ucu	13
<210>	727	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	727	
uggacugagg	uca	13
<210>	728	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0144]	<220>	
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	728	
gagucucacc	auu	13
<210>	729	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	729	
gacugagguc	aaa	13
<210>	730	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	730	
ucacagccau	gaa	13

<210>	731	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	731	
	agucucacca uuc	13
<210>	732	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	732	
	aagcggaaag cca	13
<210>	733	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0145]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	733	
	agcggaaagc caa	13
<210>	734	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	734	
	accacacaugga uga	13
<210>	735	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	735	
	gcuaugacca cau	13
<210>	736	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	736	
	aagccaugac cac	13
<210>	737	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	737	
	gcggaaagcc aaau	13
<210>	738	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	738	
	aaaauuucgua uuu	13
<210>	739	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	739	
	auuucguauu ucu	13
<210>	740	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	740	
	aaagccaugaa cca	13
<210>	741	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	741	
	acauggauga uau	13
<210>	742	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	742	
	gaaauuuucgu auu	13
<210>	743	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0147]	<400> 743	
	gcgccuucug auu	13
<210>	744	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	744	
	auuucucaug aau	13
<210>	745	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	745	
	cucucaugaa uag	13
<210>	746	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	746	
	aaguccaacg aaa	13
<210>	747	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	747	
	augauagagag caa	13
<210>	748	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	748	
[0148]	gcgaggaguu gaa	13
<210>	749	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	749	
	ugauugauag uca	13
<210>	750	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	750	
	agauagugca ucu	13
<210>	751	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	751	
	auguguaucu auu	13
<210>	752	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	752	
	uucuauagaa gaa	13
<210>	753	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	753	
	uuguccagca auu	13
[0149]		
<210>	754	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	754	
	acauggaaag cga	13
<210>	755	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	755	
	gcaguccaga uua	13
<210>	756	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	756	
	ugguugaaug ugu	13
<210>	757	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	757	
	uuauagaaacg agu	13
<210>	758	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	758	
	caguccagau uau	13
[0150]		
<210>	759	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	759	
	auauaagcgg aaa	13
<210>	760	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	760	
	uaccaguuua aca	13
<210>	761	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	761	
	uguucaauucu aua	13
<210>	762	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	762	
	ccgacccaagg aaa	13
<210>	763	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	763	
	gaauuggugca uac	13
[0151]	<210> 764	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	764	
	auauggauggc cga	13
<210>	765	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	765	
	agcaguccag auu	13
<210>	766	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 766 agcaauuccga ugu	13
<210> 767 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 767 uagucaggaa cuu	13
<210> 768 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 768 ugcauuuagu caa	13
[0152] <210> 769 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 769 gucugaugag ucu	13
<210> 770 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 770 uagacacacaua uga	13
<210> 771 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

<400> 771	cagacgagga cau	13
<210> 772		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 772		
cagccgugaa uuc		13
<210> 773		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 773		
agucuggaaa uaa		13
<210> 774		
<211> 13		
<212> RNA		
[0153] <213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 774		
aguuuguggc uuc		13
<210> 775		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 775		
aguccaaacga aag		13
<210> 776		
<211> 13		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 776		

aaguuuucgca gac	13
<210> 777	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 777	
agcaaugagc auu	13
<210> 778	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 778	
uuagauauug cau	13
<210> 779	
<211> 13	
<212> RNA	
[0154] <213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 779	
uggugcauac aag	13
<210> 780	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 780	
augaaaacgag uca	13
<210> 781	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 781	
ccagagugcu gaa	13

<210>	782	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	782	
	cagccaugaa uuu	13
<210>	783	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	783	
	auugguugaa ugu	13
<210>	784	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0155]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	784	
	gguugaaugu gua	13
<210>	785	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	785	
	ggaaauuaacu aau	13
<210>	786	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	786	
	ucaugaaauag aaa	13

<210>	787	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	787	
	gccagcaacc gaa	13
<210>	788	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	788	
	caccucacac aug	13
<210>	789	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0156]	<220>	
	<223>	合成寡核苷酸
<400>	789	
	aguugaaugg ugc	13
<210>	790	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	790	
	agucagcugg aug	13
<210>	791	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	791	
	uauaaggcgga aag	13

<210>	792	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	792	
uuccgaugug	auu	13
<210>	793	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	793	
auaacuaaug	ugu	13
<210>	794	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
[0157] <220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	794	
ucauucuaua	gaa	13
<210>	795	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	795	
aacuaucacu	gua	13
<210>	796	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	796	
gucaauugcu	uau	13
<210>	797	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	797	
	agcaauuaau aaa	13
<210>	798	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	798	
	acgacucuga uga	13
<210>	799	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	799	
	uagugugguu uau	13
<210>	800	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	800	
	aagccaauga uga	13
<210>	801	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	801	
	auagucagga acu	13
<210>	802	
<211>	13	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	802	
	agucagccgu gaa	13
<210>	803	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	803	
	acuaccauga gaa	13
<210>	804	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0159]	<400> 804	
	aaacaggcug auu	13
<210>	805	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	805	
	gagugcugaa acc	13
<210>	806	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	806	
	ugagcauucc gau	13
<210>	807	
<211>	13	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	807	
	aauuccacag cca	13
<210>	808	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	808	
	ugucaauugc uua	13
<210>	809	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	809	
[0160]	accaugagaa uug	13
<210>	810	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	810	
	ccaacgaaag cca	13
<210>	811	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	811	
	cuggucacug auu	13
<210>	812	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	812	
	ugguuuau gg acu	13
<210>	813	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	813	
	gaccagagug cug	13
<210>	814	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	814	
	gaugugauug aua	13
[0161]		
<210>	815	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	815	
	gucagccgug aa u	13
<210>	816	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	816	
	aauguguauc ua u	13
<210>	817	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	817	
	uugagucugg aaa	13
<210>	818	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	818	
	guccagcaau uaa	13
<210>	819	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
[0162]		
<400>	819	
	ccagcaauua aua	13
<210>	820	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	820	
	gacucgaacg acu	13
<210>	821	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	821	
	accugccagc aac	13

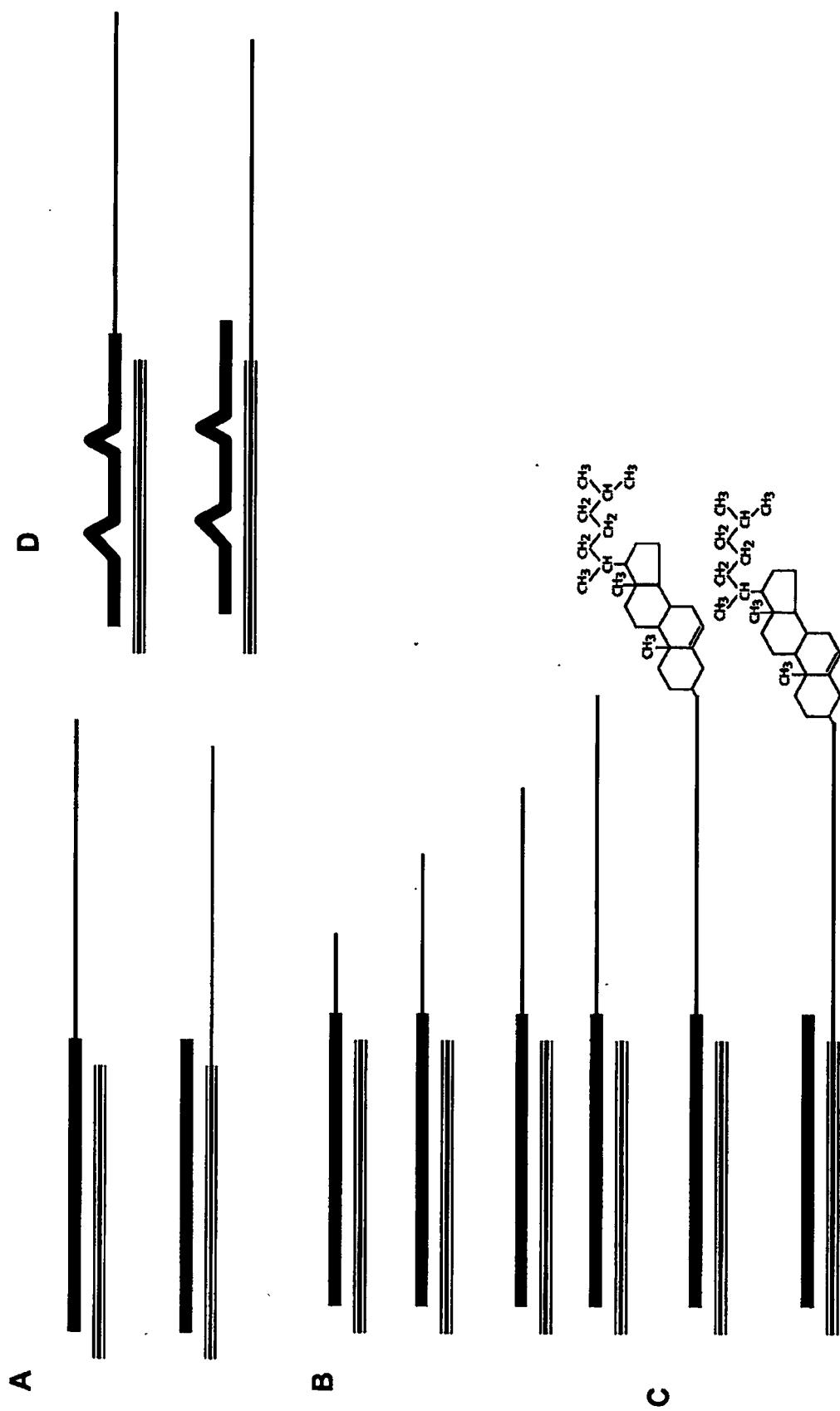


图1

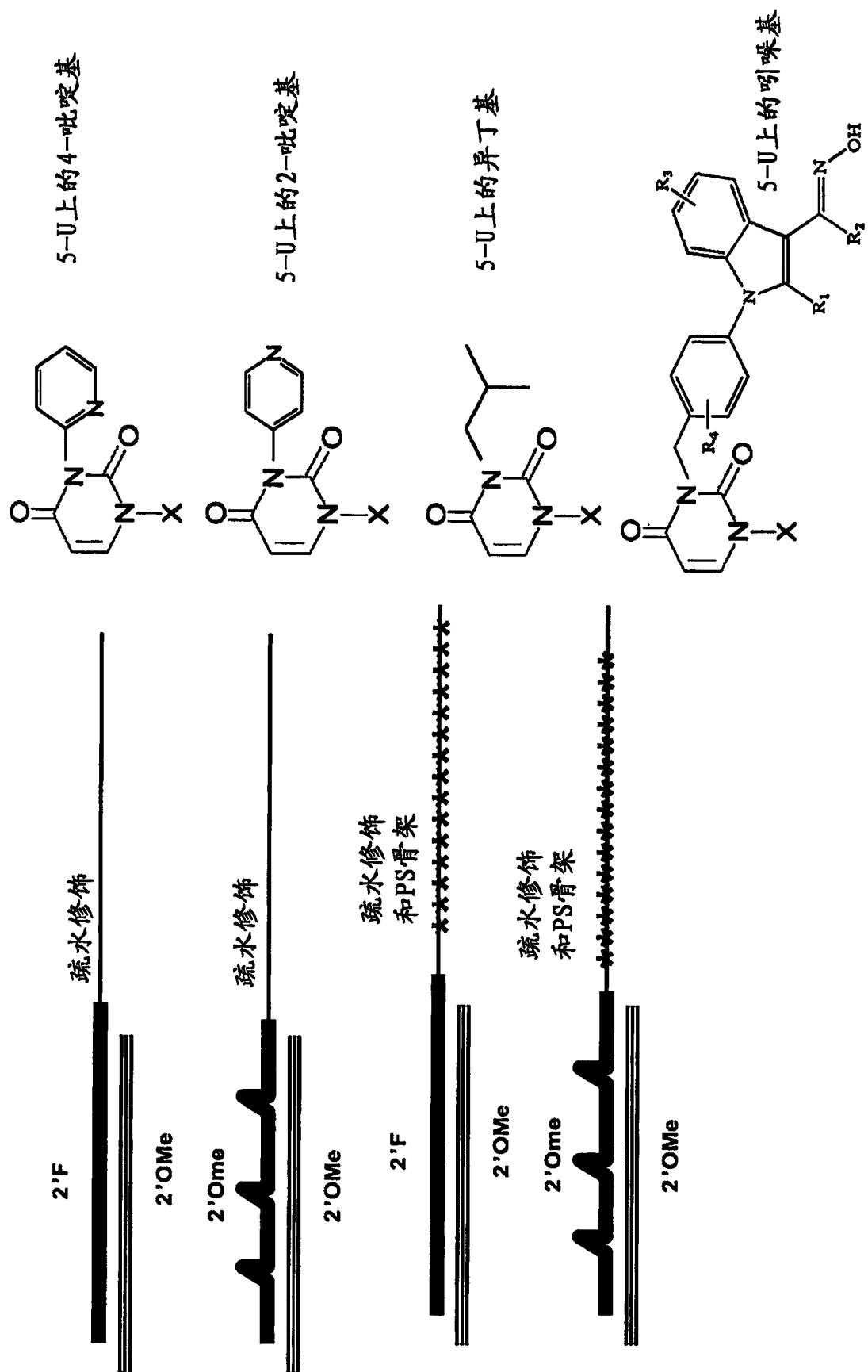


图2

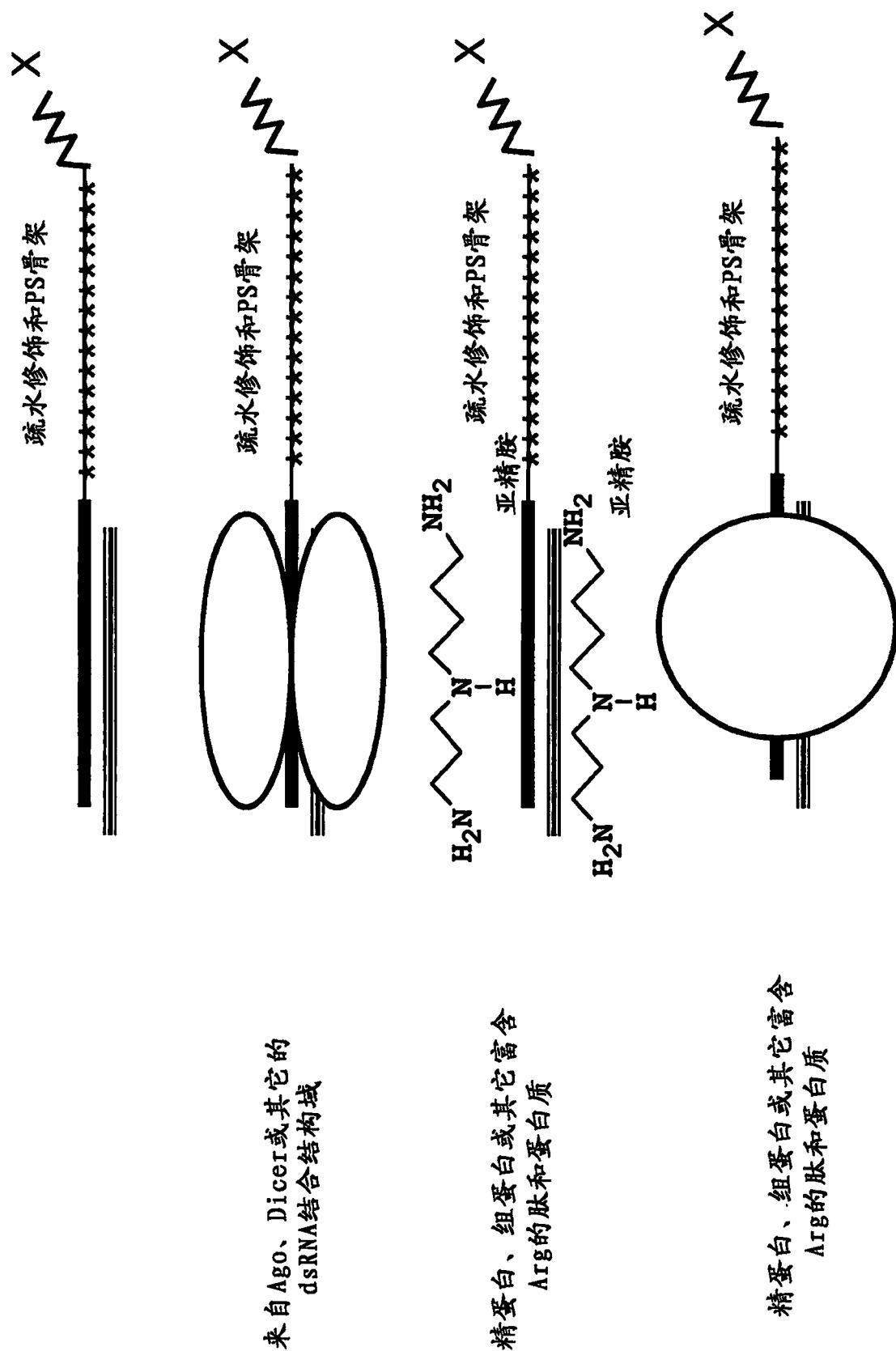


图3

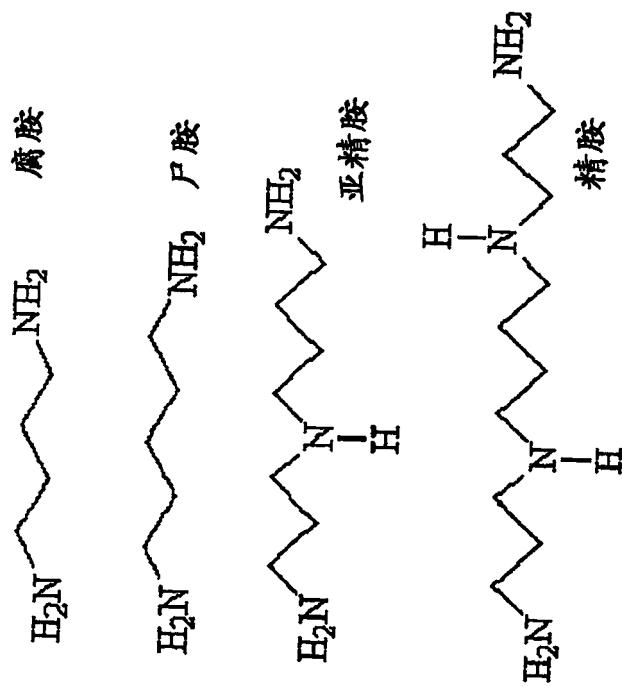


图4

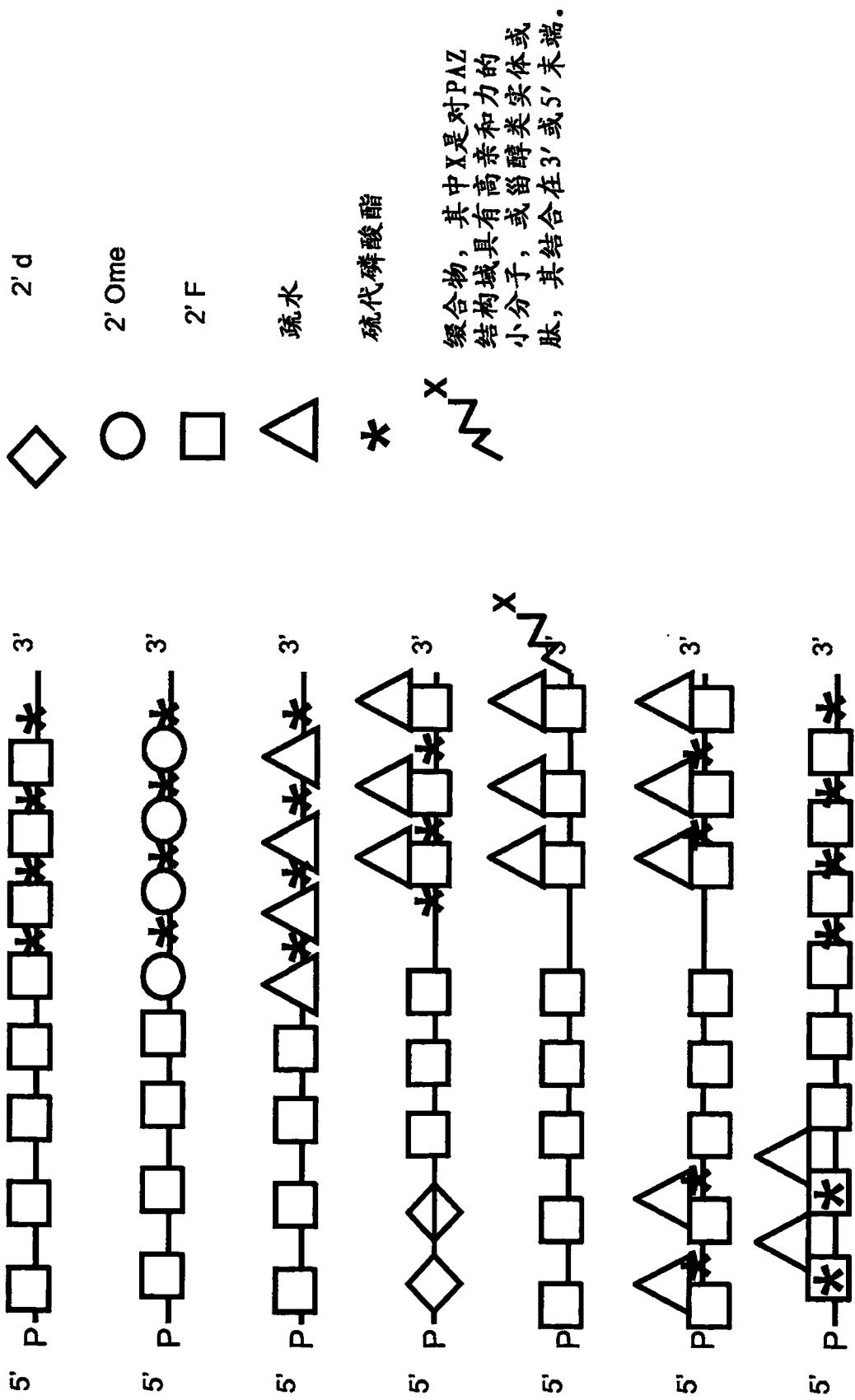


图5

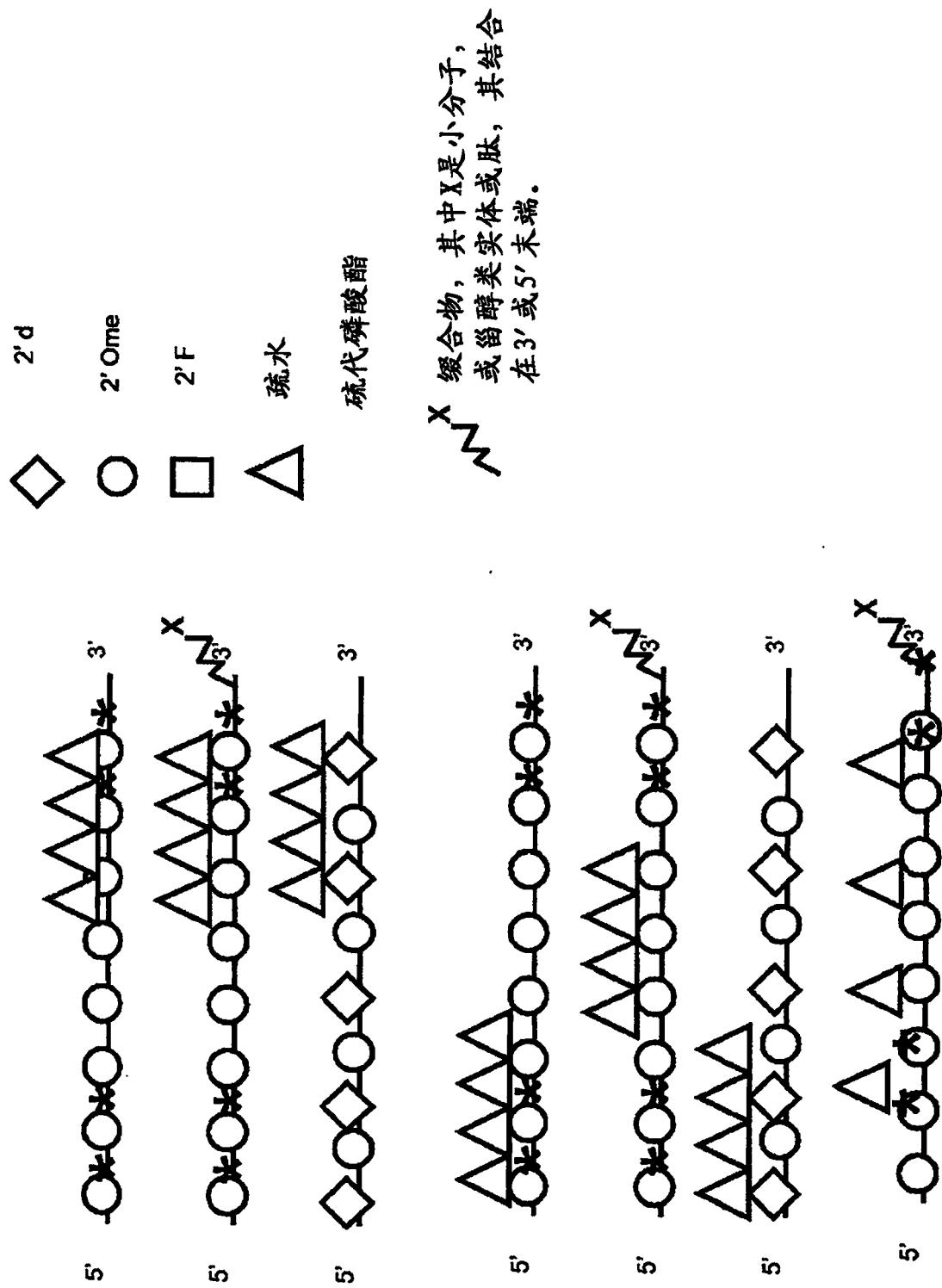


图6

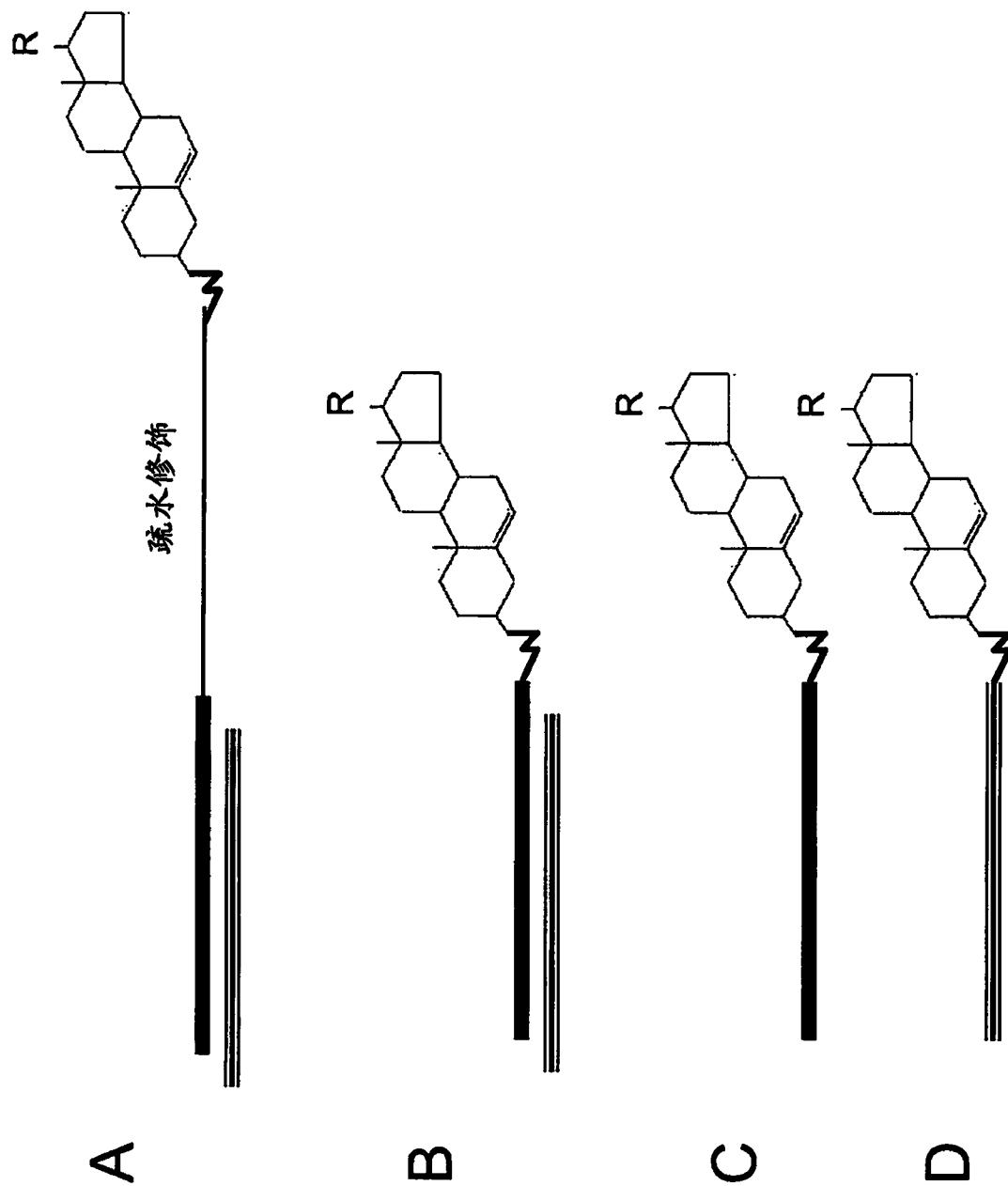


图7

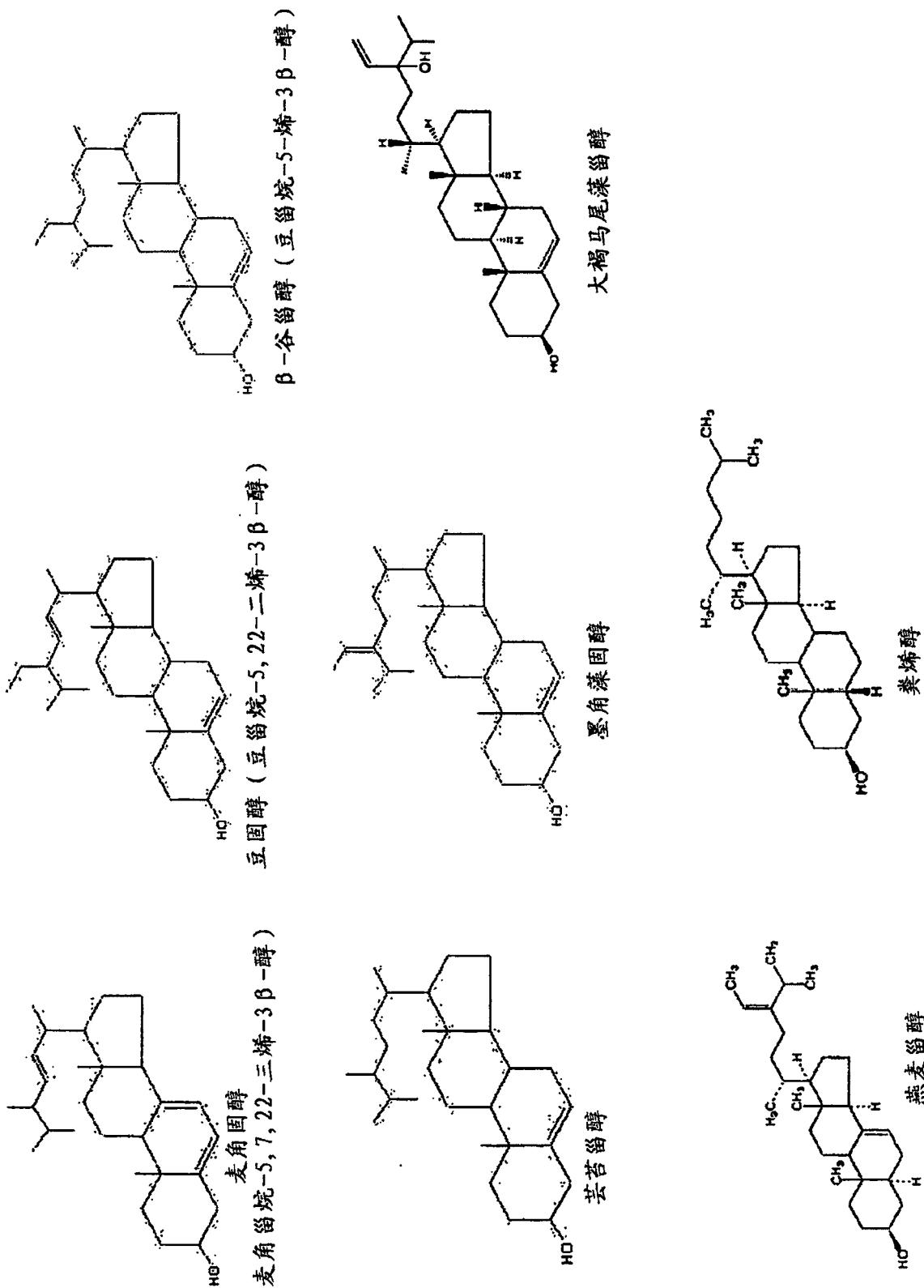


图8

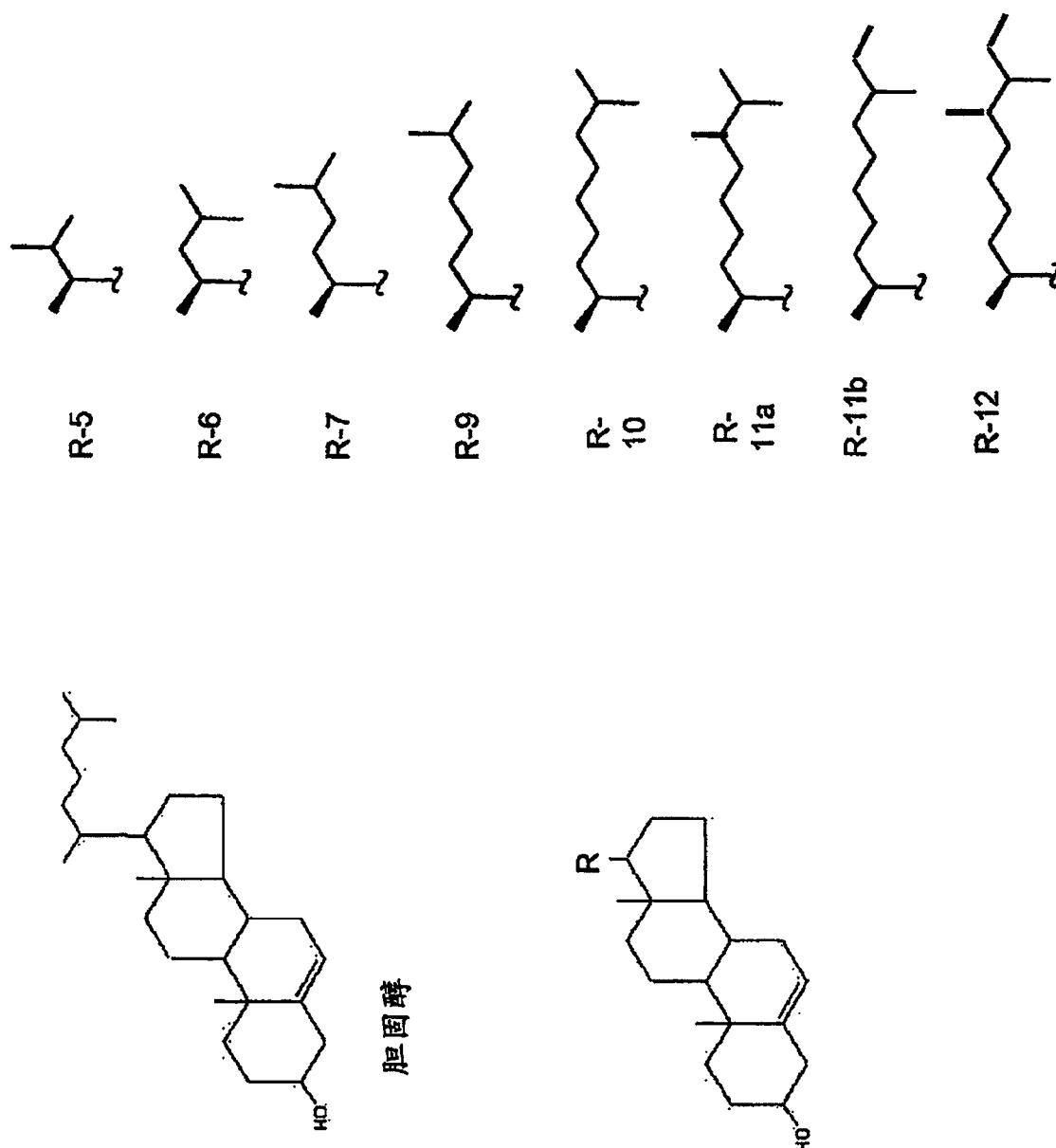


图9

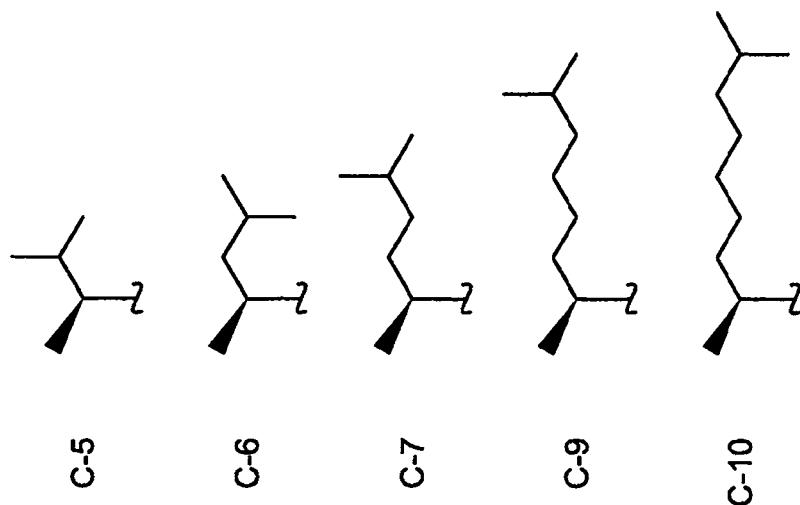
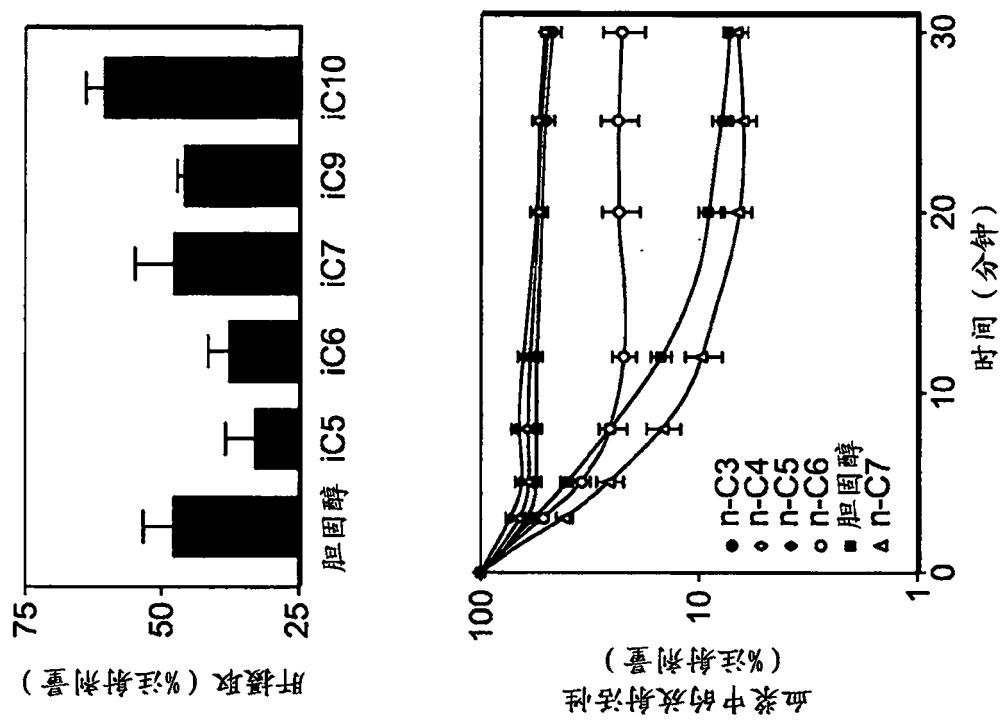


