202330916

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202330916 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：111135240 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 16 日

(51)Int. Cl.： *C12N15/09 (2006.01)* *C12N15/31 (2006.01)*
C12N15/63 (2006.01) *C12N15/64 (2006.01)*
A61K48/00 (2006.01) *A61K38/16 (2006.01)*
A01N63/20 (2020.01) *A01N63/50 (2020.01)*
A01P1/00 (2006.01) *A61P31/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/09/17 美國 63/245,354

(71)申請人：美商旗艦先鋒創新有限責任公司 (美國) FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS VI, LLC (US)
美國

(72)發明人：達德金 瓦迪姆 DUDKIN, VADIM (US)；白其永 PAEK, KI YOUNG (KR)；德波爾 亞歷姍卓 蘇菲 DE BOER, ALEXANDRA SOPHIE (NL)；尼爾森 珍妮佛 A NELSON, JENNIFER A. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：51 項 圖式數：22 共 239 頁

(54)名稱

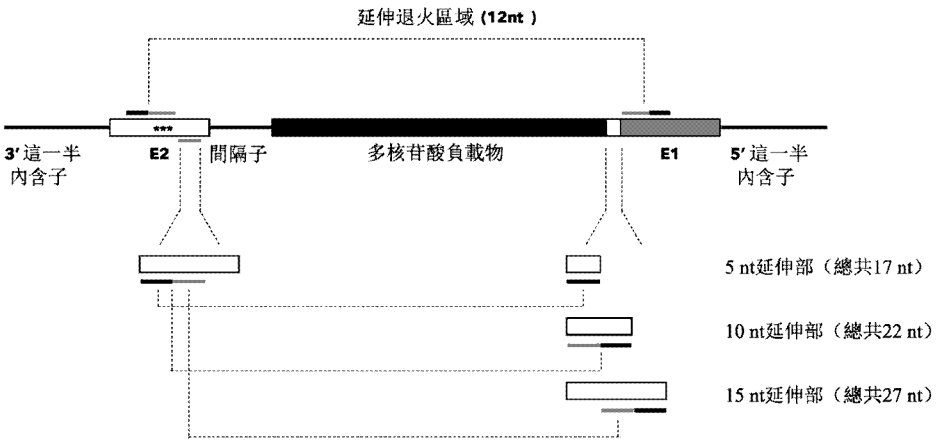
用於產生環狀多核糖核苷酸之組成物和方法

(57)摘要

本揭露總體上關於用於產生、純化和使用環狀 RNA 之組成物和方法。

The present disclosure relates, generally, to compositions and methods for producing, purifying, and using circular RNA.

指定代表圖：



【圖 6】

【發明摘要】

【中文發明名稱】　用於產生環狀多核糖核苷酸之組成物和方法

【英文發明名稱】　COMPOSITIONS AND METHODS FOR PRODUCING CIRCULAR POLYRIBONUCLEOTIDES

【中文】

本揭露總體上關於用於產生、純化和使用環狀RNA之組成物和方法。

【英文】

The present disclosure relates, generally, to compositions and methods for producing, purifying, and using circular RNA.

【指定代表圖】　圖6

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　用於產生環狀多核糖核苷酸之組成物和方法

【英文發明名稱】　COMPOSITIONS AND METHODS FOR PRODUCING CIRCULAR POLYRIBONUCLEOTIDES

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 需要產生、純化和使用環狀多核糖核苷酸之方法。

【發明內容】

【0002】 本揭露提供了用於產生、純化和使用環狀RNA之組成物和方法。

【0003】 一方面，本發明的特徵在於一種線性多核糖核苷酸，該線性多核糖核苷酸具有式5'-(A)-(B)-(C)-(D)-(E)-(F)-(G)-3'。該線性多核糖核苷酸從5'至3'包含 (A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。該多核糖核苷酸包括第一退火區域，該第一退火區域具有2至50個（例如5至50個，例如6至50個，例如7至50個，例如8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段。該多核糖核苷酸還包括第二退火區域，該第二退火區域具有2至50個（例如5至50個，例如6至50個，例如7至50個，例如8至50個（例

如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域具有與第二退火區域的80%至100%（例如85%至100%，例如90%至100%，例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的互補性，或者具有0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對。

【0004】 在另一方面，本發明的特徵在於一種線性多核糖核苷酸，該線性多核糖核苷酸具有式5'-(A)-(B)-(C)-(D)-(E)-(F)-(G)-3'。該線性多核糖核苷酸從5'至3'包含 (A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半，其中 (A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌（Cyanobacterium Anabaena）pre-tRNA-Leu基因。該多核糖核苷酸包括第一退火區域，該第一退火區域具有5至50個（例如6至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段。該多核糖核苷酸還包括第二退火區域，該第二退火區域具有5至50個（例如6至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、

49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域具有與第二退火區域的80%至100%（例如85%至100%，例如90%至100%，例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的互補性，或者具有0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對。

【0005】 在另一方面，本發明的特徵在於一種線性多核糖核苷酸，該線性多核糖核苷酸具有式5'-(A)-(B)-(C)-(D)-(E)-(F)-(G)-3'。該線性多核糖核苷酸從5'至3'包含 (A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半，其中 (A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半來自眼原蟲屬（Tetrahymena）pre-rRNA。該多核糖核苷酸包括第一退火區域，該第一退火區域具有6至50個（例如7至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段。該多核糖核苷酸還包括第二退火區域，該第二退火區域具有6至50個（例如7至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個））核糖核苷酸並且存在於以下項內：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域具有與第二退火區域的80%至100%（例如85%至100%，例如90%至100%，例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的

互補性，或者具有0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對。

【0006】 在一些實施方式中，(A) 或 (C)包括第一退火區域，並且 (E) 或 (G) 包括第二退火區域。

【0007】 在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。

【0008】 在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半包括第二退火區域。

【0009】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。

【0010】 在一些實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括0或1個誤配鹼基對。

【0011】 在一些實施方式中，第一退火區域和第二退火區域係100%互補的。

【0012】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因、眼原蟲屬pre-rRNA或T4噬菌體td基因。

【0013】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因，並且 (C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如5至50個、例如10至15個（例如10、11、12、13、14或15個）核糖核苷酸，並且第二退火區域可以包括例如5至50個、例如10至15個（例如10、11、12、13、14或15個）核糖核苷酸。

【0014】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G)

的第I組催化內含子片段的5'這一半來自眼原蟲屬pre-rRNA，並且 (A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如6至50個、例如10至16個（例如10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸，並且第二退火區域可以包括例如6至50個、例如10至16個（例如10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸。

【0015】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的第I組催化內含子片段的5'一半來自T4噬菌體td基因。(C) 的3'外顯子片段可以包括第一退火區域，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半可以包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如2至16個、例如10至16個（例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸，並且第二退火區域可以包括例如2至16個、例如10至16個（例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸。

【0016】 在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半係線性多核苷酸的5'末端。

【0017】 在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半係線性多核糖核苷酸的3'末端。

【0018】 在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸不包括另外的退火區域。

【0019】 在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸不包括 (A) 的3'的退火區域，該退火區域包括與 (G) 的5'的退火區域的部分或完全核酸互補性。

【0020】 在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括表現序列、非編碼序列或表現序列和非編碼序列。

【0021】在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括編碼多肽的表現序列。

【0022】在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。

【0023】在一些實施方式中，IRES位於表現序列的上游。在一些實施方式中，IRES位於表現序列的下游。

【0024】在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括編碼對受試者具有生物學效應的多肽的表現序列。

【0025】在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸進一步包括 (C) 的3'外顯子片段與 (D) 的多核糖核苷酸負載物之間的第一間隔子區域。第一間隔子區域的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸進一步包括 (D) 的多核糖核苷酸負載物與 (E) 的5'外顯子片段之間的第二間隔子區域。第二間隔子區域的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，每個間隔子區域的長度為至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。每個間隔子區域的長度可以為例如5至500個（例如10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500個）核糖核苷酸。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA序列。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA-C序列。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA-G序列。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA-T序列。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括隨機序列。

【0026】在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸的長度為50至20,000個、例如100至20,000個、例如200至20,000個、例如300至20,000個（例如50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000、11,000、12,000、13,000、14,000、15,000、16,000、17,000、18,000、19,000或20,000個）核糖核苷酸。在實施方式中，該線性多核糖核苷酸的長度為例如至少50個、至少100個、至少200個、至少300個、至少400個、至少500個、至少1,000個、至少2,000個、至少3,000個、至少4,000或至少5,000個核糖核苷酸。

【0027】在另一方面，本發明的特徵在於一種DNA載體，該DNA載體包括與編碼本文所述之實施方式中任一項的線性多核糖核苷酸的DNA序列可操作地連接的RNA聚合酶啟動子。

【0028】在另一方面，本發明的特徵在於一種環狀多核糖核苷酸（例如共價閉合的環狀多核糖核苷酸），該環狀多核糖核苷酸由本文所述之實施方式中任一項的線性多核糖核苷酸或DNA載體產生。

【0029】在另一方面，本發明的特徵在於一種環狀多核糖核苷酸（例如共價閉合的環狀多核糖核苷酸），該環狀多核糖核苷酸具有連接5'外顯子片段和3'外顯子片段的剪接點。3'外顯子片段包括第一退火區域，該第一退火區域包括2至50個、例如5至50個、例如6至50個、例如7至50個、例如8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸，並且5'外顯子片段包括第二退火區域，該第二退火區域包括2至50個、例如5至50個、例如6至50個、例如7至50個、例如8至50個（例如10至30個、10至20個或10

至15個，例如8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸。在實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括80%至100%（例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的互補性。在實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對（bp）。在實施方式中，該環狀多核苷酸進一步包括多核糖核苷酸負載物。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括表現（或編碼）序列、非編碼序列或表現（或編碼）序列和非編碼序列的組合。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括編碼多肽的表現（編碼）序列。在實施方式中，多核糖核苷酸包括與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸進一步包括IRES與3'外顯子片段或5'外顯子片段之間的間隔子區域。間隔子區域的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。間隔子區域可以為例如5至500個（例如10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-C序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-G序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-T序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括隨機序列。

【0030】 在一些實施方式中，該環狀多核糖核苷酸的長度為50至20,000個、例如100至20,000個、例如200至20,000個、例如300至20,000個（例如50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000、11,000、12,000、13,000、14,000、15,000、16,000、17,000、18,000、19,000或20,000個）核糖核苷酸。在實施方式中，該環

狀多核糖核苷酸的長度為例如至少500個、至少1,000個、至少2,000個、至少3,000個、至少4,000個或至少5,000個核糖核苷酸。

【0031】 在一些實施方式中，該環狀多核糖核苷酸由如本文所述之線性多核糖核苷酸或載體產生。

【0032】 在另一方面，本發明的特徵在於一種藉由向細胞提供如本文所述之線性多核糖核苷酸、DNA載體或環狀多核糖核苷酸來在細胞中表現多肽的方法。該方法進一步包括允許細胞機器從多核糖核苷酸表現多肽。

【0033】 在另一方面，本發明的特徵在於一種藉由在適於線性多核糖核苷酸自剪接以產生環狀多核糖核苷酸的條件下提供如本文所述之線性多核糖核苷酸來產生如本文所述之環狀多核糖核苷酸之方法。

定義

【0034】 為了有助於對本揭露之理解，下面定義了多個術語。本文定義的術語具有如與本揭露相關的領域中的普通技術者通常理解的含義。術語如「一個/種（a、an）」和「該」並非旨在僅指單個實體，而是包括可以使用特定實例來說明的一般類別。術語「或」用於意指「和/或」，除非明確指示僅指替代物或替代物係相互排斥的，儘管本揭露支持僅指替代物和「和/或」的定義。本文的術語用於描述特定實施方式，但它們的使用不應被視為限制，除非在申請專利範圍中概述。

【0035】 如本文所用，在值的範圍內提供的任何值都包括上限和下限以及該上限和下限內含有的任何值。

【0036】 如本文所用，術語「約」係指在所列舉值的± 10%內的值。

【0037】 如本文所用，術語「載劑」係藉由對環狀多核糖核苷酸的共價修飾、經由部分或完全封裝劑或者它們的組合促進組成物（例如，環狀多核糖核苷酸）轉運或遞送到細胞中的化合物、組成物、試劑或分子。載劑的非限制性實例

包括碳水化合物載劑（例如，酸酐修飾的植物糖原或糖原型材料）、奈米顆粒（例如，封裝或共價連接/結合到環狀多核糖核苷酸的奈米顆粒）、脂質體、融合體、離體分化的網狀紅血球、胞泌體、蛋白質載劑（例如，共價連接到環狀多核糖核苷酸的蛋白質）或陽離子載劑（例如，陽離子脂質聚合物或轉染試劑）。

【0038】 如本文所用，術語「環狀多核糖核苷酸」和「環狀RNA」可互換使用並且意指具有無游離端（即無游離3'或5'端）結構的多核糖核苷酸分子，例如藉由共價鍵或非共價鍵形成環狀或無端結構的多核糖核苷酸分子。環狀多核糖核苷酸可為例如共價閉合的多核糖核苷酸。

【0039】 如本文所用，術語「環化效率」係所得環狀多核糖核苷酸相對於其非環狀起始材料的測量。

【0040】 如本文所用，術語「疾病」、「障礙」和「病症」均指亞健康狀態，例如由或通常將由醫療專業人員診斷或治療的狀態。

【0041】 「異源」意指發生在與天然存在的（天然的）背景不同的背景中。「異源」多核苷酸序列指示多核苷酸序列以在該序列的天然基因組中發現的方式不同的方式使用。例如，「異源啟動子」用於驅動序列的轉錄，該序列不是由該啟動子天然轉錄的序列；因此，「異源啟動子」序列通常藉由重組核酸技術包括在表現構建體中。術語「異源」也用於指被置於與另一序列的非天然存在的關係中的給定序列；例如，異源編碼或非編碼核苷酸序列通常藉由基因組轉化技術被插入基因組中，產生經基因修飾的基因組或重組基因組。

【0042】 如本文所用，「增加受試者的適應度」或「促進受試者的適應度」係指由於投與本文所述之肽或多肽而產生的生理學上或受試者生物體進行的任何活動的任何有利的改變，包括但不限於以下希望效果中之任何一或多種：(1) 使對生物或非生物應激的耐受性提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(2) 使產率或生物量提高約10%、20%、

30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(3) 使開花時間調整約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(4) 使對有害生物或病原體的抗性提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多，(4) 使對除草劑的抗性提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(5) 使受試生物體（例如，農業上重要的昆蟲）的群體增加約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(6) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的繁殖速率提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(7) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的遷移提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(8) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的體重增加約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(9) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的代謝速率或活性提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(10) 使藉由受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）進行的授粉（例如，在給定時間內被授粉的植物數量）提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(11) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）副產物（例如，來自蜜蜂的蜂蜜或來自蠶的蠶絲）的產量提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(12) 使受試生物體（例如，昆蟲）的營養物（例如，蛋白質、脂肪酸、或胺基酸）含量提高約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；或 (13) 使受試生物體對殺有害生物劑（例如，新煙鹼（例如，吡蟲啉）或有機磷殺蟲劑（例如，硫代磷酸酯，例如，殺螟硫磷））的抗性提高約10%、20%、30%、40%、50%、

60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多，(14) 使受試生物體（如人或非人動物）的健康提高或使受試生物體（如人或非人動物）的疾病減少。相比於未投與調節劑的受試生物體，可以確定宿主適應度的提高。相反地，「降低受試者的適應度」係指由於投與本文所述之肽或多肽而產生的生理學的或受試生物體進行的任何活動的任何不利的改變，包括但不限於以下預期效果中之任何一或多種：(1) 使對生物或非生物應激的耐受性降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(2) 使產率或生物量降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(3) 使開花時間調整約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(4) 使對有害生物或病原體的抗性降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多，(4) 使對除草劑的抗性降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(5) 使受試生物體（例如，農業上重要的昆蟲）的群體減少約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(6) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的繁殖速率降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(7) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的遷移降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(8) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的體重減少約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(9) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）的代謝速率或活性降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(10) 使藉由受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）進行的授粉（例如，在給定時間內被授粉的植物數量）降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、

95%、99%、100%或更多；(11) 使受試生物體（例如，昆蟲，例如，蜂或蠶）副產物（例如，來自蜜蜂的蜂蜜或來自蠶的蠶絲）的產量降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；(12) 使受試生物體（例如，昆蟲）的營養物（例如，蛋白、脂肪酸、或胺基酸）含量降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多；或 (13) 使受試生物體對殺有害生物劑（例如，新煙鹼（例如，吡蟲啉）或有機磷殺蟲劑（例如，硫代磷酸酯，例如，殺螟硫磷））的抗性降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%或更多，(14) 使受試生物體（如人或非人動物）的健康降低或使受試生物體（如人或非人動物）的疾病減少。相比於未投與調節劑的受試生物體，可以確定宿主適應度的降低。對熟悉該項技術者而言將顯而易見的是，受試者的生理學、表現型、或活性的某些變化（例如，植物開花時間的調整）可以被認為提高該受試者的適應度或降低該受試者的適應度，這取決於背景（例如，以適應氣候或其他環境條件的變化）。例如，開花時間的延遲（例如，在給定日曆日期開花的群體中的植物減少約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%）可為對較晚或較涼的春季的有益適應，並因此被認為提高植物的適應度；相反，在春季較早或較暖的背景下，相同的開花時間的延遲可以被認為會降低植物的適應度。

【0043】 如本文所用，術語「線性RNA」或「線性多核糖核苷酸」或「線性多核糖核苷酸分子」可互換使用並且意指具有5'端和3'端的多核糖核苷酸分子。5'端和3'端中之一或兩個可為游離端或可以與另一部分連接。線性RNA包括未經歷環化（例如，經預環化）並可用作環化的起始材料的RNA。

【0044】 如本文所用，術語「修飾的核糖核苷酸」意指具有至少一個針對糖、核鹼基或核苷間鍵的修飾的核苷酸。

【0045】 如本文所用，術語「裸遞送」係用於遞送到細胞而無需載劑的幫

助且無需對有助於遞送到細胞的部分的共價修飾的配製物。裸遞送配製物不含任何轉染試劑、陽離子載劑、碳水化合物載劑、奈米顆粒載劑或蛋白質載劑。例如，環狀多核糖核苷酸的裸遞送配製物係包含無共價修飾的環狀多核糖核苷酸並且不含載劑的配製物。

【0046】 術語「藥物組成物」旨在同樣揭露包括在藥物組成物中的環狀或線性多核糖核苷酸可用於藉由療法治療人體或動物體。

【0047】 如本文所用的術語「多核苷酸」意指包括一或多個核酸亞基或核苷酸的分子，並且可以與「核酸」或「寡核苷酸」互換使用。多核苷酸可以包括一或多個選自腺苷（A）、胞嘧啶（C）、鳥嘌呤（G）、胸腺嘧啶（T）和尿嘧啶（U）或它們的變體的核苷酸。核苷酸可以包括核苷和至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個或更多個磷酸（PO3）基團。核苷酸可以包括核鹼基、五碳糖（核糖或去氧核糖）以及一或多個磷酸基團。核糖核苷酸係其中糖為核糖的核苷酸。多核糖核苷酸或核糖核酸或RNA可以指包括經由磷酸二酯鍵聚合的多個核糖核苷酸的大分子。去氧核糖核苷酸係其中糖係去氧核糖的核苷酸。如本文所用，敘述胸腺嘧啶（T）的多核糖核苷酸序列應被理解為表示尿嘧啶（U）。

【0048】 如本文所用，本文的術語「多核糖核苷酸負載物」包括包含至少一個多核糖核苷酸的任何序列。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括一或多個表現序列，其中每個表現序列編碼多肽。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括一或多個非編碼序列，如具有調節或催化功能的多核糖核苷酸。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括表現序列和非編碼序列的組合。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括本文所述之一或多個多核糖核苷酸序列，諸如一或多個調節元件、內部核糖體進入位址（IRES）元件或間隔子序列。

【0049】 如本文可互換使用，術語「polyA」或「polyA序列」係指核酸分子的長度為至少5個核苷酸並且由腺苷殘基組成的非翻譯連續區域。在一些實施

方式中，polyA序列的長度為至少10個、至少15個、至少20個、至少30個、至少40個或至少50個核苷酸。在一些實施方式中，polyA序列位於開放讀框（例如編碼多肽的開讀框）的3'（例如下游），並且polyA序列位於終止元件（例如終止密碼子）的3'，使得polyA不被翻譯。在一些實施方式中，polyA序列位於終止元件和3'非翻譯區的3'。

【0050】 如本文所用，如果核酸的元件位於載體上，使得它們可以被轉錄以形成線性RNA，然後可以使用本文提供的方法將該線性RNA環化成環狀RNA，則該等元件係「可操作連接的」。

【0051】 多去氧核糖核苷酸或去氧核糖核酸或DNA意指包括經由磷酸二酯鍵聚合的多個去氧核糖核苷酸的大分子。核苷酸可為核苷一磷酸或核苷多磷酸。核苷酸意指包括可檢測標籤（如發光標籤）或標誌物（例如，螢光團）的去氧核糖核苷多磷酸，如例如去氧核糖核苷三磷酸（dNTP），其可以選自去氧腺苷三磷酸（dATP）、去氧胞苷三磷酸（dCTP）、去氧鳥苷三磷酸（dGTP）、尿苷三磷酸（dUTP）和去氧胸苷三磷酸（dTTP）dNTP。核苷酸可以包括可以摻入正在生長的核酸鏈中之任何亞基。這種亞基可為A、C、G、T或U，或對一或多個互補A、C、G、T或U有特異性或與嘌呤（即，A或G或其變體）或嘧啶（即，C、T或U或其變體）互補的任何其他亞基。在一些實例中，多核苷酸係去氧核糖核酸（DNA）、核糖核酸（RNA）或其衍生物或變體。在一些情況下，多核苷酸係短干擾RNA（siRNA）、微小RNA（miRNA）、質體DNA（pDNA）、短髮夾RNA（shRNA）、小核RNA（snRNA）、傳訊者RNA（mRNA）、先質mRNA（pre-mRNA）、反義RNA（asRNA）（僅舉幾例），並且包括核苷酸序列及其任何結構實施方式，諸如單股、雙股、三鏈、螺旋、髮夾等。在一些情況下，多核苷酸分子係環狀的。多核苷酸可以具有各種長度。核酸分子可以具有至少約10個鹼基、20個鹼基、30個鹼基、40個鹼基、50個鹼基、100個鹼基、200個鹼基、300

個鹼基、400個鹼基、500個鹼基、1千鹼基（kb）、2 kb、3 kb、4 kb、5 kb、10 kb、50 kb或更大的長度。可以從細胞或組織中分離多核苷酸。多核苷酸序列的實施方式包括分離和純化的DNA/RNA分子、合成的DNA/RNA分子和合成的DNA/RNA類似物。

【0052】 多核苷酸（例如，多核糖核苷酸或多去氧核糖核苷酸）的實施方式包括含有一或多個核苷酸變體（包括非標準核苷酸、非天然核苷酸、核苷酸類似物或修飾的核苷酸）的多核苷酸。經修飾的核苷酸的實例包括但不限於二胺基嘌呤、5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌呤、4-乙醯胞嘧啶、5-(羧基羥甲基)尿嘧啶、5-羧甲基胺基甲基-2-硫代尿苷、5-羧甲基胺基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、β-D-半乳糖基辨苷（galactosylqueosine）、肌苷、N6-異戊烯腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲基胺基甲基尿嘧啶、5-甲氧基胺基甲基-2-硫尿嘧啶、β-D-甘露糖基辮苷（mannosylqueosine）、5'-甲氧基羧甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-D46-異戊烯腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧乙酸（v）、懷丁苷（wybutoxosine）、假尿嘧啶、辮苷（queosine）、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧乙酸（v）、5-甲基-2-硫尿嘧啶、3-(3-胺基-3-N-2-羧丙基)尿嘧啶、(acp3)w、2,6-二胺基嘌呤等。在一些情況下，核苷酸在其磷酸部分中包括修飾，包括對三磷酸部分的修飾。此類修飾的非限制性實例包括長度更長的磷酸酯鏈（例如，具有4、5、6、7、8、9、10個或更多個磷酸酯部分的磷酸酯鏈）和帶有硫醇部分（例如，α-硫代三磷酸酯和β-硫代三磷酸酯）的修飾。在實施方式中，核酸分子在鹼基部分（例如，在通常可用於與互補核苷酸形成氫鍵的一或多個原子處或者在通常不能與互補核苷酸形成氫鍵的一或多個原子處）、糖部分或磷酸酯主鏈處被修飾。在實施方式中，核酸分子含有

胺修飾的基團，諸如胺基烯丙基1-dUTP（aa-dUTP）和胺基己基丙烯醯胺-dCTP（aha-dCTP），以允許共價附接胺反應性部分，諸如N-羥基琥珀醯亞胺酯（NHS）。本揭露之寡核苷酸中標準DNA鹼基對或RNA鹼基對的替代物可以提供更高的密度（以位元/立方毫米計）、更高的安全性（抗天然毒素的偶然或有目的合成）、更容易辨別光程式性聚合酶（photo-programmed polymerases）或較低的二級結構。與用於從頭或擴增合成的天然和突變聚合酶相容的此類替代性鹼基對在Betz K, Malyshev DA, Lavergne T, Welte W, Diederichs K, Dwyer TJ, Ordoukhanian P, Romesberg FE, Marx A. Nat. Chem. Biol. [自然化學生物學] 2012年7月;8(7):612-4中描述，其藉由援引併入本文用於所有目的。

【0053】 如本文所用，「多肽」意指最常藉由肽鍵連接在一起的胺基酸殘基（天然或非天然）的聚合物。如本文所用，該術語係指任何大小、結構或功能的蛋白質、多肽和肽。多肽可以包括基因產物、天然存在的多肽、合成的多肽、同源物、異種同源物、同種同源物、片段以及前述物質的其他等同物、變體和類似物。多肽可為單分子或多分子複合物，如二聚物、三聚物或四聚物。它們還可以包括單鏈或多鏈多肽（如抗體或胰島素），並且可為締合的或連接的。最常見的二硫鍵存在於多鏈多肽中。術語多肽也可以應用於其中一或多個胺基酸殘基係對應的天然存在的胺基酸的人工化學類似物的胺基酸聚合物。

【0054】 如本文所用，術語「植物修飾多肽」係指可以以使得植物生理學或表現型發生變化（例如，植物適應度增加或降低）的方式改變植物的遺傳特性（例如，增加基因表現、降低基因表現或者以其他方式改變DNA或RNA的核苷酸序列）、表觀遺傳特性或者生物化學或生理學特性的多肽。

【0055】 如本文所用，術語「調節元件」係修飾環狀或線性多核糖核苷酸內表現序列的表現的部分，諸如核酸序列。

【0056】 如本文所用，「間隔子」係指在兩個相鄰多核苷酸區域之間提供

距離或柔性的任何連續核苷酸序列(例如,一或多個核苷酸的連續核苷酸序列)。

【0057】 如本文所用,術語「序列同一性」係藉由使用全域或局部比對演算法對兩個肽或兩個核苷酸序列進行比對來確定的。當序列在最佳比對時(例如,當藉由程式(如GAP或BESTFIT)使用默認參數進行比對時)共用至少某個最小百分比的序列同一性時,該等序列被稱為「基本上相同的」或「基本上相似的」。GAP使用Needleman和Wunsch全域比對演算法在兩個序列的整個長度上對其進行比對,從而最大程度地增加了匹配數目並最大程度地減少了空位數目。通常,使用GAP默認參數,空位產生罰分 = 50(核苷酸)/8(蛋白質),空位延伸罰分 = 3(核苷酸)/2(蛋白質)。對於核苷酸,使用的默認評分矩陣係nwsgapdna,而對於蛋白質,默認評分矩陣係Blosum62(Henikoff和Henikoff, 1992, PNAS [美國科學院院報] 89, 915-919)。序列比對和百分比序列同一性的評分例如使用電腦程式來確定,該等電腦程式如從美國92121-3752加州聖地牙哥斯克蘭頓路9685號的阿賽樂德公司(Accelrys Inc., 9685 Scranton Road, San Diego, CA)獲得的GCG Wisconsin套裝軟體10.3版或EmbossWin 2.10.0版(使用程式「needle」)。可替代地或額外地,藉由例如使用如FASTA、BLAST等演算法對數據庫進行搜索來確定同一性百分比。序列同一性係指在序列的整個長度上的序列同一性。

【0058】 如本文所用,關於RNA的「結構化」係指由RNAFold軟體或類似預測工具預測與其自身或相同RNA分子中的其他序列形成結構(例如,髮夾環)的RNA序列。

【0059】 如本文所用,術語「受試者」係指生物,例如動物、植物或微生物。在實施方式中,受試者係脊椎動物(例如哺乳動物、鳥、魚、爬蟲類或兩棲類)。在實施方式中,受試者係人。在實施方式中,受試者係非人哺乳動物。在實施方式中,受試者係非人哺乳動物,諸如非人靈長類動物(例如猴、猿類)、有蹄類動物(例如家牛、水牛、野牛、綿羊、山羊、豬、駱駝、駱馬、羊駝、鹿、

馬、驢）、肉食動物（例如狗、貓）、齧齒動物（例如大鼠、小鼠）或兔類動物（例如兔）。在實施方式中，受試者係鳥，諸如鳥類類群雞形目（例如雞、火雞、野雞、鵪鶉）、雁形目（例如鴨、鵝）、古顎下綱（例如鴕鳥、鴯鶓）、鴿形目（例如鴿子、家鴿）或鸚形目（例如鸚鵡）的成員。在實施方式中，受試者係無脊椎動物，諸如節肢動物（例如昆蟲、蜘蛛、甲殼類動物）、線蟲、環節動物、蠕蟲或軟體動物。在實施方式中，受試者係無脊椎動物農業有害生物或者寄生在無脊椎動物或脊椎動物宿主上的無脊椎動物。在實施方式中，受試者係植物，諸如被子植物（其可為雙子葉植物或單子葉植物）或裸子植物（例如針葉樹、蘇鐵、買麻藤類植物、銀杏）、蕨類、木賊草、石松屬或苔蘚植物。在實施方式中，受試者係真核藻類（單細胞或多細胞）。在實施方式中，受試者係具有農業或園藝重要性的植物，諸如行間作物、生產水果的植物和樹木、蔬菜、樹木以及觀賞植物（包括觀賞花、灌木、樹木、地被植物和草皮草）。

【0060】 如本文所用，術語「治療（treat或treating）」係指對受試者的疾病或障礙（例如，感染性疾病、癌症、中毒或過敏反應）的預防性或治療性治療。治療的效果可以包括逆轉、減輕、降低疾病或者疾病或障礙的一或多種症狀或表現的嚴重程度，治癒疾病或者疾病或障礙的一或多種症狀或表現，抑制疾病或者疾病或障礙的一或多種症狀或表現的進展，降低疾病或者疾病或障礙的一或多種症狀或表現的復發的可能性，或者與沒有治療性治療的情況下疾病或障礙的狀態或病症相比，穩定（即，不惡化）疾病或障礙的狀態或者預防疾病或障礙的擴散。實施方式包括治療植物以控制由無脊椎動物有害生物或微生物（例如，細菌、真菌、卵菌、或病毒）病原體引起或與之相關的疾病或不利病症。實施方式包括治療植物以增加植物的先天防禦或免疫能力以耐受有害生物或病原體壓力。