图10

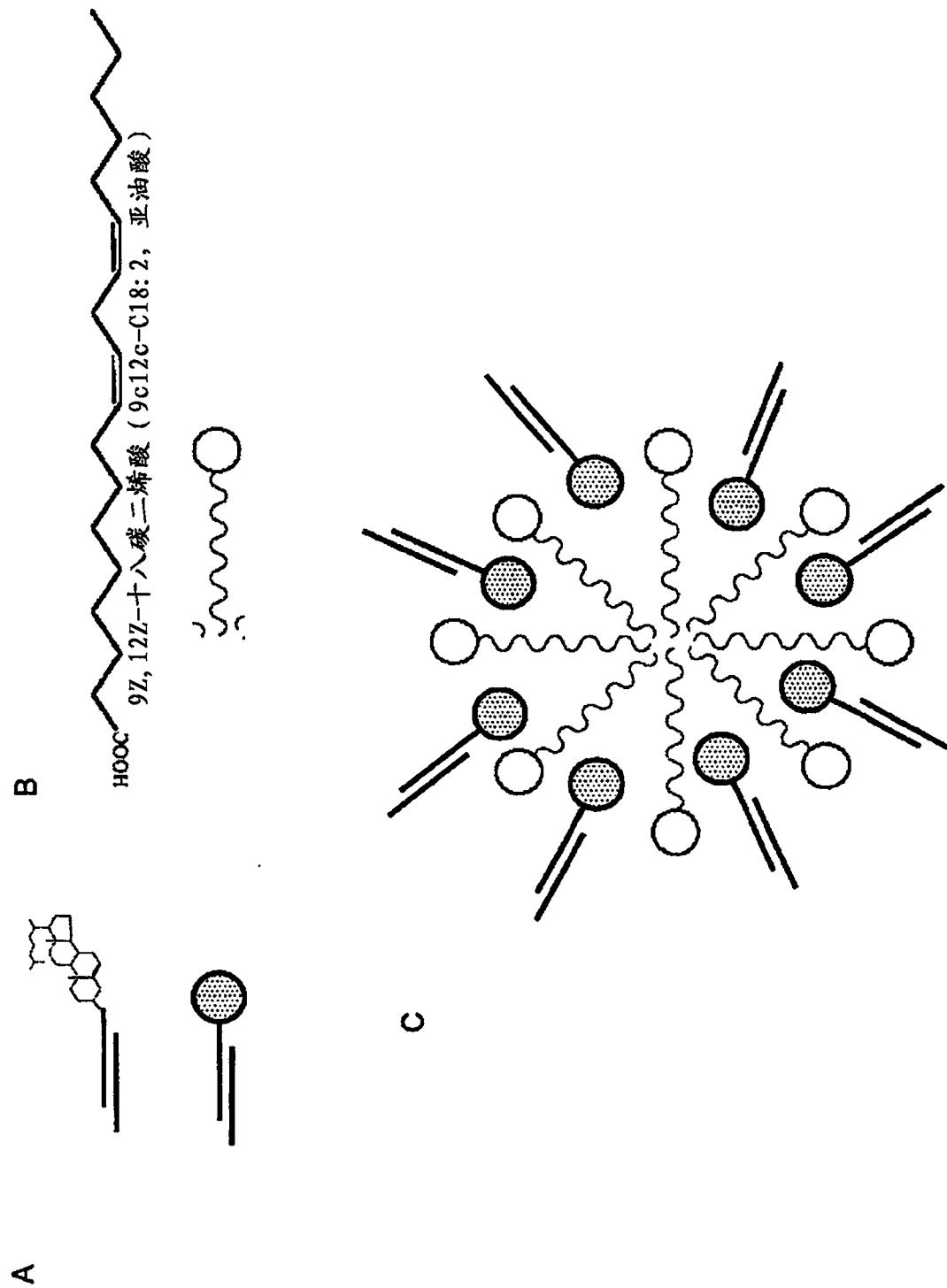


图11

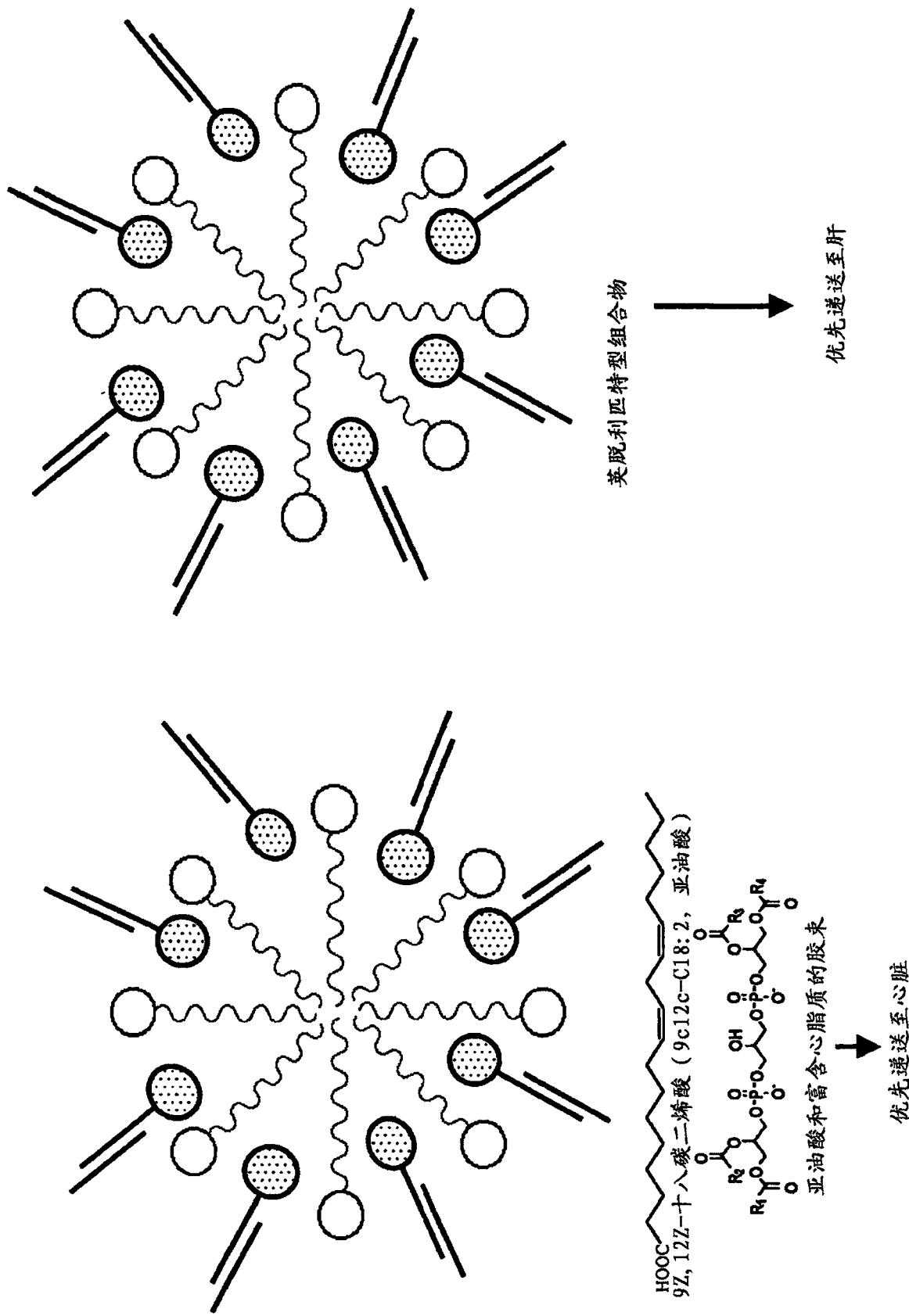


图12

结构说明 -MAP4K4

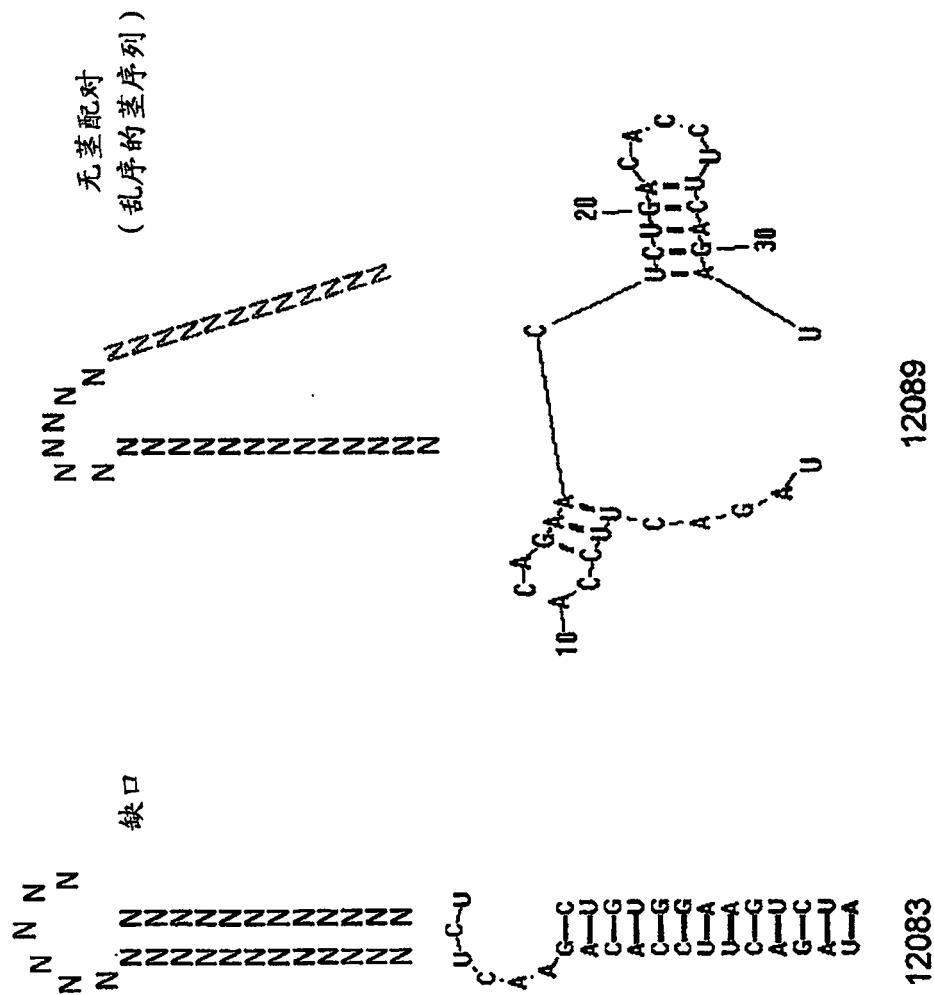


图13

MAP4K4 鞣向结构测试

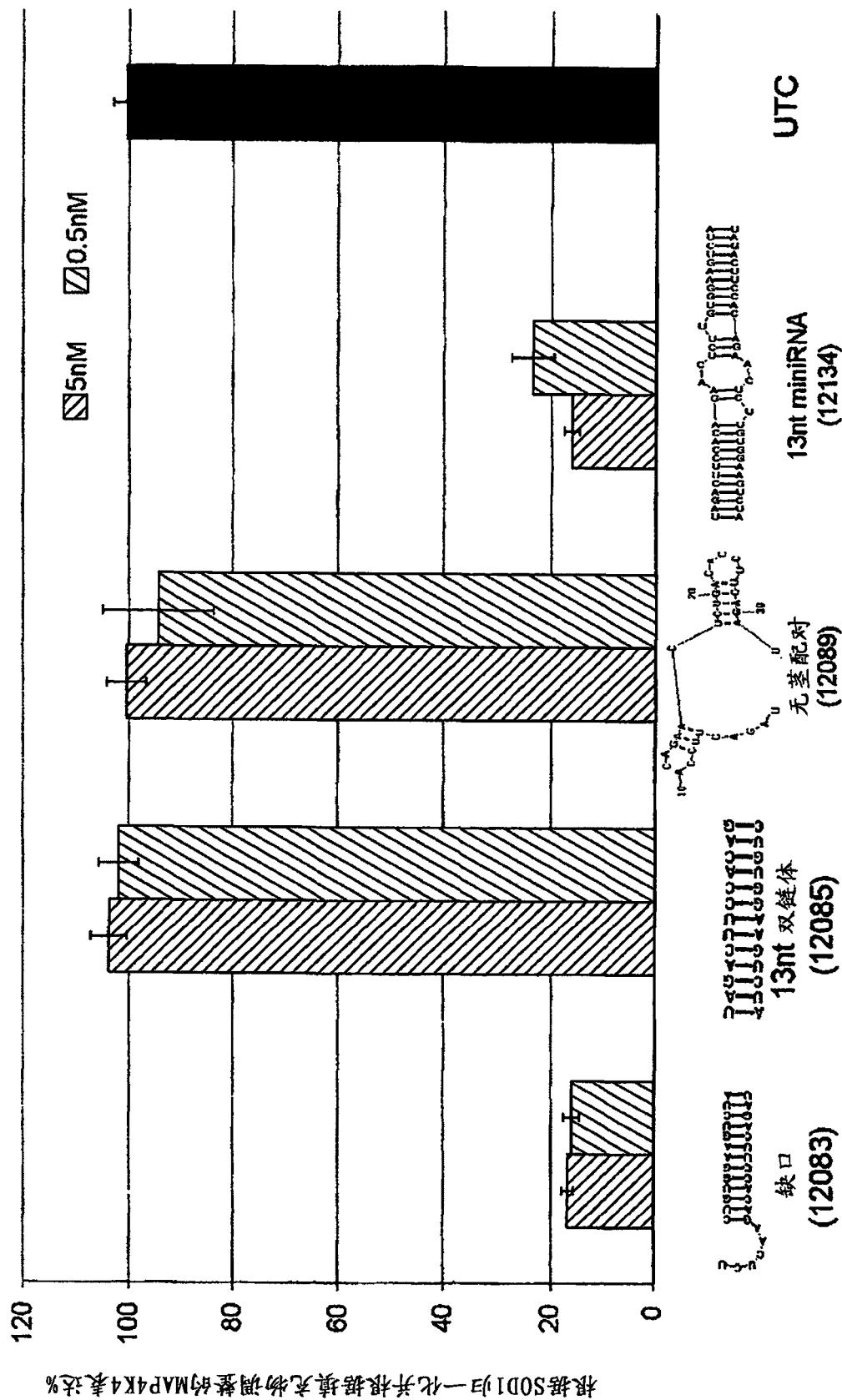


图14

MAP4K4 最小长度RNAi触发物

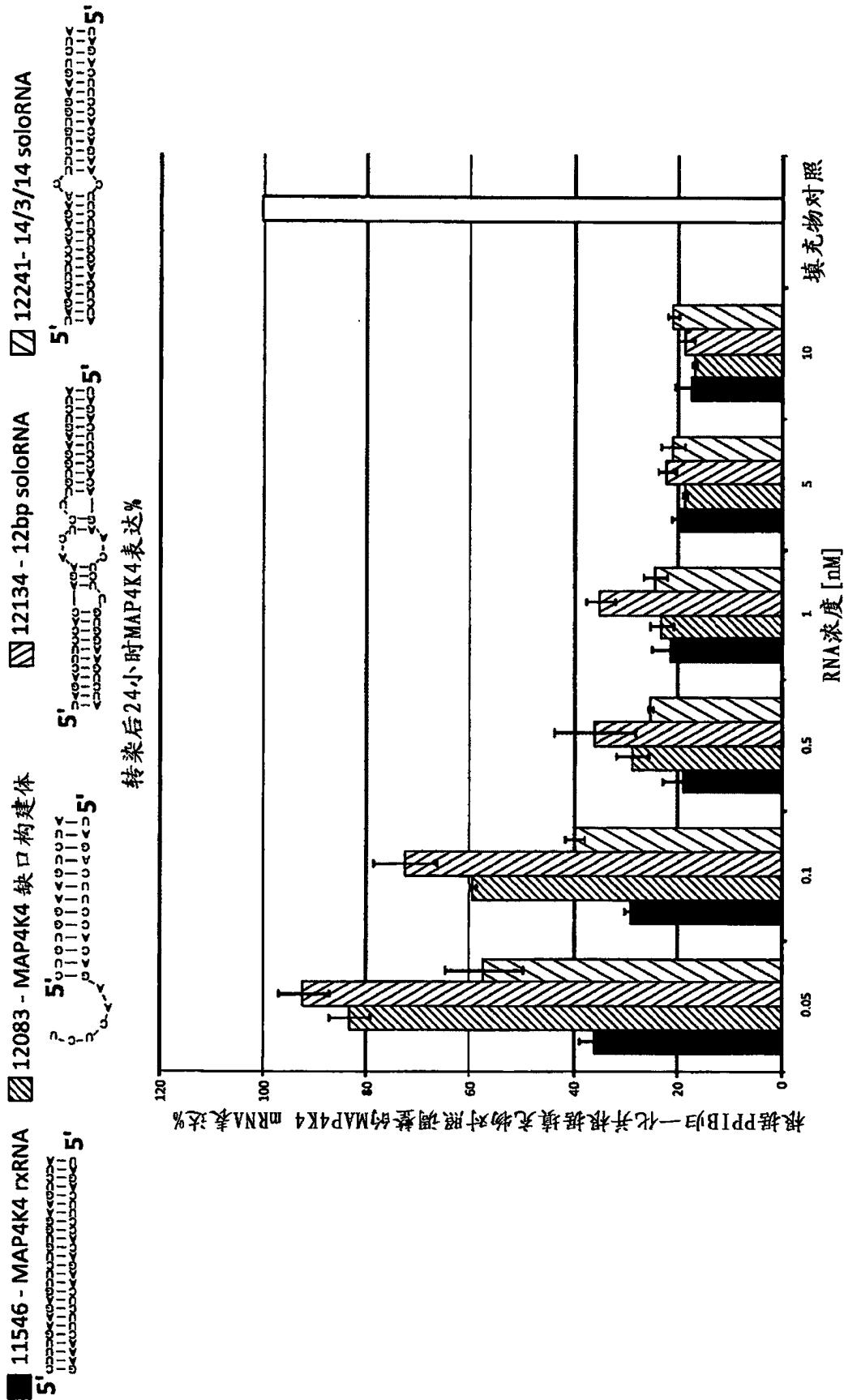
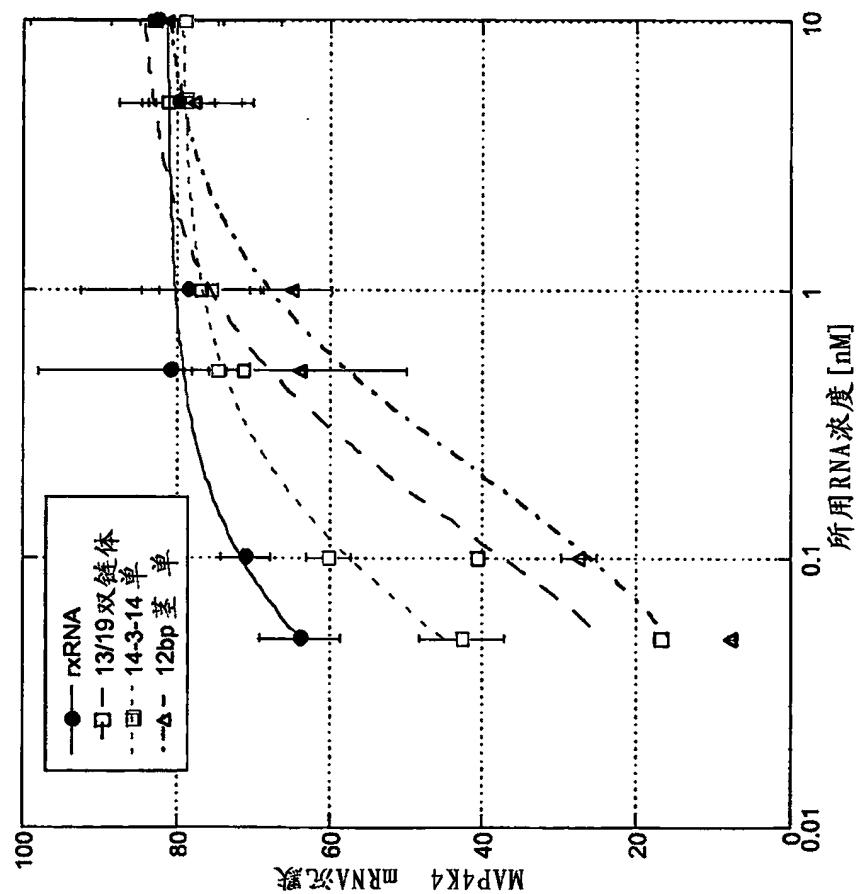


图15

MAP4K4 EC50 分析

转染24小时后剂量应答



RNA	值	误差
m1	81.485	0.83156
EC50	0.013787	0.0016017
Chisq	9.7585	NA
R	0.98118	NA

RNA	值	误差
m1	79.605	1.0706
EC50	0.03838	0.0034002
Chisq	14.538	NA
R	0.98297	NA

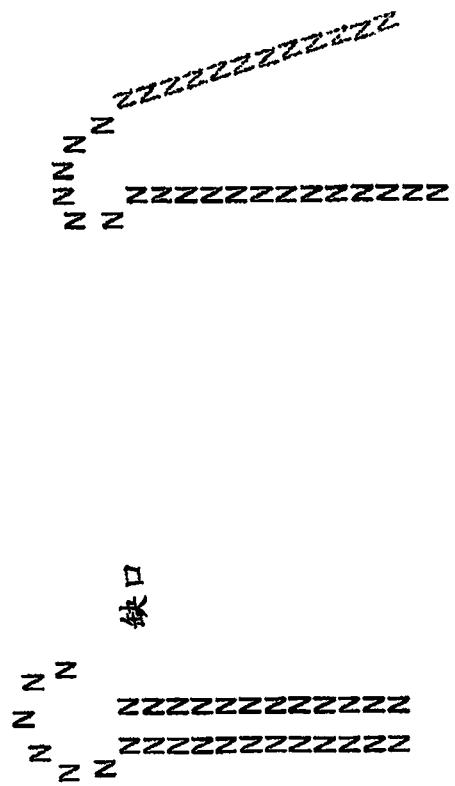
RNA	值	误差
m1	85.386	2.9199
EC50	0.12873	0.022477
Chisq	79.941	NA
R	0.98888	NA

RNA	值	误差
m1	82.734	3.8876
EC50	0.217	0.048933
Chisq	113.39	NA
R	0.98697	NA

图 16

结构说明 -SOD1

无茎配对
(乱序的茎序列)