【0061】 如本文所用，術語「終止元件」係終止環狀或線性多核糖核苷酸

中表現序列的翻譯的部分，諸如核酸序列。

【0062】 如本文所用，術語「翻譯效率」係從核糖核苷酸轉錄物產生蛋白質或肽的速率或量。在一些實施方式中，翻譯效率可以表現為例如在給定時間段內例如在給定翻譯系統（例如，無細胞翻譯系統，如兔網狀紅血球裂解物）中每給定量的編碼蛋白質或肽的轉錄物所產生的蛋白質或肽的量。

【0063】 如本文所用，術語「翻譯起始序列」係起始環狀或線性多核糖核苷酸中表現序列的翻譯的核酸序列。

【0064】 如本文所用，術語「治療性多肽」係指當向受試者投與或在受試者中表現時提供一些治療性益處的多肽。在實施方式中，藉由向受試者投與治療性肽或藉由在受試者中表現治療性多肽，將治療性多肽用於治療或預防受試者的疾病、障礙、或病症。在替代性的實施方式中，使治療性多肽在細胞中表現，並且向受試者投與該細胞以提供治療性益處。

【0065】 如本文所用，「載體」意指一段DNA，它係合成的（例如，使用PCR）或者取自病毒、質體或高等生物體的細胞，可以或已經將外源DNA片段插入其中以用於選殖或表現目的。在一些實施方式中，載體可以穩定地維持在生物體中。載體可以包括例如複製起點、選擇標記或報導基因（諸如抗生素抗性或GFP）或多重選殖位（MCS）。該術語包括線性DNA片段（例如，PCR產物、線性化質體片段）、質體載體、病毒載體、黏質體、人造細菌染色體（BAC）、人造酵母菌染色體（YAC）等。在一個實施方式中，本文提供的載體包括多重選殖位（MCS）。在另一實施方式中，本文提供的載體不包括MCS。

【圖式簡單說明】

【0066】 [**圖1A**和**圖1B**]**係**示出具有5個核苷酸的退火區域的示例性魚腥藻

置換內含子-外顯子（圖1A）和具有延伸退火區域的示例性魚腥藻置換內含子-外顯子（圖1B）的示意圖。

【0067】 [**圖2A**和**圖2B**]係示出具有5個核苷酸的退火區域的示例性魚腥藻置換內含子-外顯子（圖2A）和具有延伸退火區域的示例性魚腥藻置換內含子-外顯子（圖2B）的結構的示意圖。

【0068】 [**圖3A**和**圖3B**]係示出具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻1）、具有延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）和具有1.2 Kb RNA（圖3A）或4.5 Kb RNA（圖3B）的魚腥藻3的環化效率的圖。

【0069】 [**圖4**]係示出用具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻1）、具有延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）或魚腥藻3生成的環狀RNA在三個不同時間點相對表現Gluc的圖。

【0070】 [**圖5**]係示出用具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻1）、具有延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）或魚腥藻3生成的環狀RNA在三個不同時間點相對表現SARS-CoV-2棘蛋白的圖。

【0071】 [**圖6**]係示出在E2與E1之間具有若干個延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子的示例性設計的示意圖。

【0072】 [**圖7**]係示出具有延長的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）和具有退火區域的另外5、10或15個核苷酸延長的魚腥藻置換內含子-外顯子的環化效率的圖。

【0073】 [**圖8**]係示出具有延長的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）和具有退火區域的另外5、10或15個核苷酸延長的魚腥藻置換內含子-外顯子在三個不同時間點的表現的圖。

【0074】 [**圖9A**和**圖9B**]**係**示出具有6個核苷酸的退火區域的示例性眼原蟲屬置換內含子-外顯子（圖9A）和具有延伸退火區域的示例性眼原蟲屬置換內含子-外顯子（圖9B）的示意圖。

【0075】 [**圖10A**和**圖10B**]**係**示出具有6個核苷酸的退火區域的示例性眼原蟲屬置換內含子-外顯子（圖9A）和具有延伸退火區域的示例性眼原蟲屬置換內含子-外顯子（圖9B）的結構的示意圖。

【0076】 [**圖11**]係示出具有6個核苷酸的退火區域的眼原蟲屬置換內含子-外顯子（眼原蟲屬1）和具有延伸退火區域的眼原蟲屬置換內含子-外顯子（眼原蟲屬2）的環化效率的圖。

【0077】 [**圖12A**和**圖12B**]**係**示出具有2個核苷酸的退火區域的示例性T4噬菌體置換內含子-外顯子（圖12A）和具有延伸退火區域的示例性T4噬菌體置換內含子-外顯子（圖12B）的示意圖。

【0078】 [**圖13**]係示出具有2個核苷酸的退火區域的T4噬菌體置換內含子-外顯子（T4噬菌體1）和具有延伸退火區域的T4噬菌體置換內含子-外顯子（T4噬菌體2）的環化效率的圖。

【0079】 [**圖14A**和**圖14B**]**係**示出具有退火區域的示例性置換內含子-外顯子（圖14A）和具有延伸退火區域的示例性魚腥藻置換內含子-外顯子（圖14B）的示意圖。

【0080】 [**圖15A**和**圖15B**]**係**示出具有7個核苷酸的退火區域的示例性聚球藻（Synechococcus）置換內含子-外顯子（圖15A）和具有修飾和延伸退火區域的示例性聚球藻置換內含子-外顯子（圖15B）的結構的示意圖。

【0081】 [**圖16A**和**圖16B**]**係**示出具有5個核苷酸的退火區域的示例性滿江紅魚腥藻（Anabaena azollae）置換內含子-外顯子（圖16A）和具有修飾和延伸退火區域的示例性滿江紅魚腥藻置換內含子-外顯子（圖16B）的結構的示意圖。

【0082】 [**圖17A**和**圖17B**]**係**示出具有5個核苷酸的退火區域的示例性柱孢魚腥藻置換內含子-外顯子（圖17A）和具有修飾和延伸退火區域的示例性柱孢魚腥藻（Anabaena cylindrica）置換內含子-外顯子（圖17B）的結構的示意圖。

【0083】 [**圖18A**和**圖18B**]**係**示出具有5個核苷酸的退火區域的示例性偽枝藻（Scytonema）置換內含子-外顯子（圖18A）和具有修飾和延伸退火區域的示例性偽枝藻置換內含子-外顯子（圖18B）的結構的示意圖。

【0084】 [**圖19**]係示出具有退火區域的各種置換內含子-外顯子的示例性修飾的表。粗體標識原始退火區域；斜體和下劃線標識用於延伸退火的示例性修飾。

【0085】 [**圖20**]係示出具有4.5 Kb RNA的各種修飾的置換內含子-外顯子相對於具有4.5 Kb RNA的未修飾（原始）的置換內含子-外顯子的環化的倍數增加的圖。觀察到具有延伸E2-E1退火區域的置換內含子-外顯子的第I組內含子的環化效率提高。

【0086】 [**圖21A**]係示出魚腥藻自剪接內含子的二級結構的示意圖。P6b中的置換區域被突出顯示。**圖21B係**示出具有延伸P6b莖（魚腥藻4）或具有將P6b的凸起改變為莖（魚腥藻5）的魚腥藻置換內含子-外顯子的示例性設計的結構的示意圖。

【0087】 [**圖22**]係示出具有延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻2）、具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（魚腥藻1）、魚腥藻4和魚腥藻5的環化效率的圖。

【實施方式】

【0088】 本發明的特徵在於用於產生環狀多核糖核苷酸（環狀RNA）之組

成物和方法。本文所述之環狀多核糖核苷酸特別可用於將多核苷酸負載物（例如編碼基因或蛋白質）遞送到靶細胞。

【0089】 環狀多核糖核苷酸可由線性多核糖核苷酸產生，在該線性多核糖核苷酸中，端部自剪接在一起，從而形成環狀多核糖核苷酸。本文所述之線性RNA分子從5'至3'包括 (A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。多核糖核苷酸包括第一退火區域，該第一退火區域具有2至50個、例如8至50個核糖核苷酸並且存在於以下項內：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段。多核糖核苷酸還包括第二退火區域，該第二退火區域具有2至50個、例如8至50個核糖核苷酸並且存在於以下項內：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域具有與第二退火區域的80%至100%的互補性或者具有0至10個誤配鹼基對。該等特徵允許第一退火區域與第二退火區域雜交，從而使線性多核糖核苷酸5'和3'端附近的剪接位點非常接近。一旦剪接位點在附近，多核糖核苷酸就能夠自剪接3'和5'剪接位點，從而形成環狀多核糖核苷酸。

【0090】 藉由在例如以下項內包括第一退火區域：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段，以及在例如以下項內包括第二退火區域：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半，與缺乏該等特徵的其他多核糖核苷酸構造相比，線性分子表現出增加的環化效率和剪接保真度。此外，藉由使用自動催化自剪接內含子，線性分子不需要用外源酶諸如連接酶處理就能產生環狀多核糖核苷酸。這對於在單鍋反應中產生環狀產物係特別有利的。下文更詳細地描述了分子、產生方法及其用途。

多核苷酸

【0091】 本揭露之特徵在於環狀多核糖核苷酸組成物和製備環狀多核糖核苷酸之方法。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸由線性多核糖核苷酸產生（例如，藉由自剪接線性多核糖核苷酸的相容端）。在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸從去氧核糖核苷酸模板（例如，載體、線性化載體或cDNA）轉錄。因此，本揭露之特徵在於可用於產生環狀多核糖核苷酸的去氧核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸和環狀多核糖核苷酸及其組成物。

模板去氧核糖核苷酸

【0092】 本發明的特徵在於一種用於製備環狀RNA的模板去氧核糖核苷酸。該去氧核糖核苷酸包括以5'至3'取向可操作地連接的以下項：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。在實施方式中，該去氧核糖核苷酸包括另外的元件，例如在元件(A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F)或(G)中之任一個之外或之間。在實施方式中，元件(A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F)或(G)中之任一個被如本文所述之間隔子序列彼此隔開。

【0093】 在實施方式中，該去氧核糖核苷酸係例如環狀DNA載體、線性化DNA載體、或線性DNA（例如，（例如從DNA載體產生的）cDNA）。

【0094】 在一些實施方式中，該去氧核糖核苷酸進一步包括與編碼本文所述之線性RNA的序列可操作地連接的RNA聚合酶啟動子。在實施方式中，該RNA聚合酶啟動子與編碼該線性RNA的序列係異源的。在一些實施方式中，該RNA聚合酶啟動子係T7啟動子、T6啟動子、T4啟動子、T3啟動子、SP6病毒啟動子、或SP3啟動子。

【0095】 在一些實施方式中，該去氧核糖核苷酸包括多重選殖位（MCS）。

【0096】 在一些實施方式中，使用該去氧核糖核苷酸產生大小範圍為約

100至約20,000個核苷酸的環狀RNA。在一些實施方式中，該環狀RNA的大小係至少100、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、4,500、或5,000個核苷酸。在一些實施方式中，該環狀RNA的大小不多於20,000、15,000、10,000、9,000、8,000、7,000、6,000、5,000或4,000個核苷酸。

線性多核糖核苷酸

【0097】 本發明的特徵還在於線性多核糖核苷酸，該線性多核糖核苷酸包括以5'至3'取向可操作地連接的以下項：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。在實施方式中，該線性多核糖核苷酸包括另外的元件，例如在元件 (A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F) 或 (G) 中之任一個之外或之間。例如，元件 (A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F) 或 (G) 中之任一個可被如本文所述之間隔子序列隔開。

【0098】 在某些實施方式中，本文提供了一種藉由使用本文提供的去氧核糖核苷酸（例如，載體、線性化載體或cDNA）作為模板（例如，本文提供的載體、線性化載體或cDNA，它們具有位於編碼線性RNA的區域上游的RNA聚合酶啟動子）在無細胞系統中進行轉錄（例如，體外轉錄）來生成線性RNA之方法。

【0099】 在實施方式中，該去氧核糖核苷酸模板被轉錄以產生含有本文所述之組分的線性RNA。在表現時，該線性多核糖核苷酸產生剪接相容的多核糖核苷酸，該剪接相容的多核糖核苷酸可自剪接以便產生環狀多核糖核苷酸。

【0100】 在一些實施方式中，該線性多核糖核苷酸的長度為50至20,000個、100至20,000個、200至20,000個、300至20,000個（例如50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、

1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000、11,000、12,000、13,000、14,000、15,000、16,000、17,000、18,000、19,000或20,000個）核糖核苷酸。在實施方式中，該線性多核糖核苷酸的長度為例如至少500個、至少1,000個、至少2,000個、至少3,000個、至少4,000個或至少5,000個核糖核苷酸。

環狀多核糖核苷酸

【0101】在一些實施方式中，本發明的特徵在於一種環狀多核糖核苷酸（例如，共價閉合的環狀多核糖核苷酸）。在實施方式中，該環狀多核糖核苷酸包括連接5'外顯子片段和3'外顯子片段的剪接點。在實施方式中，3'外顯子片段包括第一退火區域，該第一退火區域具有2至50個、例如8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸，並且5'外顯子片段包括第二退火區域，該第二退火區域具有2至50個、例如8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸。在實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括80%至100%（例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的互補性。在實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對。

【0102】在實施方式中，該環狀多核苷酸進一步包括多核糖核苷酸負載物。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括表現（或編碼）序列、非編碼序列或表現（編碼）序列和非編碼序列的組合。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物

包括編碼多肽的表現（編碼）序列。在實施方式中，多核糖核苷酸包括與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。在一些實施方式中，IRES位於表現序列的上游。在一些實施方式中，IRES位於表現序列的下游。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸進一步包括IRES與3'外顯子片段或5'外顯子片段之間的間隔子區域。間隔子區域的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。間隔子區域可以為例如5至500個（例如10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-C序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-G序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括polyA-T序列。在一些實施方式中，間隔子區域包括隨機序列。在一些實施方式中，第一退火區域和第二退火區域連接，從而形成環狀多核糖核苷酸。

【0103】在一些實施方式中，該環狀RNA由本文所述之去氧核糖核苷酸模板或線性RNA產生。在一些實施方式中，該環狀RNA藉由本文所述方法中之任一種產生。

【0104】在一些實施方式中，該環狀多核糖核苷酸係至少約20個核苷酸、至少約30個核苷酸、至少約40個核苷酸、至少約50個核苷酸、至少約75個核苷酸、至少約100個核苷酸、至少約200個核苷酸、至少約300個核苷酸、至少約400個核苷酸、至少約500個核苷酸、至少約1,000個核苷酸、至少約2,000個核苷酸、至少約5,000個核苷酸、至少約6,000個核苷酸、至少約7,000個核苷酸、至少約8,000個核苷酸、至少約9,000個核苷酸、至少約10,000個核苷酸、至少約12,000個核苷酸、至少約14,000個核苷酸、至少約15,000個核苷酸、至少約16,000個核苷酸、至少約17,000個核苷酸、至少約18,000個核苷酸、至少約19,000個核苷酸或至少約20,000個核苷酸。

【0105】在一些實施方式中，該環狀多核糖核苷酸具有足夠的大小以容納核糖體的結合位點。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸的大小係足以編碼有用多肽的長度，例如可產生至少20,000個核苷酸、至少15,000個核苷酸、至少10,000個核苷酸、至少7,500個核苷酸、至少5,000個核苷酸、至少4,000個核苷酸、至少3,000個核苷酸、至少2,000個核苷酸、至少1,000個核苷酸、至少500個核苷酸、至少1400個核苷酸、至少300個核苷酸、至少200個核苷酸或至少100個核苷酸。

【0106】在一些實施方式中，該環狀多核糖核苷酸包括一或多個本文其他處所述之元件。在一些實施方式中，該等元件被間隔子序列彼此隔開。在一些實施方式中，該等元件彼此隔開1個核糖核苷酸、2個核苷酸、約5個核苷酸、約10個核苷酸、約15個核苷酸、約20個核苷酸、約30個核苷酸、約40個核苷酸、約50個核苷酸、約60個核苷酸、約80個核苷酸、約100個核苷酸、約150個核苷酸、約200個核苷酸、約250個核苷酸、約300個核苷酸、約400個核苷酸、約500個核苷酸、約600個核苷酸、約700個核苷酸、約800個核苷酸、約900個核苷酸、約1000個核苷酸、多達約1 kb、至少約1000個核苷酸或它們之間的任何量的核苷酸。在一些實施方式中，一或多個元件彼此鄰接，例如缺少間隔子元件。

【0107】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個本文其他處所述之重複元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個本文其他處所述之修飾。在一個實施方式中，環狀RNA含有至少一個核苷修飾。在一個實施方式中，高達100%的環狀RNA的核苷被修飾。在一個實施方式中，至少一個核苷修飾係尿苷修飾或腺苷修飾。

【0108】作為其環化的結果，環狀多核糖核苷酸可能包括某些使其差異於線性RNA的特徵。例如，如與線性RNA相比，環狀多核糖核苷酸較不易被核酸外切酶降解。這樣，環狀多核糖核苷酸比線性RNA更穩定，尤其是在核酸外切酶

存在下孵育時。環狀多核糖核苷酸與線性RNA相比的增加的穩定性使得環狀多核糖核苷酸作為產生多肽的細胞轉化試劑更加有用，並且與線性RNA相比，存儲更容易且時間更長。可以使用本領域標準的方法測試用核酸外切酶處理的環狀多核糖核苷酸的穩定性，該等方法確定是否已經發生RNA降解（例如，藉由凝膠電泳）。此外，與線性RNA不同，當環狀多核糖核苷酸與磷酸酶（如小牛腸磷酸酶）一起孵育時，環狀多核糖核苷酸較不易去磷酸化。

退火區域

【0109】本文所述之多核苷酸組成物可包括兩個或更多個退火區域，例如本文所述之兩個或更多個退火區域。退火區域或退火區域對係含有具有在合適的條件下促進雜交的高度互補性的部分的那些。

【0110】退火區域至少包括如本文所述之互補區域。互補區的高度互補性促進退火區域對的締合。當第一退火區域（例如，5'退火區域）位於線性RNA的5'端處或在其附近並且第二退火區域（例如，3'退火區域）位於線性RNA的3'端處或在其附近時，退火區域的締合使5'和3'以及相應的內含子片段接近。在一些實施方式中，這有利於藉由3'和5'剪接位點的剪接使線性RNA環化。在一些實施方式中，本文所述之退火區域強化天然存在的退火區域，例如以促進自剪接。

【0111】可藉由將一或多個（例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個或更多個）突變引入多核糖核苷酸序列中來改變退火區域。例如，可藉由將一或多個點突變引入第一退火區域和/或第二退火區域中以增加第一退火區域與第二退火區域之間的互補性的長度來延伸退火區域。還可藉由將一或多個（例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個或更多個）核苷酸插到多核糖核苷酸中來改變退火區域。例如，可藉由將一或多個核苷酸插入第一退火區域和/或第二退火區域中以增加第一退火區域與第二退火區域之間的互補的長度來延伸退火

區域。在實施方式中，可藉由將一或多個點突變引入第一退火和/或第二區域中並且將一或多個核苷酸插入第一退火和/或第二退火區域中以增加互補性的長度來延伸退火區域。改變退火區域可藉由有利於凸起或與原始序列誤配的區域以優先與改變的序列形成莖或莖環結構來改變多核糖核苷酸的二級結構。

【0112】 多核糖核苷酸包括第一退火區域，該第一退火區域具有2至50個、5至50個、6至50個、7至50個或8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸並且存在於以下項內：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；或者 (C) 3'外顯子片段。多核糖核苷酸還包括第二退火區域，該第二退火區域具有2至50個、5至50個、6至50個、7至50個或8至50個（例如10至30個、10至20個或10至15個，例如至少6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個）核糖核苷酸並且存在於以下項內：(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；或者 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域具有與第二退火區域的80%至100%（例如85%至100%，例如90%至100%，例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%）的互補性，或者具有0至10個（例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個）誤配鹼基對。

【0113】 在一些實施方式中，第一退火區域和第二退火區域係100%互補的。

【0114】 在一些實施方式中，第一退火區域與5'-TCCGT-3'（SEQ ID NO: 1）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-ACGGA-3'（SEQ ID NO: 2）的序列具有至少80%

（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0115】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-TCCGTAGCGTCT-3'（SEQ ID NO: 5）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-AGACGCTACGGA-3'（SEQ ID NO: 6）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0116】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-TCCGTAGCGTCTAAACG-3'（SEQ ID NO: 22）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-CGTTTAGACGCTACGGA-3'（SEQ ID NO: 23）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0117】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-TCCGTAGCGTCTAAACGGTCGT-3'（SEQ ID NO: 24）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-ACGACCGTTTAGACGCTACGGA-3'（SEQ ID NO: 25）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0118】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-TCCGTAGCGTCTAAACGGTCGTGTGGG-3'（SEQ ID NO: 26）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-CCCACACGACCGTTTAGACGCTACGGA-3'（SEQ ID NO: 27）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0119】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-AAGGTA-3'（SEQ ID NO: 13）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的

序列同一性，並且第二退火區域與5'-TACCTT-3'（SEQ ID NO: 14）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0120】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-AAGGTAAATATT-3'（SEQ ID NO: 16）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-AATATTTACCTT-3'（SEQ ID NO: 17）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0121】在一些實施方式中，第一退火區域具有5'-CT-3'的序列，並且第二退火區域具有5'-AG-3'的序列。

【0122】在一些實施方式中，第一退火區域與5'-CTCAATT-3'（SEQ ID NO: 20）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性，並且第二退火區域與5'-AATTGAG-3'（SEQ ID NO: 21）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0123】在一些實施方式中，(A) 或 (C)包括第一退火區域，並且 (E) 或 (G) 包括第二退火區域。

【0124】在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。

【0125】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半包括第一退火區域，並且 (E) 的5'外顯子片段包括第二退火區域。

【0126】在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且第I組催化內含子片段的5'這一半包括第二退火區域。

【0127】在一些實施方式中，第一退火區域和第二退火區域包括0或1個誤配鹼基對。

【0128】在實施方式中，退火區域進一步包括如下文所述之非互補區。可

以將非互補區添加至互補區以允許RNA的末端保持靈活性、非結構化、或與互補區相比更少結構化。

【0129】在一些實施方式中，每個退火區域包括2至100個、5至100個或6至100個核糖核苷酸（例如6至80個、6至50個、6至30個、6至20個、10至100個、10至80個、10至50個或10至30個核糖核苷酸）。在一些實施方式中，5'退火區域包括2至100個、5至100個、6至100個核糖核苷酸（例如6至80個、6至50個、6至30個、6至20個、10至100個、10至80個、10至50個或10至30個核糖核苷酸）。在一些實施方式中，3'退火區域包括6至100個核糖核苷酸（例如6至80個、6至50個、6至30個、6至20個、10至100個、10至80個、10至50個或10至30個核糖核苷酸）。

【0130】在一些實施方式中，多核糖核苷酸不包括 (A) 的3'的退火區域，該退火區域包括與 (G) 的5'的退火區域的部分或完全核酸互補性。

【0131】在一些實施方式中，例如除了第一退火區域和第二退火區域之外，多核糖核苷酸不包括另外的退火區域。

互補區域

【0132】互補區域係在合適的條件下有利於與相應的互補區域締合的區域。例如，一對互補區域可共用高度的序列互補性（例如，第一互補區域至少部分地是第二互補區域的反向互補物）。當兩個互補區域締合（例如，雜交）時，它們可形成高度結構化的二級結構，諸如莖或莖環。

【0133】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括5'互補區域和3'互補區域。在一些實施方式中，5'互補區域具有2至50個、例如5至50個核糖核苷酸（例如5-40、5-30、5-20、5-10、10-50、10-40、10-30、10-20或20-50個，例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個核糖核苷酸）。在一些實施方式中，3'互補區域

具有2至50個、例如5至50個核糖核苷酸（例如5-40、5-30、5-20、5-10、10-50、10-40、10-30、10-20或20-50個，例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個核糖核苷酸）。

【0134】在一些實施方式中，5'互補區域和3'互補區域具有50%至100%的序列互補性（例如60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%或100%，例如80%、85%、90%、95%、97%、99%或100%的序列互補性）。

【0135】在一些實施方式中，5'互補區域和3'互補區域具有低於-5 kcal/mol（例如低於-10 kcal/mol、低於-20 kcal/mol或低於-30 kcal/mol）的結合自由能。

【0136】在一些實施方式中，5'互補區域和3'互補區域具有至少10°C、至少15°C、至少20°C、至少30°C、至少40°C、至少50°C、至少60°C、至少70°C、至少80°C或至少90°C的結合Tm。

【0137】在一些實施方式中，5'互補區域和3'互補區域包括至少一個但不多於10個誤配，例如10、9、8、7、6、5、4、3或2個誤配或1個誤配（即，當5'互補區域和3'互補區域相互雜交時）。誤配可為例如5'互補區域中的核苷酸和3'互補區域中的核苷酸彼此相對（即，當5'互補區域和3'互補區域雜交時）但不形成瓦生克立克（Watson-Crick）鹼基對。誤配可為例如在5'互補區域或3'互補區域中形成扭結或凸起的未配對核苷酸。在一些實施方式中，5'互補區域和3'互補區域不包括任何誤配。

非互補區域

【0138】非互補區域係在合適的條件下不利於與相應的非互補區域締合的區域。例如，一對非互補區域可共用低度的序列互補性（例如，第一非互補區域不是第二非互補區域的反向互補物）。當兩個非互補區域接近時，它們不形成

高度結構化的二級結構，諸如莖或莖環。

【0139】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括5'非互補區域和3'非互補區域。在一些實施方式中，5'非互補區域具有5至50個核糖核苷酸（例如5-40、5-30、5-20、5-10、10-50、10-40、10-30、10-20或20-50個核糖核苷酸）。在一些實施方式中，3'非互補區域具有5至50個核糖核苷酸（例如5-40、5-30、5-20、5-10、10-50、10-40、10-30、10-20或20-50個核糖核苷酸）。

【0140】在一些實施方式中，5'非互補區域位於5'互補區域的5'（例如，5'催化內含子片段與5'互補區域之間）。在一些實施方式中，3'非互補區域位於3'互補區域的3'（例如，3'互補區域與3'催化內含子片段之間）。

【0141】在一些實施方式中，5'非互補區域和3'非互補區域具有0%至50%的序列互補性（例如0%-40%、0%-30%、0%-20%、0%-10%或0%的序列互補性）。

【0142】在一些實施方式中，5'非互補區域和3'非互補區域具有大於-5 kcal/mol的結合自由能。

【0143】在一些實施方式中，5'非互補區域和3'非互補區域具有低於10°C的結合Tm。

【0144】在一些實施方式中，5'非互補區域和3'非互補區域包括至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個誤配。

催化內含子

【0145】本文所述之多核糖核苷酸包括催化內含子片段，諸如 (A) 第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半。第一退火區域和第二退火區域可位於催化內含子片段內。第I組催化內含子係自剪接核酶，它們經由雙金屬離子磷醯基轉移機制催化它們本身從mRNA、tRNA和rRNA先質中切除。重要的是，RNA本身無需外源酶（諸如連接酶）即可自催化內含子去除。

【0146】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G)

的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因或眼原蟲屬pre-rRNA。

【0147】在一些實施方式中，(A)的第I組催化內含子片段的3'這一半和(G)的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因，並且(C)的3'外顯子片段包括第一退火區域，並且(E)的5'外顯子片段包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如5至50個、例如10至15個（例如10、11、12、13、14或15個）核糖核苷酸，並且第二退火區域可以包括例如5至50個、例如10至15個（例如10、11、12、13、14或15個）核糖核苷酸。

【0148】在一些實施方式中，(A)的第I組催化內含子片段的3'這一半和(G)的第I組催化內含子片段的5'這一半來自眼原蟲屬pre-rRNA，並且(A)的第I組催化內含子片段的3'這一半包括第一退火區域，並且(E)的5'外顯子片段包括第二退火區域。在一些實施方式中，(B)的3'外顯子包括第一退火區域，並且(G)的第I組催化內含子片段的5'這一半包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如6至50個、例如10至16個（例如10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸，並且第二退火區域可以包括例如6至50個、例如10至16個（例如10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸。

【0149】在一些實施方式中，(A)的第I組催化內含子片段的3'這一半和(G)的第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因 眼原蟲屬pre-rRNA或T4噬菌體td基因。

【0150】在一些實施方式中，(A)的第I組催化內含子片段的3'這一半和(G)的第I組催化內含子片段的5'一半來自T4噬菌體td基因。(C)的3'外顯子片段可以包括第一退火區域，並且(G)的第I組催化內含子片段的5'這一半可以包括第二退火區域。第一退火區域可以包括例如2至16個、例如10至16個（例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個）核糖核苷酸，並且第二退火

區域可以包括例如2至16個、例如10至16個（例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個）個核糖核苷酸。

【0151】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半係線性多核苷酸的5'末端。

【0152】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半係線性多核糖核苷酸的3'末端。

【0153】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-AACAACAGATAACTTACAGCTAGTCGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCCTAACGTCAAGACGAGGGTAAAGAGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCAATAGGCAGTAGCGAAAGCTGCGGGAGAATG-3'（SEQ ID NO: 28）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0154】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-AAATAATTGAGCCTTAGAGAAGAAATTCTTTAAGTGGATGCTCTCAAACTCAGGGAAACCTAAATCTAGCTATAGACAAGGCAATCCTGAGCCAAGCCGAAGTAGTAATTAGTAAGTT-3'（SEQ ID NO: 29）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0155】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 28的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 29的序列。

【0156】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-CTTCTGTTGATATGGATGCAGTTCACAGACTAAATGTCGGTCGGGGAAGATGTATTCTTCTCATAAGATATAGTCGGACCTCTCCTTAATGGGAGCTAGCGGATGAAGTGATGCAACACTGGAGCCGCTGGGAACTAATTTGTATGCGAA

AGTATATTGATTAGTTTTGGAGTACTCG-3'（SEQ ID NO: 30）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0157】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-AAATAGCAATATTTACCTTTGGAGGGAAAAGTTATCAGGCATGCACCTGGTAGCTAGTCTTTAAACCAATAGATTGCATCGGTTTAAAAGGCAAGACCGTCAAATTGCGGGAAAGGGGTCAACAGCCGTTCAGTACCAAGTCTCAGGGGAAACTTTGAGATGGCCTTGCAAAGGGTATGGTAATAAGCTGACGGACATGGTCCTAACCACGCAGCCAAGTCCTAAGTCAACAGAT-3'（SEQ ID NO: 31）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0158】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 30的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 31的序列。

【0159】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-GGTTCTACATAAATGCCTAACGACTATCCCTTTGGGGAGTAGGGTCAAGTGACTCGAAACGATAGACAACTTGCTTTAACAAGTTGGAGATATAGTCTGCTCTGCATGGTGACATGCAGCTGGATATAATTCCGGGGTAAGATTAACGACCTTATCTGAACATAATG-3'（SEQ ID NO: 32）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0160】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-TAATTGAGGCCTGAGTATAAGGTGACTTATACTTGTAATCTATCTAAACGGGGAACCTCTCTAGTAGACAATCCCGTGCTAAATTGTAGGACT-3'（SEQ ID NO: 33）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0161】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 32的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 33的序列。