无结构形成

12090

12084

图17

SOD1 靶向结构测试

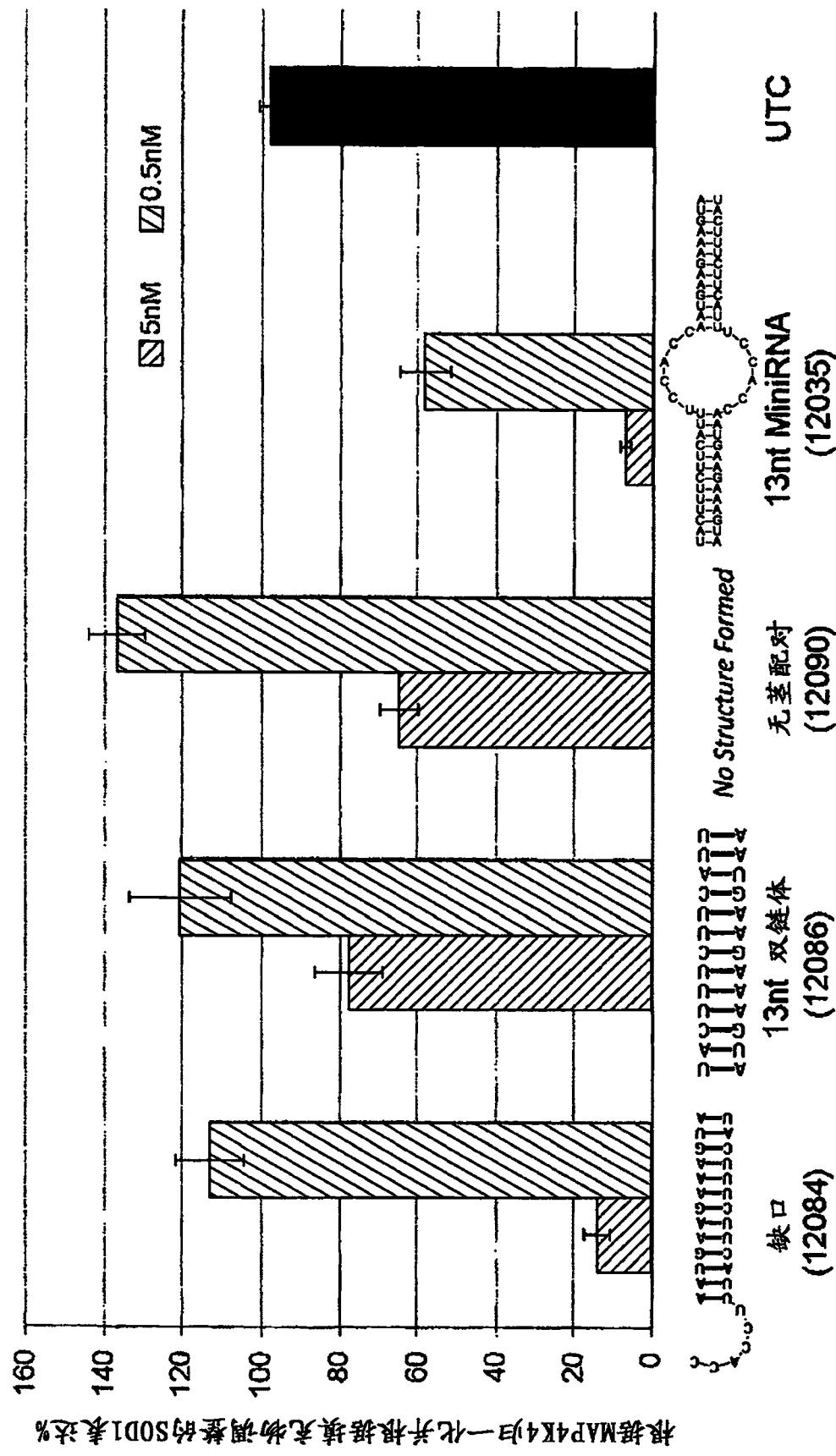


图18

SOD1 最小长度RNAi触发物

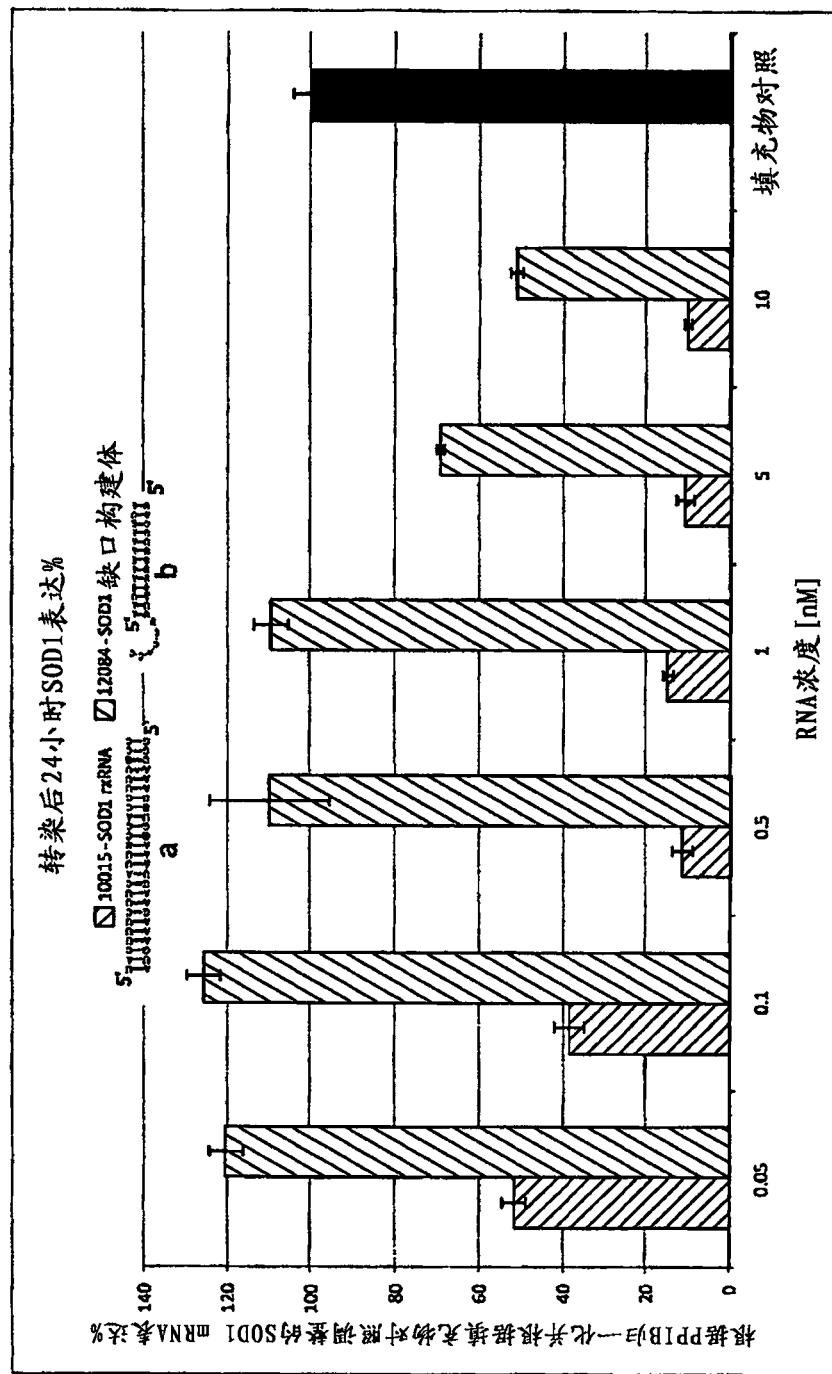


图19

Dicer 识别基序

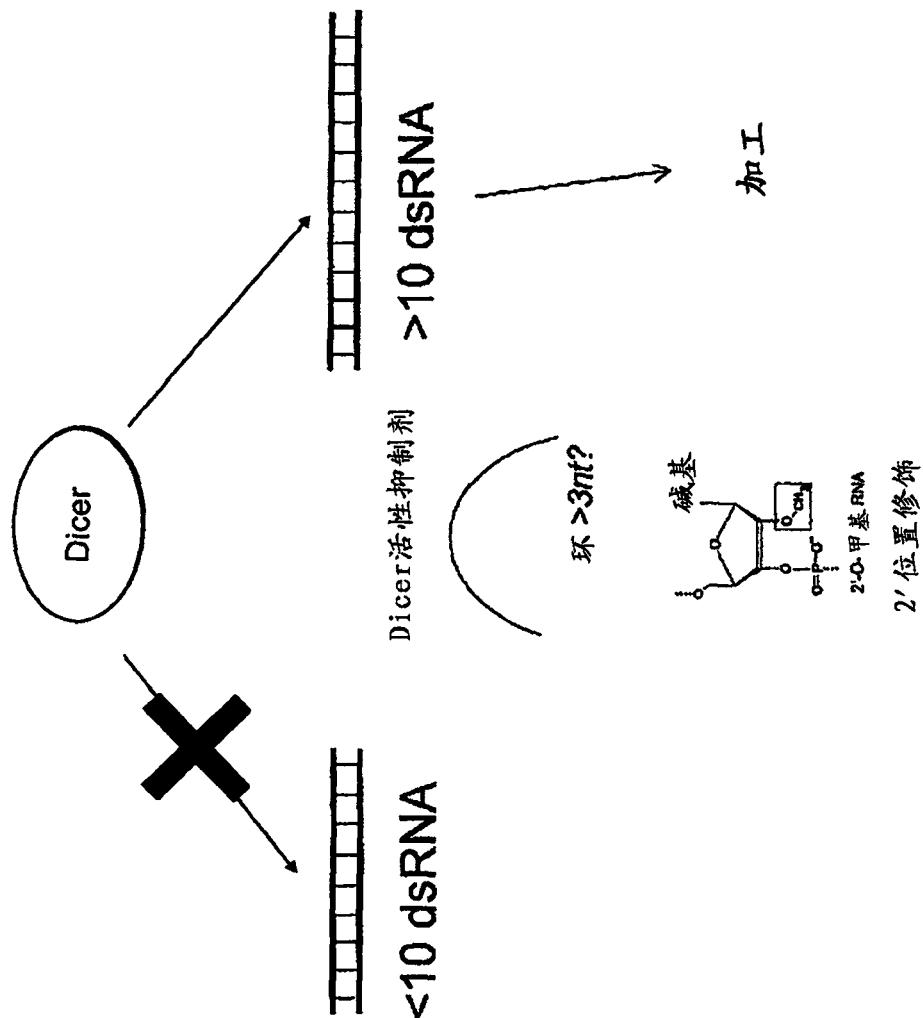


图20

推测的RNAi模型

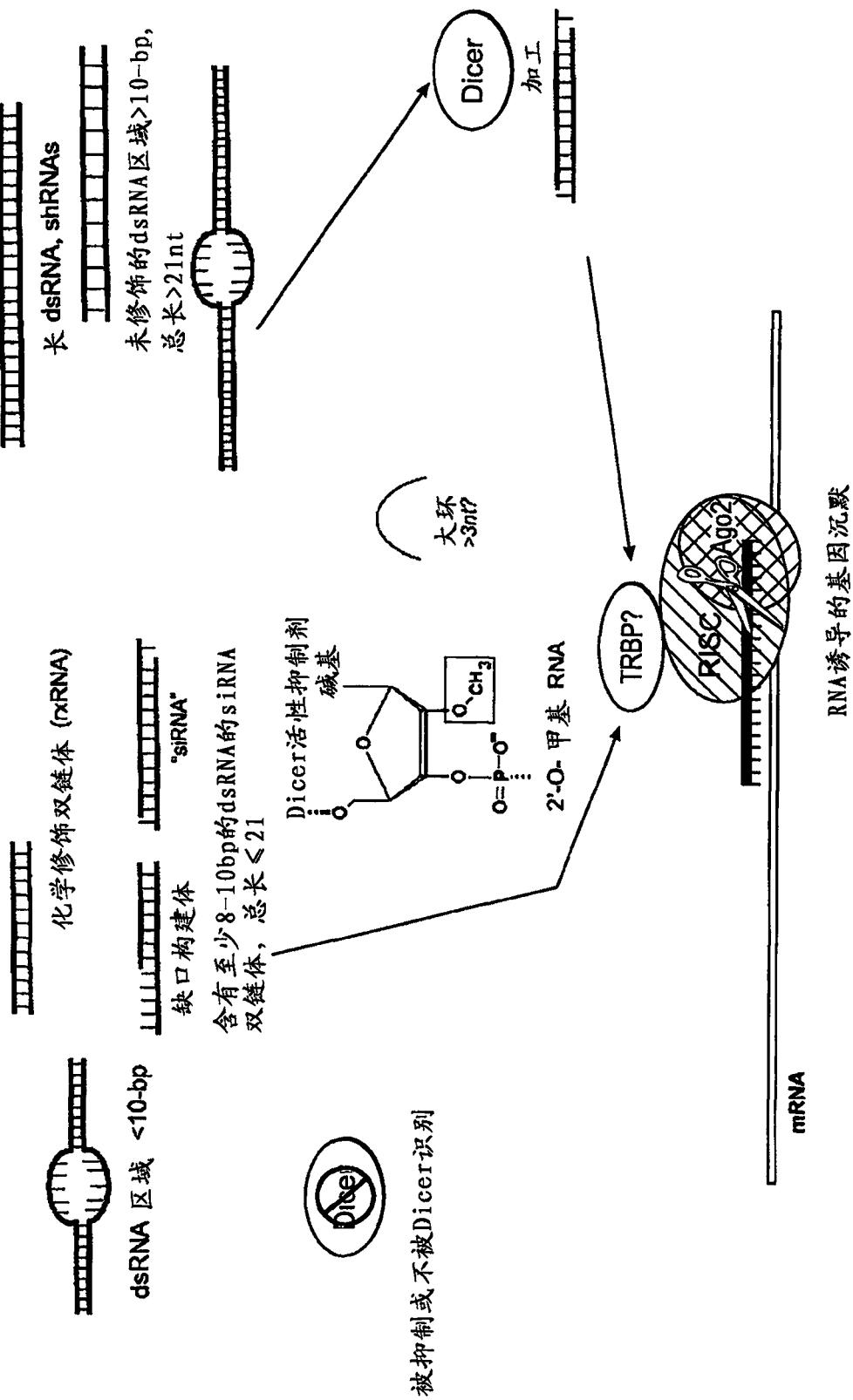


图21

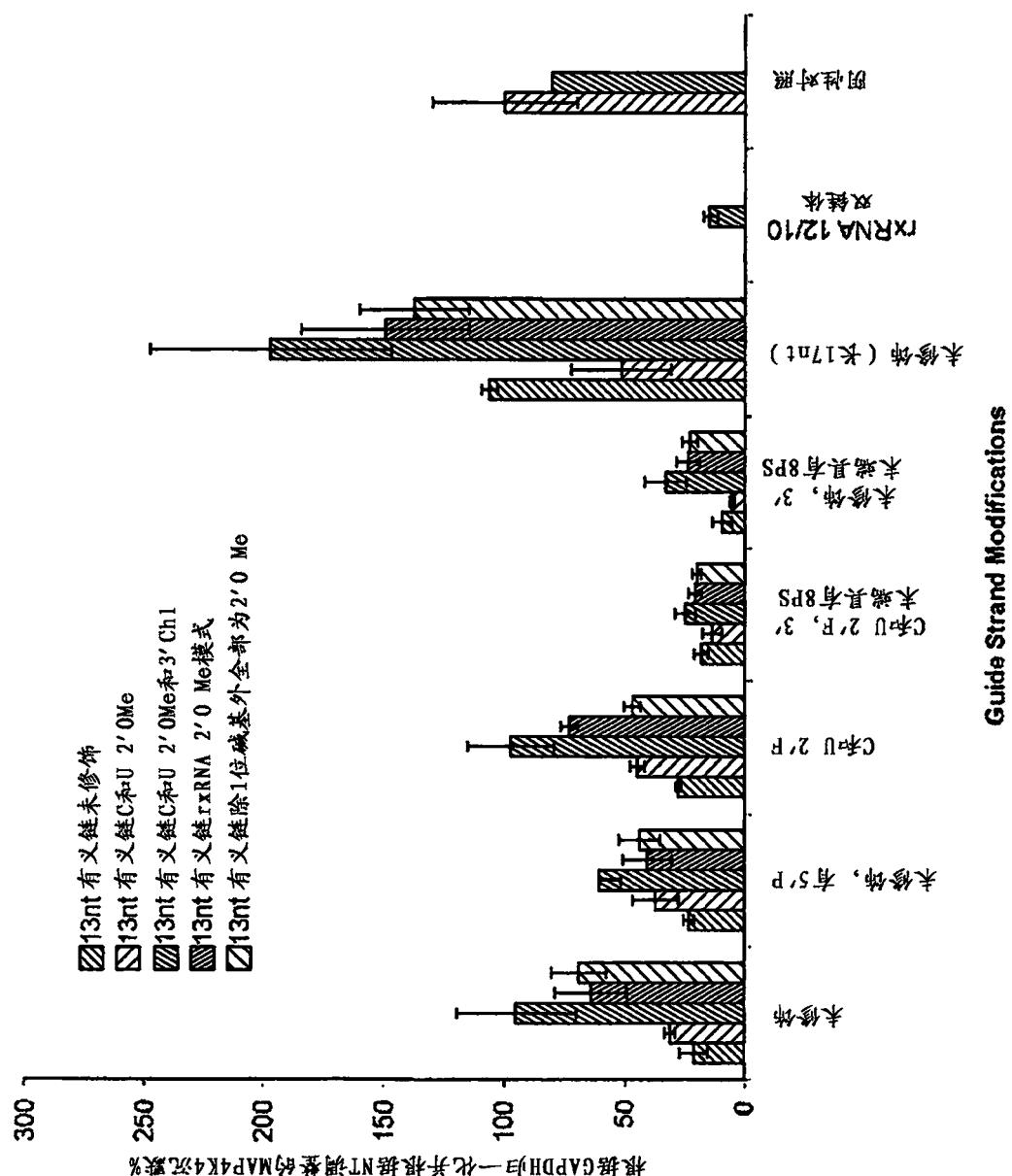


图22

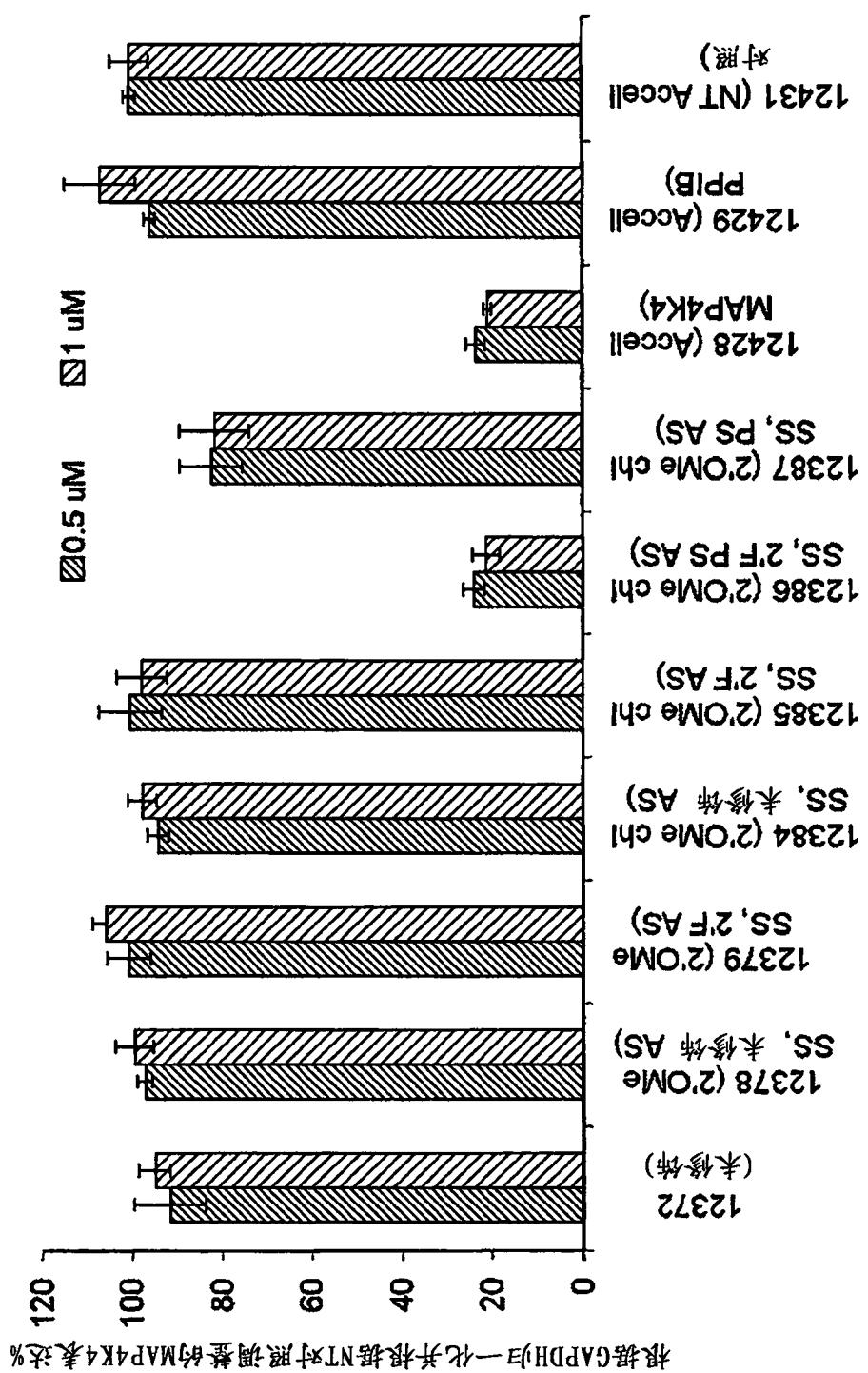


图23

自递送纳米 - α RNA

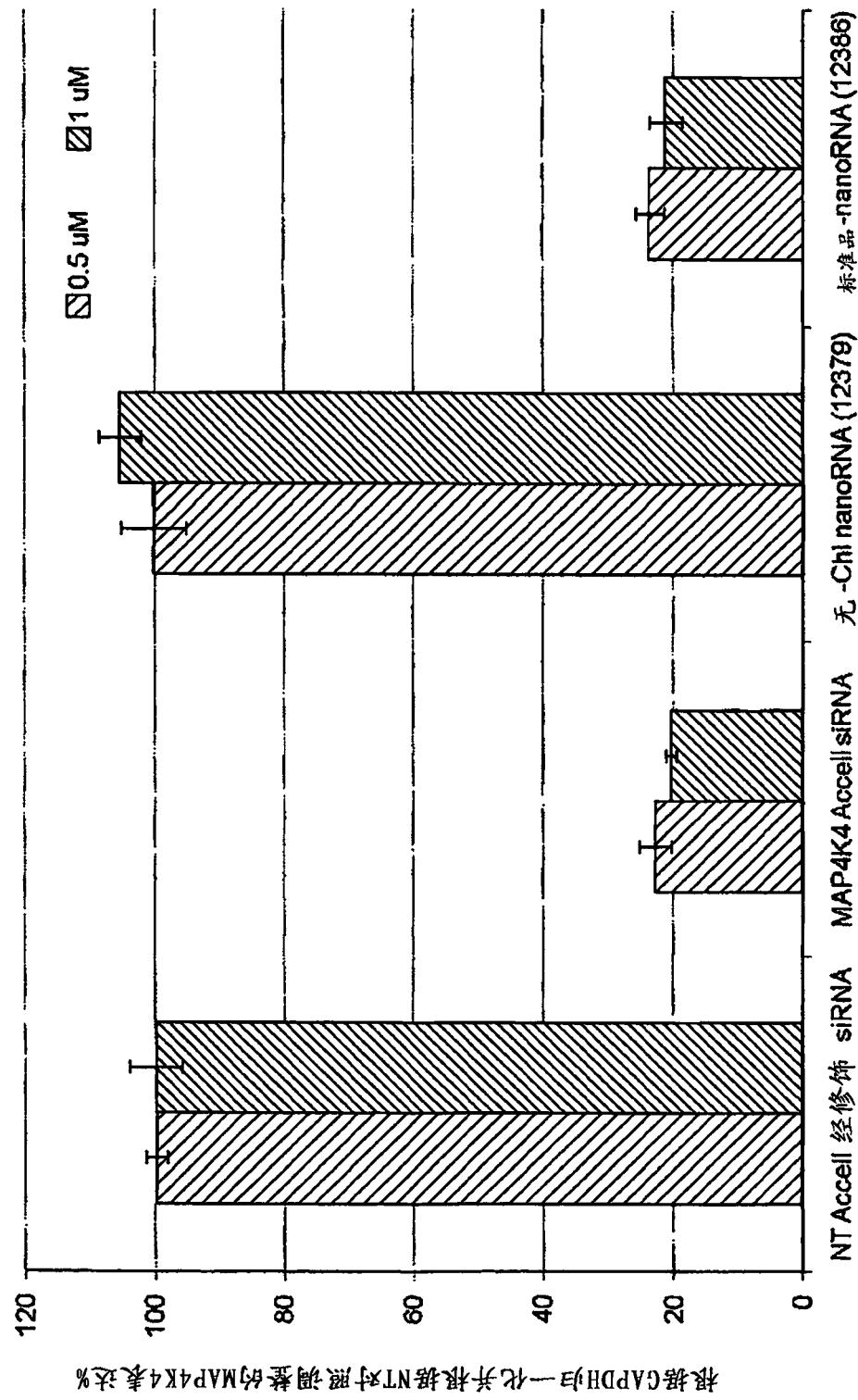


图24

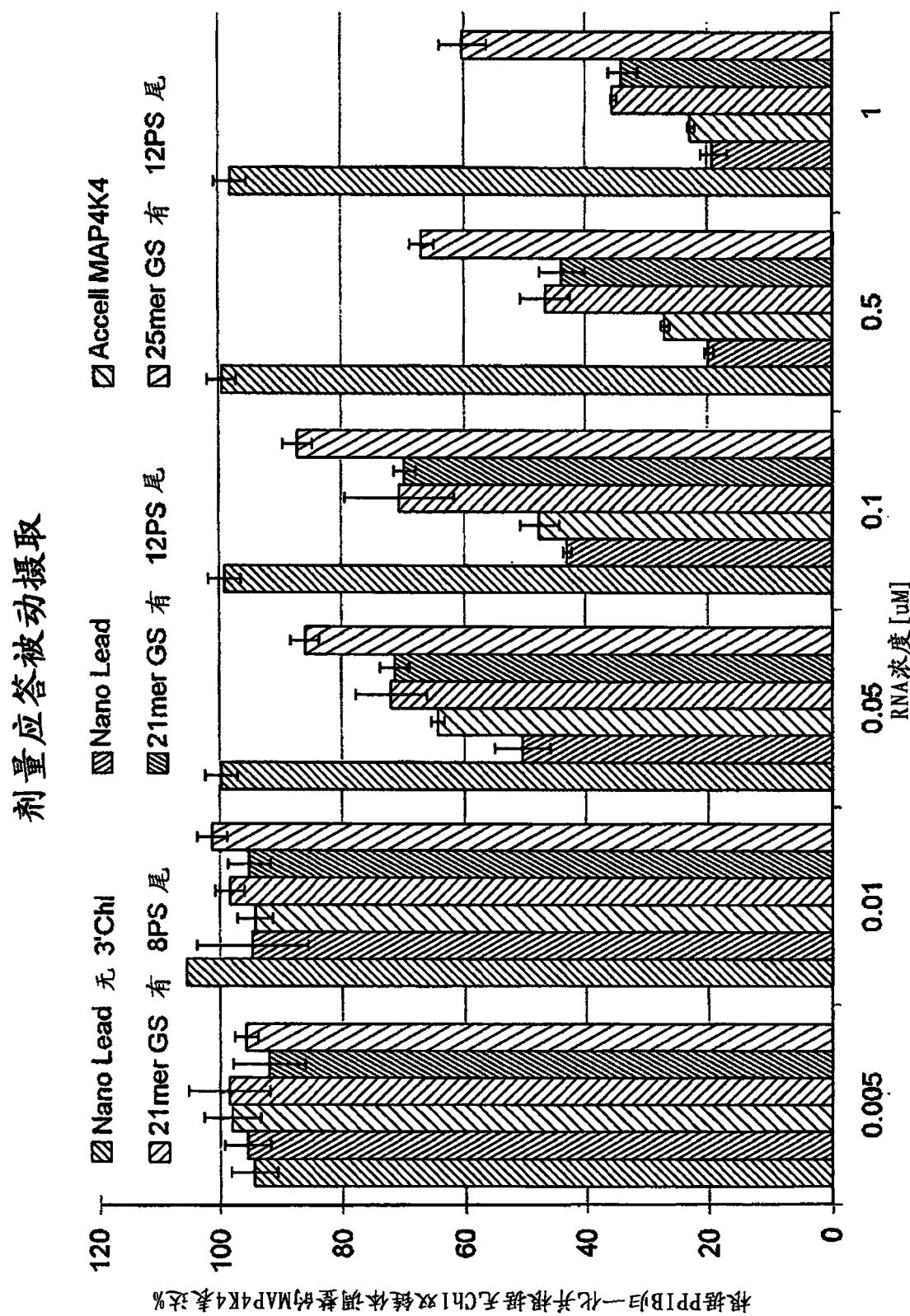


图25

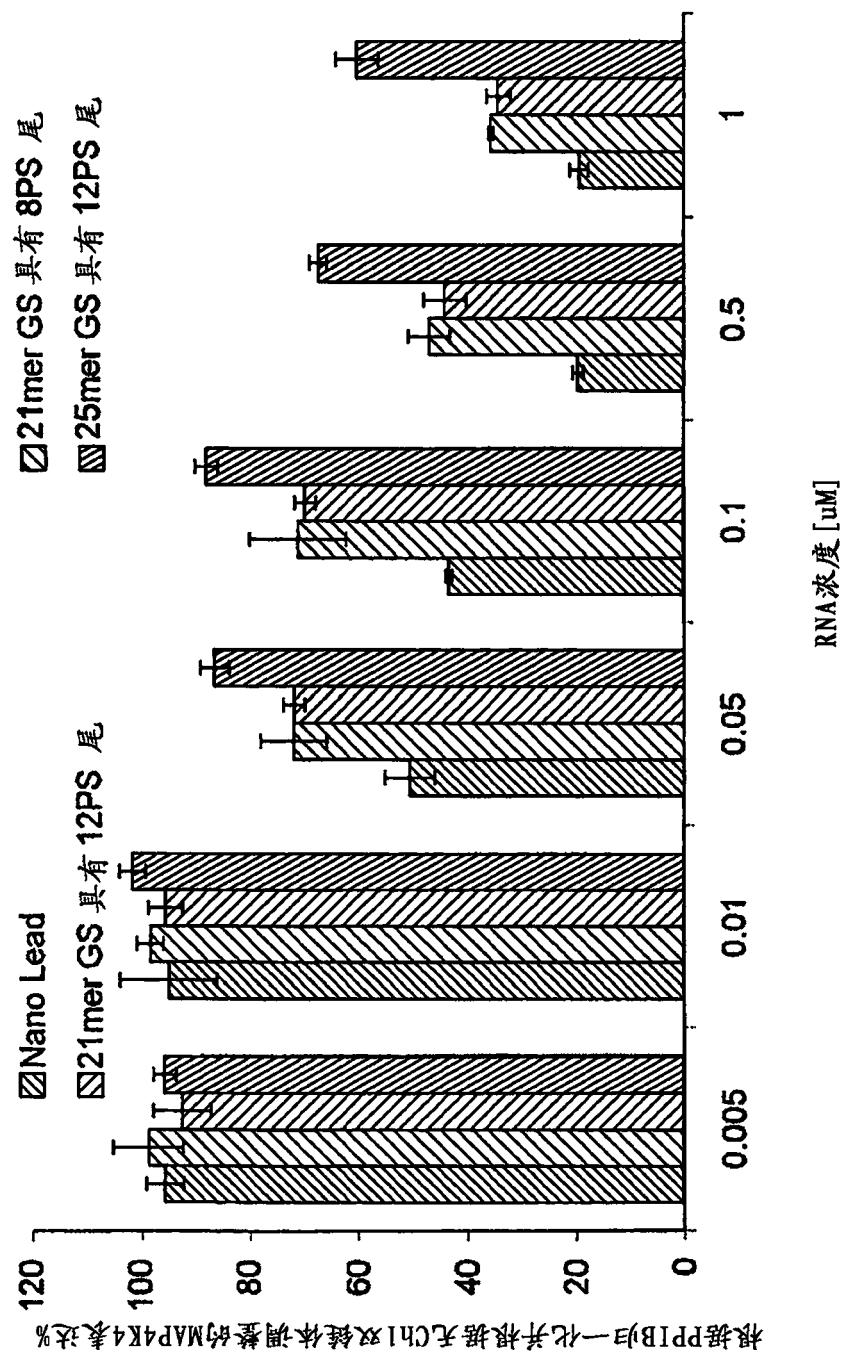


图26

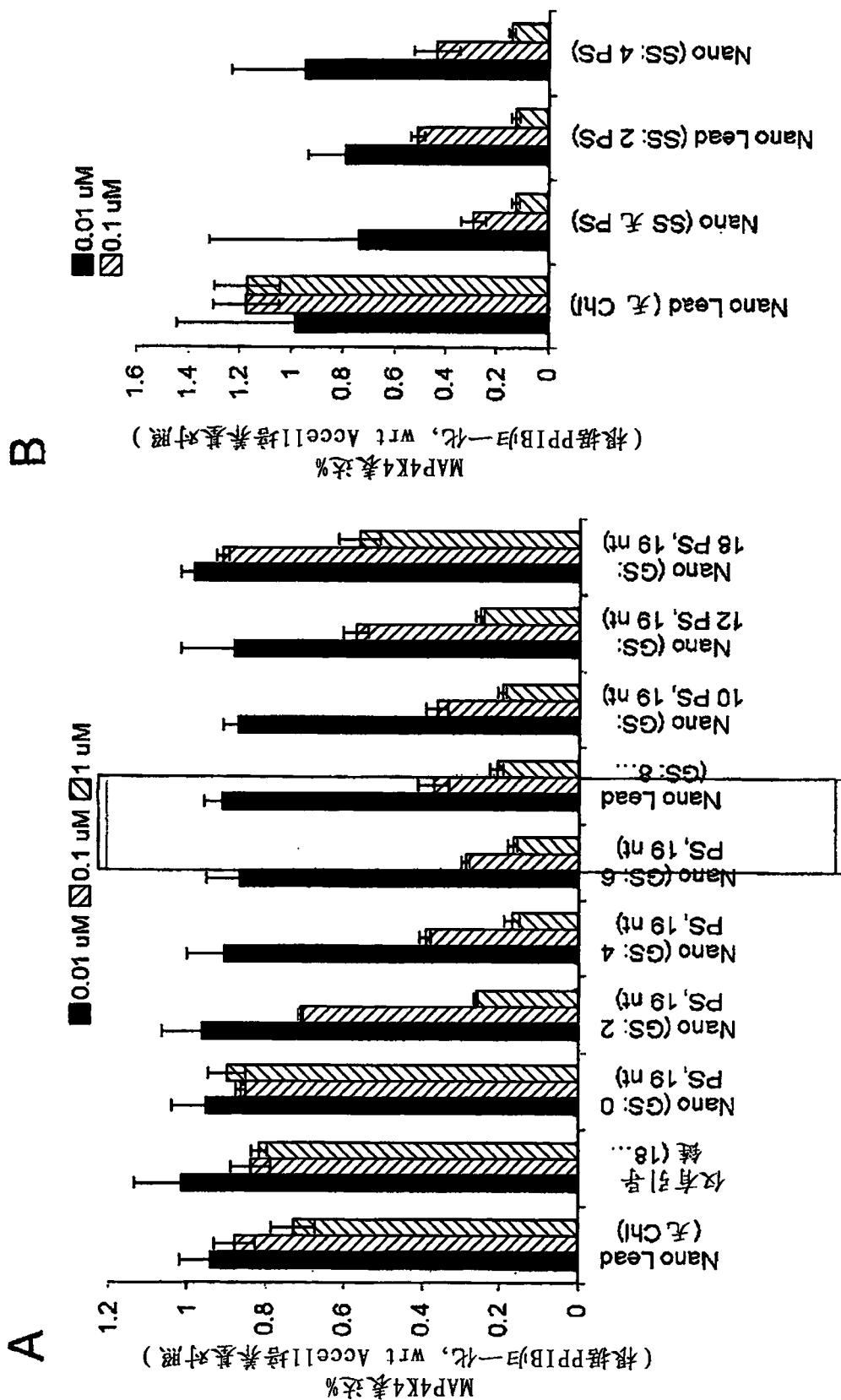


图 27

原代小鼠肝细胞的sd-nanoRNA沉默

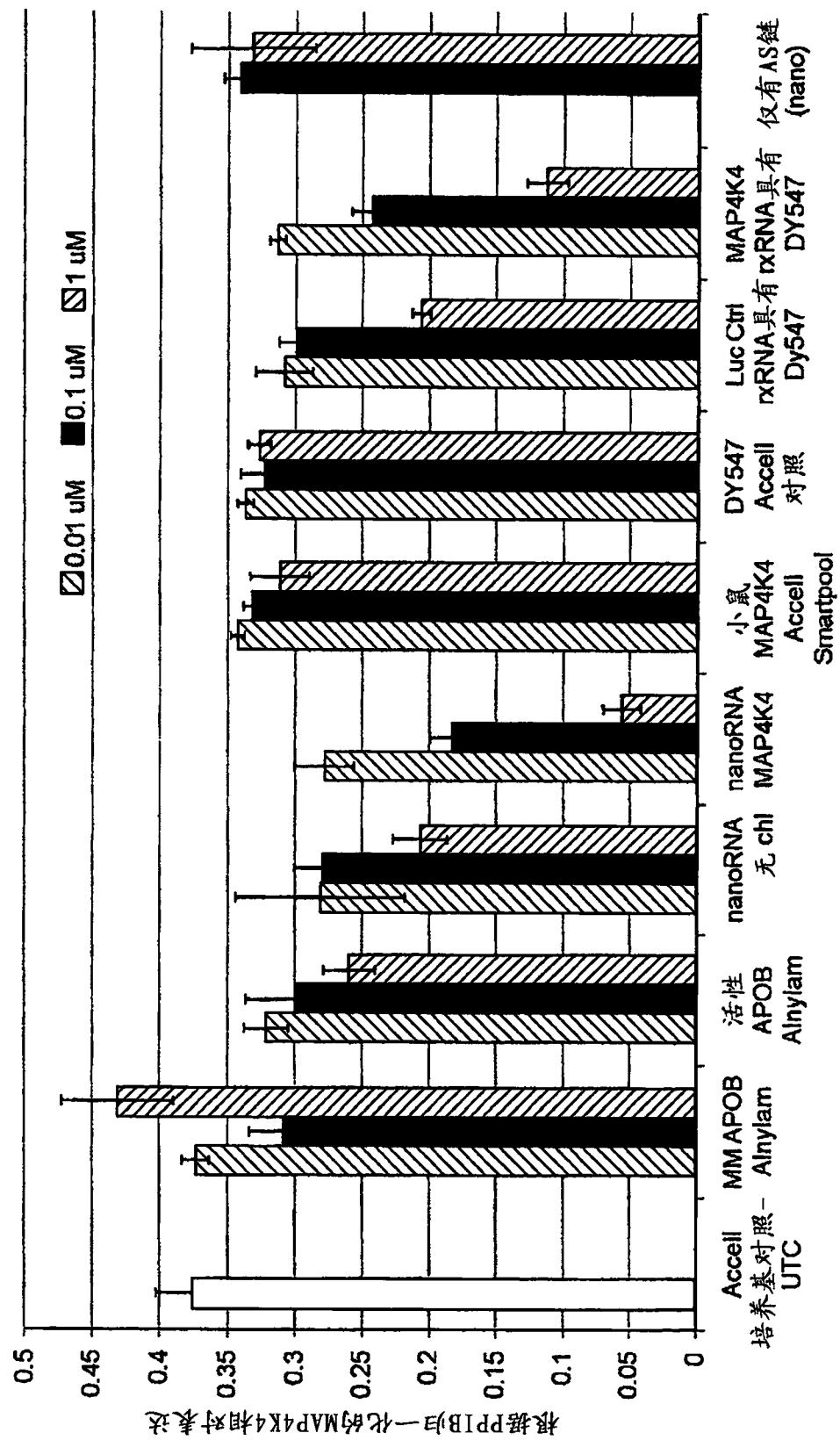


图28

原代小鼠肝细胞中 Alnylam siRNA 的被动摄取

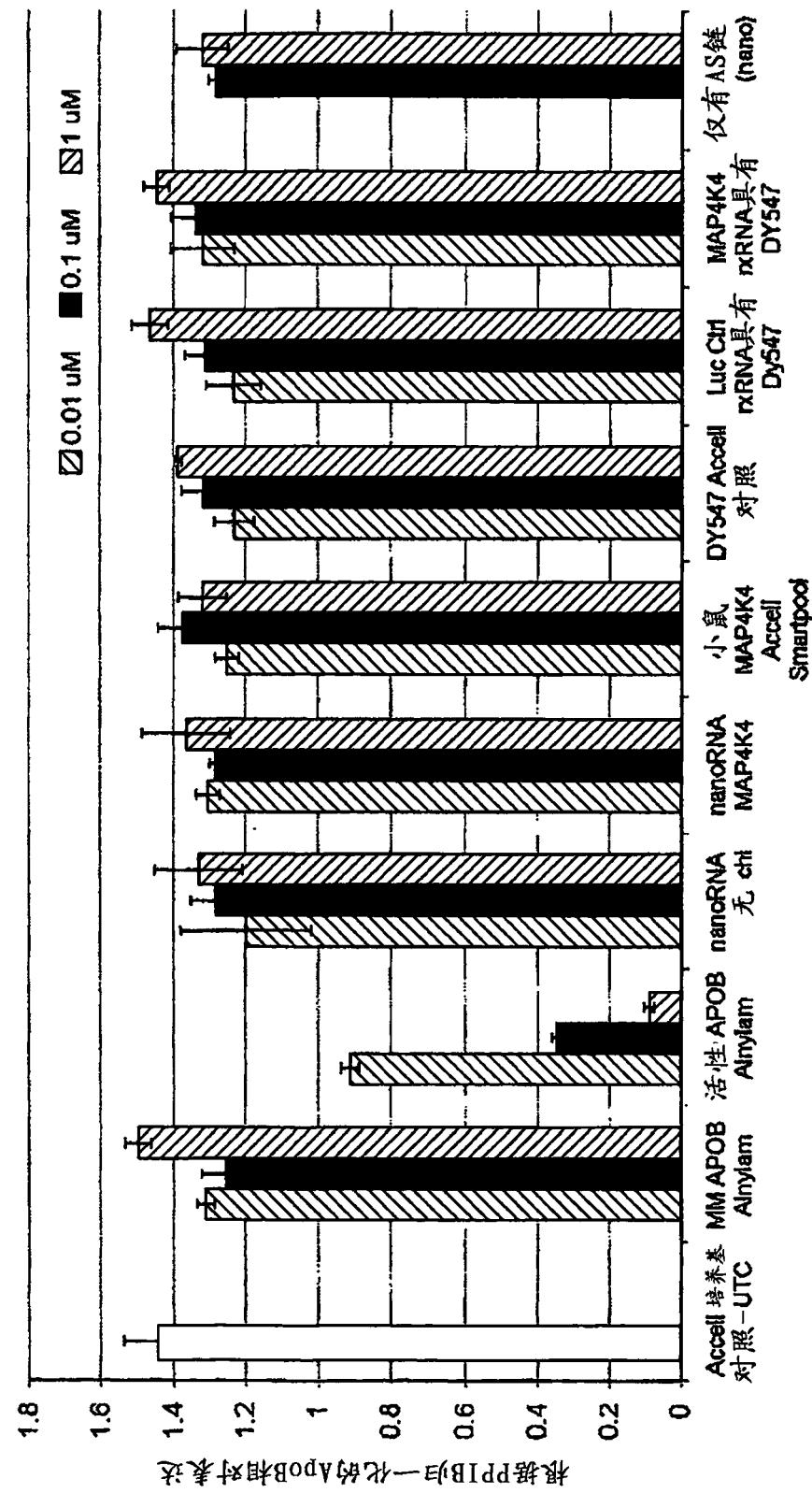


图29

sd-nanorna可在原代人肝细胞中使基因沉默

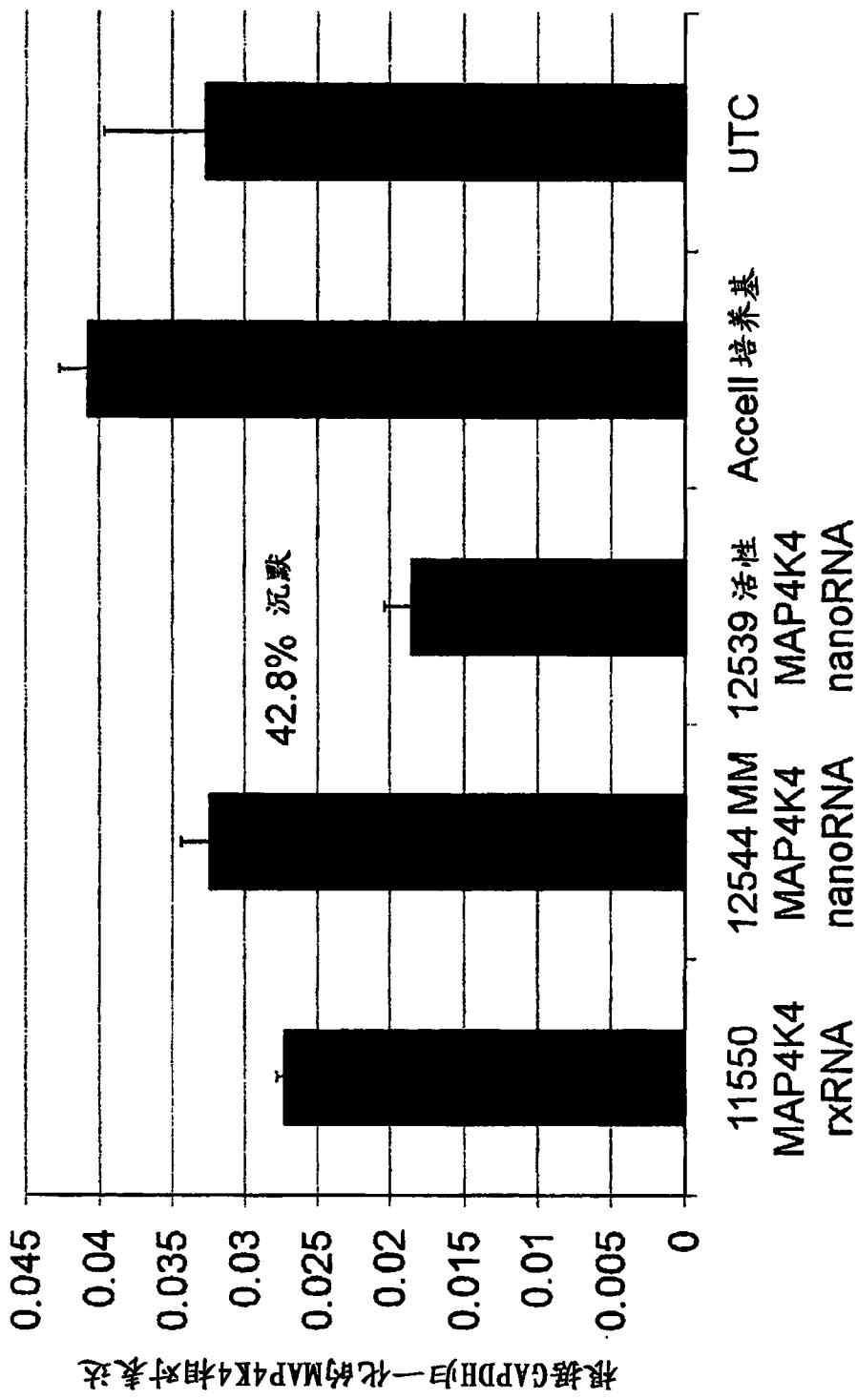


图30

原代人肝细胞中的cho1-siRNA沉默

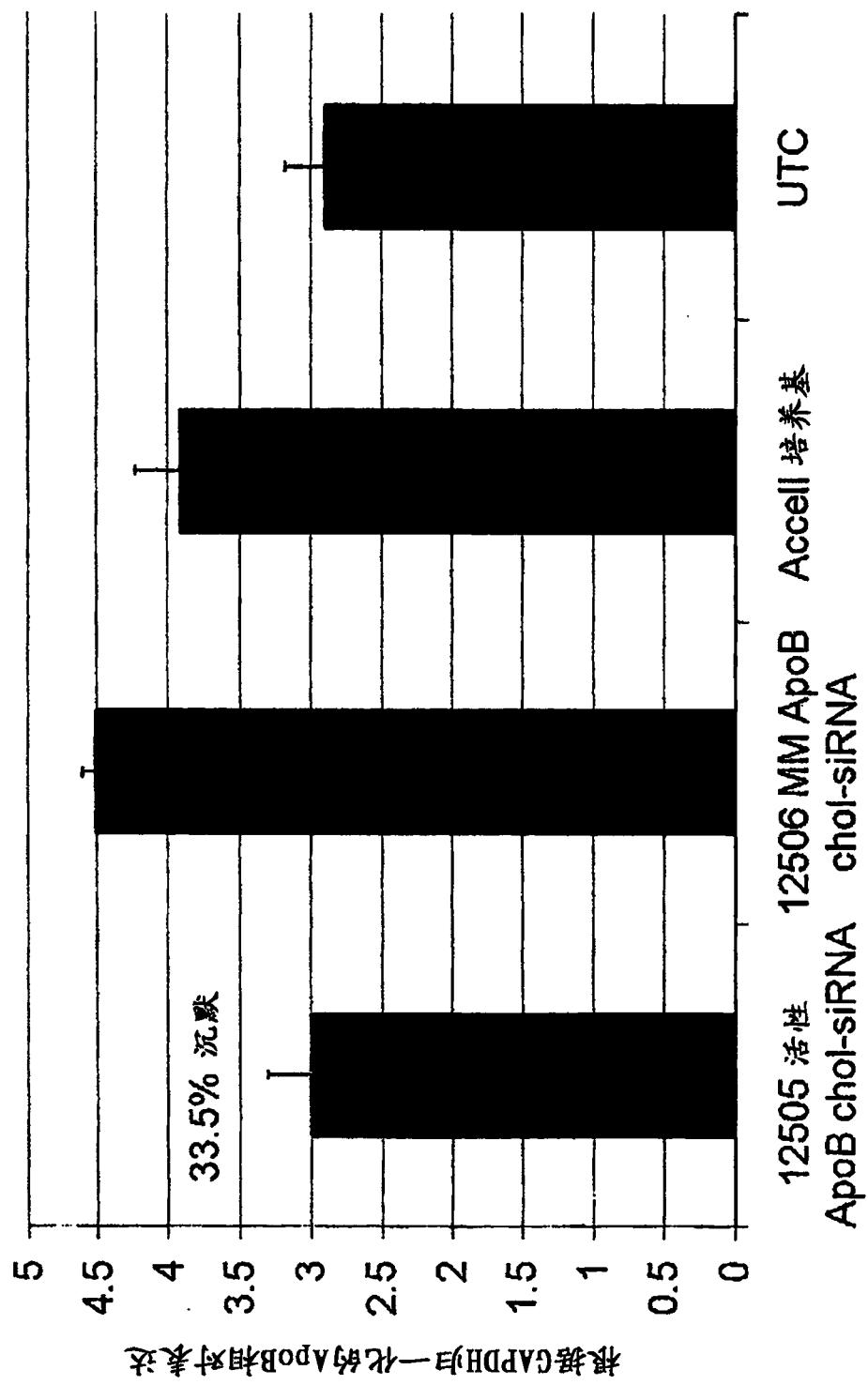


图31

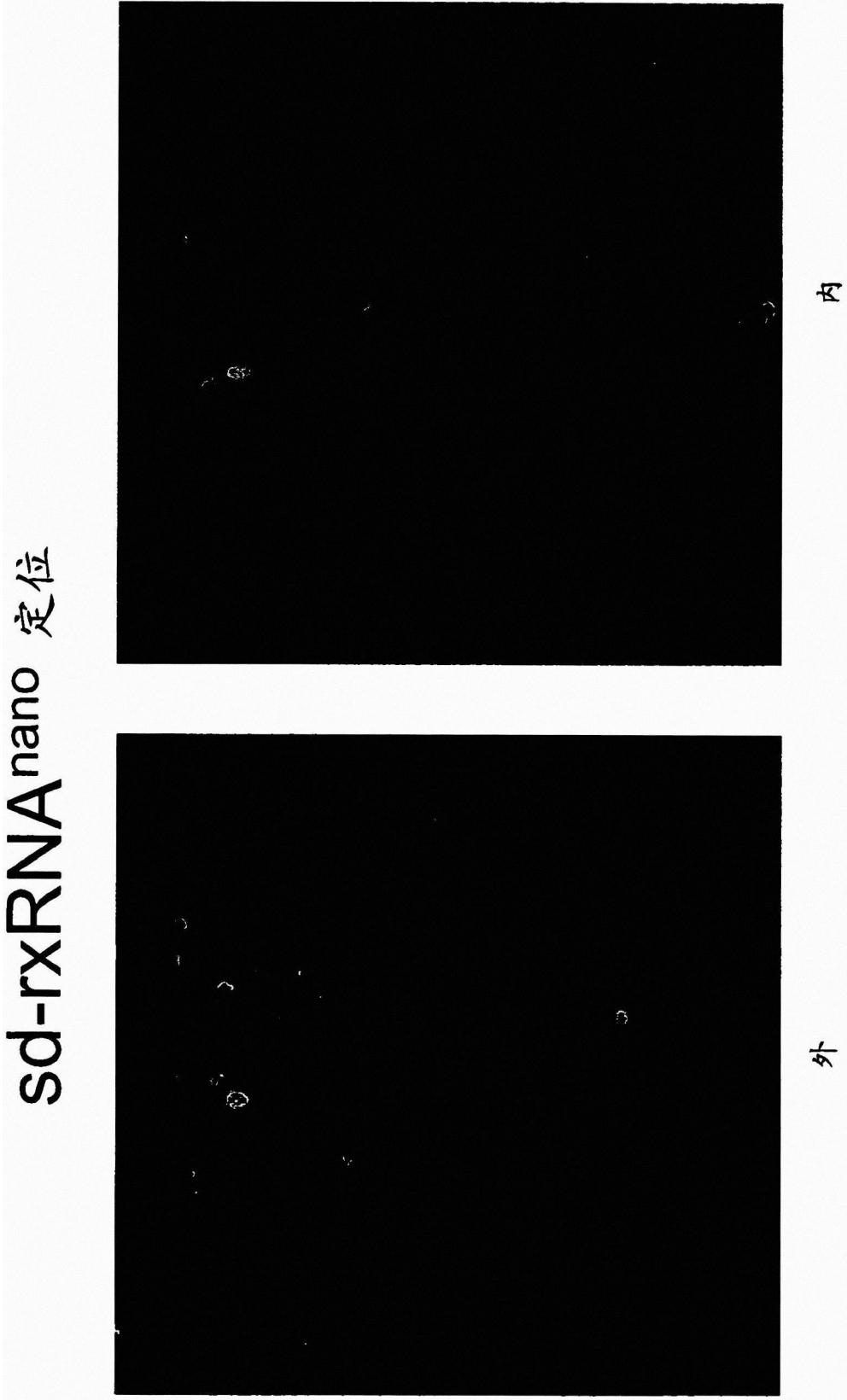


图32

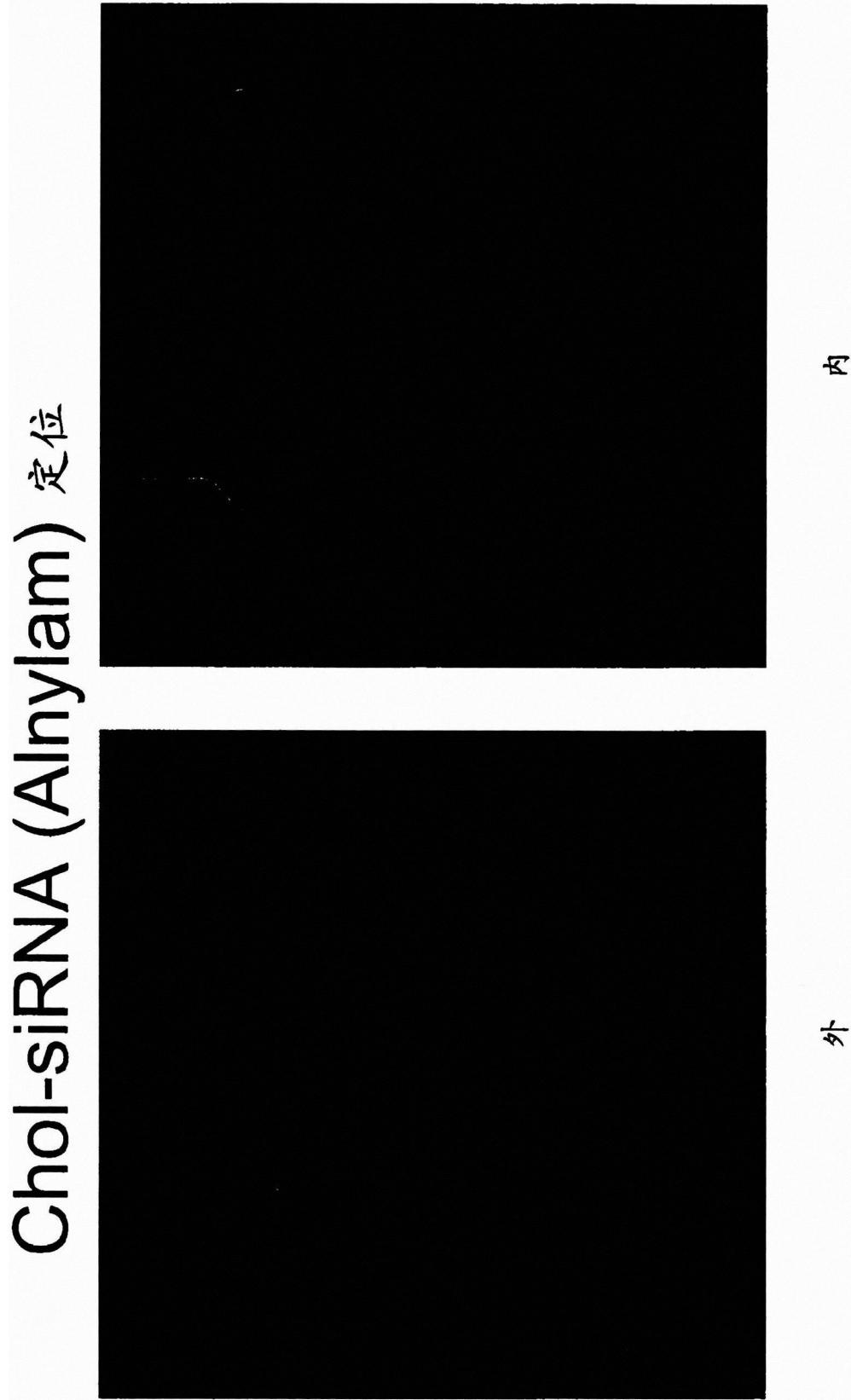
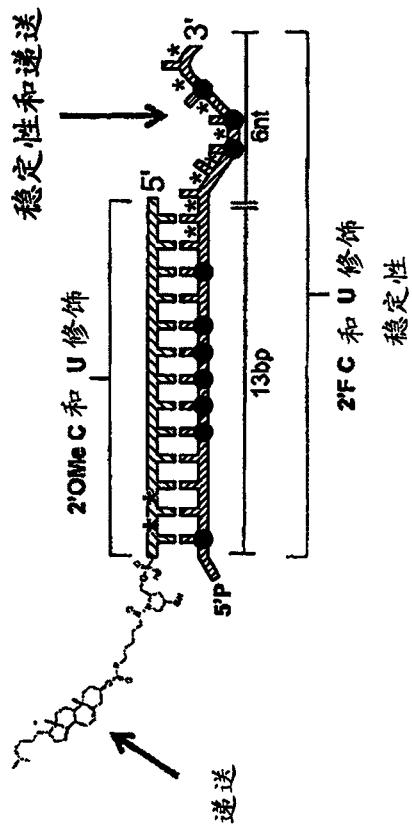


图33

第一代 Sd-rxRNA_{nano}



- 我们为什么要优化化学性质？
 - 提高效力
 - 核苷酸长度
 - PS含量
 - 降低毒性
 - 替换GS上的2'F
 - 递送
 - 接头和甾醇修饰
 - 易于制造
 - 替换OH-PS
- 注
* 硫代磷酸酯
● 2'F

图34

为优化 Sd-rxRNA^{nano} (G1) 而筛选的化学修饰

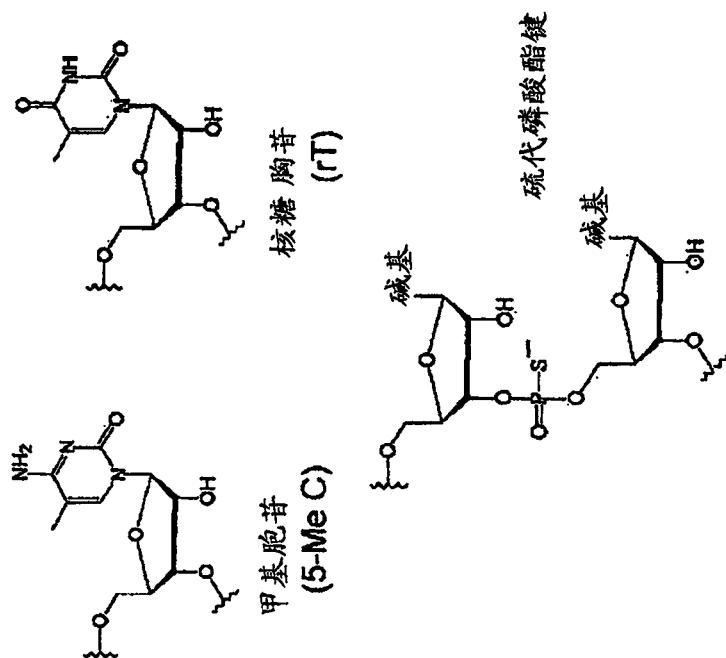


图35

上图从www.dharmacon.com获得

优化GS长度和PS含量

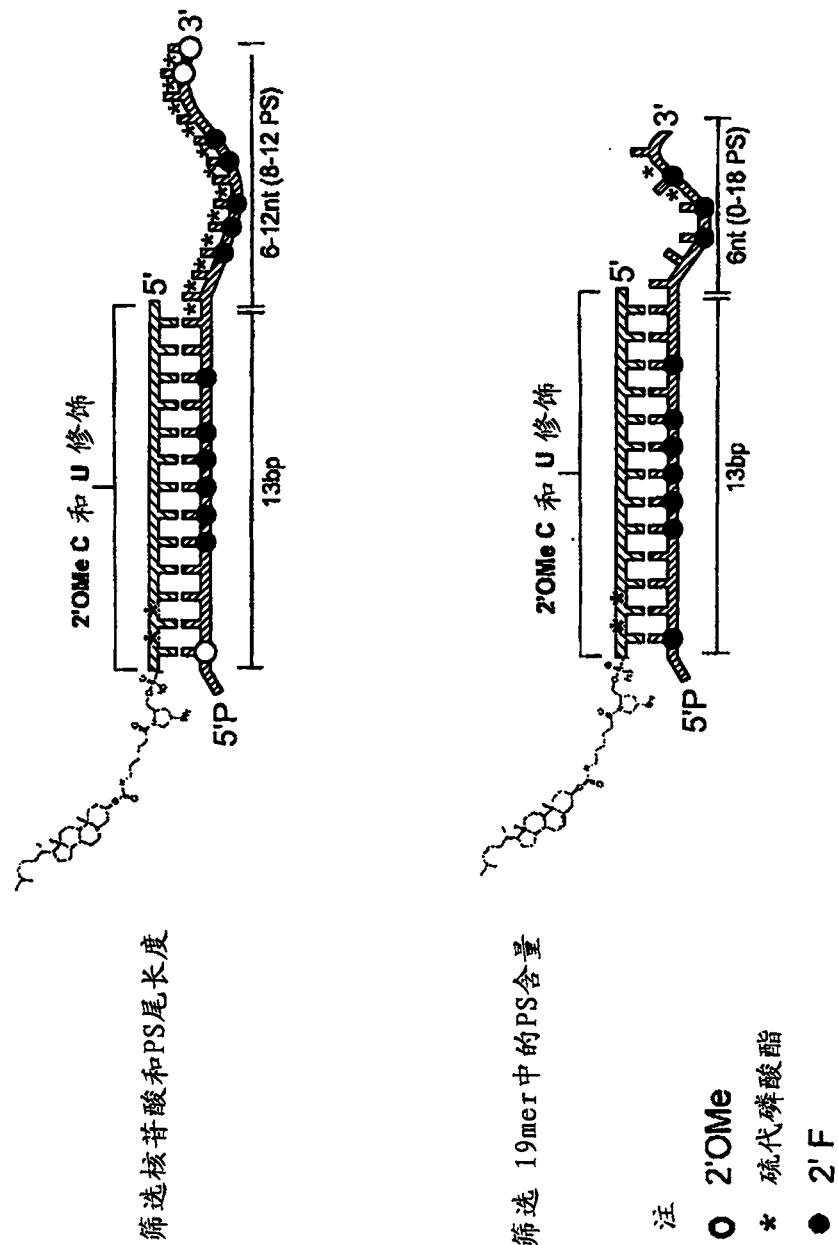


图36

增加核苷酸长度降低了效力

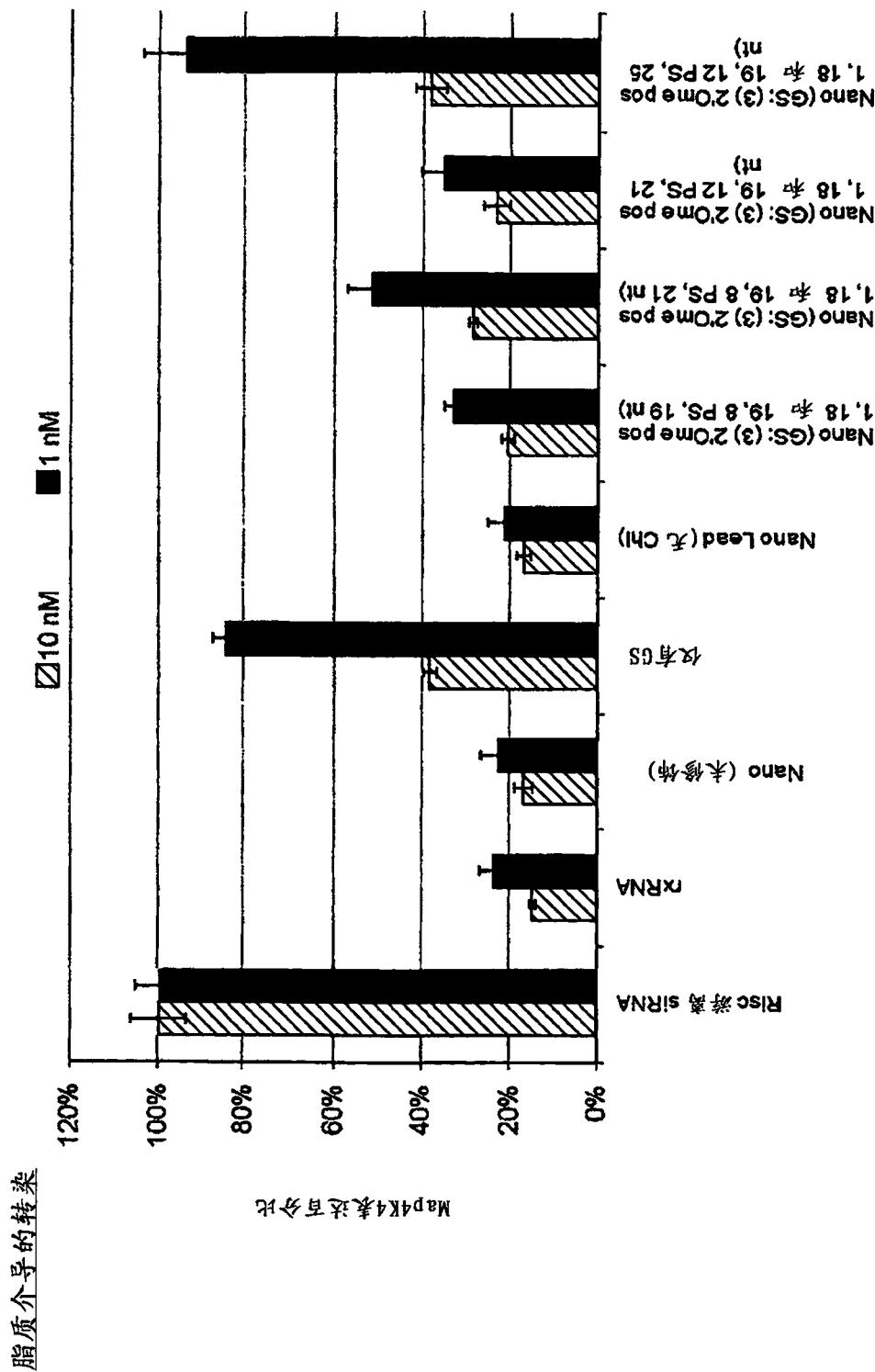


图37

增加核苷酸和/或PS尾长度降低了效力

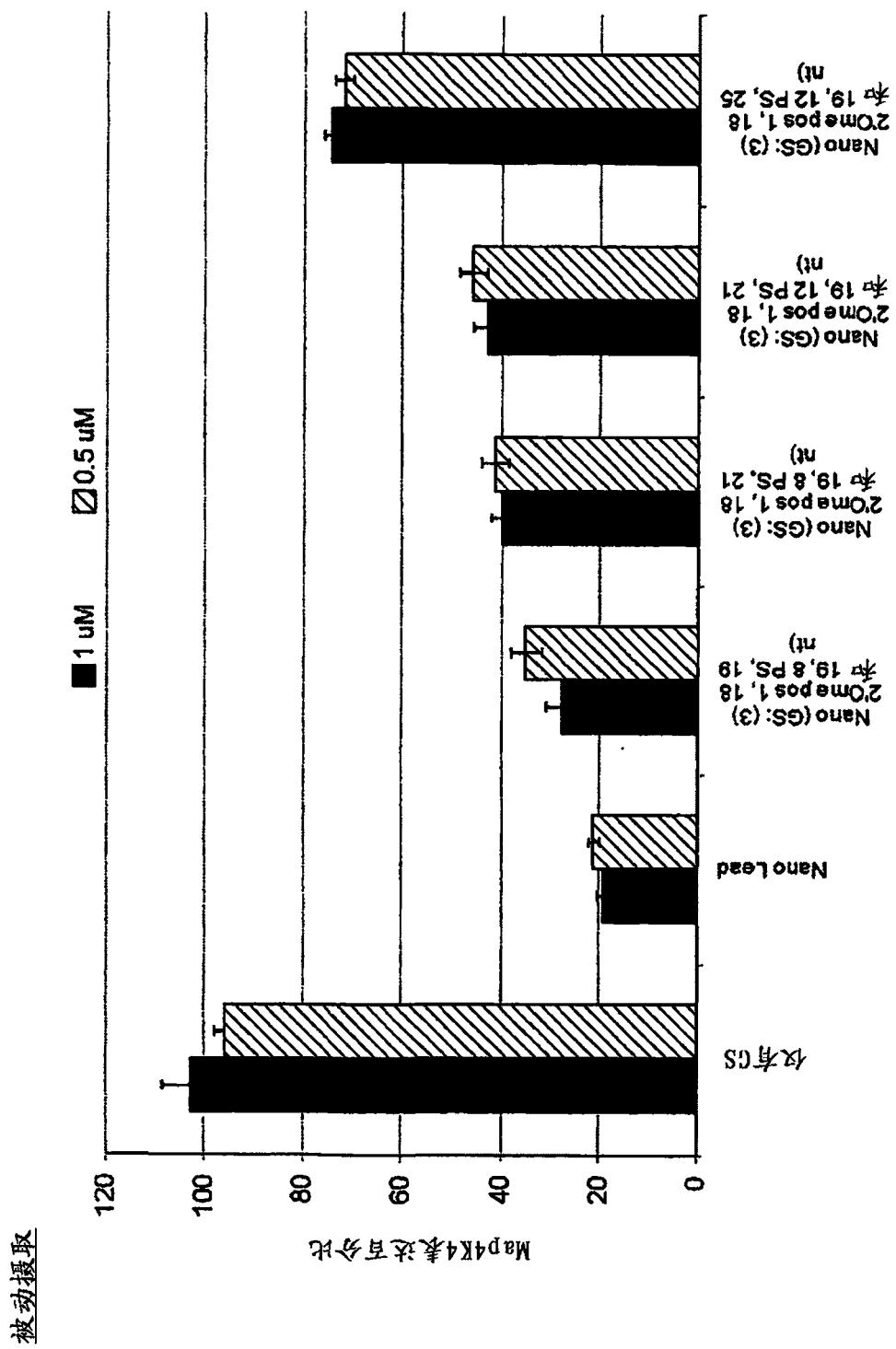


图38

GS (19mer) 中容忍4至10个硫代磷酸酯

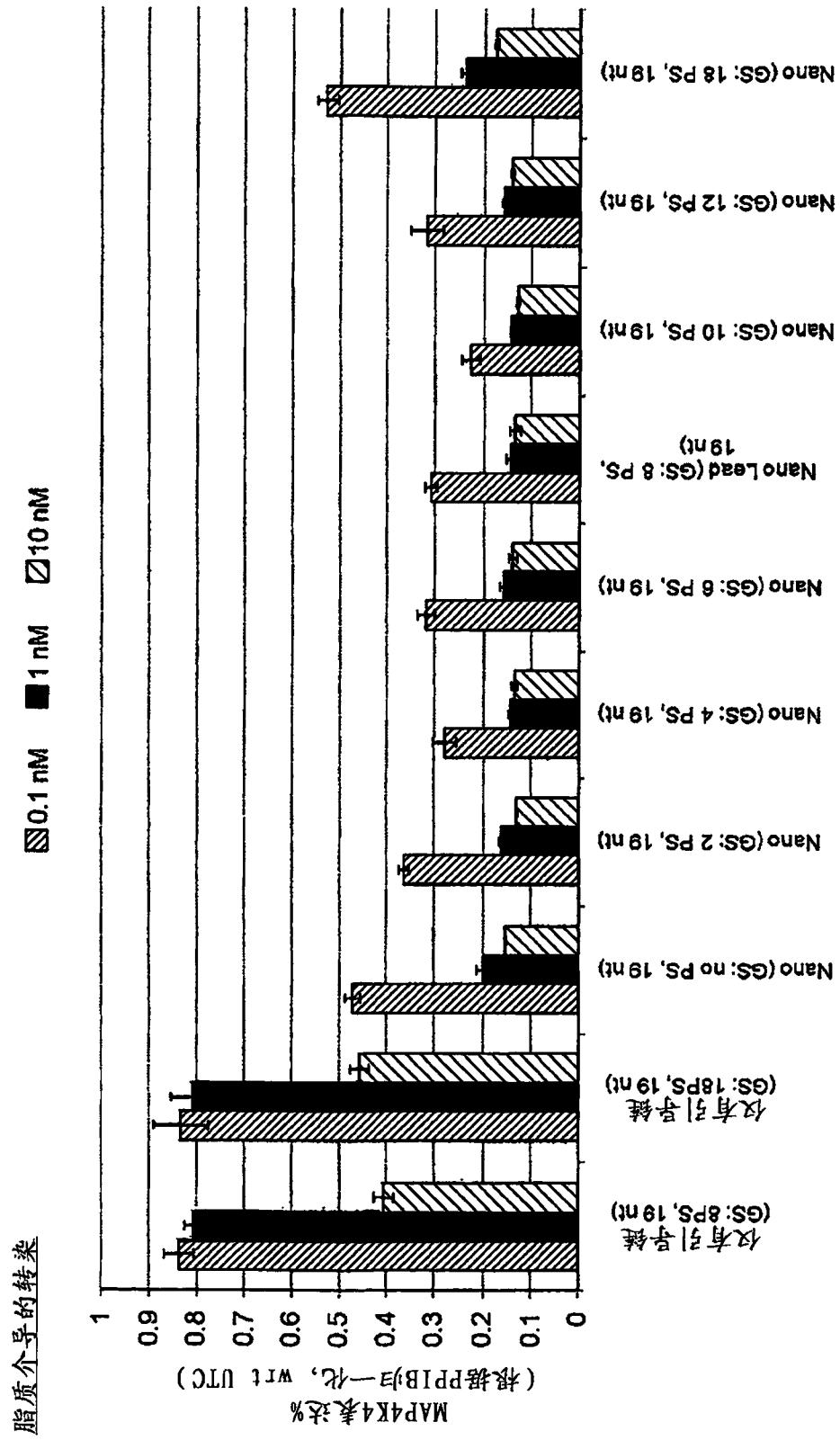


图39

GS (19mer) 中容忍4至10个硫代磷酸酯

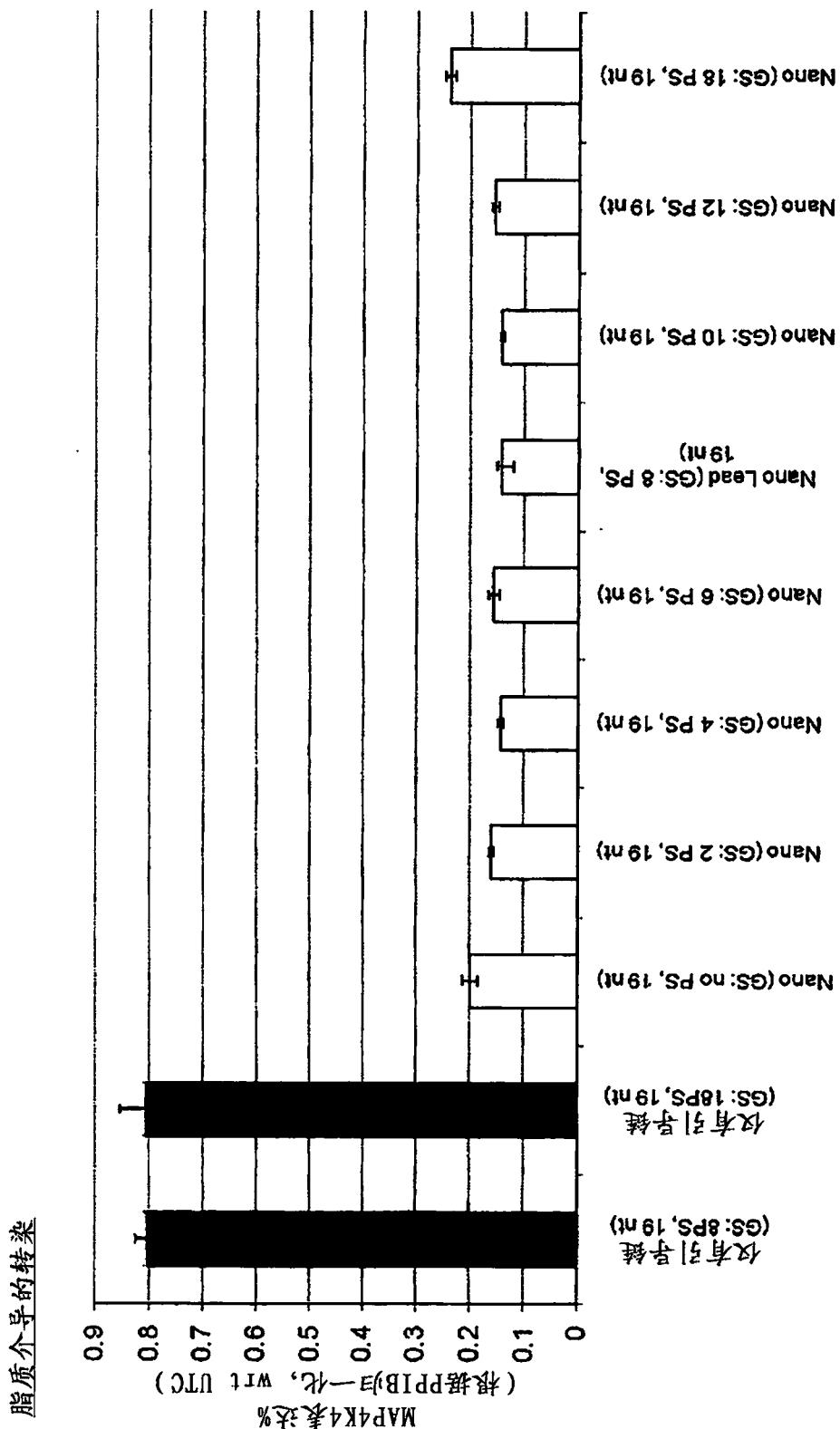


图40

硫代磷酸酯含量对被动摄取很重要

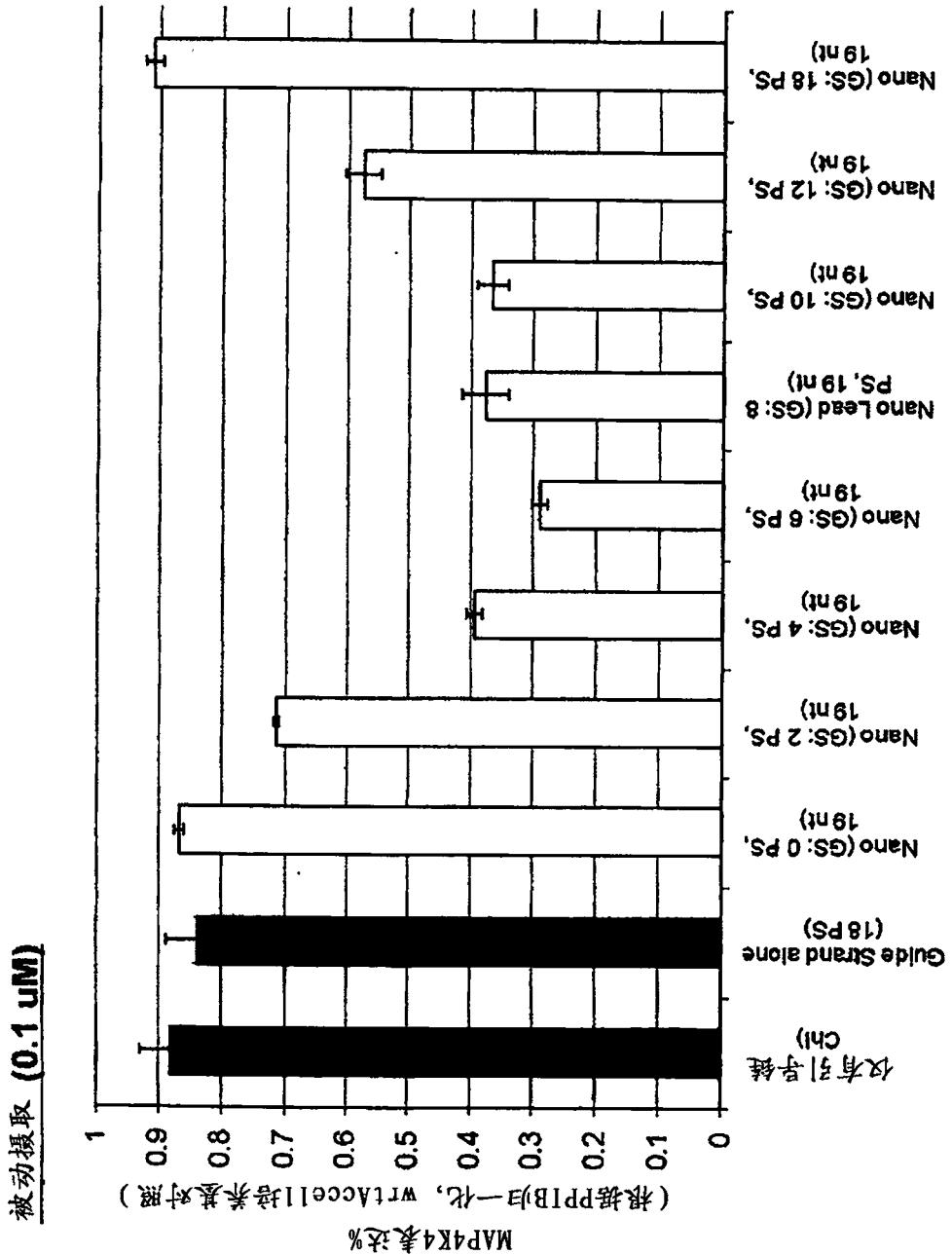


图41

硫代磷酸酯含量对被动摄取很重要

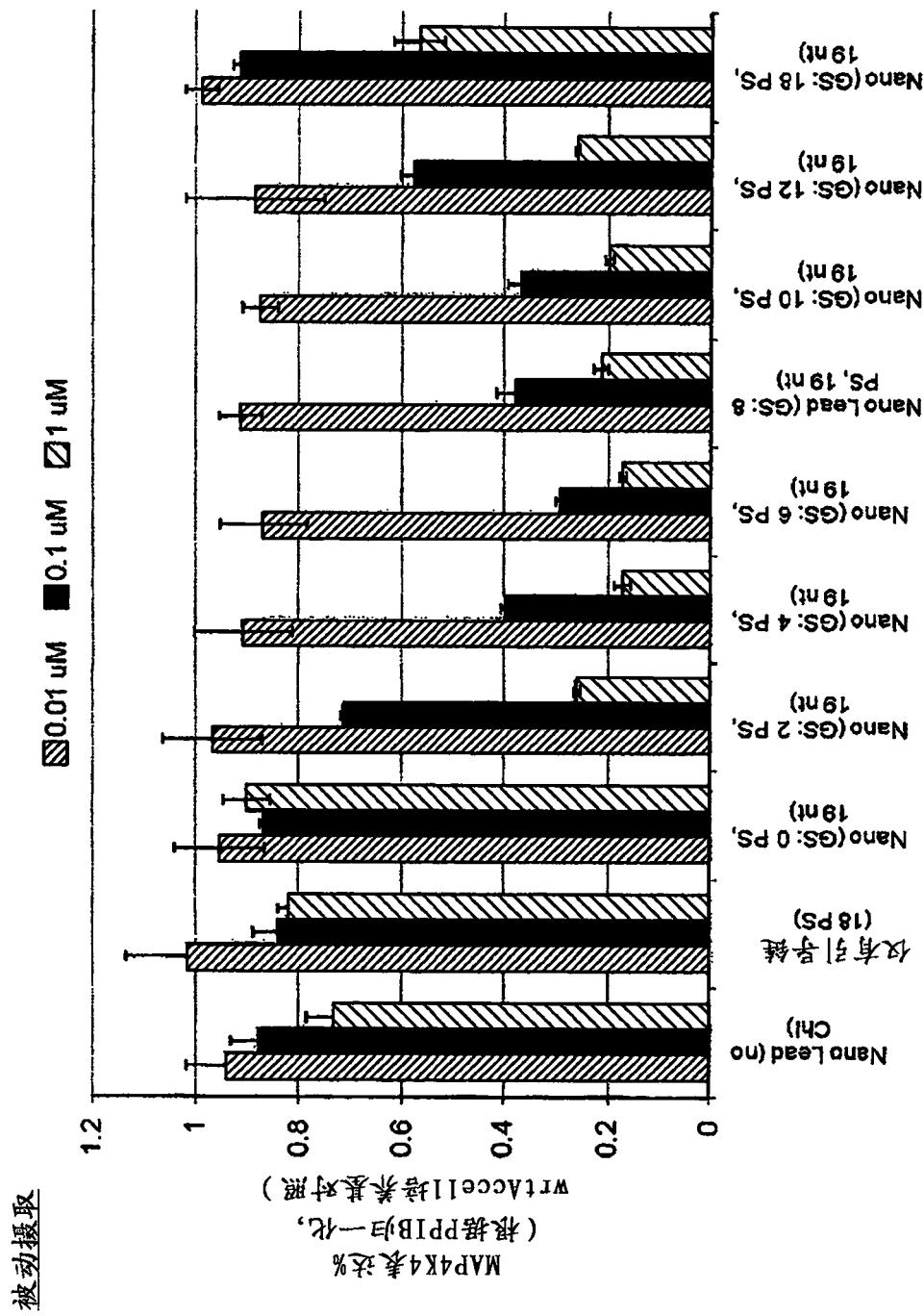


图42

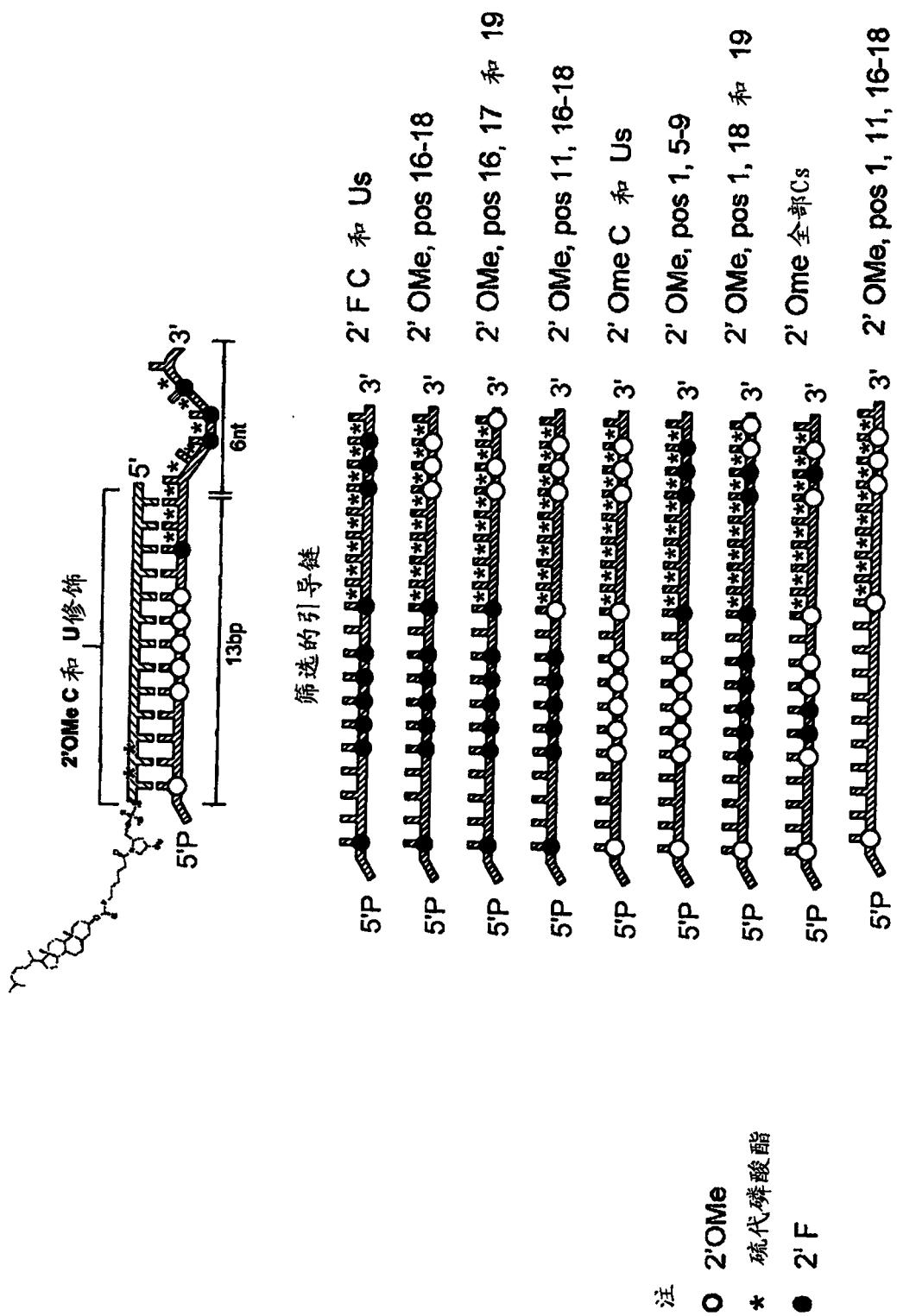


图43

引 导 链 3' 未 端 容 忽 2' OMe

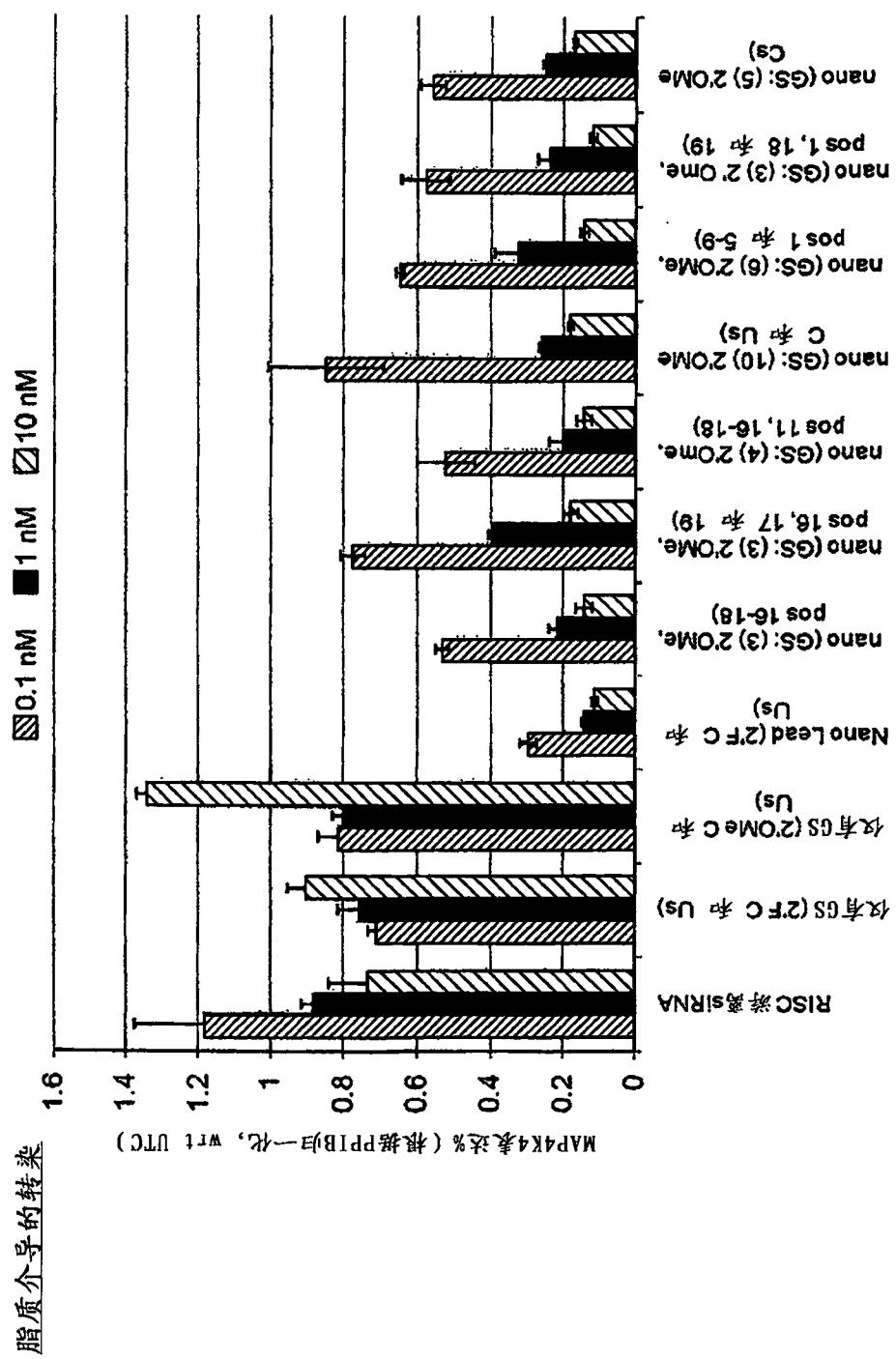


图44

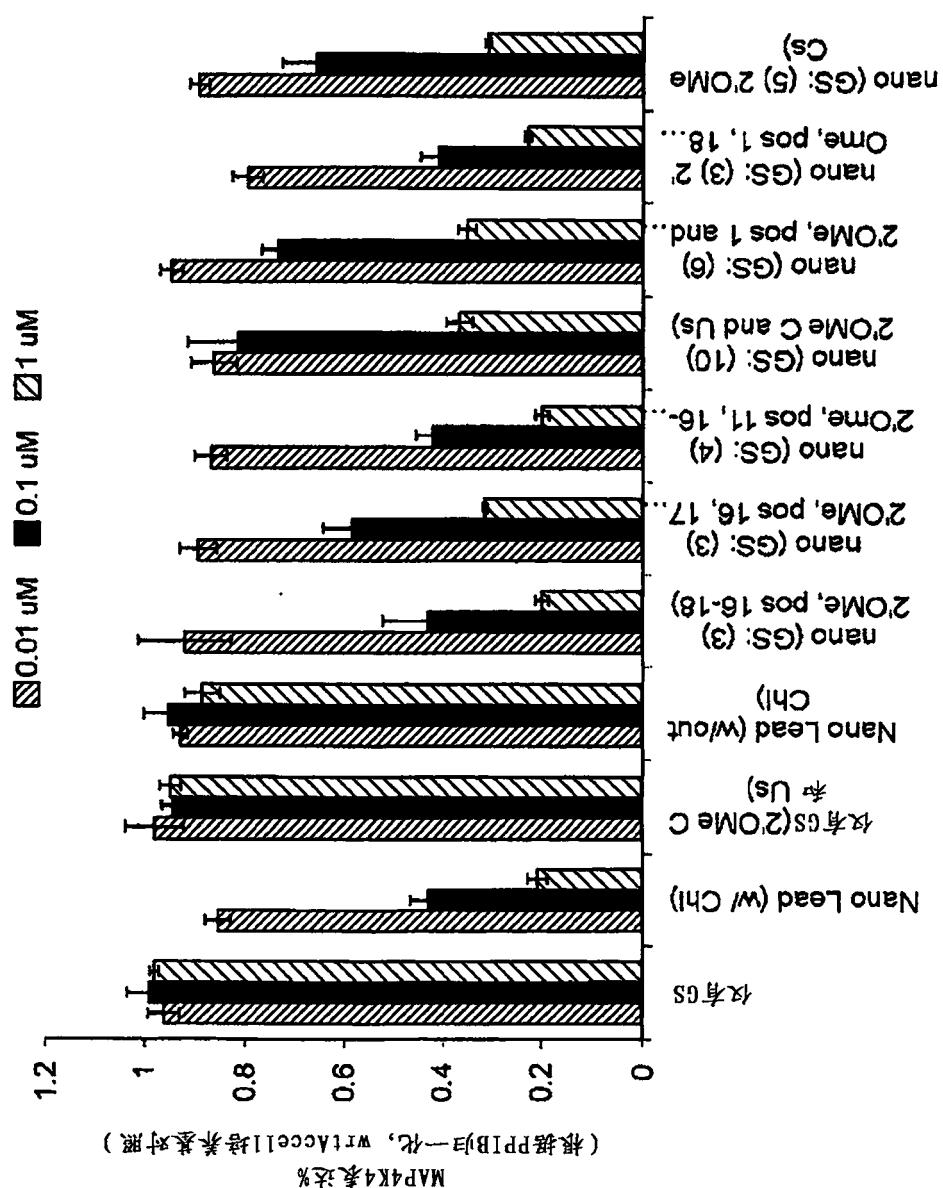
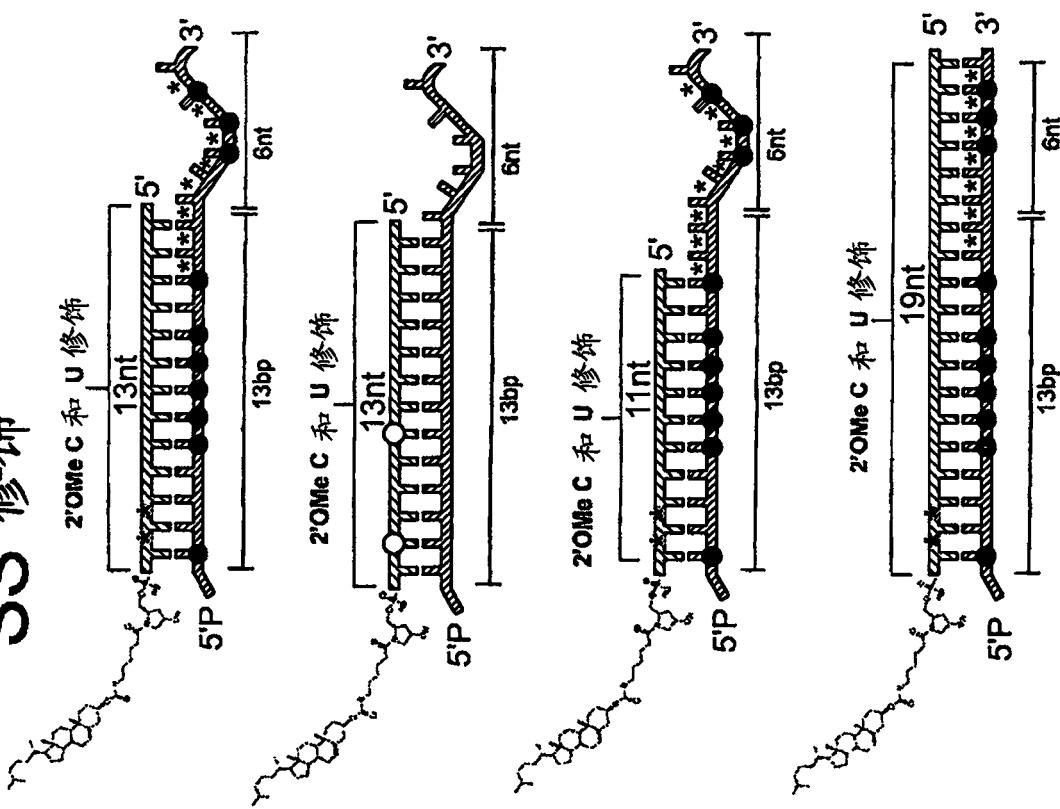