【0162】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-TAAACAACTAACAGCTTTAGAAGGTGCAGAGACTAGACGGGAGCTACCCTAACGGATTCAGCCGAGGGTAAAGGGATAGTCCAATTCTCAACATCGCGATTGTTGATGGCAGCGAAAGTTGCAGAGAGAATGAAAATCCGCTGACTGTAAAGGTCGTGAGGGTTCGAGTCCCTCCGCCCCCA-3'（SEQ ID NO: 80）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0163】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-ACGGTAGACGCAGCGGACTTAGAAAACTGGGCCTCGATCGCGAAAGGGATCGAGTGGCAGCTCTCAAACTCAGGGAAACCTAAAACTTTAAACATTMAAGTCATGGCAATCCTGAGCCAAGCTAAAGC-3'（SEQ ID NO: 81）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0164】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 80的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 81的序列。

【0165】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-TTAAACTCAAAATTTAAAATCCCAAATTCAAAATTCCGGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCCTAACGTAAAGCCGAGGGTAAAGGGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCTGAAGTTGCTGAAGCAACAAGGCAGTAGTGAAAGCTGCGAGAGAATGAAAATCCGTTGACTGTAAAAAGTCGTGGGGGTTCAAGTCCCCCCACCCCC-3'（SEQ ID NO: 82）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0166】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-ATGGTAGACGCTACGGACTTAGAAAACTGAGCCTTGATAGAGAAATCTTTTAAGTGGAAGCTCTCAAATTCAGGGAAACCTAAATCTGAATACAGATATGGCAATCCTGAGCCAAGCCCAGAAAATTTAGACTTGAGATTTGATTTTGGAG-3'（SEQ ID NO: 83）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0167】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 82的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 83的序列。

【0168】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-GGCTTTCAATTTGAAATCAGAAATTCAAAATTCAGGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCCTAACGTAAAGGCGAGGGTAAAGGGAGAGTCCAATTCTTAAAGCCTGAAGTTGTGCAAGCAACAAGGCAACAGTGAAAGCTGTGGAAGAATGAAAATCCGTTGACCTTAAACGGTCGTGGGGGTTCAAGTCCCCCCACCCCC-3'（SEQ ID NO: 84）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0169】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-ATGGTAGACGCTACGGACTTAGAAAACTGAGCCTTGATAGAGAAATCTTTCAAGTGGAAGCTCTCAAATTCAGGGAAACCTAAATCTGAATACAGATATGGCAATCCTGAGCCAAGCCCGGAAATTTTAGAATCAAGATTTTATTTT-3'（SEQ ID NO: 85）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0170】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 84的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID

NO: 85的序列。

【0171】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-AGAAATGGAGAAGGTGTAGAGACTGGAAGGCAGGCACCCTAACGTTAAAGGCGAGGGTGAAGGGACAGTCCAGACCACAAACCAGTAAATCTGGGCAGCGAAAGCTGTAGATGGTAAGCATAACCCGAAGGTCAGTGGTTCAAATCCACTTCCCGCCACCAAATTAAAAAAACAATAA-3'（SEQ ID NO: 86）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0172】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-AGAAATGGAGAAGGTGTAGAGACTGGAAGGCAGGCACCCTAACGTTAAAGGCGAGGGTGAAGGGACAGTCCAGACCACAAACCAGTAAATCTGGGCAGCGAAAGCTGTAGATGGTAAGCATAACCCGAAGGTCAGTGGTTCAAATCCACTTCCCGCCACCAAATTAAAAAAACAATAA-3'（SEQ ID NO: 87）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0173】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 86的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 87的序列。

【0174】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-ACAACAGATAACTTACTAACTTACAGCTAGTCGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCCTAACGTCAAGACGAGGGTAAAGAGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCAATAGGCAGTAGCGAAAGCTGCGGGAGAATGAAAATCCGTAGCGTCTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA-3'（SEQ ID NO: 88）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0175】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-

AGACGCTACGGACTTAAATAATTGAGCCTTAGAGAAGAAATTCTTTAAGT GGATGCTCTCAAACTCAGGGAAACCTAAATCTAGCTATAGACAAGGCAAT CCTGAGCCAAGCCGAAGTAGTAATTAGTAAGTTAGTAAGTT-3'（SEQ ID NO: 89）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0176】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 88的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 89的序列。

【0177】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半與5'-AACAACAGATAACTTACTAGTTACTAGTCGGAAGGTGCAGAGACTCGAC GGGAGCTACCCTAACGTCAAGACGAGGGTAAAGAGAGAGTCCAATTCTC AAAGCCAATAGGCAGTAGCGAAAGCTGCGGGAGAATGAAAATCCGTAGC GTCTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA-3'（SEQ ID NO: 90）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0178】在一些實施方式中，(G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半與5'-AGACGCTACGGACTTAAATAATTGAGCCTTAGAGAAGAAATTCTTTAAGT GGATGCTCTCAAACTCAGGGAAACCTAAATCTAGCTATAGACAAGGCAAT CCTGAGCCAAGCCGAAGTAGTAATTAGTAAGTT-3'（SEQ ID NO: 91）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0179】在一些實施方式中，(A) 的第I組催化內含子片段的3'這一半具有SEQ ID NO: 90的序列，並且 (G) 的第I組催化內含子片段的5'這一半具有SEQ ID NO: 91的序列。

剪接位點

【0180】本文所述之多核糖核苷酸包括剪接位點，諸如 (B) 3'剪接位點；以及 (F) 5'剪接位點。剪接位點可以來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因、眼原蟲屬pre-rRNA或T4噬菌體td基因。

【0181】在一些實施方式中，3'剪接位點（例如，在第I組催化內含子片段的3'這一半部分與3'外顯子片段之間）具有序列**AGAATG ↓ AAAATC**（SEQ ID NO: 34），其中箭頭表示切割位點。在一些實施方式中，5'剪接位點（例如，在5'外顯子片段與第I組催化內含子片段的5'這一半之間）具有序列GGACTT ↓ **AAATAA**（SEQ ID NO: 35）的序列，其中箭頭表示切割位點。

【0182】在一些實施方式中，3'剪接位點（例如，在第I組催化內含子片段的3'這一半部分與3'外顯子片段之間）具有序列**TACTCG ↓ TAAGGT**（SEQ ID NO: 36），其中箭頭表示切割位點。在一些實施方式中，5'剪接位點（例如，在5'外顯子片段與第I組催化內含子片段的5'這一半之間）具有序列CTCTCT ↓ **AAATAG**（SEQ ID NO: 37）的序列，其中箭頭表示切割位點。

【0183】在一些實施方式中，3'剪接位點（例如，在第I組催化內含子片段的3'這一半部分與3'外顯子片段之間）具有序列**ATAATG ↓ CTACCG**（SEQ ID NO: 38），其中箭頭表示切割位點。在一些實施方式中，5'剪接位點（例如，在5'外顯子片段與第I組催化內含子片段的5'這一半之間）具有序列TTGGGT ↓ **TAATTG**（SEQ ID NO: 39）的序列，其中箭頭表示切割位點。

外顯子片段

【0184】本文所述之多核糖核苷酸包括外顯子片段，諸如 (C) 3'外顯子片段；以及 (E) 5'外顯子片段。

【0185】在一些實施方式中，(C) 的 3' 外顯子片段與 5'-AAAATCCGTTGACCTTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA-3'（SEQ ID NO: 40）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、

99%或100%）的序列同一性。

【0186】在一些實施方式中，(C) 的3' 外顯子片段與5'-AAAATCCGTAGCGTCTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA-3'（SEQ ID NO: 41）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0187】在一些實施方式中，(E) 的5' 外顯子片段與5'-AGACGCTACGGACTT-3'（SEQ ID NO: 42）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0188】在一些實施方式中，(E) 的5' 外顯子片段與5'-CGTTTAGACGCTACGGACTT-3'（SEQ ID NO: 43）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0189】在一些實施方式中，(E) 的5' 外顯子片段與5'-ACGACCGTTTAGACGCTACGGACTT-3'（SEQ ID NO: 44）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0190】在一些實施方式中，(E) 的5' 外顯子片段與5'-CCCACACGACCGTTTAGACGCTACGGACTT-3'（SEQ ID NO: 45）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0191】在一些實施方式中，(C) 的3'外顯子片段與5'-TAAGGTAGC-3'（SEQ ID NO: 46）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0192】在一些實施方式中，(C) 的3' 外顯子片段與5'-TAAGGTAAATATTGC-3'（SEQ ID NO: 47）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0193】在一些實施方式中，(E) 的5'外顯子片段與5'-ATGACTCTCT-3'

（SEQ ID NO: 48）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0194】在一些實施方式中，(C) 的3' 外顯子片段與5'-CTACCGTTTAATATT-3'（SEQ ID NO: 49）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0195】在一些實施方式中，(C) 的3' 外顯子片段與5'-CTCAATTTTAATATT-3'（SEQ ID NO: 50）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

【0196】在一些實施方式中，(E) 的5' 外顯子片段與5'-ATGTTTTCTTGGGT-3'（SEQ ID NO: 51）的序列具有至少80%（例如至少85%、90%、95%、97%、99%或100%）的序列同一性。

多核糖核苷酸負載物

【0197】本文所述之多核糖核苷酸負載物包括包含至少一個多核糖核苷酸的任何序列。在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括表現序列、非編碼序列或表現序列和非編碼序列。在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括編碼多肽的表現序列。在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。在一些實施方式中，(D) 的多核糖核苷酸負載物包括編碼對受試者具有生物學效應的多肽的表現序列。

【0198】例如，多核糖核苷酸負載物可以包括至少約40個核苷酸、至少約50個核苷酸、至少約75個核苷酸、至少約100個核苷酸、至少約200個核苷酸、至少約300個核苷酸、至少約400個核苷酸、至少約500個核苷酸、至少約1,000個核苷酸、至少約2,000個核苷酸、至少約5,000個核苷酸、至少約6,000個核苷酸、至少約7,000個核苷酸、至少約8,000個核苷酸、至少約9,000個核苷酸、至少約10,000個核苷酸、至少約12,000個核苷酸、至少約14,000個核苷酸、至少約15,000個核

苷酸、至少約16,000個核苷酸、至少約17,000個核苷酸、至少約18,000個核苷酸、至少約19,000個核苷酸、或至少約20,000個核苷酸。在一些實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括1-20,000個核苷酸、1-10,000個核苷酸、1-5,000個核苷酸、100-20,000個核苷酸、100-10,000個核苷酸、100-5,000個核苷酸、500-20,000個核苷酸、500-10,000個核苷酸、500-5,000個核苷酸、1,000-20,000個核苷酸、1,000-10,000個核苷酸或1,000-5,000個核苷酸。

【0199】在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括一或多個表現（或編碼）序列，其中每個表現（或編碼）序列編碼多肽。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括一或多個非編碼序列。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物完全由一或多個非編碼序列組成。在實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括表現（或編碼）和非編碼序列的組合。

【0200】在一些實施方式中，如本文所述製備的多核糖核苷酸用作治療或農業中的效應子。例如，可以向受試者投與藉由本文所述之方法（例如，本文所述之無細胞的方法）製備的環狀多核糖核苷酸（例如，在藥物、獸用、或農業組成物中）。在另一個實例中，可將藉由本文所述之方法（例如，本文所述之無細胞方法）製備的環狀多核糖核苷酸遞送到細胞。

【0201】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括如國際專利公開案號WO 2019/118919中揭露的任何特徵或特徵的任何組合，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

多肽表現序列

【0202】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括一或多個表現（或編碼）序列，其中每個表現序列編碼多肽。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個表現（或編碼）序列。

【0203】 每個編碼的多肽可為線性或分支的。在各種實施方式中，多肽具有約5至約40,000個胺基酸、約15至約35,000個胺基酸、約20至約30,000個胺基酸、約25至約25,000個胺基酸、約50至約20,000個胺基酸、約100至約15,000個胺基酸、約200至約10,000個胺基酸、約500至約5,000個胺基酸、約1,000至約2,500個胺基酸或它們之間的任何範圍的長度。在一些實施方式中，長度少於約40,000個胺基酸、少於約35,000個胺基酸、少於約30,000個胺基酸、少於約25,000個胺基酸、少於約20,000個胺基酸、少於約15,000個胺基酸、少於約10,000個胺基酸、少於約9,000個胺基酸、少於約8,000個胺基酸、少於約7,000個胺基酸、少於約6,000個胺基酸、少於約5,000個胺基酸、少於約4,000個胺基酸、少於約3,000個胺基酸、少於約2,500個胺基酸、少於約2,000個胺基酸、少於約1,500個胺基酸、少於約1,000個胺基酸、少於約900個胺基酸、少於約800個胺基酸、少於約700個胺基酸、少於約600個胺基酸、少於約500個胺基酸、少於約400個胺基酸、少於約300個胺基酸或更少的多肽可能是有用的。

【0204】 本文包括的多肽可包括天然存在的多肽或非天然存在的多肽。在一些實施方式中，該多肽係或包括參考多肽的功能性片段或變體（例如，酶的酶活性片段或變體）。例如，該多肽可為本文所述之任一多肽的功能活性變體，例如在指定區域或整個序列上與本文所述之多肽或天然存在的多肽的序列具有至少70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。在一些情況下，多肽可以與目的蛋白具有至少50%（例如，至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、或更大）同一性。

【0205】 多肽的一些實例包括但不限於螢光標籤或標誌物、抗原、治療性多肽、或用於農業應用的多肽。

【0206】治療性多肽可為激素、神經傳遞質、生長因子、酶（例如，氧化還原酶、代謝酶、粒線體酶、加氧酶、脫氫酶、ATP非依賴性酶、溶酶體酶、去飽和酶）、細胞介素、抗原結合多肽（例如，抗原結合抗體或抗體樣片段，諸如單鏈抗體、奈米抗體或其他含有Ig重鏈或輕鏈的多肽）、Fc融合蛋白、抗凝劑、血液因子、骨成形性蛋白質、干擾素、介白素和溶栓劑。

【0207】用於農業應用的多肽可為細菌素、溶素、抗微生物多肽、抗真菌多肽、根瘤富含C的肽、細菌細胞調節肽、肽毒素、殺蟲多肽（例如，殺蟲多肽或殺線蟲多肽）、抗原結合多肽（例如，抗原結合抗體或抗體樣片段，諸如單鏈抗體、奈米抗體或其他含有Ig重鏈或輕鏈的多肽）、酶（例如，核酸酶、澱粉酶、纖維素酶、肽酶、脂酶、幾丁質酶）、肽傳訊素和轉錄因子。

【0208】在一些情況下，環狀多核糖核苷酸表現非人蛋白。

【0209】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸表現抗體，例如抗體片段或其一部分。在一些實施方式中，由環狀多核糖核苷酸表現的抗體可為任何同種型的，如IgA、IgD、IgE、IgG、IgM。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸表現抗體的一部分，如輕鏈、重鏈、Fc片段、CDR（互補決定區）、Fv片段、或Fab片段、其另外的部分。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸表現抗體的一或多個部分。例如，環狀多核糖核苷酸可以包括多於一個表現（或編碼）序列，其中每一個序列表現抗體的一部分，並且其總和可以構成該抗體。在一些情況下，環狀多核糖核苷酸包括一個編碼抗體重鏈的表現序列和另一個編碼抗體輕鏈的表現序列。在一些情況下，當環狀多核糖核苷酸在細胞或無細胞環境中表現時，輕鏈和重鏈可以經受適當的修飾、折疊或其他翻譯後修飾以形成功能性抗體。

【0210】在實施方式中，多肽包括多個多肽，例如，一個多肽序列的多個拷貝、或多個不同的多肽序列。在實施方式中，多個多肽藉由連接子胺基酸或間隔胺基酸連接。

【0211】在實施方式中，多核苷酸負載物包括編碼訊息肽的序列。已經描述了許多訊息肽序列，例如，Tat（雙精胺酸易位）訊息序列通常是含有共有SRRxFLK「雙精胺酸」模體的N末端肽序列，其用於將含有這種Tat訊息肽的折疊蛋白易位穿過脂質雙層。還參見例如，在www[dot]signalpeptide[dot]de上可公開獲得的訊息肽數據庫。訊息肽也可用於將蛋白質導向特定的細胞器；參見例如，Spdb訊息肽數據庫中揭露的實驗確定和計算預測的訊息肽，該數據庫可在proline[dot]bic[dot]nus[dot]edu[dot]sg/spdb公開獲得。