图45

SS 修饰



注
 * 硫代磷酸酯
 ● 2'F
 ○ LNA

图46

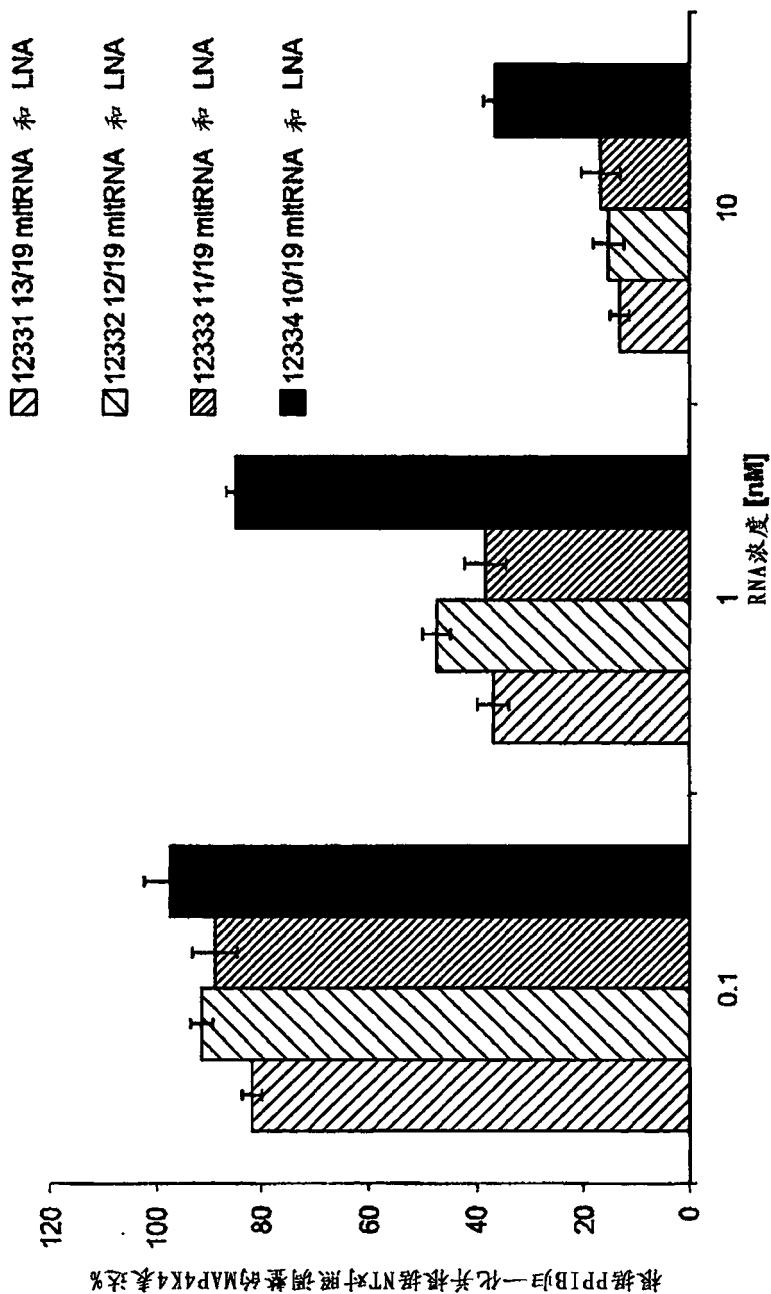


图47

有意义链13碱基的最佳长度

被动摄取

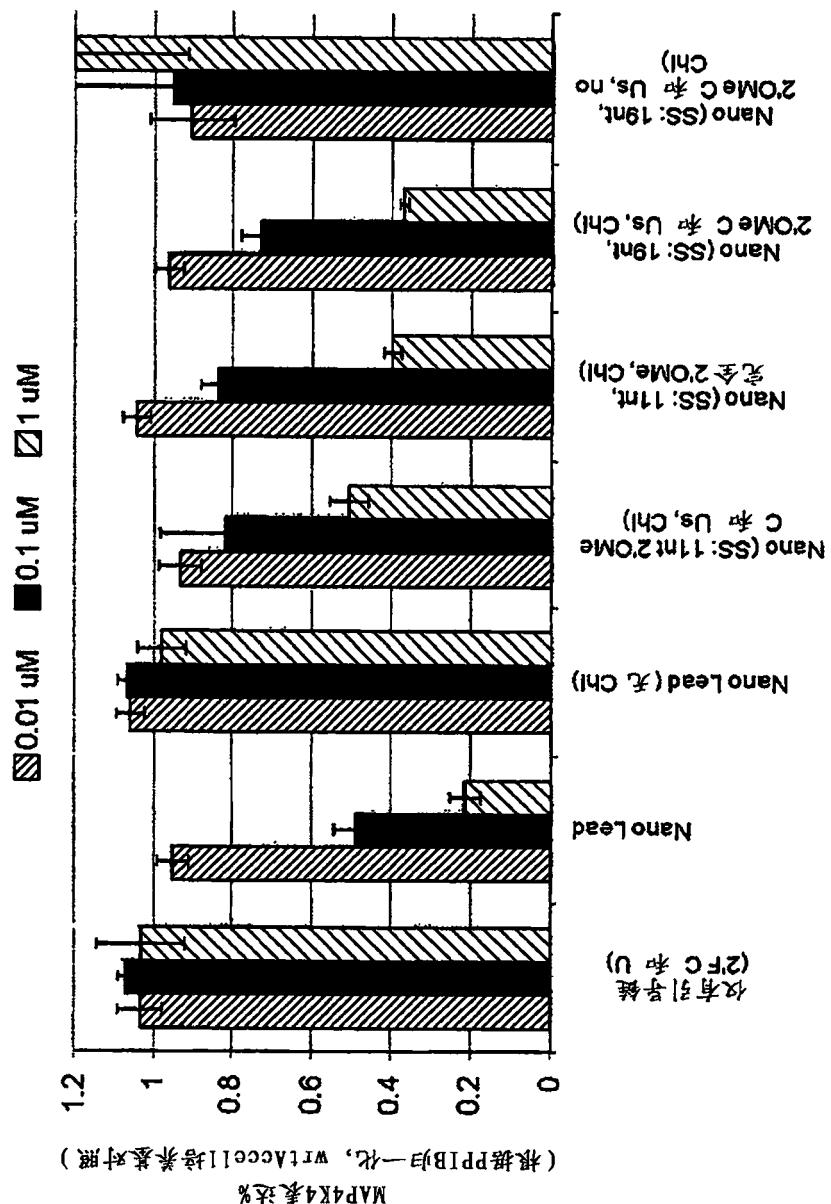


图48

有义链的被动摄取不需要硫代磷酸酯

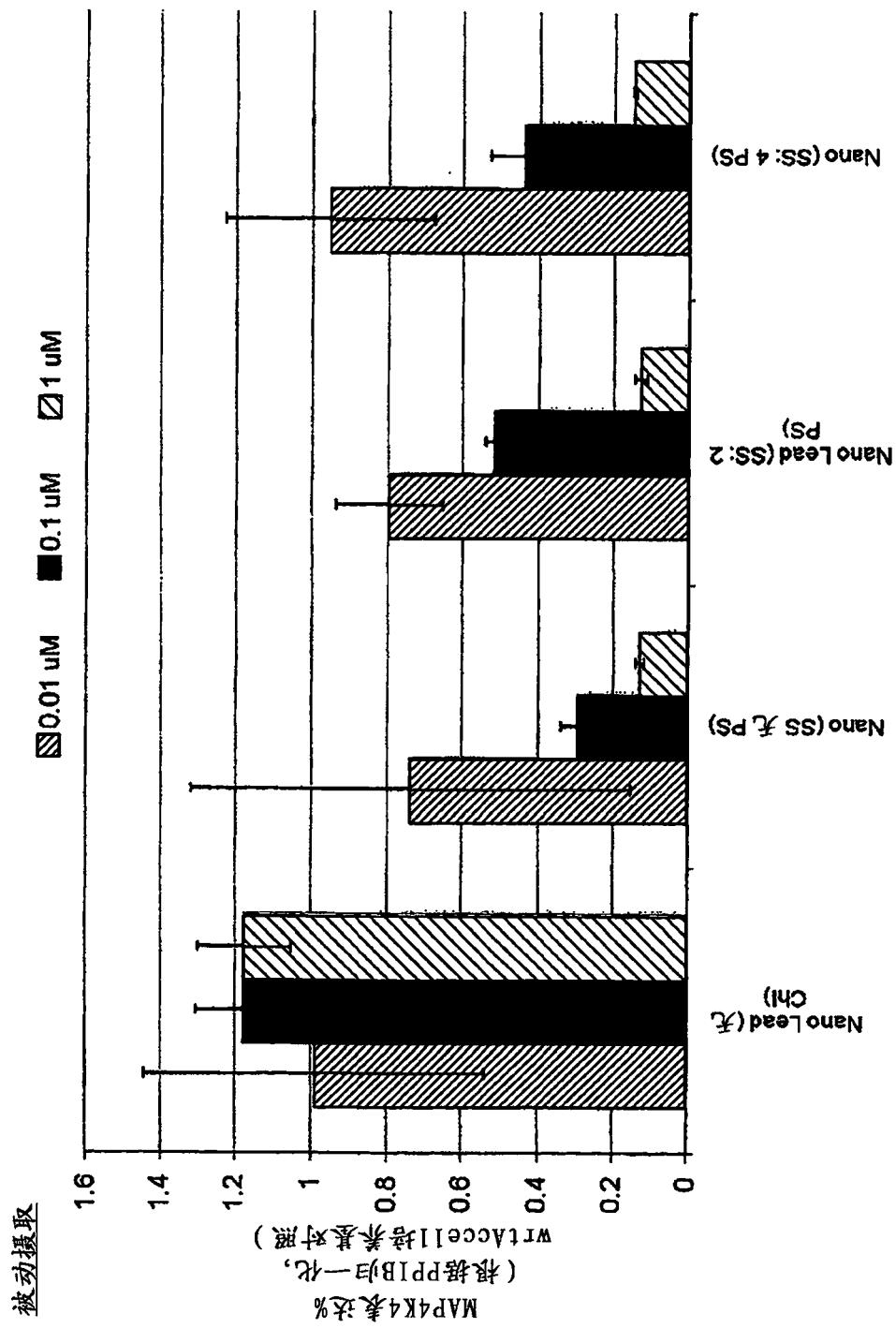
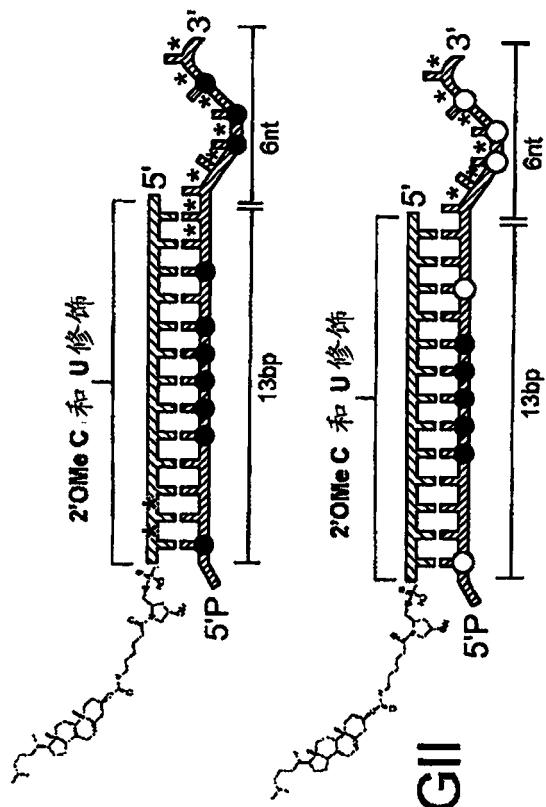


图49

第二代 Sd-rxRNA^{nano} Lead



Sd-rxRNA^{nano} GII

- PS含量降低40%
 - 2' F含量降低40—50%
- 注
- 2'OMe
 - * 硫代磷酸酯
 - 2' F

图50

sd-rxRNA™：无递送载体的自发细胞摄取和效力

- 具有自递送部分的化学修饰双向RNAi分子
- 促进递送（脂质介导的转染）后的皮克摩尔活性
- 细胞培养物中无转染试剂（自递送）的有效摄取 (>95%)
- 被细胞培养物中的大部分细胞类型有效摄取 (>95%)
- 稳定（在100%人血清中多于3天）
- 导致组织扩散；降低肾清除
- 与SC施用相容
- 高特异性（少或无免疫诱导）

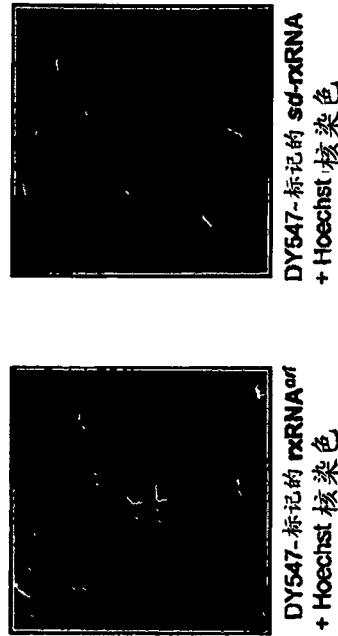
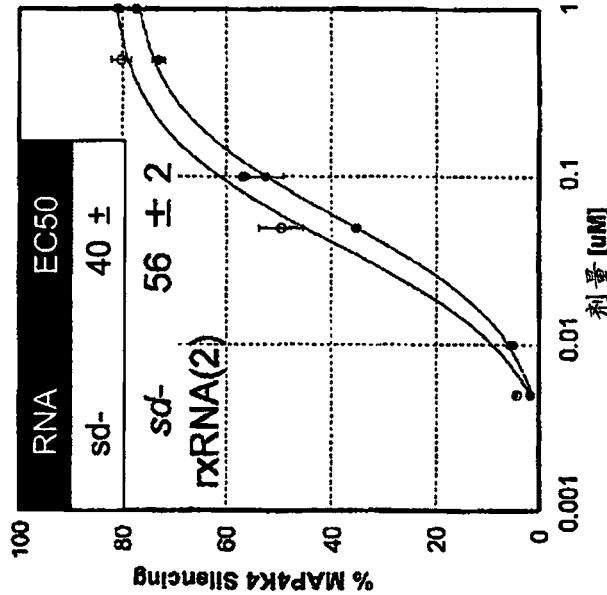
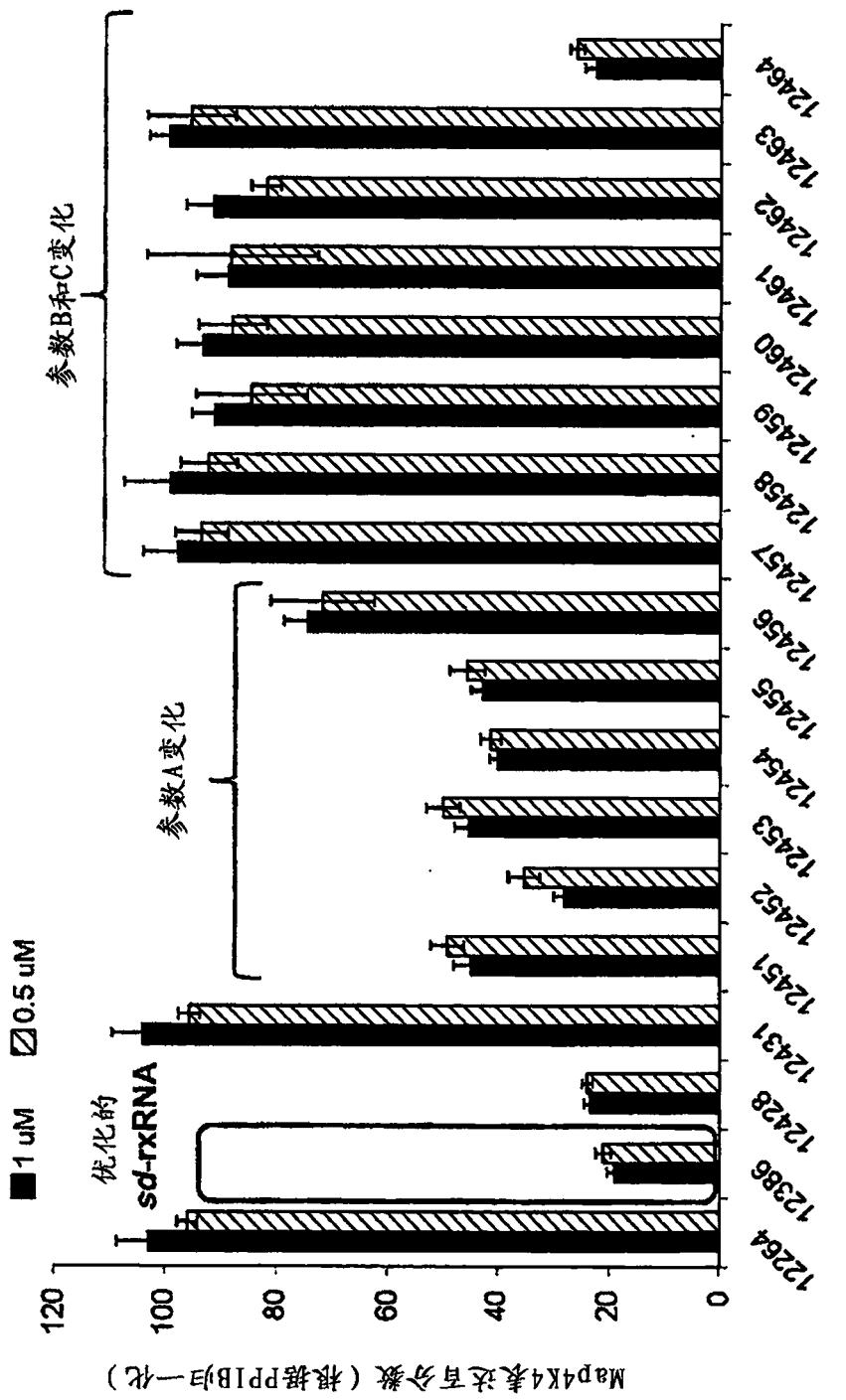


图51

化学性质和构型之间的相互作用
产生的 **Sd-rxRNA™**



- HeLa 细胞; 72 小时
- 改变三种不同参数

图52

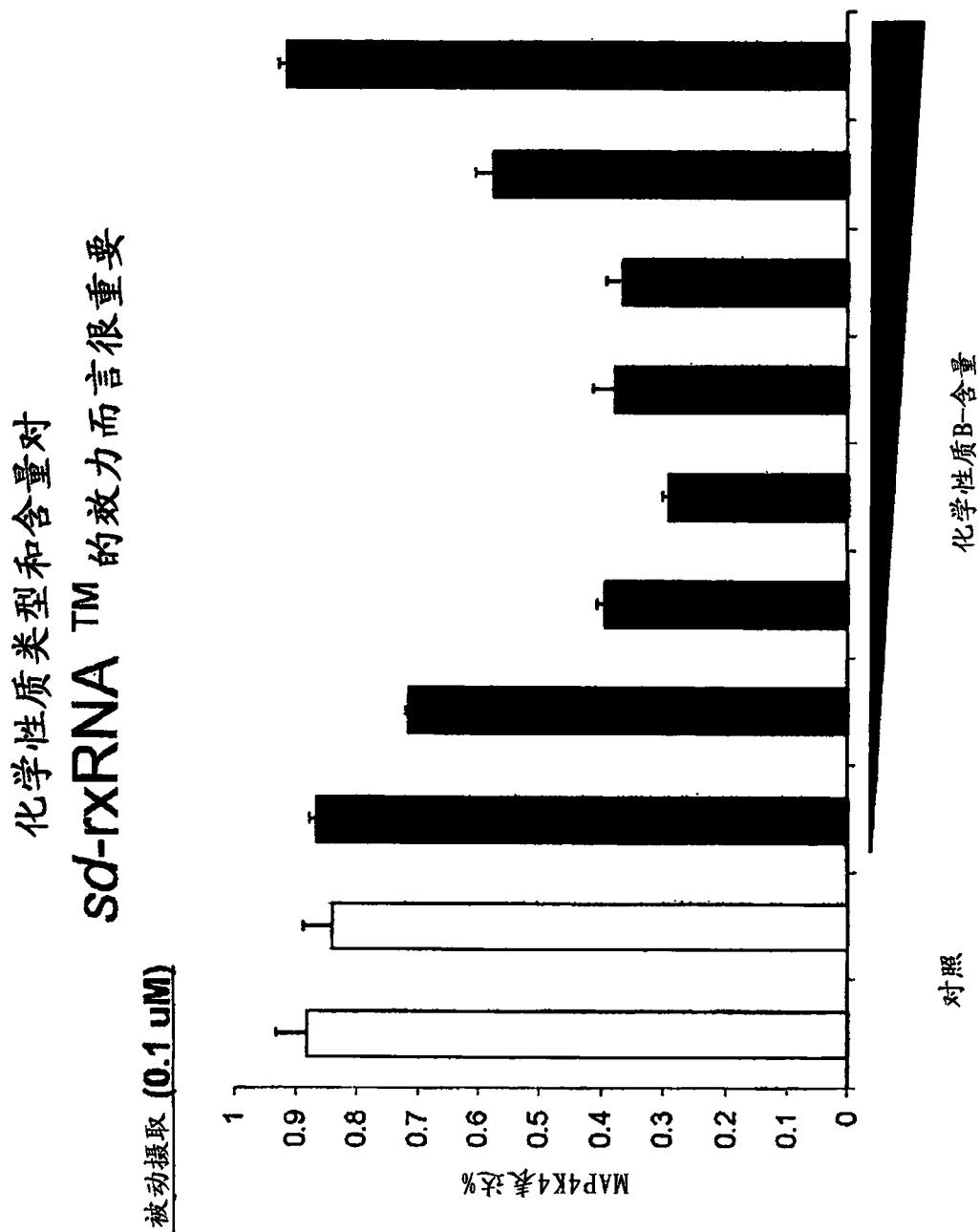


图53

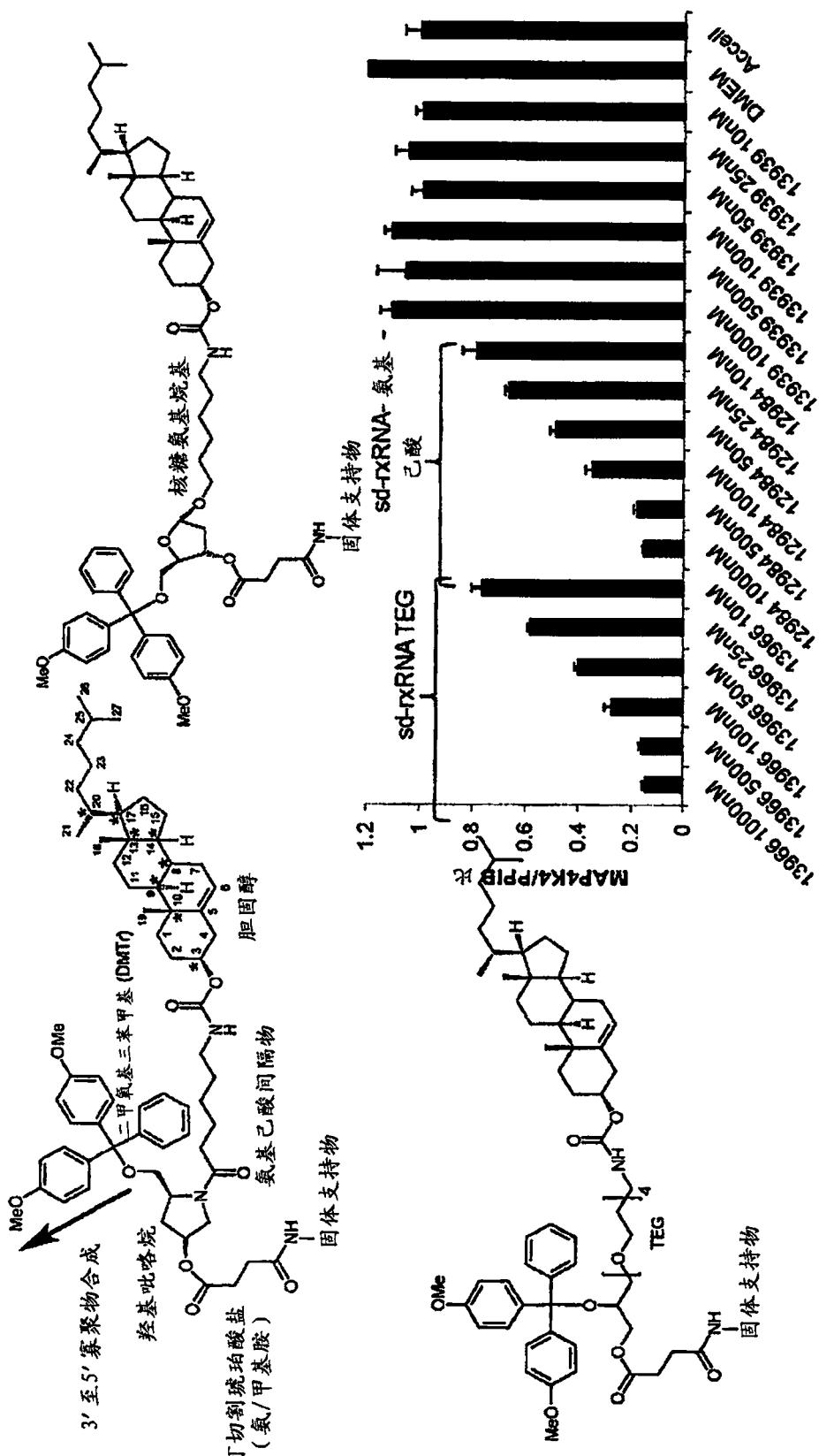
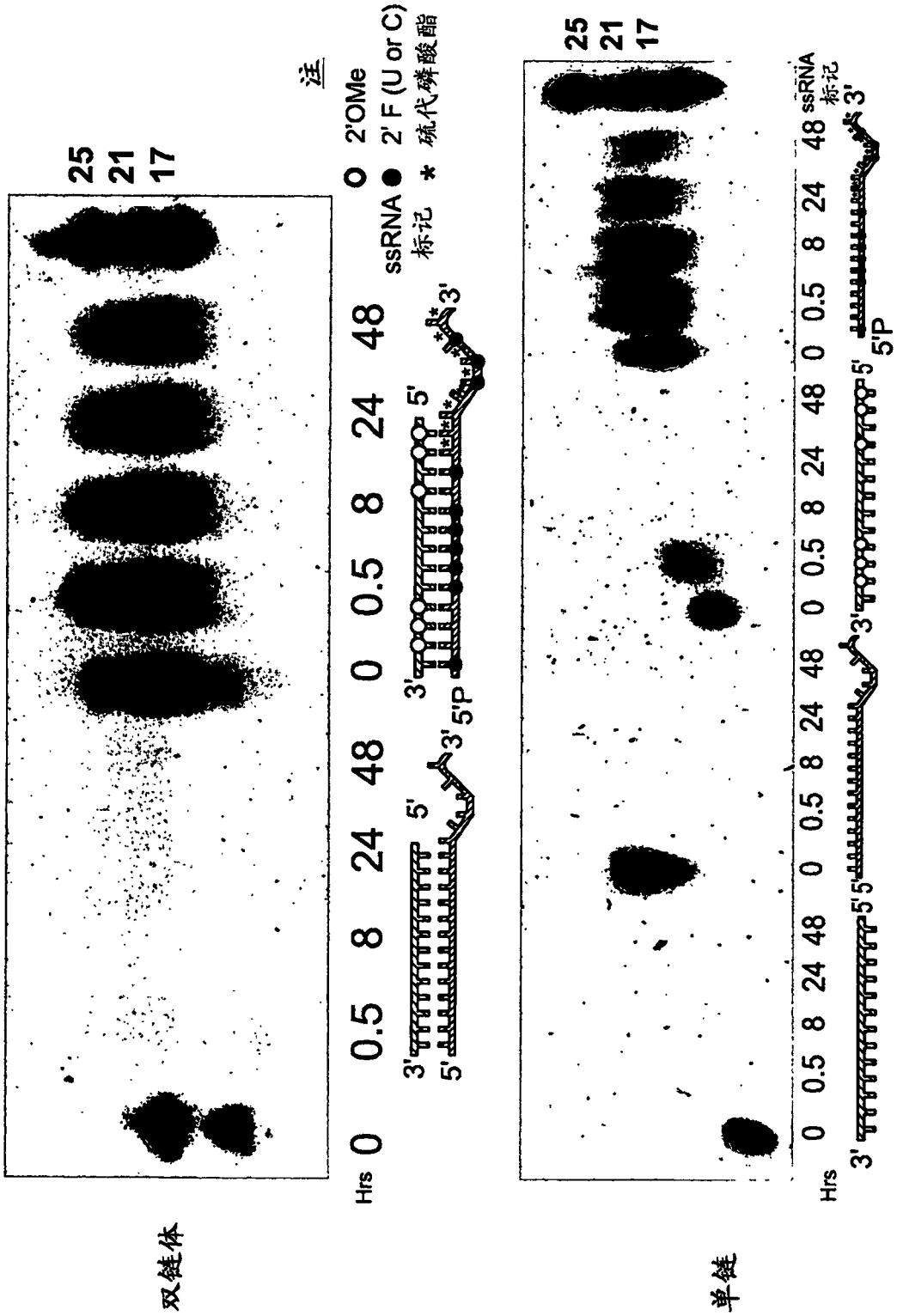


图54



sd-rxRNA™: 使寡核苷酸含量最小化对细胞摄取而言很重要

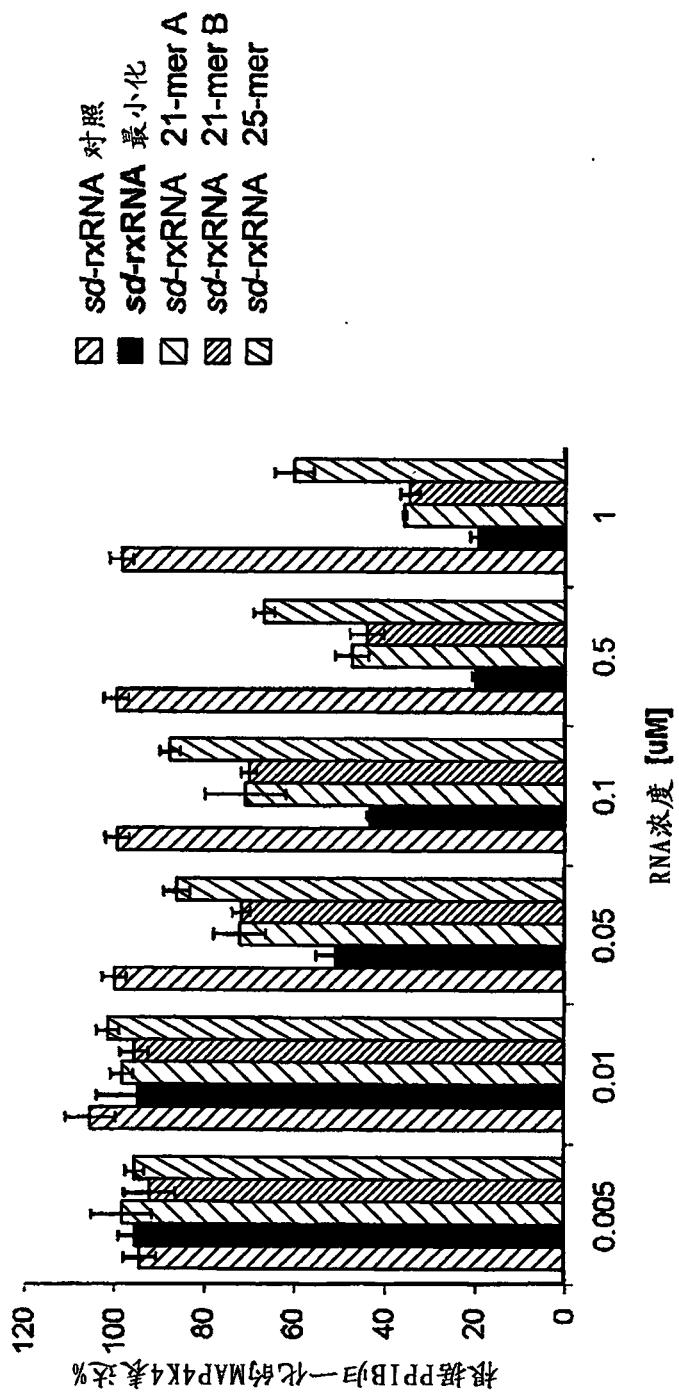
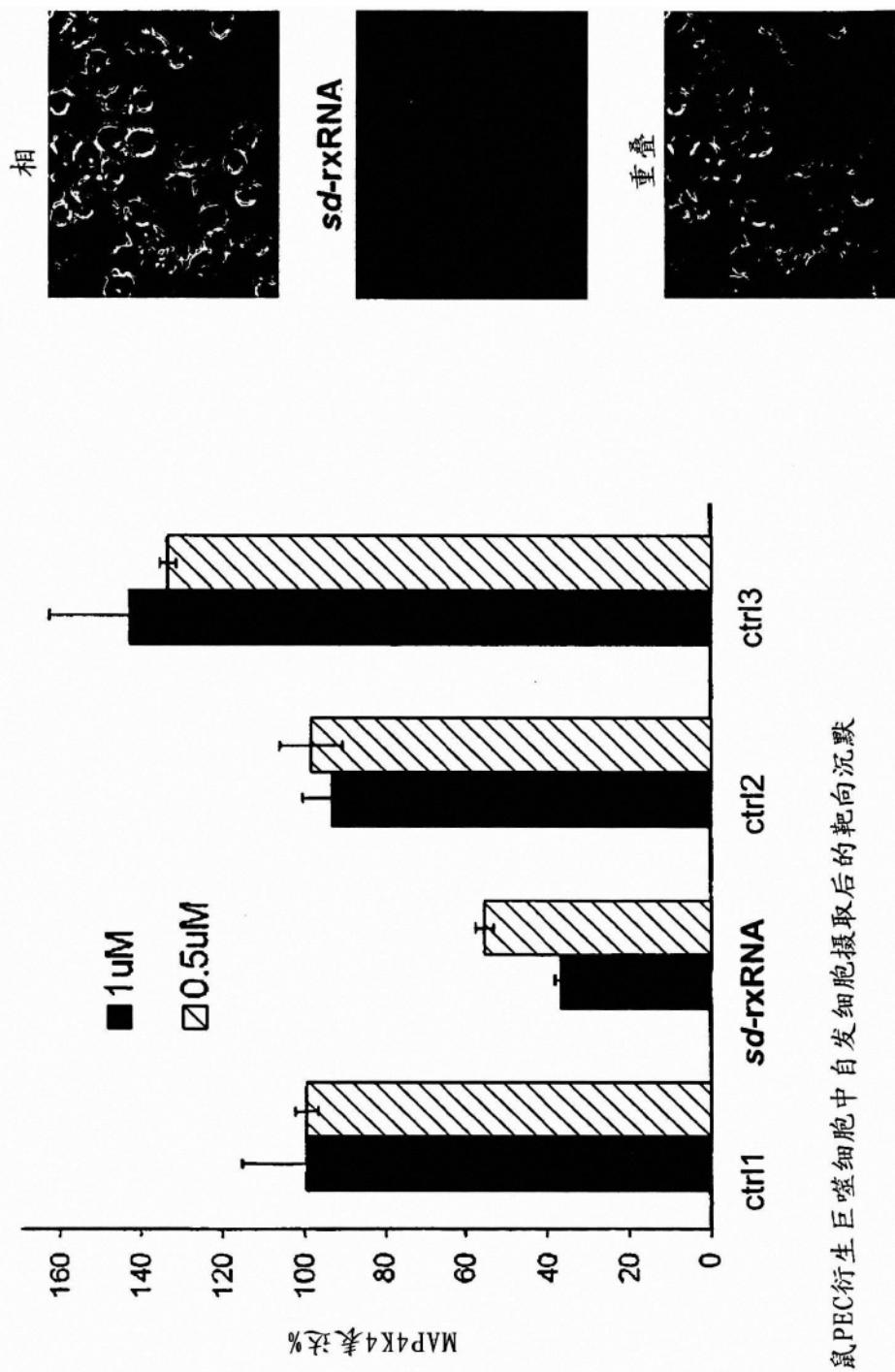


图 56

- 自发细胞摄取 (HeLa)
- Lead **sd-rxRNA** 化合物是基于 **rxRNA^{nano}**
- 使寡核苷酸含量最小化对有效摄取而言很重要

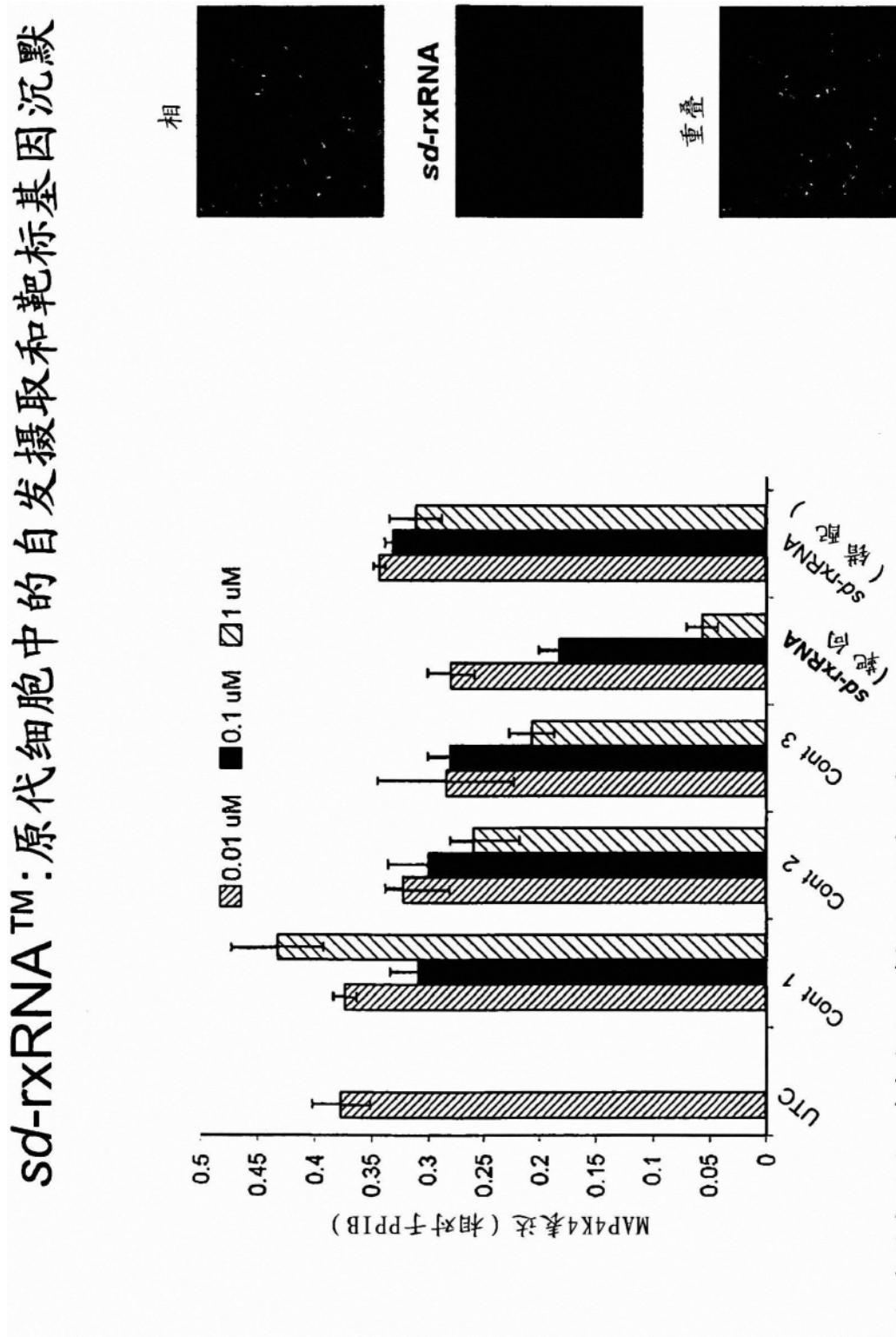
sd-rxRNA™: 原代细胞中的自发摄取和靶标基因沉默



- 小鼠PEC衍生巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶向沉默

图57

sd-rxRNATM: 原代细胞中的自发摄取和靶标基因沉默



- 小鼠原代巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶标敲低

图 58

无需制剂向RPE细胞递送sd-rxRNA

sd-rxRNA^{nano} 竞争结合物*

*Soutschek et al (2004) *Nature*, 432:173

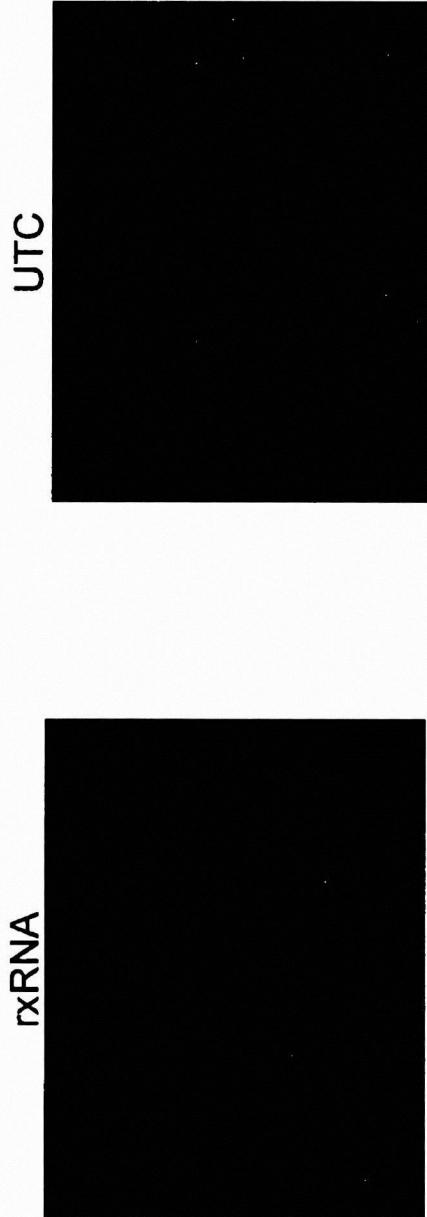


图59

用 $sd\text{-rxRNA}^{nano}$ 处理 RPE 细胞沉默 MAP4K4

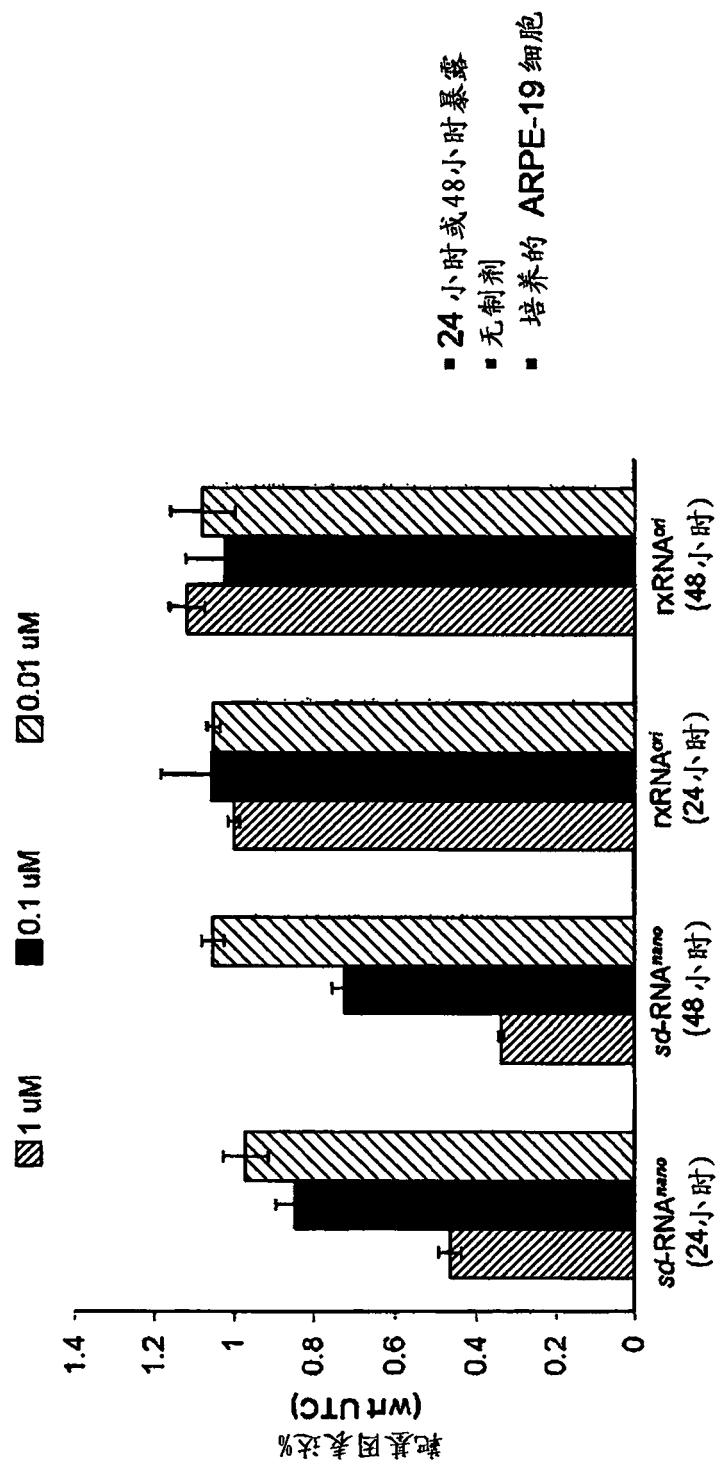


图60

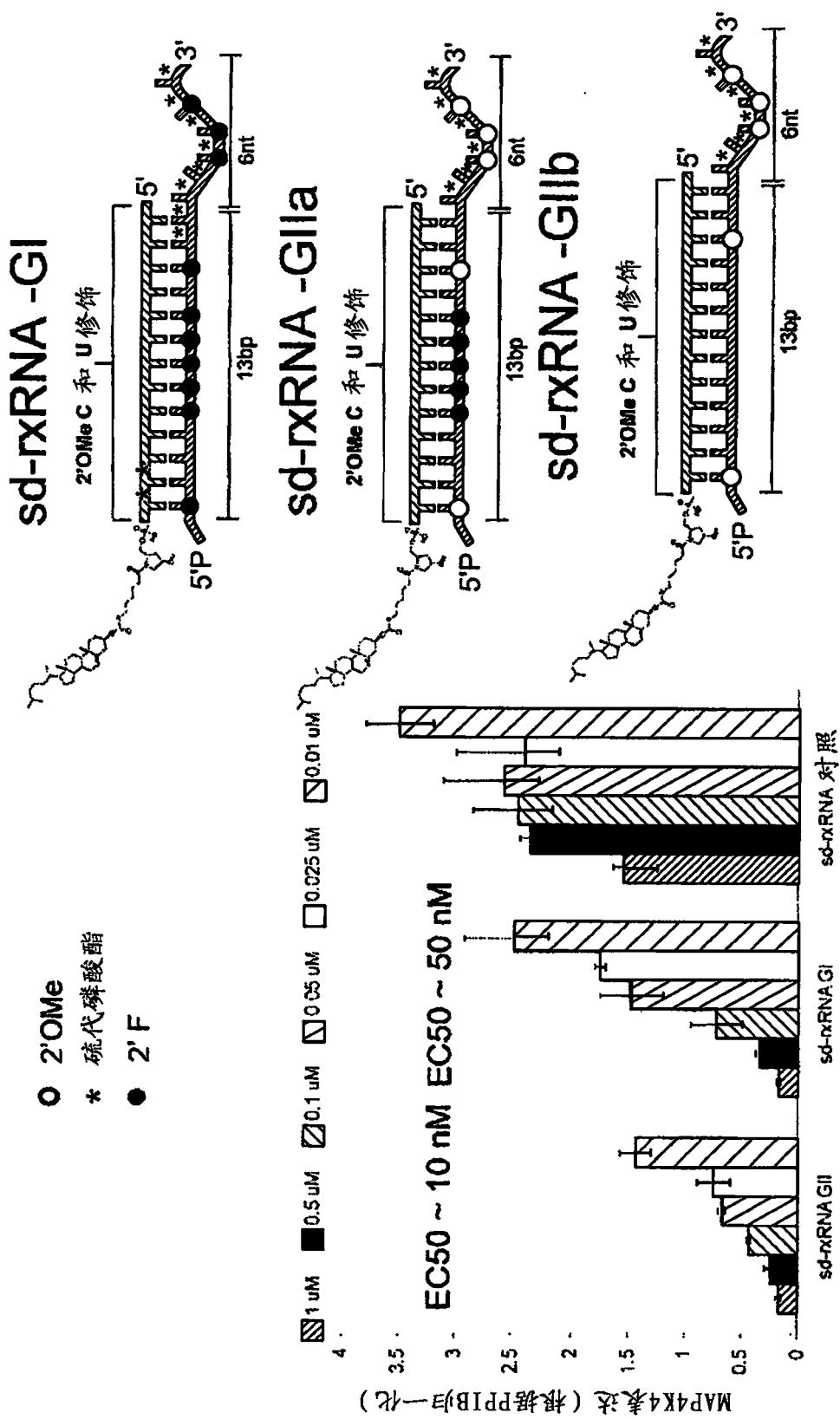


图61

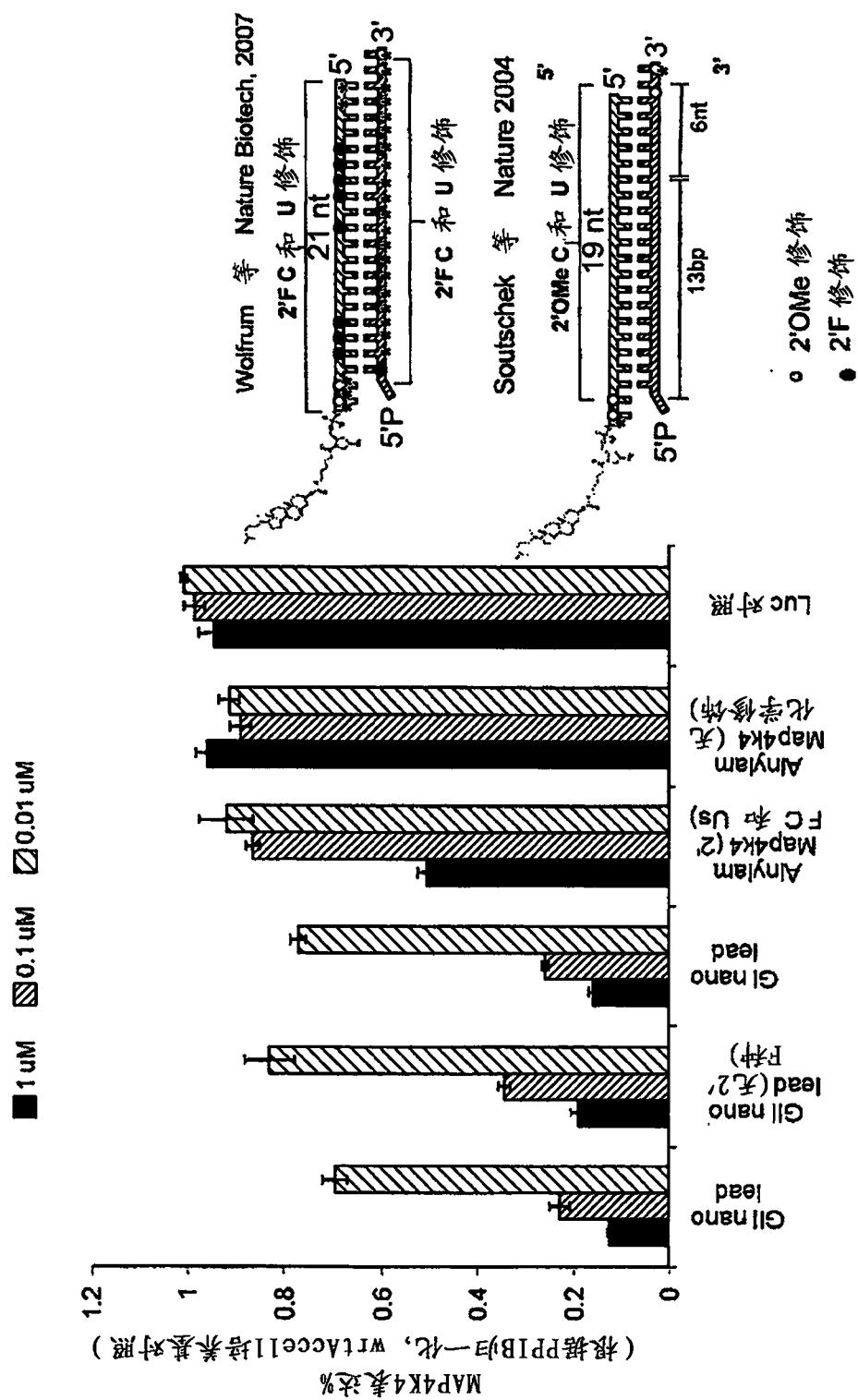
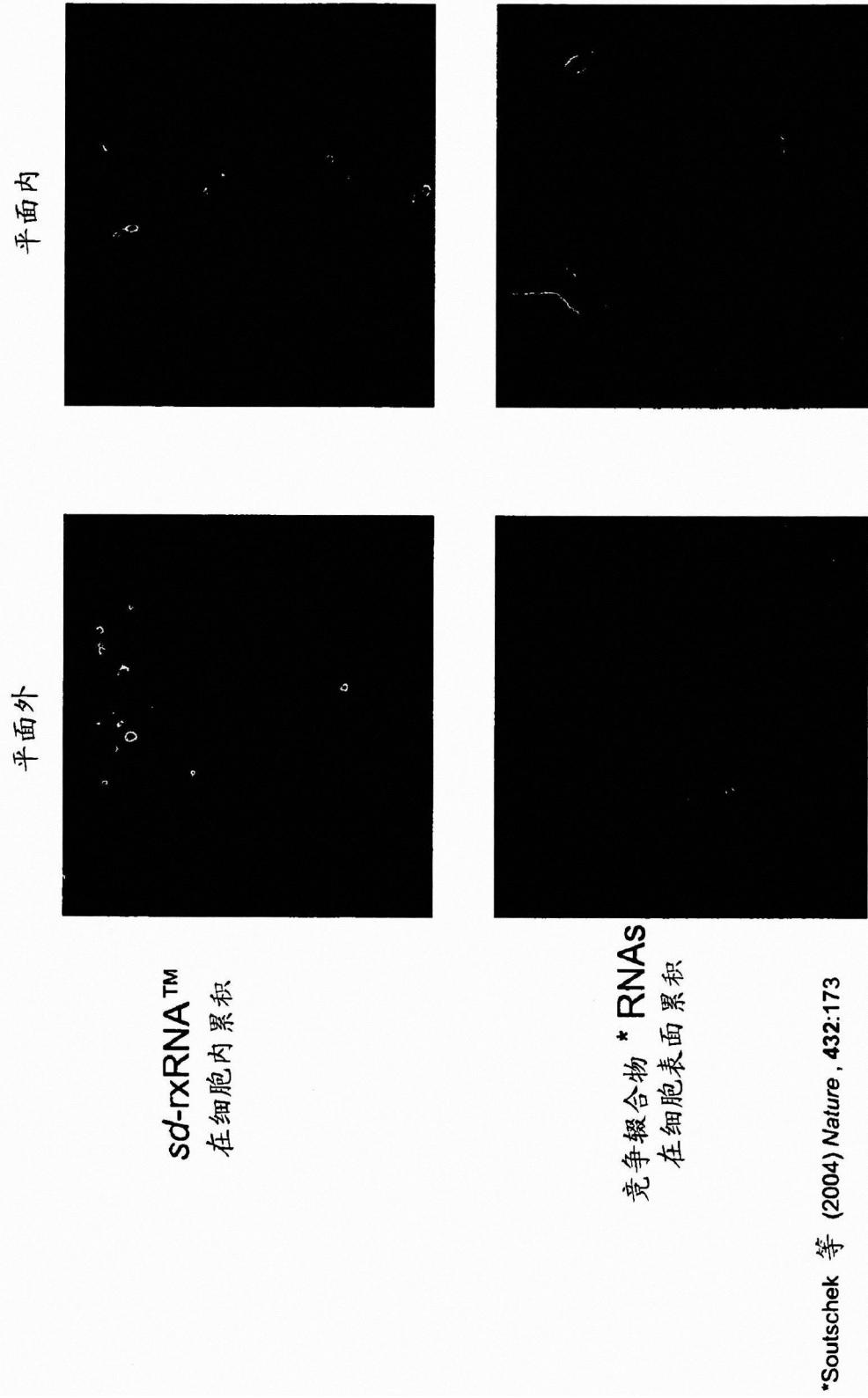


图62

sd-rxRNA™ 被有效递送到胞质



*Soutschek 等 (2004) *Nature*, 432:173

图63

sd-rxRNA™ 在几分钟内被内化，竞争分子则不然



sd-rxRNA™

*Soutschek 等 (2004) *Nature*, 432:173
竞争复合物 * RNAs

< 5 分钟暴露 (HeLa 细胞)

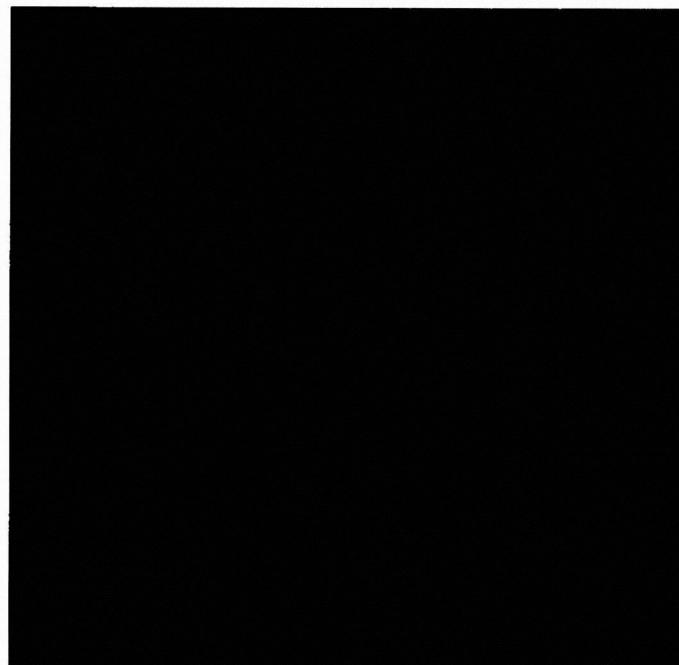


图64

Sd-rxRNA GII 常规 SiRNA-胆固醇 (Soucheck 等 2004)

组织培养
RPE 细胞 (0.5 uM)
局部递送至损伤的皮肤
10 ul (1mM 溶液)
全身性递送
(50 mg/ kg IV)
肝摄取

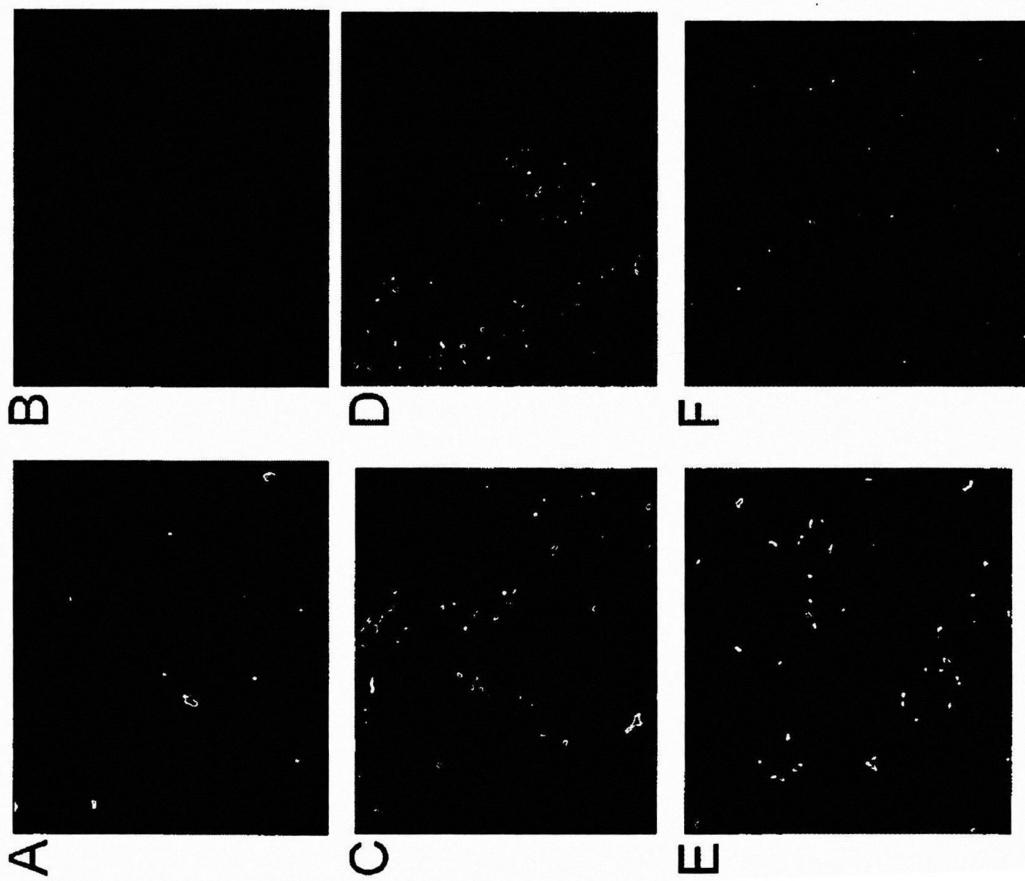
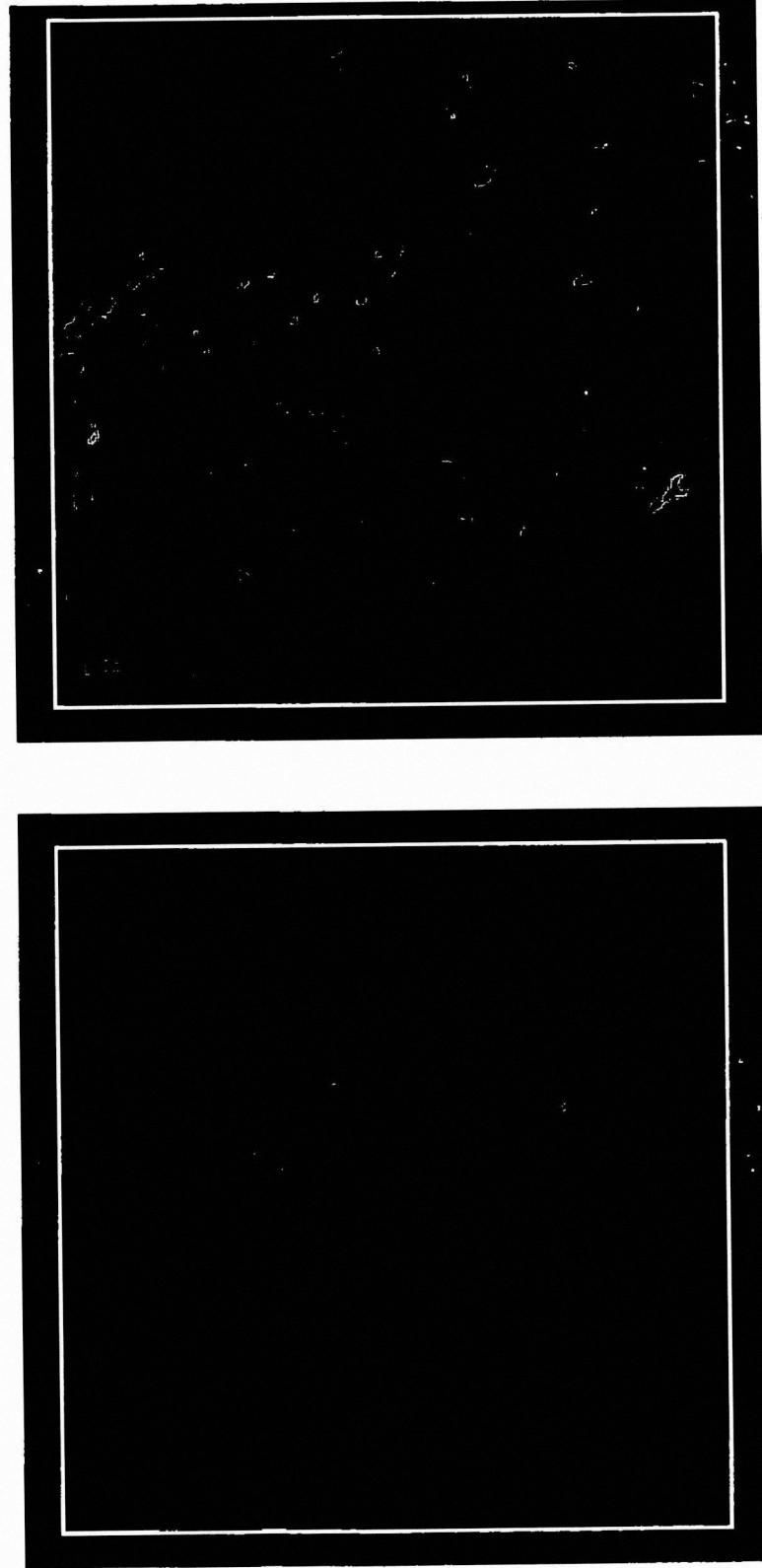


图65

$sd\text{-}rxRNA}^{\text{TM}}$ 的局部递送：实验性研究

$rxRNA^{ori}$



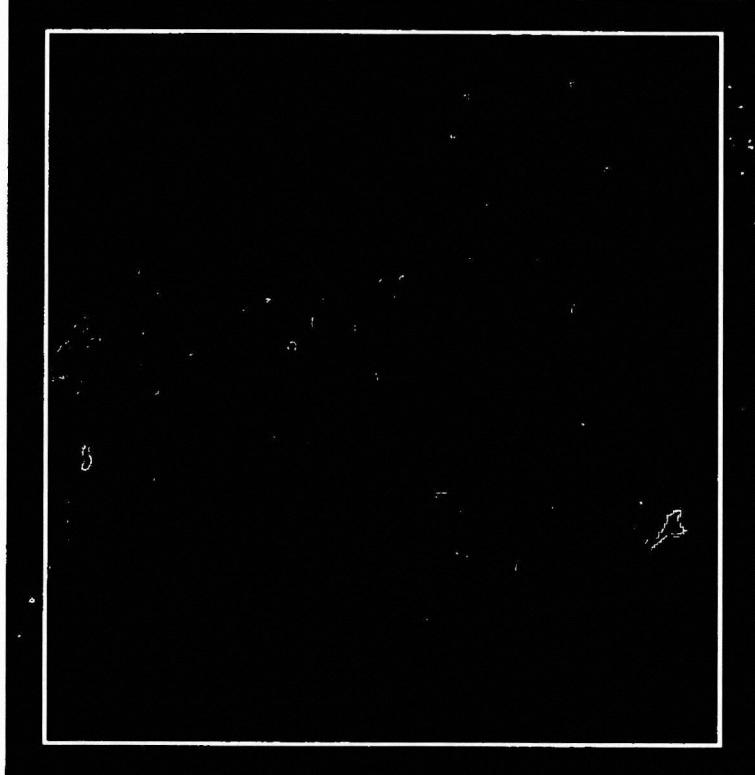
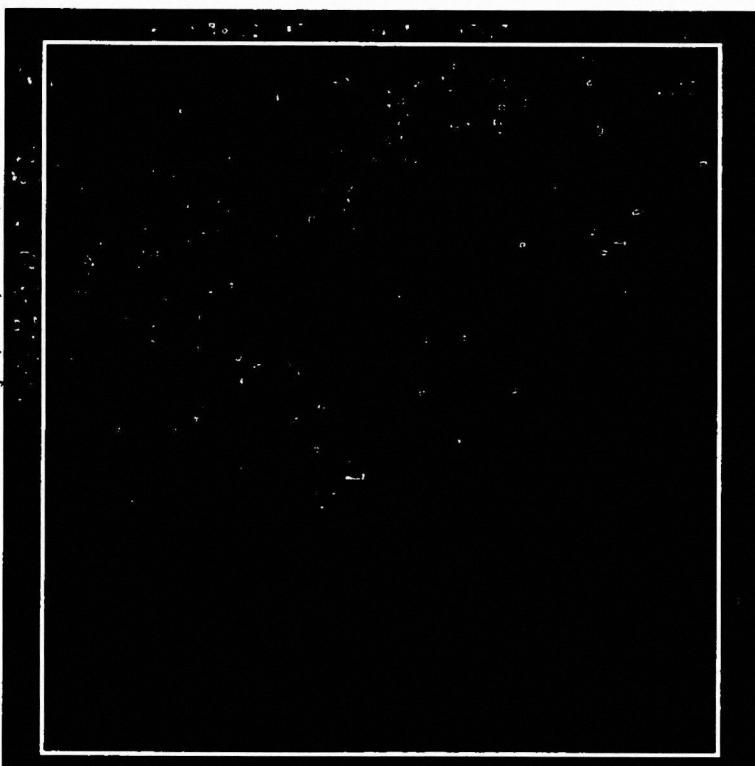
- 递送后 24 小时
- Hoechst 和 DY547

图 66

sd-rxRNA™ 的局部递送：实验性研究

竞争复合物 * RNAs

*Soulischeck 等 (2004) *Nature*, 432:173



- 递送后 24 小时
- Hoechst 和 DY547

图67

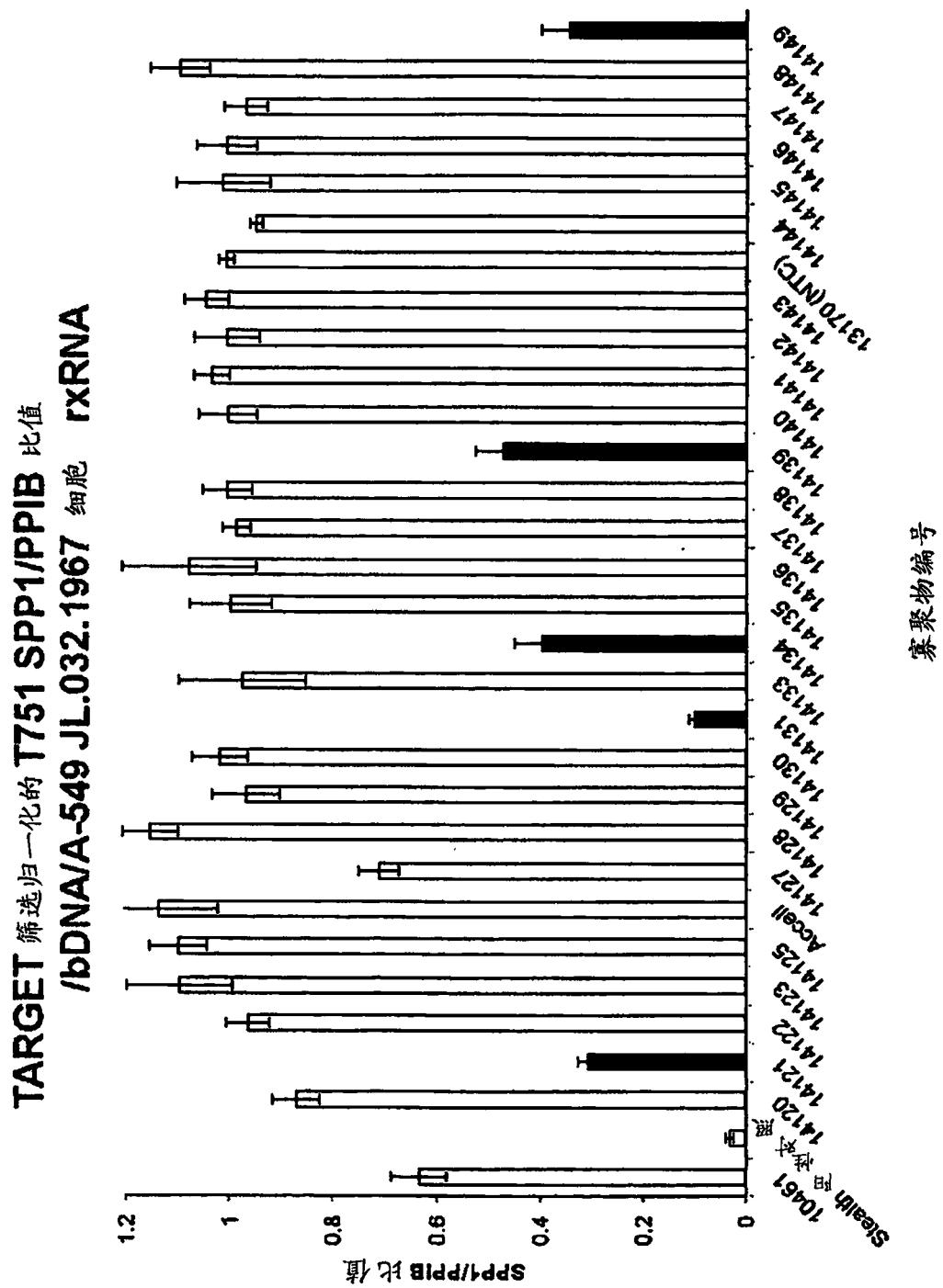


图68

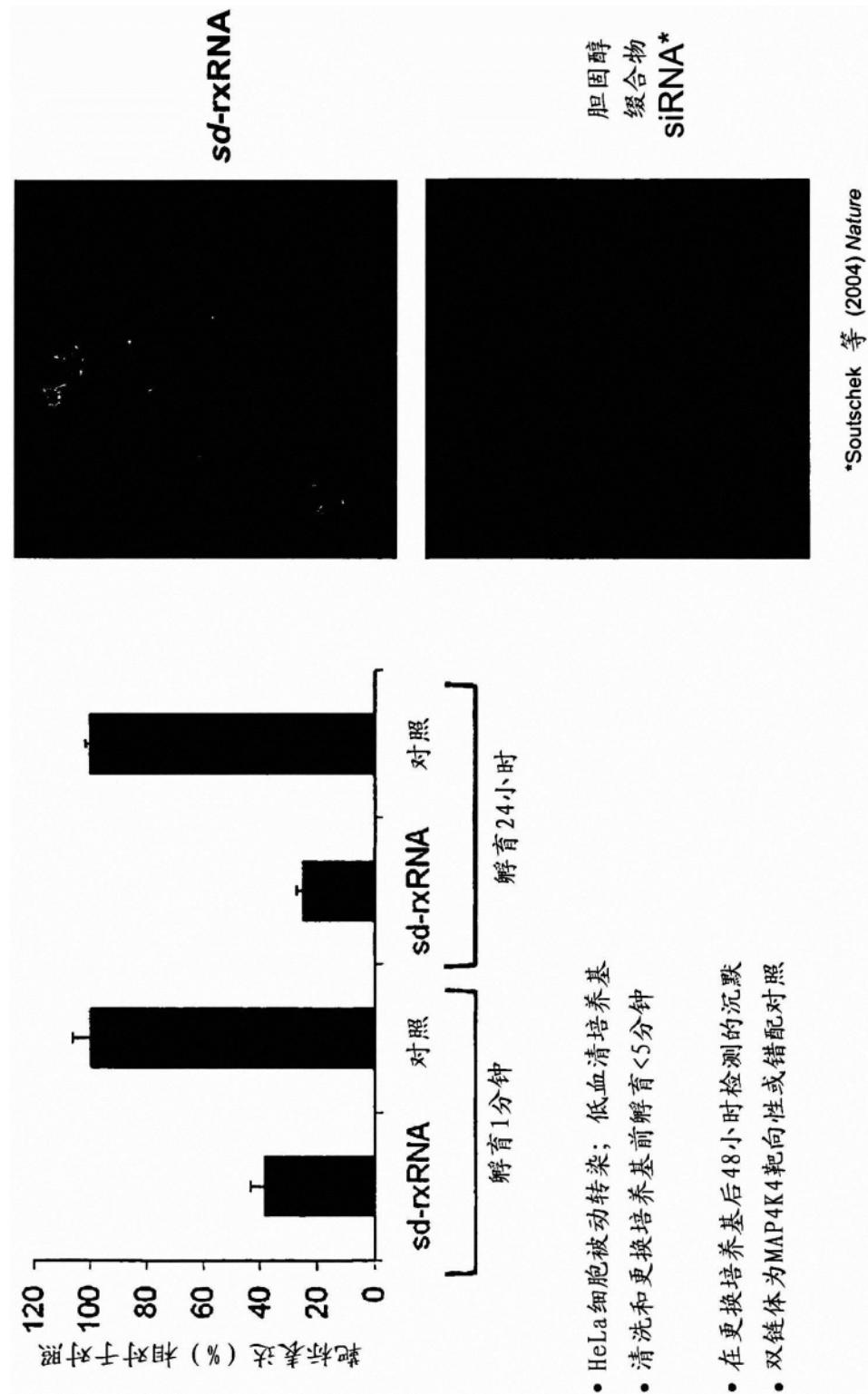
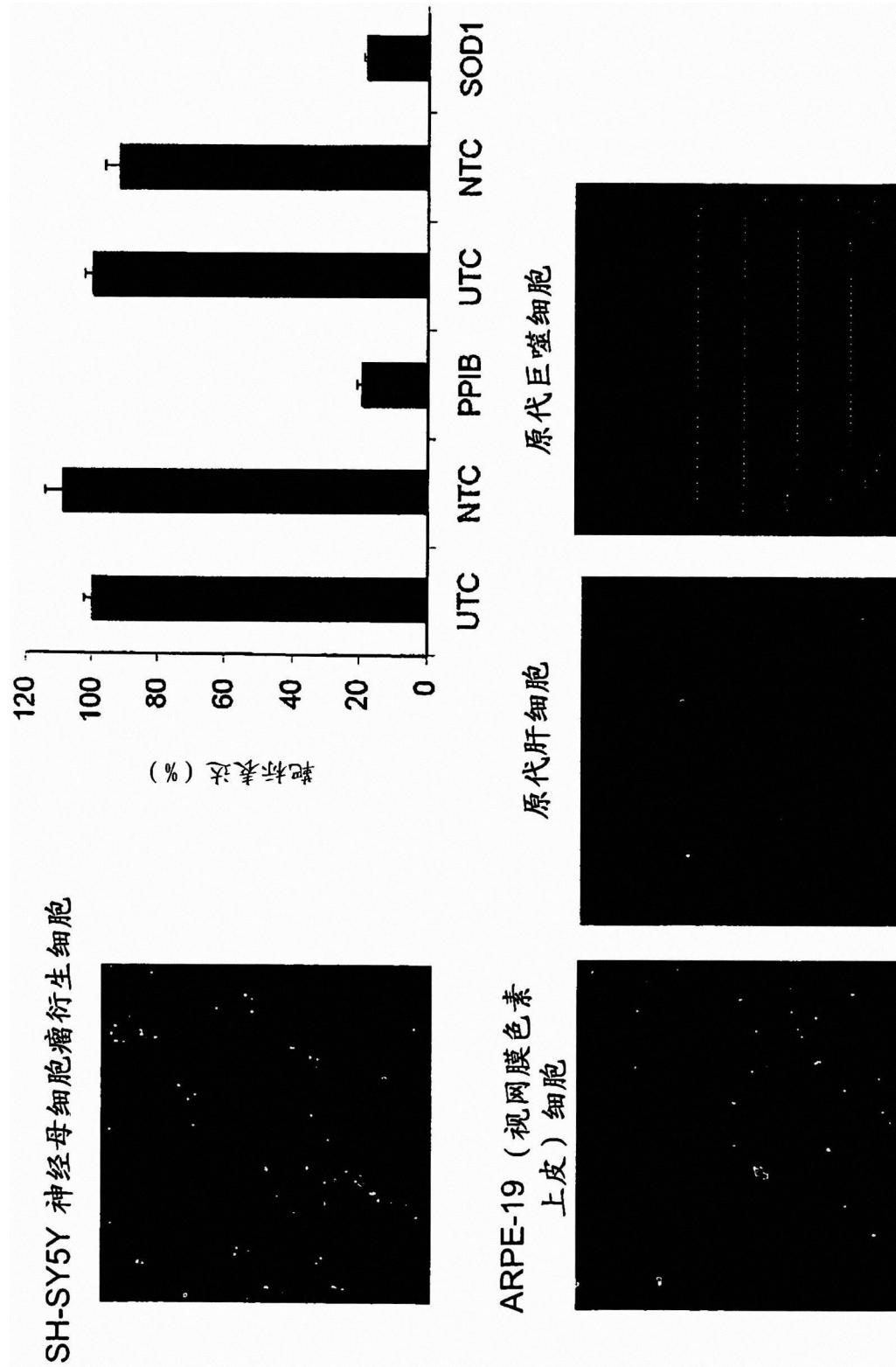