【0212】在實施方式中，多核苷酸負載物包括編碼細胞穿透肽（CPP）的序列。已經描述了數百個CPP序列；參見例如，細胞穿透肽數據庫CPPsite，可在crdd[dot]osdd[dot]net/raghava/cppsite/上公開獲得。常用的CPP序列的實例係聚精胺酸序列，例如八精胺酸或九精胺酸，其可以融合到CGI肽的C末端。

【0213】在實施方式中，多核苷酸負載物包括編碼自組裝肽的序列；參見例如，Miki等人. (2021) Nature Communications [自然通訊], 21:3412, DOI: 10.1038/s41467-021-23794-6。

【0214】在一些實施方式中，表現（或編碼）序列包括poly-A序列（例如，在表現序列的3'端）。在一些實施方式中，poly-A序列的長度大於10個核苷酸。在一個實施方式中，poly-A序列的長度大於15個核苷酸（例如，至少或大於約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500和3,000個核苷酸）。在一些實施方式中，根據國際專利公開案號WO 2019/118919 A1的[0202]-[0204]中對poly-A序列的描述來設計poly-A序列，該文獻藉由援引以其全文併入本文。在一些實施方式中，表現序列缺少poly-A序列（例如，在表現序列的3'端）。

【0215】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括polyA、缺少polyA或具有修飾的polyA以調節環狀多核糖核苷酸的一或多種特性。在一些實施方式中，缺少polyA或具有修飾的polyA的環狀多核糖核苷酸改善一或多種功能特性，例如免疫原性（例如免疫或炎症響應的一或多種標記物的水平）、半衰期和/或表現效率。

治療性多肽

【0216】在一些實施方式中，本文所述之環狀多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個編碼治療性多肽的表現序列。治療性多肽係當向受試者投與或在受試者中表現時提供一些治療性益處的多肽。向受試者投與或在受試者中表現治療性多肽可用於治療或預防疾病、障礙或病症或其症狀。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸編碼兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種治療性多肽。

【0217】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括編碼治療性蛋白的表現序列。該蛋白可治療對其有需要的受試者的疾病。在一些實施方式中，治療性蛋白可以補償對其有需要的受試者中突變的、表現不足的或缺少的蛋白。在一些實施方式中，治療性蛋白可以靶向對其有需要的受試者中的細胞、組織或病毒，與對其有需要的受試者中的細胞、組織或病毒相互作用或結合。

【0218】治療性多肽可為可以從細胞分泌或定位於細胞的細胞質、細胞核或膜區室的多肽。

【0219】治療性多肽可為激素、神經傳遞質、生長因子、酶（例如，氧化還原酶、代謝酶、粒線體酶、加氧酶、脫氫酶、ATP非依賴性酶、溶酶體酶、去飽和酶）、細胞介素、轉錄因子、抗原結合多肽（例如，抗原結合抗體或抗體樣片段，諸如單鏈抗體、奈米抗體或其他含有Ig重鏈或輕鏈的多肽）、Fc融合蛋白、抗凝劑、血液因子、骨成形性蛋白質、干擾素、介白素、溶栓劑、抗原（例如，

腫瘤、病毒或細菌抗原）、核酸酶（例如，核酸內切酶，諸如Cas蛋白，例如Cas9）、膜蛋白（例如，嵌合抗原受體（CAR）、跨膜受體、G蛋白偶合受體（GPCR）、受體酪胺酸激酶（RTK）、抗原受體、離子通道或膜運輸蛋白）、分泌蛋白、基因編輯蛋白（例如，CRISPR-Cas、TALEN或鋅指）或基因書寫蛋白（參見例如，國際專利公開案號WO 2020/047124，該文獻藉由援引以其全文併入本文）。

【0220】在一些實施方式中，治療性多肽係抗體，例如，全長抗體、抗體片段、或其一部分。在一些實施方式中，由環狀多核糖核苷酸表現的抗體可為任何同種型的，如IgA、IgD、IgE、IgG、IgM。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸表現抗體的一部分，如輕鏈、重鏈、Fc片段、CDR（互補決定區）、Fv片段、或Fab片段、其另外的部分。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸表現抗體的一或多個部分。例如，環狀多核糖核苷酸可以包括多於一個表現序列，其中每一個表現抗體的一部分，並且其總和可以構成該抗體。在一些情況下，環狀多核糖核苷酸包括一個編碼抗體重鏈的表現序列和另一個編碼抗體輕鏈的表現序列。當環狀多核糖核苷酸在細胞中表現時，輕鏈和重鏈可以經受適當的修飾、折疊或其他翻譯後修飾以形成功能性抗體。

【0221】在一些實施方式中，如本文所述製備的環狀多核糖核苷酸用作治療或農業中的效應子。例如，可以向受試者投與藉由本文所述之方法（例如，本文所述之無細胞的方法）製備的環狀多核糖核苷酸（例如，在藥物、獸用、或農業組成物中）。在實施方式中，受試者係脊椎動物（例如哺乳動物、鳥、魚、爬蟲類或兩棲類）。在實施方式中，受試者係人。在實施方式中，方法受試者係非人哺乳動物。在實施方式中，受試者係非人哺乳動物，諸如非人靈長類動物（例如猴、猿類）、有蹄類動物（例如家牛、水牛、綿羊、山羊、豬、駱駝、駱馬、羊駝、鹿、馬、驢）、肉食動物（例如狗、貓）、齧齒動物（例如大鼠、小鼠）或兔類動物（例如兔）。在實施方式中，受試者係鳥，諸如鳥類類群雞形目（例

如雞、火雞、野雞、鵪鶉）、雁形目（例如鴨、鵝）、古顎下綱（例如鴕鳥、鴯鶓）、鴿形目（例如鴿子、家鴿）或鸚形目（例如鸚鵡）的成員。在實施方式中，受試者係無脊椎動物，諸如節肢動物（例如昆蟲、蜘蛛、甲殼類動物）、線蟲、環節動物、蠕蟲或軟體動物。在實施方式中，受試者係無脊椎動物農業有害生物或者寄生在無脊椎動物或脊椎動物宿主上的無脊椎動物。在實施方式中，受試者係植物，諸如被子植物（其可為雙子葉植物或單子葉植物）或裸子植物（例如針葉樹、蘇鐵、買麻藤類植物、銀杏）、蕨類、木賊草、石松屬或苔蘚植物。在實施方式中，受試者係真核藻類（單細胞或多細胞）。在實施方式中，受試者係具有農業或園藝重要性的植物，諸如行間作物、生產水果的植物和樹木、蔬菜、樹木以及觀賞植物（包括觀賞花、灌木、樹木、地被植物和草皮草）。

分泌的多肽效應子

【0222】在一些實施方式中，本文所述之環狀多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個編碼分泌的多肽效應子的編碼序列。可表現的示例性分泌的多肽效應子或蛋白質包括例如細胞介素和細胞介素受體、多肽激素和受體、生長因子、凝血因子、治療性替代酶和治療性非酶效應子、再生、修復和纖維化因子、轉化因子和刺激細胞再生的蛋白質，它們的非限制性實例在本文例如下表中描述。

細胞介素和細胞介素受體

【0223】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括表1的細胞介素或其功能變體或片段，例如與表1中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。在一些實施方式中，功能變體與對應的細胞介素受體結合，其Kd比對應的野生型細胞介素在相同條件下對於相同受體的Kd高或低不超過10%、20%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，效應子包括包含第一區域（例如，表1的細胞介素多肽或其

功能變體或片段）和第二異源區域的融合蛋白。在一些實施方式中，第一區域係表1的第一細胞介素多肽。在一些實施方式中，第二區域係表1的第二細胞介素多肽，其中第一細胞介素和第二細胞介素多肽在野生型細胞中彼此形成細胞介素異二聚物。在一些實施方式中，表1的多肽或其功能變體包含訊息序列，例如對於效應子而言內源的訊息序列或異源訊息序列。

【0224】在一些實施方式中，本文所述之效應子包含結合表1的細胞介素的抗體或其變體。在一些實施方式中，抗體分子包含訊息序列。

[表1].示例性細胞介素和細胞介素受體

細胞介素	一或多個細胞介素受體	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
IL-1α、IL-1β或其異二聚物	IL-1 1型受體，IL-1 2型受體	3552，3553	P01583，P01584
IL-1Ra	IL-1 1型受體，IL-1 2型受體	3454，3455	P17181，P48551
IL-2	IL-2R	3558	P60568
IL-3	IL-3受體α + β c (CD131)	3562	P08700
IL-4	IL-4R I型，IL-4R II型	3565	P05112
IL-5	IL-5R	3567	P05113
IL-6	IL-6R (sIL-6R) gp130	3569	P05231
IL-7	IL-7R和sIL-7R	3574	P13232
IL-8	CXCR1和CXCR2	3576	P10145
IL-9	IL-9R	3578	P15248
IL-10	IL-10R1/IL-10R2複合物	3586	P22301
IL-11	IL-11Rα 1 gp130	3589	P20809
IL-12（例如p35、p40或其異二聚物）	IL-12Rβ1和IL-12Rβ2	3593，3592	P29459，P29460
IL-13	IL-13R1α1和IL-13R1α2	3596	P35225
IL-14	IL-14R	30685	P40222

細胞介素	一或多個細胞介素受體	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
IL-15	IL-15R	3600	P40933
IL-16	CD4	3603	Q14005
IL-17A	IL-17RA	3605	Q16552
IL-17B	IL-17RB	27190	Q9UHF5
IL-17C	IL-17RA至IL-17RE	27189	Q9P0M4
IL-17D	SEF	53342	Q8TAD2
IL-17F	IL-17RA，IL-17RC	112744	Q96PD4
IL-18	IL-18受體	3606	Q14116
IL-19	IL-20R1/IL-20R2	29949	Q9UHD0
IL-20	L-20R1/IL-20R2和IL-22R1/IL-20R2	50604	Q9NYY1
IL-21	IL-21R	59067	Q9HBE4
IL-22	IL-22R	50616	Q9GZX6
IL-23（例如p19、p40或其異二聚物）	IL-23R	51561	Q9NPF7
IL-24	IL-20R1/IL-20R2和IL-22R1/IL-20R2	11009	Q13007
IL-25	IL-17RA和IL-17RB	64806	Q9H293
IL-26	IL-10R2鏈和IL-20R1鏈	55801	Q9NPH9
IL-27（例如p28、EBI3或其異二聚物）	WSX-1和gp130	246778	Q8NEV9
IL-28A，IL-28B和IL29	IL-28R1/IL-10R2	282617，282618	Q8IZI9，Q8IU54
IL-30	IL6R/gp130	246778	Q8NEV9
IL-31	IL-31RA/OSMRβ	386653	Q6EBC2
IL-32		9235	P24001
IL-33	ST2	90865	O95760

細胞介素	一或多個細胞介素受體	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
IL-34	群落刺激因子1受體	146433	Q6ZMJ4
IL-35（例如p35、EBI3或其異二聚物）	IL-12Rβ2/gp130；IL-12Rβ2/IL-12Rβ2；gp130/gp130	10148	Q14213
IL-36	IL-36Ra	27179	Q9UHA7
IL-37	IL-18Rα和IL-18BP	27178	Q9NZH6
IL-38	IL-1R1，IL-36R	84639	Q8WWZ1
IFN-α	IFNAR	3454	P17181
IFN-β	IFNAR	3454	P17181
IFN-γ	IFNGR1/IFNGR2	3459	P15260
TGF-β	TβR-I和TβR-II	7046，7048	P36897，P37173
TNF-α	TNFR1，TNFR2	7132，7133	P19438，P20333

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得；Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

多肽激素和受體

【0225】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括表2的激素或其功能變體，例如與表2中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。在一些實施方式中，功能變體與對應的受體結合，其Kd比對應的野生型激素在相同條件下對於相同受體的Kd高不超過10%、20%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，表2的多肽或其功能變體包含訊息序列，例如對於效應子而言內源的訊息序列或異源訊息

序列。

【0226】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括結合表2的激素的抗體分子（例如，scFv）。在一些實施方式中，本文所述之效應子包括結合表2的激素受體的抗體分子（例如，scFv）。在一些實施方式中，抗體分子包含訊息序列。

[表2].示例性多肽激素和受體

激素	受體	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
利尿鈉肽，例如心房利尿鈉肽（ANP）	NPRA、NPRB、NPRC	4878	P01160
腦利尿鈉肽（BNP）	NPRA、NPRB	4879	P16860
C型利尿鈉肽（CNP）	NPRB	4880	P23582
生長激素（GH）	GHR	2690	P10912
促乳素（PRL）	PRLR	5617	P01236
促甲狀腺激素（TSH）	TSH受體	7253	P16473
促皮質素（ACTH）	ACTH受體	5443	P01189
濾泡刺激素（FSH）	FSHR	2492	P23945
黃體促素（LH）	LHR	3973	P22888
抗利尿激素（ADH）	血管加壓素受體，例如V2；AVPR1A；AVPR1B；AVPR3；AVPR2	554	P30518
催產素	OXTR	5020	P01178
降鈣素	降鈣素受體（CT）	796	P01258
甲狀旁腺激素（PTH）	PTH1R和PTH2R	5741	P01270
胰島素	胰島素受體（IR）	3630	P01308
升糖素	升糖素受體	2641	P01275
GIP	GIPR	2695	P09681

激素	受體	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
纖維母細胞生長因子19（FGF19）	FGFR4	9965	O95750
纖維母細胞生長因子21（FGF21）	FGFR1c、2c、3c	26291	Q9NSA1
纖維母細胞生長因子23（FGF23）	FGFR1、2、4	8074	Q9GZV9
黑色素細胞刺激素（α-MSH）	MC1R、MC4R、MC5R		
黑色素細胞刺激素（β-MSH）	MC4R		
黑色素細胞刺激素（γ-MSH）	MC1R、MC3R、MC4R、MC5R		
前腦啡黑細胞促素皮促素POMC（α-、β-、γ-、MSH先質）	MC1R、MC3R、MC4R、MC5R	5443	P01189
醣蛋白激素α鏈（CGA）		1081	P01215
濾泡刺激素β（FSHB）	FSHR	2488	P01225
瘦素	LEPR	3952	P41159
飢餓素	GHSR	51738	Q9UBU3

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得，Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

生長因子

【0227】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括表3的生長因子或其功能變體，例如與表3中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。在一些實施方式中，功能變體與對應的受體結合，其Kd比對應的野生型生長因子在相同條件下對於相同受體的Kd高不超過10%、20%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，表3的多肽或其功能變體包含訊息序列，例如對於效應子而言內源的訊息序列或異源訊息序列。

【0228】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括結合表3的生長因子的抗體或其變體。在一些實施方式中，本文所述之效應子包括結合表3的生長因子受體的抗體分子（例如，scFv）。在一些實施方式中，抗體分子包含訊息序列。

[表3].示例性生長因子

PDGF家族		**Entrez基因ID[1]**	**UniProt ID[2]**
PDGF（例如，PDGF-1、PDGF-2或其異二聚物）	PDGF受體，例如PDGFRα、PDGFRβ	5156	P16234
CSF-1	CSF1R	1435	P09603
SCF	CD117	3815	P10721
VEGF家族			
VEGF（例如，同種型VEGF 121、VEGF 165、VEGF 189和VEGF 206）	VEGFR-1，VEGFR-2	2321	P17948
VEGF-B	VEGFR-1	2321	P17949
VEGF-C	VEGFR-2和VEGFR-3	2324	P35916