图 69



*有效沉默（在所有测试细胞类型中观察到>70%的基因敲低）

图70

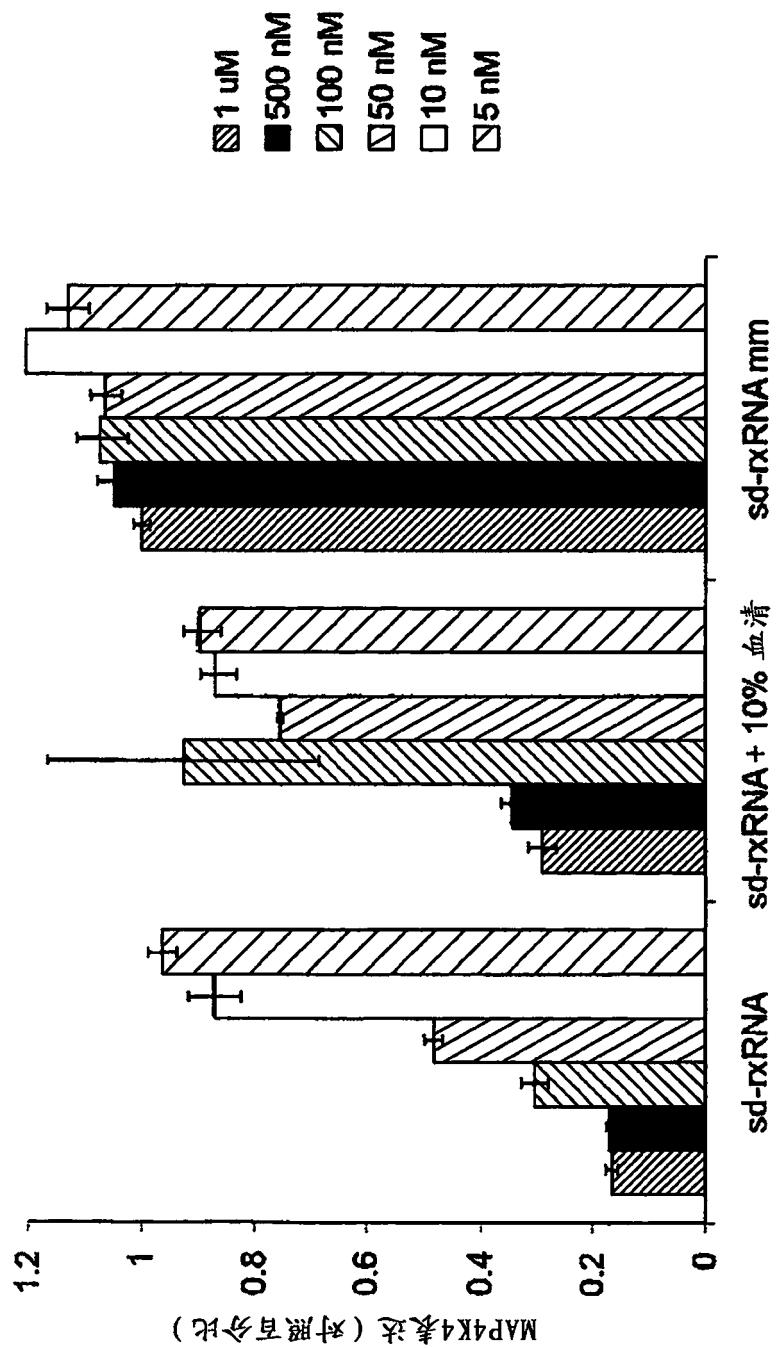


图71

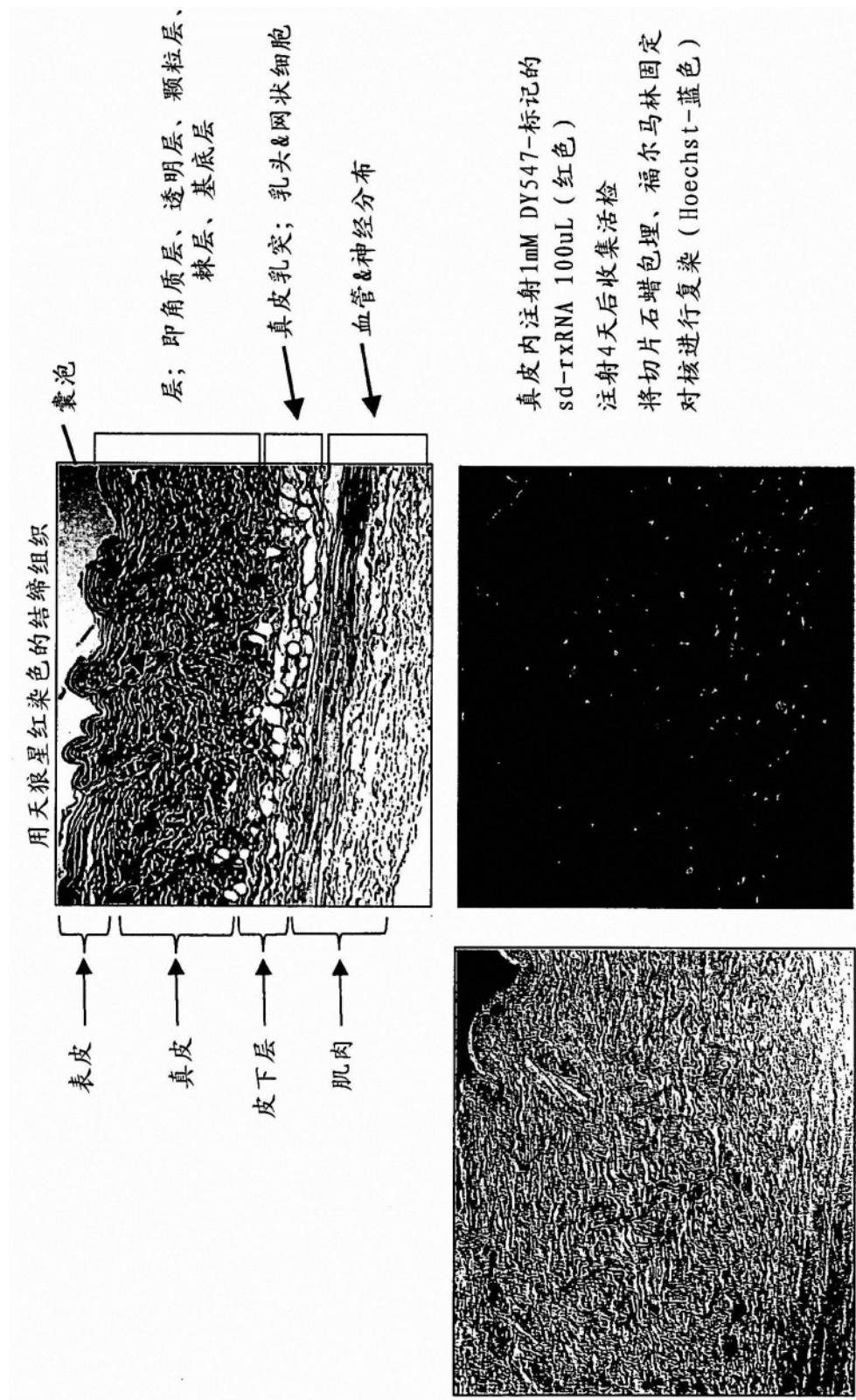


图72

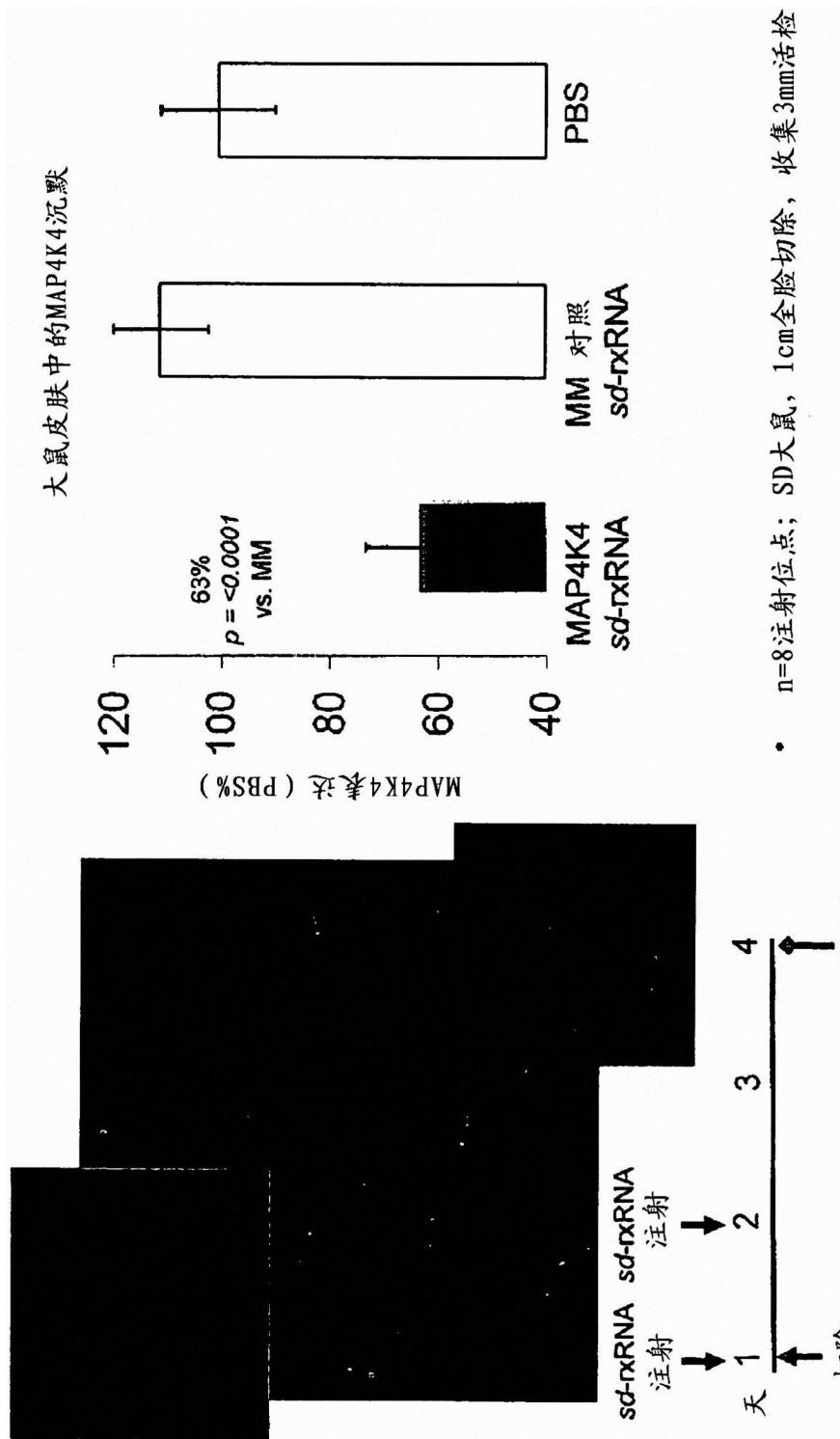
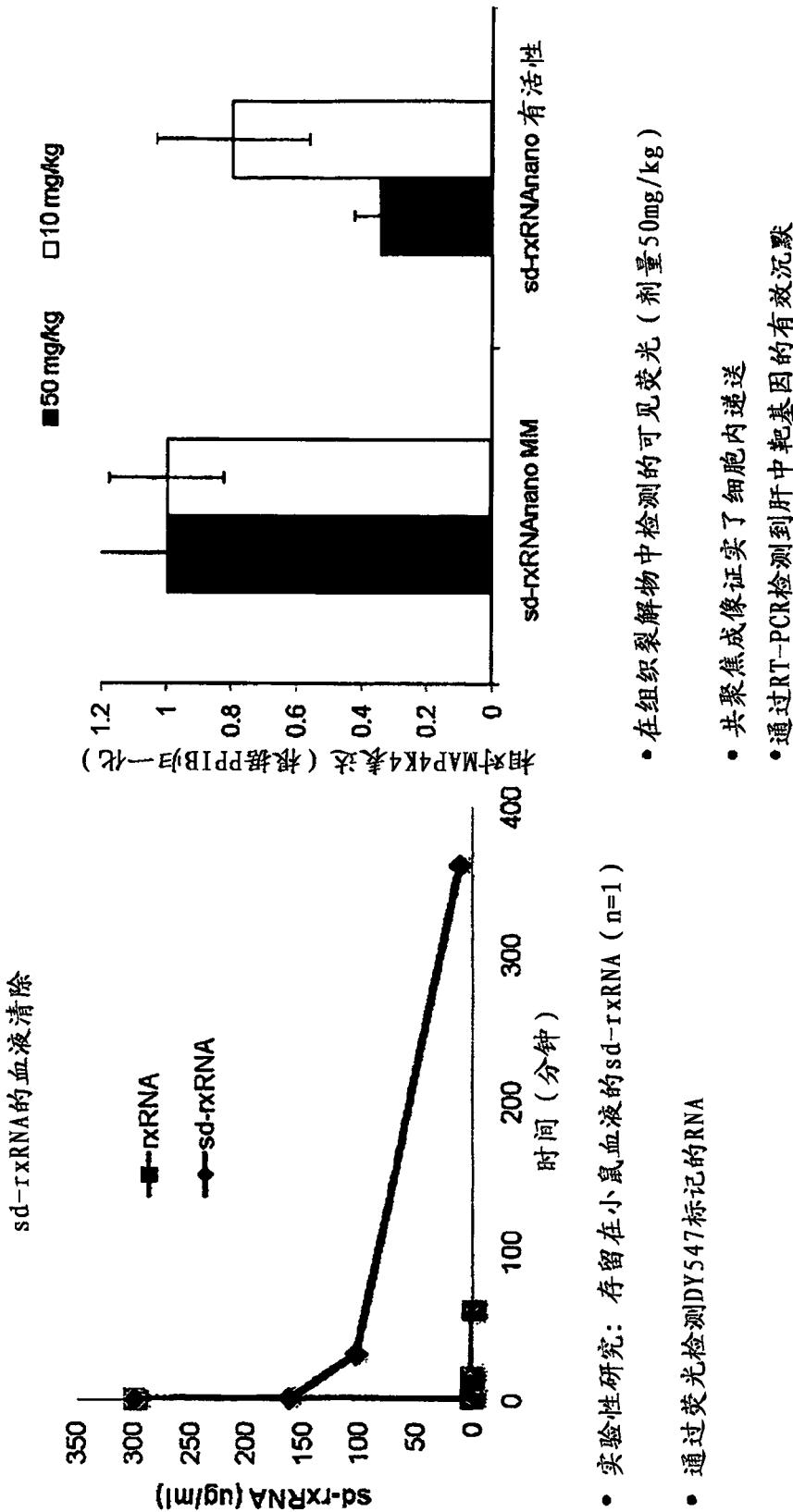


图73



- 实验性研究: 存留在小鼠血液的sd-rxRNA ($n=1$)
- 在组织裂解物中检测的可见荧光 (剂量 $50\text{mg}/\text{kg}$)
- 通过荧光检测DY547标记的RNA
- 共聚成像证实了细胞内递送
- 通过RT-PCR检测到肝中靶基因的有效沉默