PDGF家族		**Entrez基因ID[1]**	**UniProt ID[2]**
PlGF	VEGFR-1	5281	Q07326
EGF家族			
EGF	EGFR	1950	P01133
TGF-α	EGFR	7039	P01135
雙調蛋白	EGFR	374	P15514
HB-EGF	EGFR	1839	Q99075
β細胞素	EGFR、ErbB-4	685	P35070
上皮調節蛋白	EGFR、ErbB-4	2069	O14944
調蛋白	EGFR、ErbB-4	3084	Q02297
FGF家族			
FGF-1，FGF-2，FGF-3，FGF-4，FGF-5，FGF-6，FGF-7，FGF-8，FGF-9	FGFR1，FGFR2，FGFR3和FGFR4	2246，2247，2248，2249，2250，2251，2252，2253，2254	P05230，P09038，P11487，P08620，P12034，P10767，P21781，P55075，P31371
胰島素家族			
胰島素	IR	3630	P01308
IGF-I	IGF-I受體，IGF-II受體	3479	P05019
IGF-II	IGF-II受體	3481	P01344
HGF家族			
HGF	MET受體	3082	P14210
MSP	RON	4485	P26927
神經滋養素家族			
NGF	LNGFR，trkA	4803	P01138
BDNF	trkB	627	P23560
NT-3	trkA，trkB，trkC	4908	P20783

PDGF家族		**Entrez基因ID[1]**	**UniProt ID[2]**
NT-4	trkA，trkB	4909	P34130
NT-5	trkA，trkB	4909	P34130
血管生成素家族			
ANGPT1	HPK-6/TEK	284	Q15389
ANGPT2	HPK-6/TEK	285	O15123
ANGPT3	HPK-6/TEK	9068	O95841
ANGPT4	HPK-6/TEK	51378	Q9Y264
ANGPTL2	LILRB2和整合素 α5β1	23452	Q9UKU9
ANGPTL3	LPL	27329	Q9Y5C1
ANGPTL4		51129	Q9BY76
ANGPTL8	PirB	55908	Q6UXH0

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得，Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

凝血因子

【0229】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括表4的多肽或其功能變體，例如與表4中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。在一些實施方式中，功能變體催化與對應的野生型蛋白相同的反應，例如，催化速率比野生型蛋白低或高不少於10%、20%、30%、40%或50%。在一些實施方式中，表4的多肽或其功能變體包含訊息序列，例如對於效應子而言內源的訊息序列或異源訊息序列。

[表4].凝血相關的因子

效應子	適應症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
因子I（纖維蛋白原）	纖維蛋白原血症	2243，2266，2244	P02671，P02679，P02675
因子II	因子II缺陷	2147	P00734
因子IX	B型血友病	2158	P00740
因子V	奧倫氏病（Owren's disease）	2153	P12259
因子VIII	A型血友病	2157	P00451
因子X	Stuart-Prower因子缺乏症	2159	P00742
因子XI	C型血友病	2160	P03951
因子XIII	纖維蛋白穩定因子缺乏症	2162，2165	P00488，P05160
vWF	馮維勒布蘭德病（von Willebrand disease）	7450	P04275

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得，Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

治療性替代酶

【0230】在一些實施方式中，本文所述之效應子包括表5的酶或其功能變體，例如與表5中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。在一些實施方式中，功能變體催化與對應的野生型蛋白相同的反應，例如，催化速率比野生型蛋白低不少於或不多於10%、20%、30%、40%或50%。

[表5].用於酶缺乏症的示例性酶效應子

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
3-甲基巴豆醯輔酶A羧化酶	3-甲基巴豆醯輔酶A羧化酶缺陷	56922，64087	Q96RQ3，Q9HCC0
乙醯輔酶A胺基葡糖苷N-乙醯轉移酶	黏多糖病MPS III（沙費利波（Sanfilippo）氏症候群）III-C型	138050	Q68CP4
ADAMTS13	血栓形成性血小板減少性紫癜病	11093	Q76LX8
腺嘌呤磷酸核糖轉移酶	腺嘌呤磷酸核糖轉移酶缺陷	353	P07741
腺苷去胺酶	腺苷去胺酶缺陷	100	P00813
ADP-核醣蛋白水解酶	麩胺醯核糖-5-磷酸貯積病	26119，54936	Q5SW96，Q9NX46
α葡醣苷酶	肝醣儲積症2型（龐普氏病）	2548	P10253
精胺酸酶	家族性高精胺酸血症	383，384	P05089，P78540
芳基硫酸酯酶A	異染性白質失養症	410	P15289
組織蛋白酶K	緻密成骨不全症	1513	P43235
神經醯胺酶	法伯氏病（Farber's disease）（脂肉芽腫症）	125981，340485，55331	Q8TDN7，Q5QJU3，Q9NUN7
胱硫醚B合酶	高胱胺酸尿症	875	P35520
多萜醇-P-甘露糖合酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ie	8813，54344	O60762，Q9P2X0
Dolicho-P-Glc：Man9GlcNAc2-PP-多萜醇葡糖基轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ic	84920	Q5BKT4
Dolicho-P-Man：Man5GlcNAc2-PP-多	N-糖基化先天性障礙CDG Id	10195	Q92685

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
萜醇甘露糖基轉移酶			
多萜基-P-葡萄糖：Glc-1-Man-9-GlcNAc-2-PP-多萜基-α-3-葡萄糖基轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ih	79053	Q9BVK2
多萜基-P-甘露糖：Man-7-GlcNAc-2-PP-多萜基-α-6-甘露糖基轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ig	79087	Q9BV10
因子II	因子II缺陷	2147	P00734
因子IX	B型血友病	2158	P00740
因子V	奧倫氏病	2153	P12259
因子VIII	A型血友病	2157	P00451
因子X	Stuart-Prower因子缺乏症	2159	P00742
因子XI	C型血友病	2160	P03951
因子XIII	纖維蛋白穩定因子缺乏症	2162，2165	P00488，P05160
半乳糖胺-6-硫酸硫酸酯酶	黏多糖病MPS IV（莫奎奧氏症候群（Morquio's syndrome））IV-A型	2588	P34059
半乳糖苷基神經醯胺β-半乳醣苷酶	克拉培氏病（Krabbe's disease）	2581	P54803
神經節苷脂β-半乳醣苷酶	GM1神經節苷脂貯積症，廣義的	2720	P16278
神經節苷脂β-半乳醣苷酶	GM2神經節苷脂貯積症	2720	P16278
神經節苷脂β-半乳醣	神經鞘脂病I型	2720	P16278

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
苷酶			
神經節苷脂β-半乳醣苷酶	神經鞘脂病II型（幼年型）	2720	P16278
神經節苷脂β-半乳醣苷酶	神經鞘脂病III型（成人型）	2720	P16278
葡醣苷酶I	N-糖基化先天性障礙CDG IIb	2548	P10253
葡萄糖基神經醯胺β-葡醣苷酶	高歇氏病	2629	P04062
乙醯肝素-S-硫酸磺醯胺酶	黏多糖病MPS III（沙費利波氏症候群）III-A型	6448	P51688
尿黑酸氧化酶	黑尿症	3081	Q93099
玻醣醛酸酶	黏多糖病MPS IX（玻醣醛酸酶缺乏症）	3373，8692，8372，23553	Q12794，Q12891，O43820，Q2M3T9
艾杜糖酸硫酸酯硫酸酯酶	黏多糖病MPS II（亨特綜合症（Hunter's syndrome））	3423	P22304
卵磷脂-膽固醇醯基轉移酶（LCAT）	完全LCAT缺陷，魚眼病，動脈粥樣硬化，高膽固醇血症	3931	606967
離胺酸氧化酶	戊二酸血症I型	4015	P28300
溶酶體酸性脂酶	膽固醇酯積貯病（CESD）	3988	P38571
溶酶體酸性脂酶	溶酶體酸性脂酶缺乏症	3988	P38571
溶酶體酸性脂酶	伍爾曼氏病	3988	P38571
溶酶體胃酶抑素不敏感肽酶	蠟樣脂褐質沈積症晚期嬰兒型（CLN2，比-詹二氏病（Jansky-Bielschowsky disease））	1200	O14773
甘露糖（Man）磷酸	N-糖基化先天性障礙CDG Ib	4351	P34949

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
（P）異構酶			
甘露糖基-α-1,6-醣蛋白-β-1,2-N-乙醯葡萄糖胺轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG IIa	4247	Q10469
金屬蛋白酶-2	溫徹斯特氏症候群（Winchester syndrome）	4313	P08253
甲基丙二醯輔酶A變位酶	甲基丙二酸血（維生素b12無響應）	4594	P22033
N-乙醯半乳糖胺α-4-硫酸硫酸酯酶（芳基硫酸酯酶B）	黏多糖病MPS VI（馬－拉二氏症（Maroteaux-Lamy syndrome））	411	P15848
N-乙醯基-D-葡糖胺酶	黏多糖病MPS III（沙費利波氏症候群）III-B型	4669	P54802
N-乙醯基-半乳醣苷酶	辛德勒病（Schindler's disease）I型（嬰兒重症型）	4668	P17050
N-乙醯基-半乳醣苷酶	辛德勒病II型（神崎病，成人發病型）	4668	P17050
N-乙醯基-半乳醣苷酶	辛德勒病III型（中間型）	4668	P17050
N-乙醯葡萄糖胺-6-硫酸硫酸酯酶	黏多糖病MPS III（沙費利波氏症候群）III-D型	2799	P15586
N-乙醯基胺基葡萄糖基-1-磷酸轉移酶	黏脂貯積症ML III（假性賀勒氏多營養不良）	79158	Q3T906
N-乙醯基胺基葡萄糖基-1-磷酸轉移酶催化亞基	黏脂貯積症ML II（I細胞病）	79158	Q3T906
N-乙醯基胺基葡萄糖基-1-磷酸轉移酶，底	黏脂貯積症ML III（假性賀勒氏多營養不良）III-C型	84572	Q9UJJ9

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
物識別亞基			
N-乙醯葡萄糖胺酶	天冬胺醯基葡萄糖胺尿	175	P20933
神經胺糖酸苷酶1（唾液酸酶）	唾液酸沈積症	4758	Q99519
軟脂醯-蛋白硫酯酶-1	蠟樣脂褐質沈積症成人型（CLN4，庫夫斯病（Kufs' disease））	5538	P50897
軟脂醯-蛋白硫酯酶-1	蠟樣脂褐質沈積症嬰兒型（CLN1，桑塔沃裡-哈爾蒂亞病（Santavuori-Haltia disease））	5538	P50897
苯丙胺酸羥化酶	苯酮尿症	5053	P00439
磷酸甘露糖變位酶-2	N-糖基化先天性障礙CDG Ia（僅神經系統和神經系統-多內臟形式）	5373	O15305
膽色素原去胺酶	急性間歇性紫質症	3145	P08397
嘌呤核苷磷酸化酶	嘌呤核苷磷酸化酶缺陷	4860	P00491
嘧啶5'核苷酸酶	溶血性貧血和/或嘧啶5'核苷酸酶缺乏症	51251	Q9H0P0
神經磷脂酶	尼曼－匹克二氏病，A型	6609	P17405
神經磷脂酶	尼曼－匹克二氏病，B型	6609	P17405
甾醇27-羥化酶	腦腱性黃色瘤病（膽甾烷醇脂質沈積症）	1593	Q02318
胸苷磷酸化酶	粒線體神經消化道腦肌病（MNGIE）	1890	P19971
三己糖基神經醯胺α半乳醣苷酶	法布裡病（Fabry's disease）	2717	P06280
酪胺酸酶，例如OCA1	白化病，例如眼白化病	7299	P14679

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
UDP-GlcNAc：多萜基-P NAcGlc磷酸轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ij	1798	Q9H3H5
UDP-N-乙醯葡萄糖胺-2-表異構酶/N-乙醯甘露糖胺激酶，唾液的	Sialuria法國型	10020	Q9Y223
尿酸酶	勒－奈二氏症（Lesch-Nyhan syndrome），痛風	391051	無蛋白
尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基轉移酶（例如，UGT1A1）	Crigler-Najjar二氏症候群	54658	P22309
α-1,2-甘露糖基轉移酶	N-糖基化CDG Il的先天性障礙（608776）	79796	Q9H6U8
α-1,2-甘露糖基轉移酶	N-糖基化的先天性障礙，I型（前高爾基糖基化缺陷）	79796	Q9H6U8
α-1,3-甘露糖基轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ii	440138	Q2TAA5
α-D-甘露醣苷酶	α-甘露醣儲積症I型（嚴重）或II型（輕度）	10195	Q92685
α-L-岩藻醣苷酶	岩藻糖沈積症	4123	Q9NTJ4
α-l-艾杜糖苷酸酶	黏多糖病MPS I H/S（賀勒-施艾氏症候群（Hurler-Scheie syndrome））	2517	P04066
α-l-艾杜糖苷酸酶	黏多糖病MPS I-H（賀勒綜合症（Hurler's syndrome））	3425	P35475
α-l-艾杜糖苷酸酶	黏多糖病MPS I-S（施艾綜合症（Scheie's syndrome））	3425	P35475
β-1,4-半乳糖苷轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG IId	3425	P35475
β-1,4-甘露糖基轉移酶	N-糖基化先天性障礙CDG Ik	2683	P15291

效應子	缺乏症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
β-D-甘露醣苷酶	β-甘露醣儲積症	56052	Q9BT22
β-半乳醣苷酶	黏多糖病MPS IV（莫奎奧氏症候群）IV-B型	4126	O00462
β-葡萄糖醛酸苷酶	黏多糖病MPS VII（斯萊綜合症（Sly's syndrome））	2720	P16278
β-己糖胺酶A	泰－薩二氏症（Tay-Sachs disease）	2990	P08236
β-己糖胺酶B	山多夫氏病（Sandhoff's disease）	3073	P06865

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得，Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

其他非酶效應子

【0231】在一些實施方式中，本文所述之治療性多肽包括表6的多肽或其功能變體，例如與表6中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。

[表6].示例性非酶效應子和對應的適應症

效應子	適應症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
存活運動神經元蛋白（SMN）	脊髓性肌萎縮	6606	Q16637
肌肉萎縮蛋白	肌肉萎縮症（例如，杜顯氏肌肉萎縮症	1756	P11532

效應子	適應症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
	（Duchenne muscular dystrophy）或貝克爾肌肉萎縮症（Becker muscular dystrophy））		
補體蛋白，例如補體因子C1	補體因子I缺陷	3426	P05156
補體因子H	非典型溶血性尿毒性症候群	3075	P08603
胱肽素（溶酶體胱胺酸轉運體）	胱胺酸病	1497	O60931
附睪分泌性蛋白1（HE1；NPC2蛋白）	尼曼－匹克二氏病C2型	10577	P61916
GDP-岩藻糖轉運體-1	N-糖基化先天性障礙CDG IIc（Rambam-Hasharon綜合症）	55343	Q96A29
GM2活化蛋白	GM2活化蛋白缺乏症（泰－薩二氏症AB變體，GM2A）	2760	Q17900
溶酶體跨膜蛋白CLN3蛋白	蠟樣脂褐質沈積症幼年型（CLN3、貝敦氏病（Batten disease）、伏-施二氏病（Vogt-Spielmeyer disease））	1207	Q13286
溶酶體跨膜蛋白CLN5蛋白	蠟樣脂褐質沈積症變體晚期嬰兒型，芬蘭型（CLN5）	1203	O75503
磷酸鈉協同轉運體，唾液酸	嬰兒唾液酸貯積障礙	26503	Q9NRA2
磷酸鈉協同轉運體，唾液酸	Sialuria芬蘭型（唾液酸貯積病）	26503	Q9NRA2
NPC1蛋白	尼曼－匹克二氏病C1型/D型	4864	O15118
低聚物高爾基	N-糖基化先天性障礙CDG IIe	91949	P83436