图74

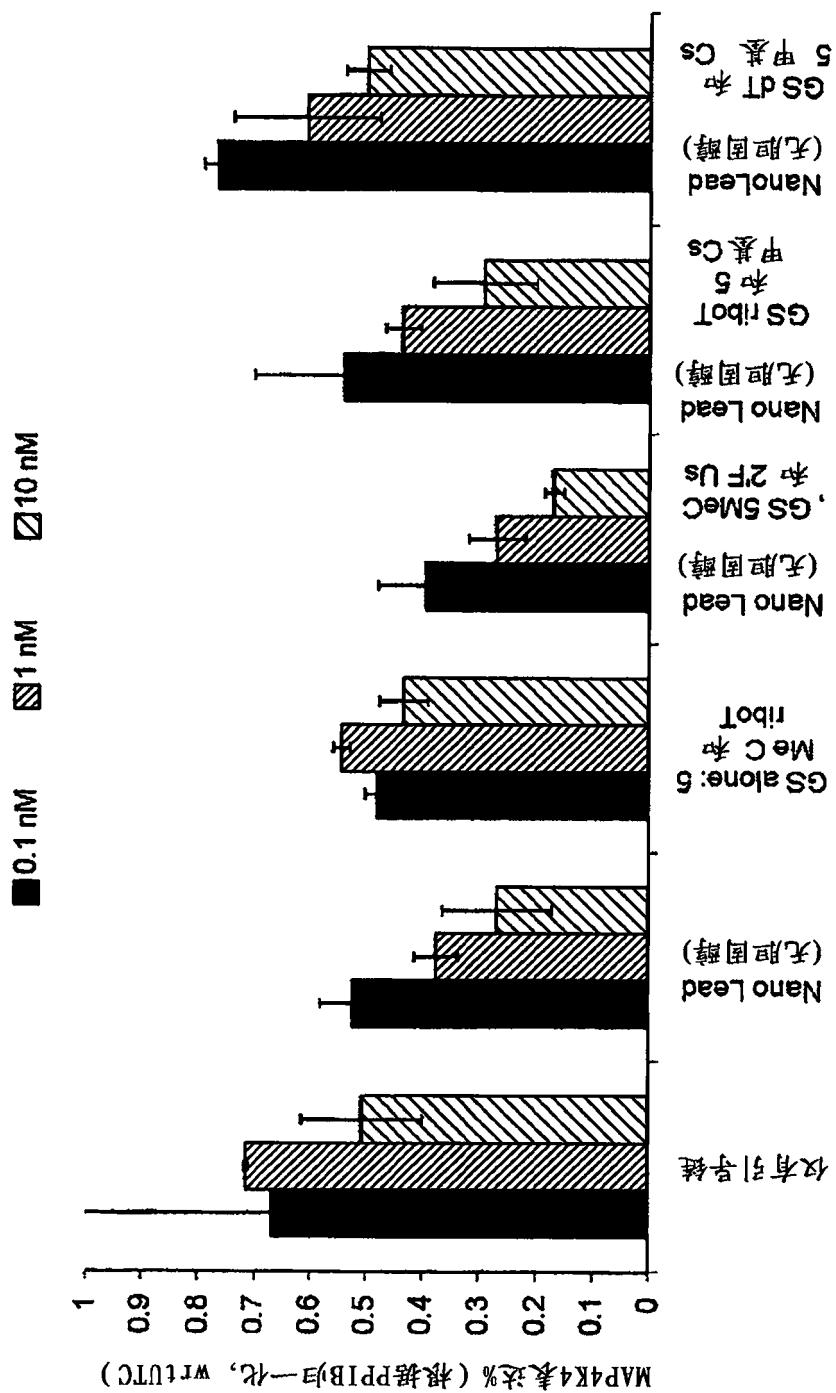


图75

在引导链中掺入 5 Me C 和 / 或核糖胸昔降低了效力

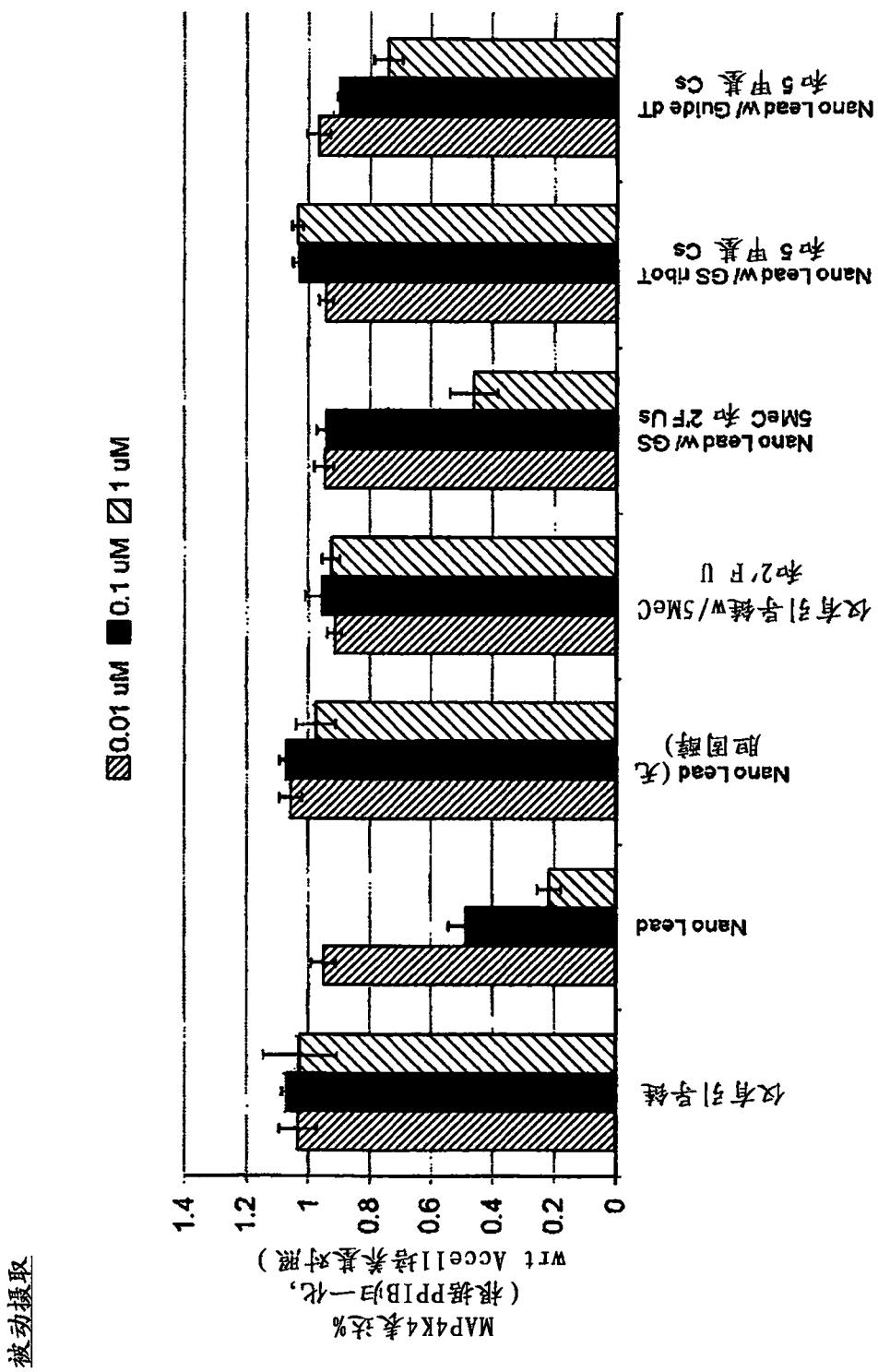


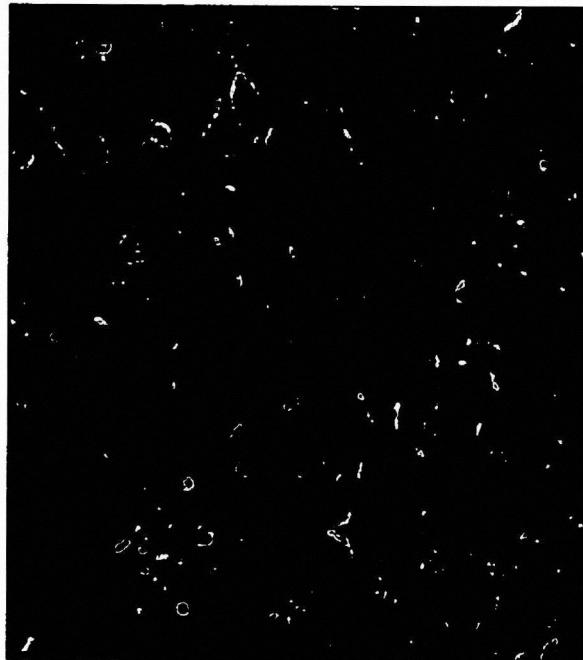
图 76

$sd\text{-rxRNA}^{nano}$ 相对于竞争剂：对肝的全身性递送

$sd\text{-rxRNA}^{nano}$

竞争剂复合物 *

*Soutschek 等 (2004) *Nature*, 432:173



增益 = 380; 50 mg/kg

增益 = 400; 50 mg/kg

图77

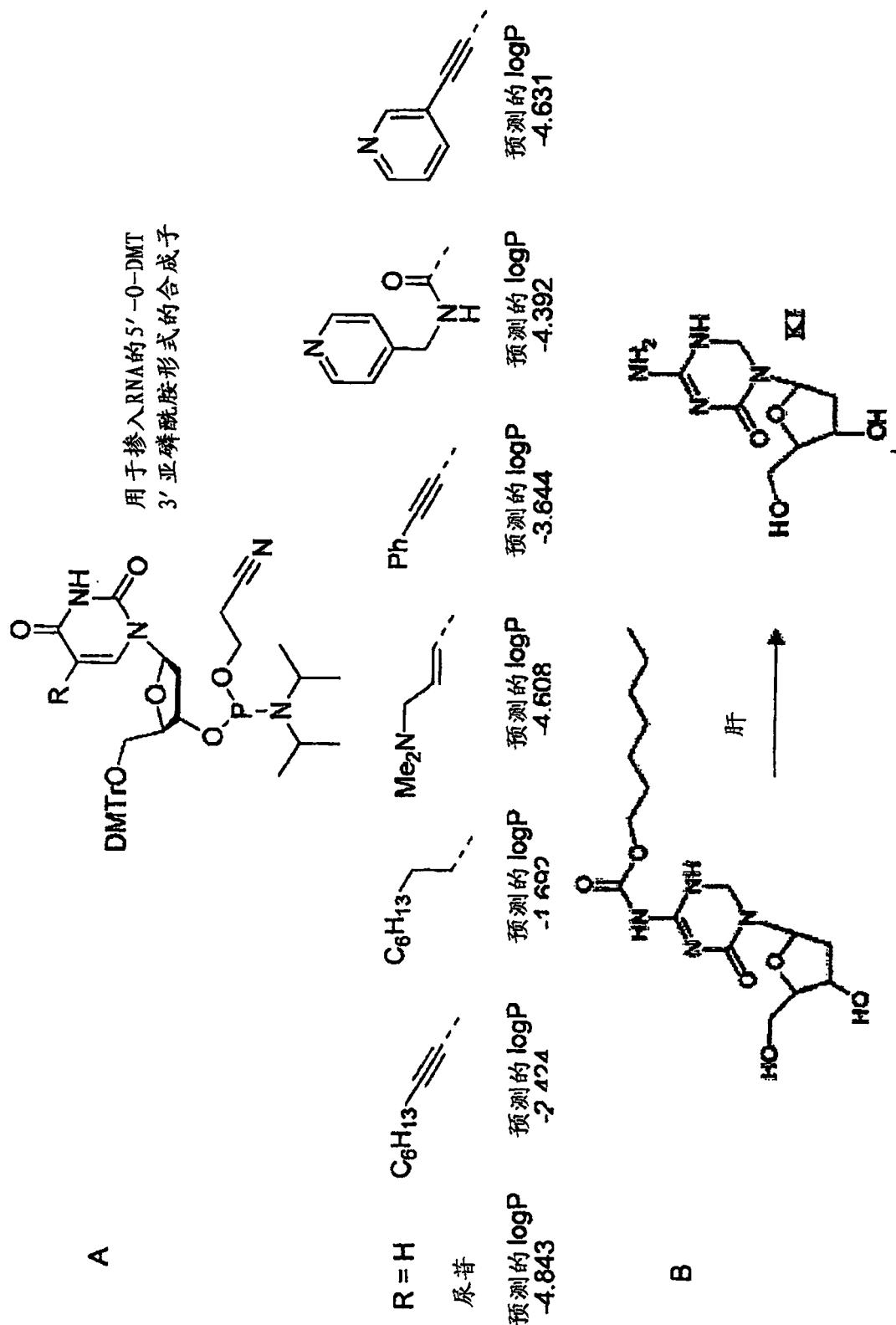


图78

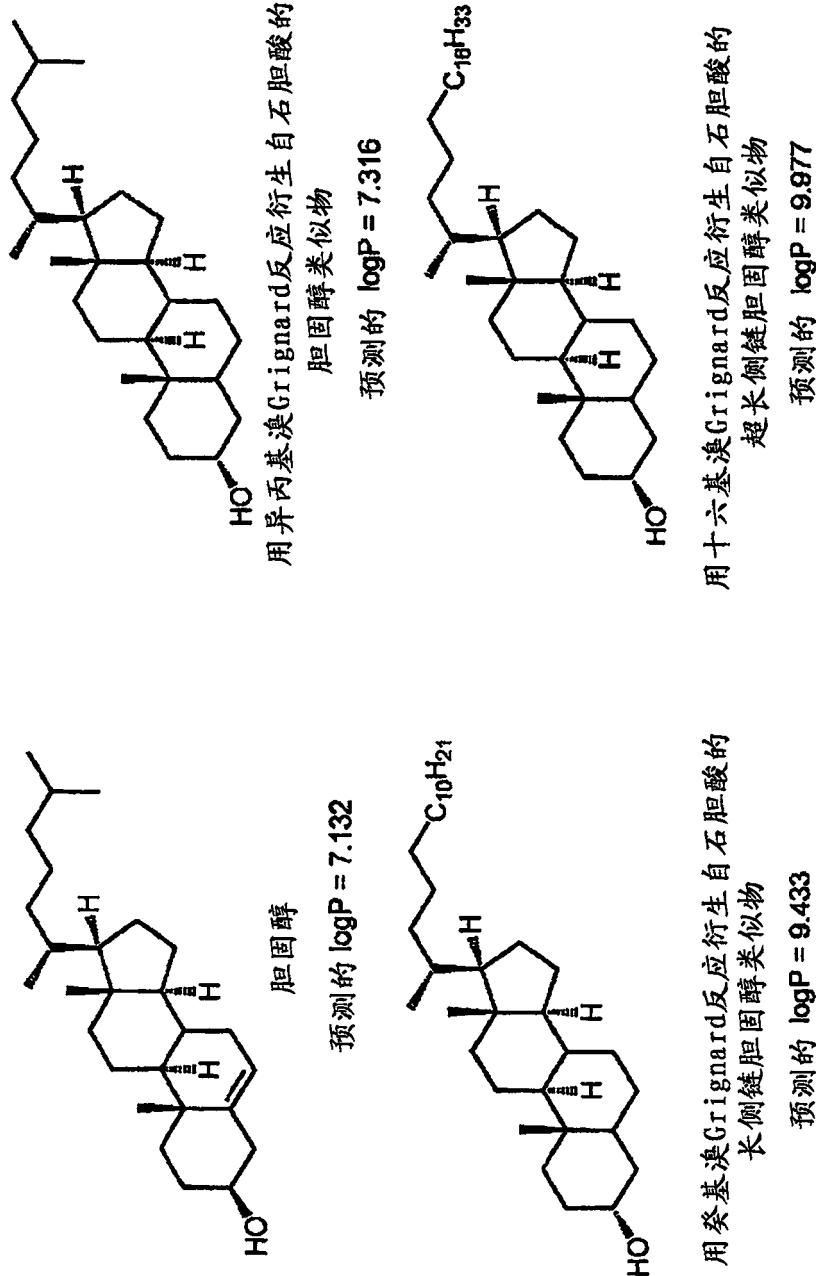


图 79

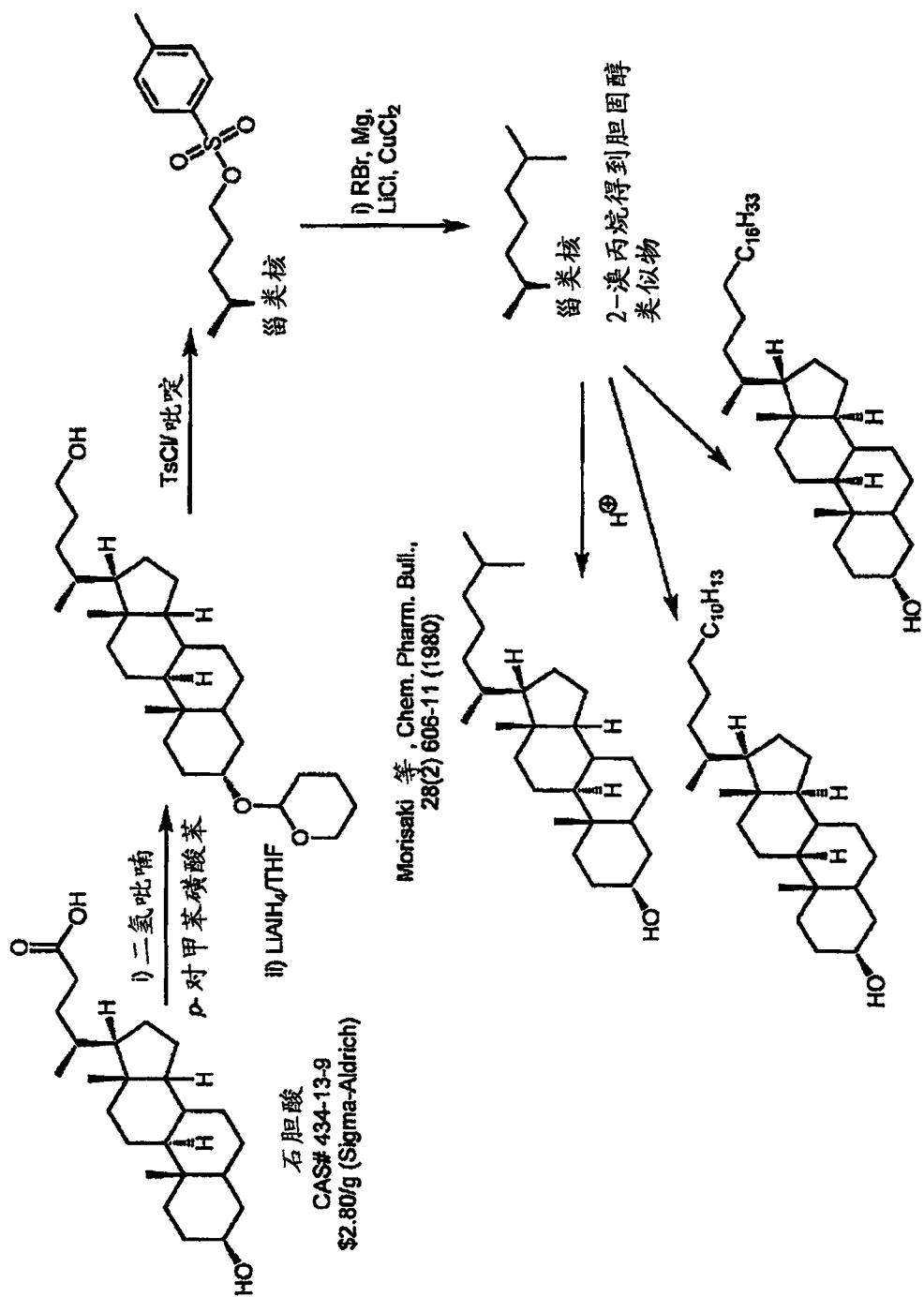


图 80

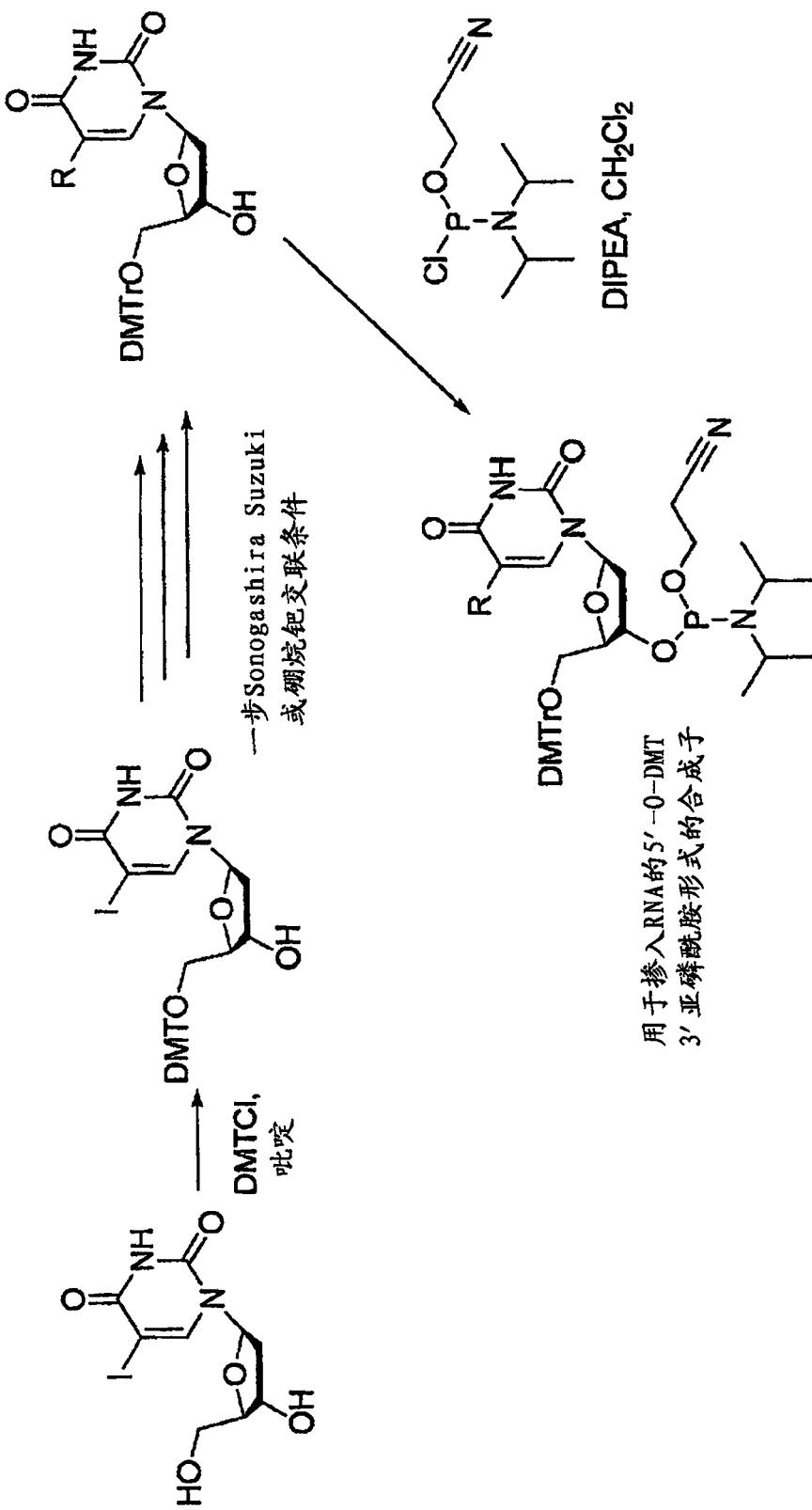


图81

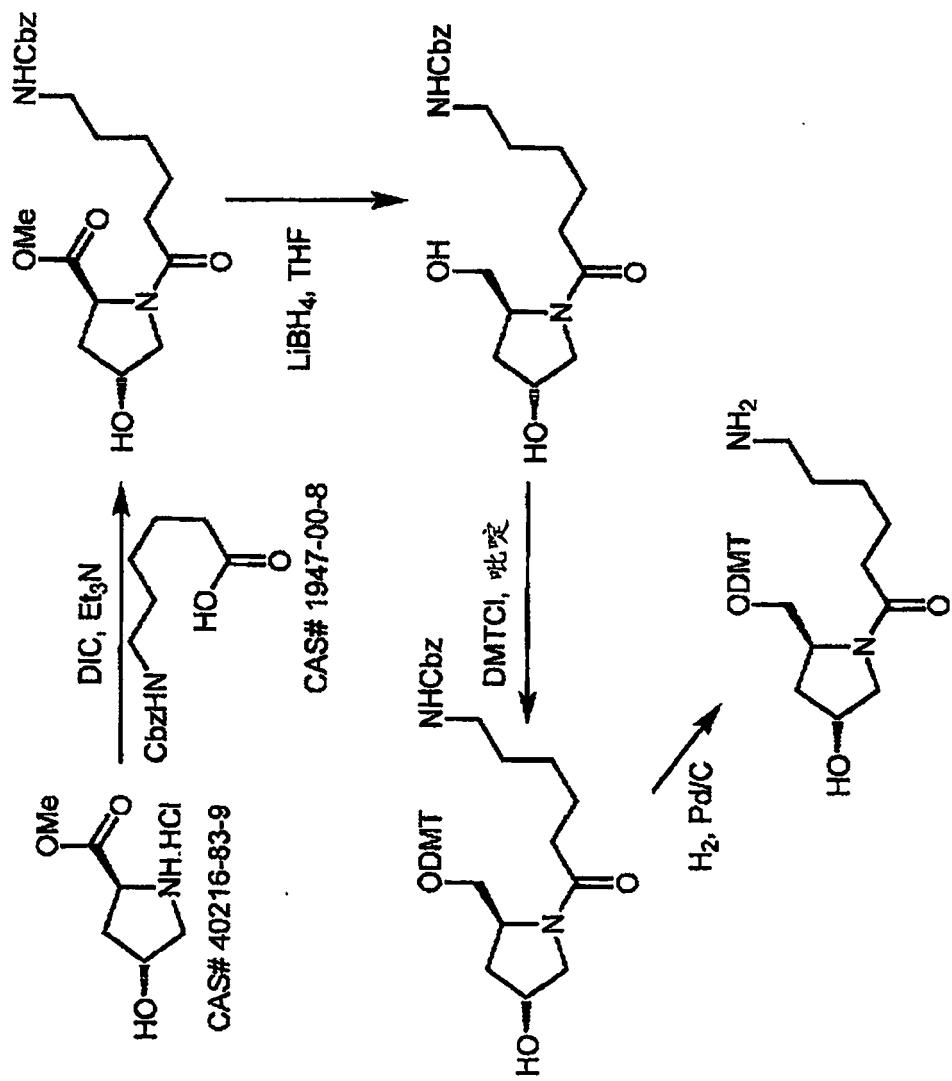


图82

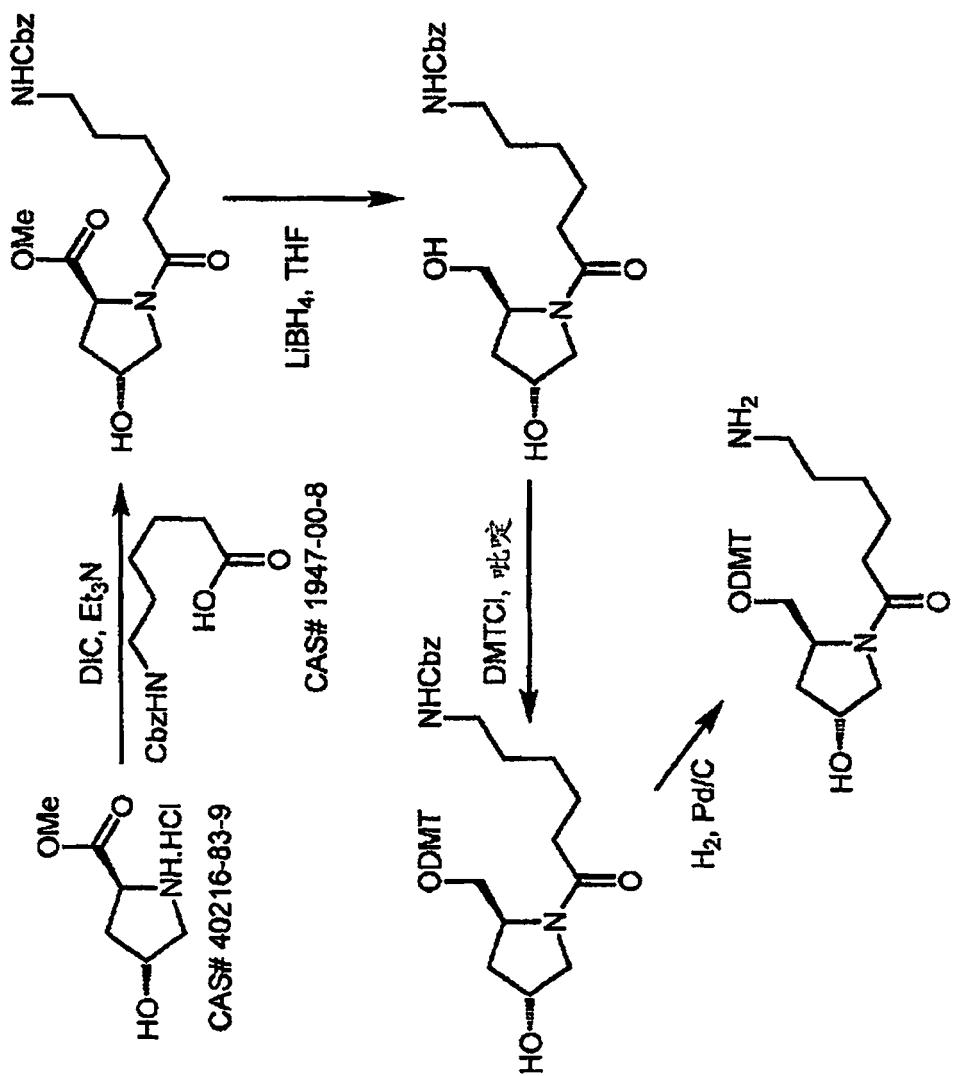


图83

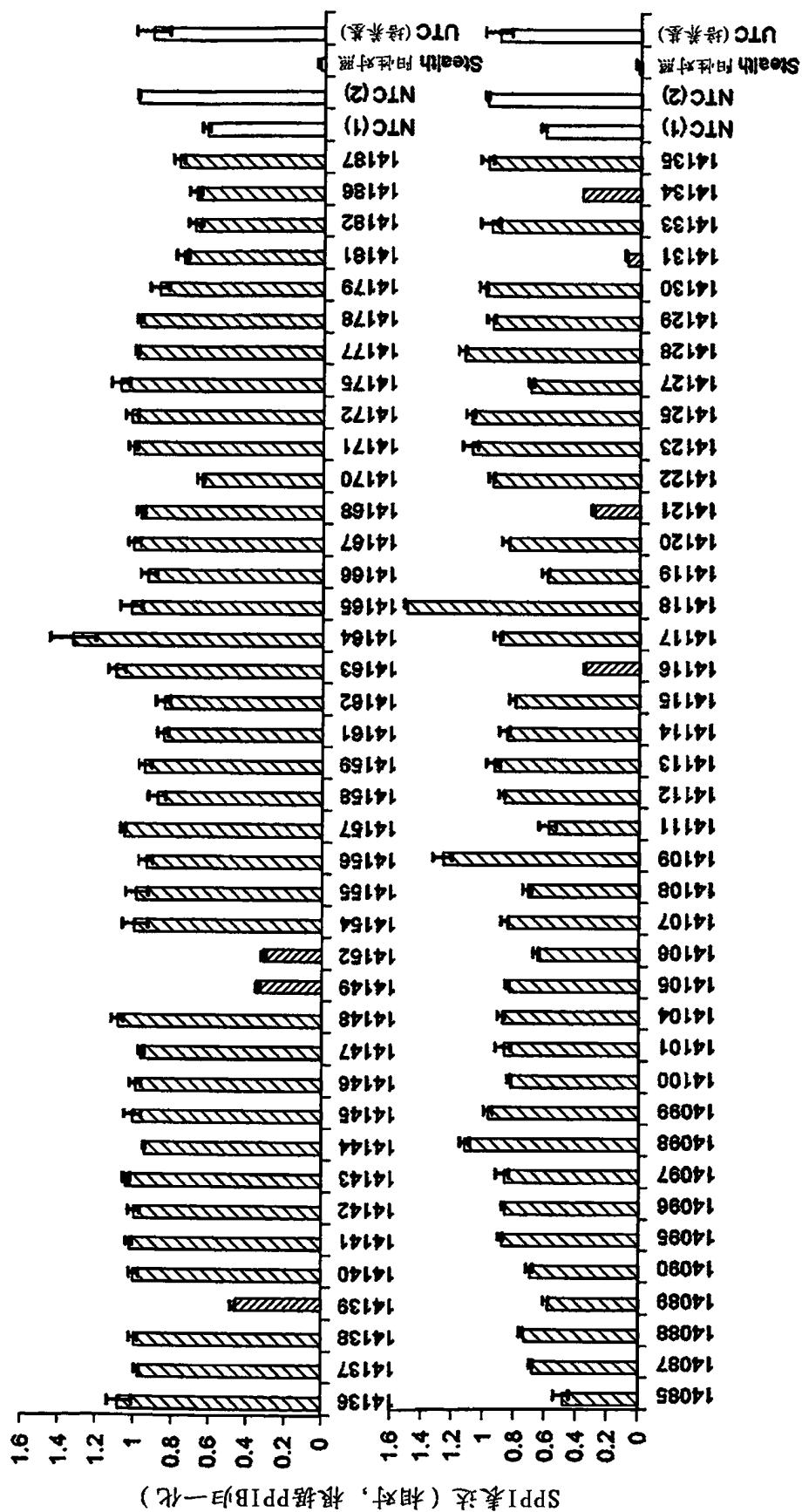


图84

TARGET 筛选归一化的 T755 SPP1/PP1B 比值 /bDNA/A-549 1 and 0.1 uM 细胞 mRNA

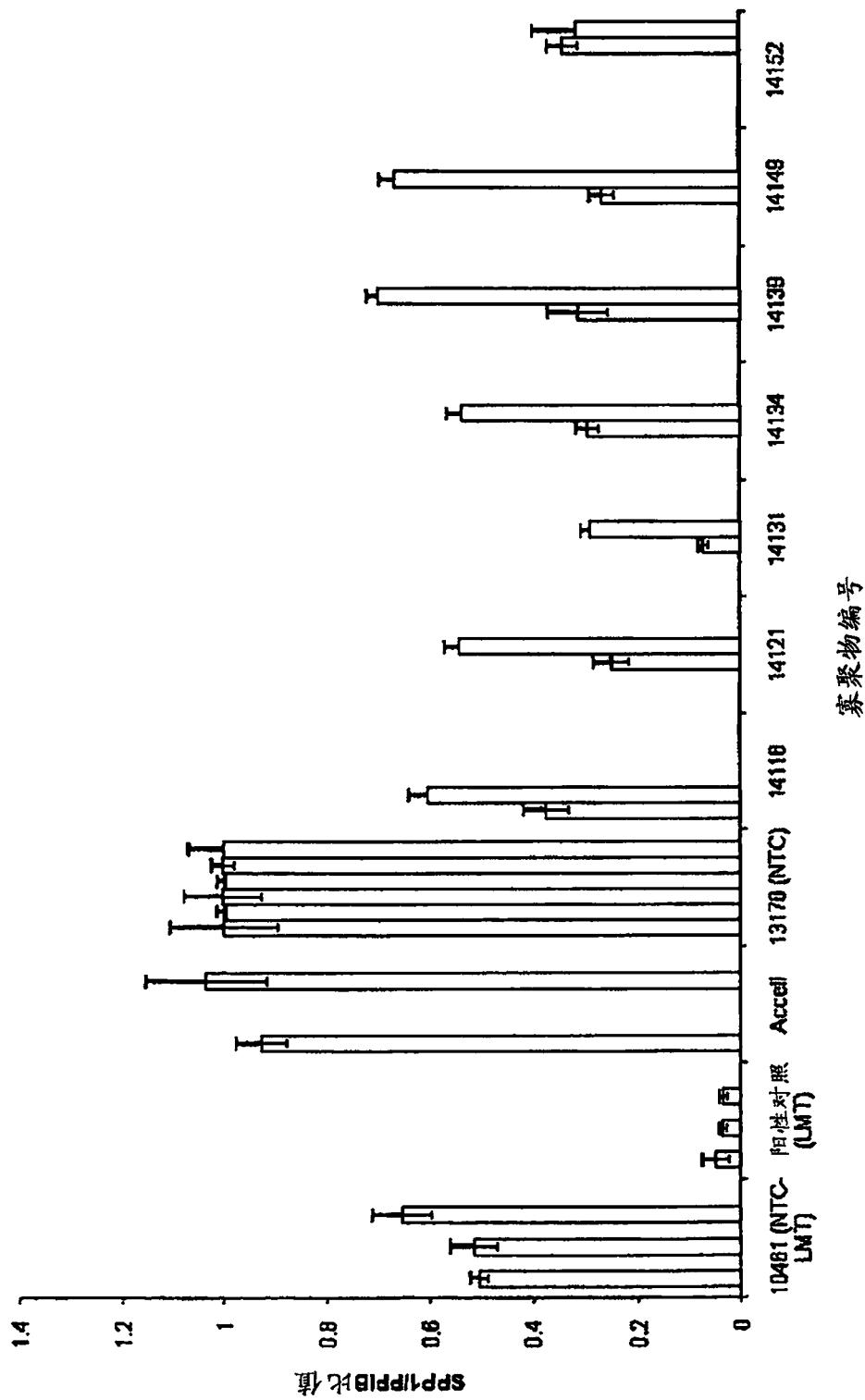


图85

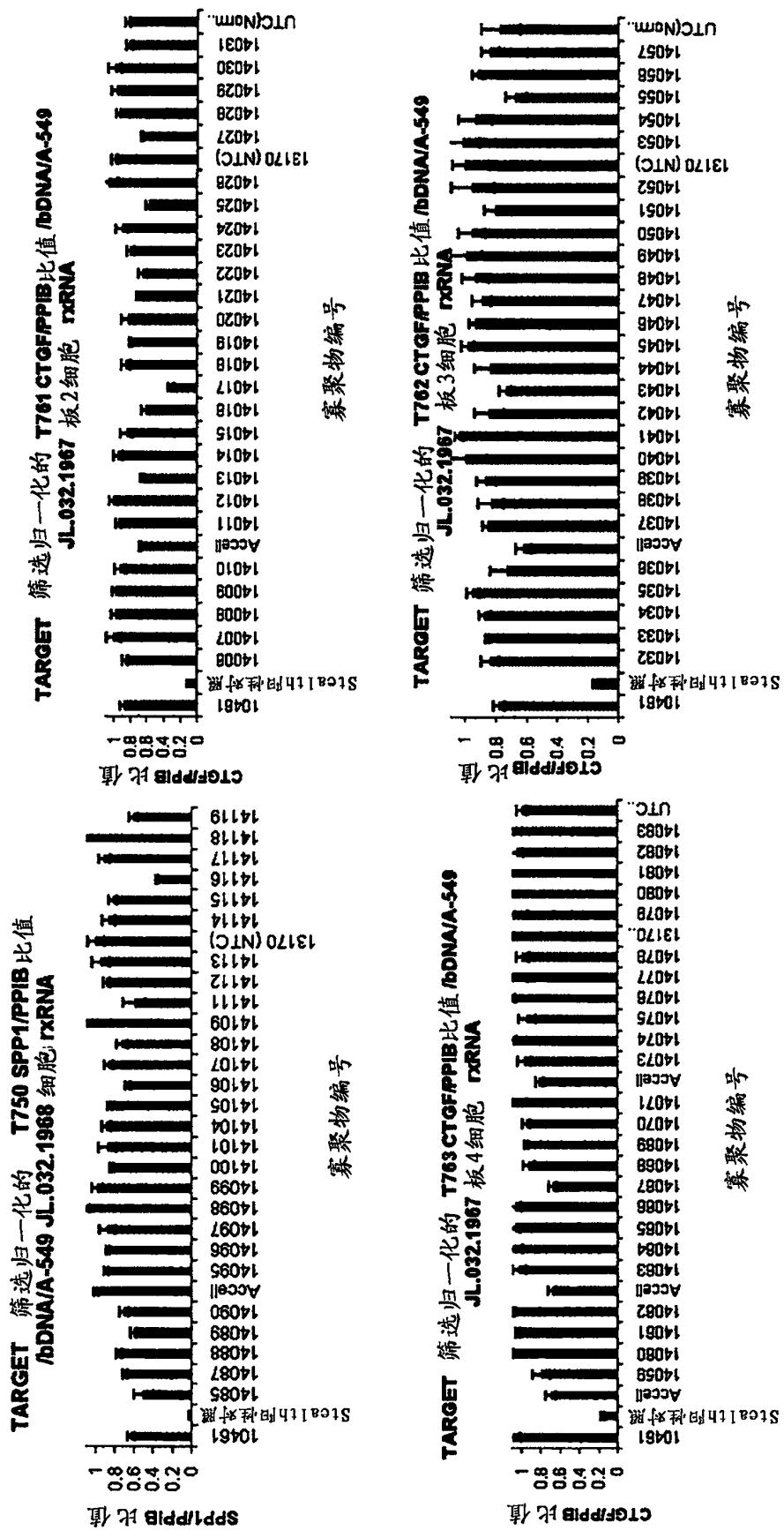


图86

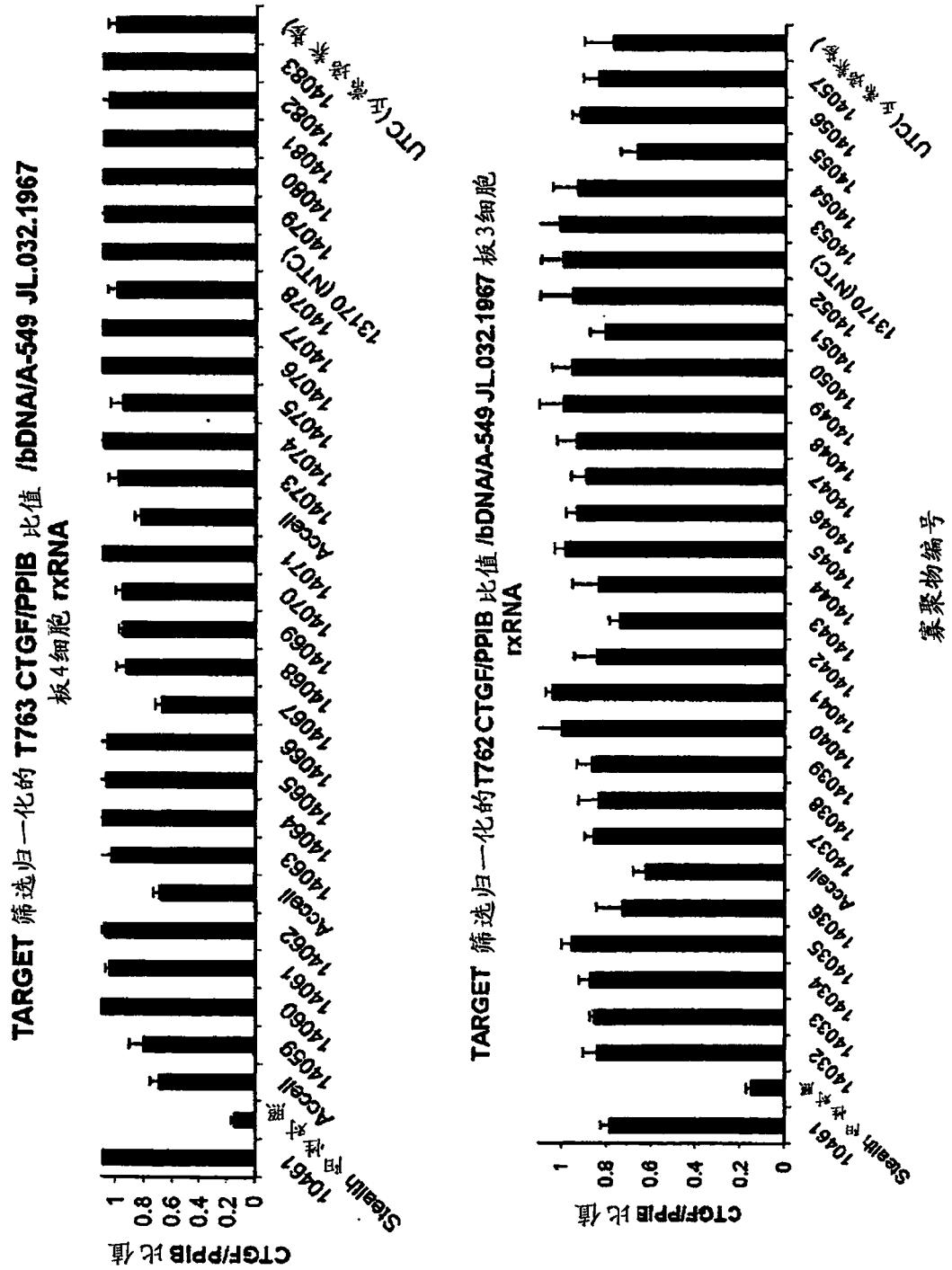


图87

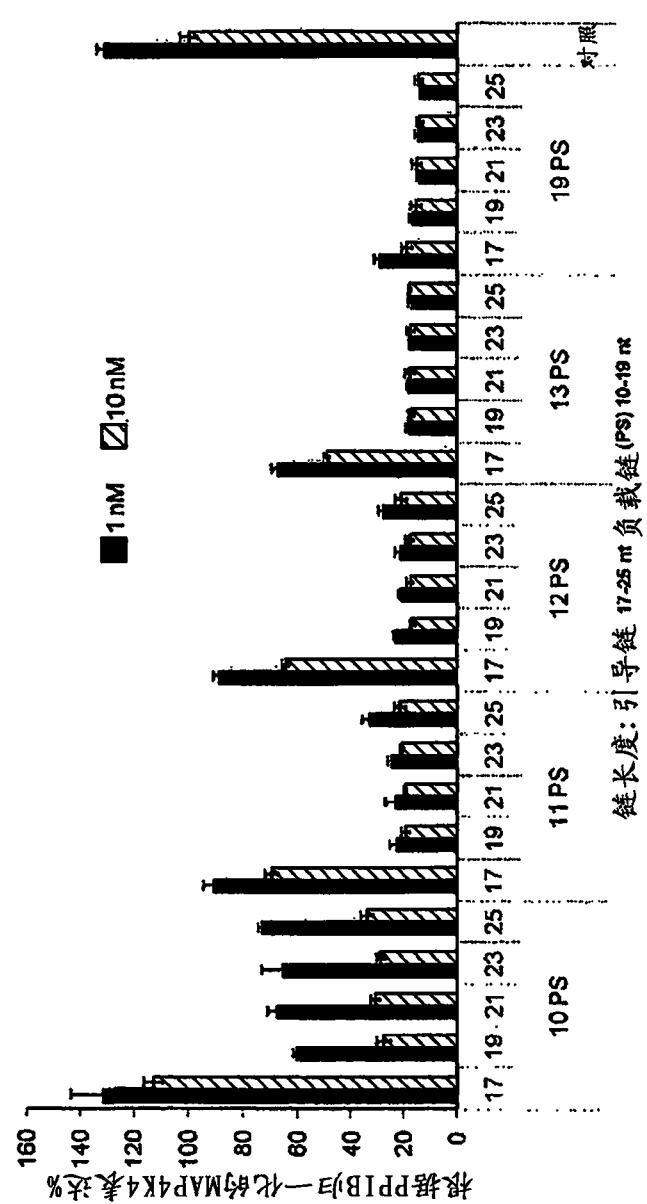


图88

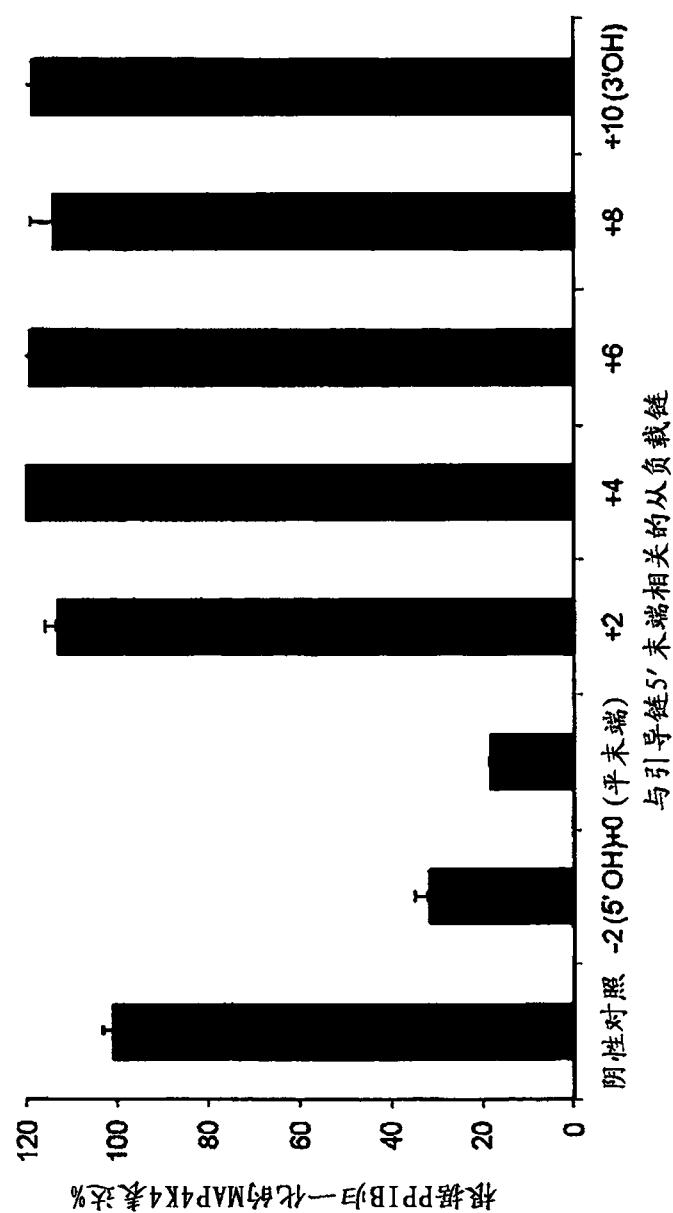


图89

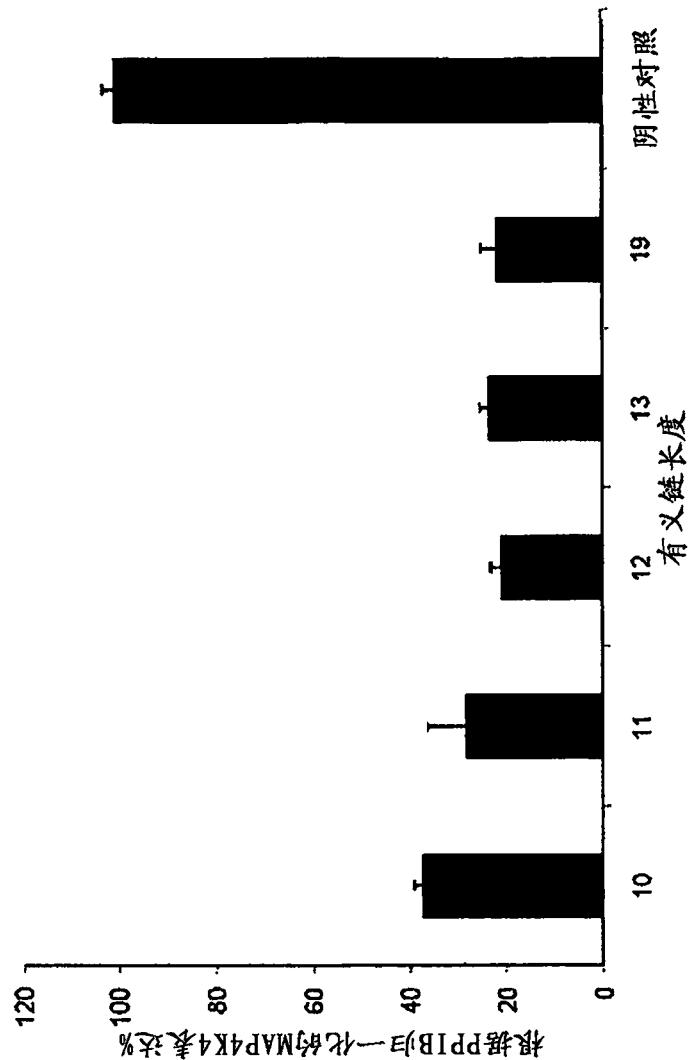


图90

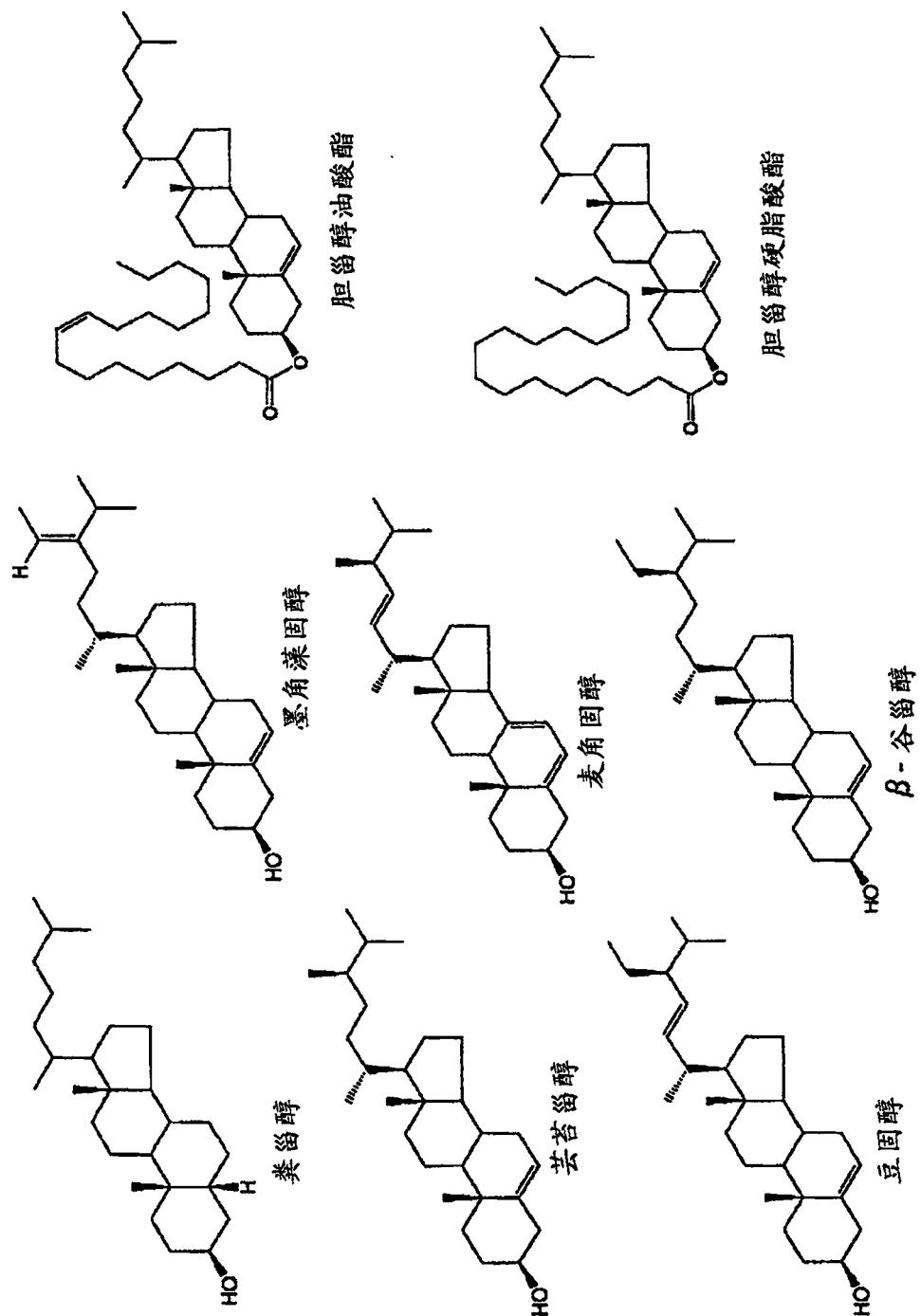


图91

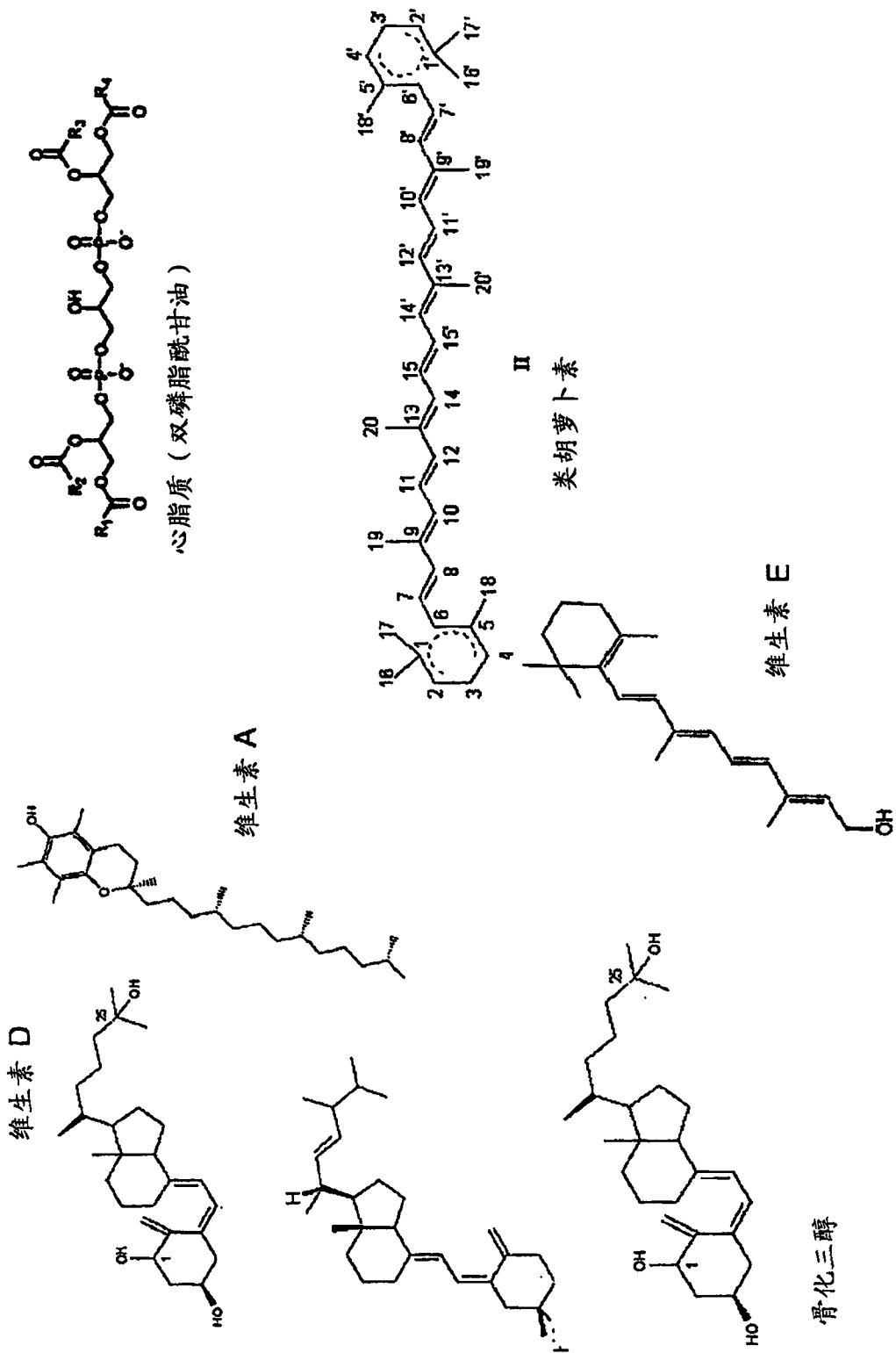


图92