效應子	適應症	Entrez基因ID[1]	UniProt ID[2]
複合體-7			
鞘脂活化蛋白原	鞘脂活化蛋白原缺乏症	5660	P07602
保護蛋白/組織蛋白酶A（PPCA）	半乳糖唾液酸貯積症（戈德堡綜合症（Goldberg's syndrome），神經胺糖酸苷酶和β-半乳醣苷酶缺乏症聯合）	5476	P10619
甘露糖-P-多萜醇利用中涉及的蛋白	N-糖基化先天性障礙CDG If	9526	O75352
鞘脂活化蛋白B	鞘脂活化蛋白B缺陷（硫苷脂活化劑缺陷）	5660	P07602
鞘脂活化蛋白C	鞘脂活化蛋白C缺陷（戈謝活化劑缺陷）	5660	P07602
硫酸酯酶修飾因子-1	黏腦硫脂貯積症（多種硫酸酯酶缺乏症）	285362	Q8NBK3
跨膜CLN6蛋白	蠟樣脂褐質沈積症變異晚期嬰兒型（CLN6）	54982	Q9NWW5
跨膜CLN8蛋白	蠟樣脂褐質沈積症進行性癲癇伴智能障礙	2055	Q9UBY8
vWF	馮維勒布蘭德病	7450	P04275
因子I（纖維蛋白原）	纖維蛋白原血症	2243，2244，2266	P02671，P02675，P02679
促紅血球生成素（hEPO）			

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上的NCBI數據庫獲得，Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014. pii: gku1055。

[2] 序列可在全球資訊網網站「uniprot.org/uniprot/」上的Uniprot數據庫獲得；UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021 [UniProt：2021年通用蛋白質知識庫].Nucleic Acids Res. [核酸研究] 49:D1 (2021)。

再生、修復和纖維化因子

【0232】本文所述之治療性多肽還包括例如如表7中揭露的生長因子或其功能變體，例如與表7中揭露的蛋白質序列（藉由參考其NCBI蛋白質登錄號）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。還包括針對此類生長因子的抗體或其片段、或促進再生和修復的miRNA。

[表7].示例性再生、修復和纖維化因子

靶標	NCBI基因登錄號[1]	NCBI蛋白登錄號[2]
VEGF-A	NG_008732	NP_001165094
NRG-1	NG_012005	NP_001153471
FGF2	NG_029067	NP_001348594
FGF1	基因ID：2246	NP_001341882
miR199-3p	MIMAT0000232	n/a
miR590-3p	MIMAT0004801	n/a
miR17-92	MI0000071	在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2732113/figure/F1/」上
miR222	MI0000299	n/a
miR302-367	MIR302A和MIR367	在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4400607/」上

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上獲得（Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源]. Nucleic Acids Res [核酸研究]. 2014. Pii: gku1055。）

[2] 序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/protein/」上獲得

轉化因子

【0233】本文所述之治療性多肽還包括轉化因子，例如將纖維母細胞轉化為分化細胞的蛋白質因子，例如表8中揭露的因子或其功能變體，例如與表8中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。

[表8]：指示用於藉由轉化纖維母細胞進行器官修復的多肽

靶標	NCBI基因登錄號[1]	NCBI蛋白登錄號[2]
MESP1	基因ID：55897	EAX02066
ETS2	基因ID：2114	NP_005230
HAND2	基因ID：9464	NP_068808
心肌素	基因ID：93649	NP_001139784
ESRRA	基因ID：2101	AAH92470
miR1	MI0000651	n/a
miR133	MI000450	n/a
TGFb	基因ID：7040	NP_000651.3
WNT	基因ID：7471	NP_005421
JAK	基因ID：3716	NP_001308784
NOTCH	基因ID：4851	XP_011517019

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上獲得（Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源]. Nucleic Acids Res [核酸研究]. 2014. Pii: gku1055。）

[2] 序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/protein/」上獲得

刺激細胞再生的蛋白質

【0234】本文所述之治療性多肽還包括刺激細胞再生的蛋白質，例如表9

中揭露的蛋白質或其功能變體，例如與表9中揭露的蛋白質序列（藉由參考其UniProt ID）具有至少80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%同一性的蛋白質。

[表9].刺激細胞再生的示例性蛋白質

靶標	基因登錄號[1]	蛋白登錄號[2]
MST1	NG_016454	NP_066278
STK30	基因ID：26448	NP_036103
MST2	基因ID：6788	NP_006272
SAV1	基因ID：60485	NP_068590
LATS1	基因ID：9113	NP_004681
LATS2	基因ID：26524	NP_055387
YAP1	NG_029530	NP_001123617
CDKN2b	NG_023297	NP_004927
CDKN2a	NG_007485	NP_478102

[1]序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/gene」上獲得（Maglott D等人. Gene: a gene-centered information resource at NCBI [基因：NCBI以基因為中心的資訊資源]. Nucleic Acids Res [核酸研究]. 2014. Pii: gku1055。）

[2] 序列可在全球資訊網網站「ncbi.nlm.nih.gov/protein/」上獲得

【0235】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包含一或多個表現序列（編碼序列），並且被配置用於在受試者體內細胞中持續表現。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸被配置為使得一或多個表現序列在細胞中在較晚的時間點的表現等於或高於較早的時間點的表現。在此類實施方式中，一或多個表現序列的表現可維持在相對穩定的水平或可隨時間增加。表現序列的表現可在延長的時間段內相對穩定。例如，在一些情況下，一或多個表現序列在細胞中在至少7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、23或更多天的時間段內的表現不會減

少50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些情況下，在一些情況下，一或多個表現序列在細胞中在至少7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、23或更多天的表現維持在變化不超過50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%的水平。

植物修飾多肽

【0236】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個編碼植物修飾多肽的表現序列。植物修飾多肽係指可以以使得植物生理學或表現型發生變化（例如，植物的適應度增加或降低）的方式改變植物的遺傳特性（例如，增加基因表現、降低基因表現或者以其他方式改變DNA或RNA的核苷酸序列）、表觀遺傳特性或者生理學或生物化學特性的多肽。在一些實施方式中，多核糖核苷酸編碼兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種不同的植物修飾多肽，或者一或多種植物修飾多肽的多個拷貝。植物修飾多肽可改變多種植物的生理學或表現型或者增加或降低多種植物的適應度，或者可為在一或多種特定植物（例如，特定種或屬的植物）中實現這種改變的多肽。

【0237】可以用於本文的多肽的實例可以包括酶（例如，代謝重組酶、解旋酶、整合酶、RNA酶、DNA酶或泛蛋白化蛋白）、成孔蛋白、傳訊配體、細胞穿透肽、轉錄因子、受體、抗體、奈米抗體、基因編輯蛋白（例如，CRISPR-Cas核酸內切酶、TALEN或鋅指）、核醣蛋白、蛋白質適體或伴護蛋白。

農業多肽

【0238】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個編碼農業多肽的表現序列。農業多肽係適合於農業用途的多肽。在實施方式中，將農業多肽投與於植物或種子（例如，藉由葉噴、撒粉、注射或種子包衣）或者植物環境（例如，藉由土壤澆灌或顆粒

土壤投與），從而使得植物的生理學、表現型或適應度改變。農業多肽的實施方式包括改變寄宿於植物或非人動物宿主中或寄宿於其上的一或多種微生物的水平、活性或代謝的多肽，該改變導致該宿主的適應度提高。在一些實施方式中，農業多肽係植物多肽。在一些實施方式中，農業多肽係昆蟲多肽。在一些實施方式中，當與非人類脊椎動物、無脊椎動物、微生物或植物細胞接觸時，農業多肽具有生物學作用。

【0239】 在一些實施方式中，多核糖核苷酸編碼兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種農業多肽，或者一或多種農業多肽的多個拷貝。

【0240】 可用於農業應用的多肽的實施方式包括例如細菌素、溶素、抗微生物肽、根瘤富含C的肽和細菌細胞調節肽。此類多肽可以用於改變靶微生物的水平、活性或代謝以增加昆蟲（諸如蜜蜂和蠶）的適應度。農業上有用的多肽的實施方式包括肽毒素（諸如由昆蟲病原線蟲細菌（例如蘇雲金芽孢桿菌（Bacillus thuringiensis）、發光光桿狀菌（Photorhabdus luminescens）、嗜蟲沙雷氏菌（Serratia entomophila）或嗜線蟲致病桿菌（Xenorhabdus nematophila））天然產生的那些，如本領域已知的。農業上有用的多肽的實施方式包括用於控制農業上重要的有害生物或病原體的多肽（包括小肽，諸如環二肽或二酮哌啡），例如用於控制植物中的疾病的抗微生物多肽或抗真菌多肽，或用於控制無脊椎有害生物諸如昆蟲或線蟲的殺蟲多肽（例如，殺昆蟲多肽或殺線蟲多肽）。農業上有用的多肽的實施方式包括抗體、奈米抗體及其片段，例如保留完整抗體或奈米抗體的至少一些（例如，至少10%）特異性結合活性的抗體或奈米抗體片段。農業上有用的多肽的實施方式包括轉錄因子，例如植物轉錄因子；參見例如「AtTFDB」數據庫，其列出可在agris-knowledgebase[dot]org/AtTFDB/公開獲得的在模式植物阿拉伯芥（Arabidopsis thaliana）中鑒定的轉錄因子家族。農業上有用的多肽的實施方

式包括核酸酶，例如核酸外切酶或核酸內切酶（例如，Cas核酸酶，諸如Cas9或Cas12a）。農業上有用的多肽的實施方式進一步包括細胞穿透肽、酶（例如，澱粉酶、纖維素酶、肽酶、脂酶、幾丁質酶）、肽傳訊素（例如，酵母交配傳訊素、無脊椎動物生殖和幼蟲傳訊傳訊素，參見例如Altstein (2004) Peptides [肽], 25:1373-1376）。

內部核糖體進入位址

【0241】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括一或多個內部核糖體進入位址（IRES）元件。在一些實施方式中，IRES與一或多個表現序列可操作連接（例如，每個IRES與一或多個表現序列可操作連接）。在實施方式中，IRES位於異源啟動子與編碼序列的5'端之間。

【0242】包括在多核糖核苷酸中的合適的IRES元件包括能夠接合真核核糖體的RNA序列。在一些實施方式中，IRES元件係至少約5 nt、至少約8 nt、至少約9 nt、至少約10 nt、至少約15 nt、至少約20 nt、至少約25 nt、至少約30 nt、至少約40 nt、至少約50 nt、至少約100 nt、至少約200 nt、至少約250 nt、至少約350 nt、或至少約500 nt。

【0243】在一些實施方式中，IRES元件衍生自生物體的DNA，該生物體包括但不限於病毒、哺乳動物和果蠅。此類病毒DNA可以衍生自但不限於小核糖核酸病毒互補DNA（cDNA）、腦心肌炎病毒（EMCV）cDNA和脊髓灰質炎病毒cDNA。在一個實施方式中，衍生IRES元件的果蠅DNA包括但不限於來自黑腹果蠅（Drosophila melanogaster）的觸角足基因。

【0244】在一些實施方式中，如果存在，IRES序列係以下病毒的IRES序列：套拉症（Taura syndrome）病毒、錐鼻蟲屬（Triatoma）病毒、泰勒氏腦脊髓炎病毒（Theiler's encephalomyelitis virus）、猿類猴病毒40、入侵紅火蟻（Solenopsis

invicta）病毒1、稻麥蚜（Rhopalosiphum padi）病毒、網狀內皮細胞增生症病毒、福爾曼脊髓灰質炎病毒（fuman poliovirus）1、普勞提婭失速腸病毒（Plautia stall intestine virus）、喀什米爾蜜蜂病毒、人鼻病毒2、假桃病毒葉蟬病毒-1（Homalodisca coagulata virus-1）、人類免疫缺乏病毒1型、假桃病毒葉蟬病毒-1、Himetobi P病毒、C型肝炎病毒、A型肝炎病毒、GB型肝炎病毒、口蹄疫病毒、人類腸道病毒71、馬鼻炎病毒、茶尺蠖（Ectropis obliqua）小核糖核酸樣病毒、腦心肌炎病毒（EMCV）、果蠅C病毒、十字組花科煙草病毒、蟋蟀麻痺病毒、牛病毒性腹瀉病毒1、黑皇后細胞病毒、蚜蟲致死性麻痺病毒、禽腦脊髓炎病毒、急性蜜蜂毒引發之麻痺病毒、木槿褪綠環斑病毒（Hibiscus chlorotic ringspot virus）、經典豬瘟病毒、人FGF2、人SFTPA1、人AML1/RUNX1、果蠅觸角足、人AQP4、人AT1R、人BAG-1、人BCL2、人BiP、人c-IAP1、人c-myc、人eIF4G、小鼠NDST4L、人LEF1、小鼠HIF1α、人n.myc、小鼠Gtx、人p27kipl、人PDGF2/c-sis、人p53、人Pim-1、小鼠Rbm3、果蠅reaper、犬Scamper、果蠅Ubx、人UNR、小鼠UtrA、人VEGF-A、人XIAP、薩里病毒（Salivirus）、科薩病毒（Cosavirus）、副腸孤病毒（Parechovirus）、果蠅無毛、釀酒酵母（S. cerevisiae）TFIID、釀酒酵母YAP1、人c-src、人FGF-1、猿類猴小核糖核酸病毒、蕪菁皺縮病毒（Turnip crinkle virus）、eIF4G的適配體、柯沙奇病毒（Coxsackievirus）B3（CVB3）或柯沙奇病毒A（CVB1/2）。在又另一實施方式中，IRES係柯沙奇病毒B3（CVB3）的IRES序列。在另外的實施方式中，IRES係腦心肌炎病毒的IRES序列。

【0245】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括側接至少一個（例如2、3、4、5個或更多個）表現序列的至少一個IRES。在一些實施方式中，IRES側接至少一個（例如2、3、4、5個或更多個）表現序列的兩側。在一些實施方式中，多核糖核苷酸在每個表現序列的一側或兩側包括一或多個IRES序列，導致所一或多種肽和/或一或多種多肽的分離。

【0246】在一些實施方式中，多核糖核苷酸負載物包括IRES。例如，多核糖核苷酸負載物可包括環狀RNA IRES，例如如Chen等人. *Mol. Cell* [分子細胞] 81:1-19, 2021中所述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

調節元件

【0247】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括一或多個調節元件。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括調節元件，例如修飾多核糖核苷酸內表現序列的表現的序列。

【0248】調節元件可包括與編碼表現產物的表現序列相鄰定位的序列。調節元件可與相鄰序列可操作連接。如與不存在調節元件時表現的產物的量相比，調節元件可以增加表現的產物的量。另外，一個調節元件可以增加串聯附接的多個表現序列表現的產物的量。因此，一個調節元件可以增強一或多個表現序列的表現。多個調節元件係熟悉該項技術者熟知的。

【0249】在一些實施方式中，調節元件係翻譯調節子。翻譯調節子可以調節多核糖核苷酸中表現序列的翻譯。翻譯調節子可為翻譯強化子或抑制子。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與至少一個表現序列相鄰的至少一個翻譯調節子。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與每個表現序列相鄰的翻譯調節子。在一些實施方式中，翻譯調節子存在於每個表現序列的一側或兩側，導致表現產物例如一或多種肽和/或一或多種多肽的分離。

【0250】在一些實施方式中，調節元件係微小RNA（miRNA）或miRNA結合位點。

【0251】調節元件的其他實例在例如國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0154]-[0161]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

翻譯起始序列

【0252】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核

苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個翻譯起始序列。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與表現序列可操作地連接的翻譯起始序列。

【0253】 在一些實施方式中，多核糖核苷酸編碼多肽並且可包括翻譯起始序列，例如起始密碼子。在一些實施方式中，翻譯起始序列包括Kozak或Shine-Dalgamo序列。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與表現序列相鄰的翻譯起始序列，例如Kozak序列。在一些實施方式中，翻譯起始序列係非編碼起始密碼子。在一些實施方式中，翻譯起始序列（例如Kozak序列）存在於每個表現序列的一側或兩側，導致表現產物的分離。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與表現序列相鄰的至少一個翻譯起始序列。在一些實施方式中，翻譯起始序列為多核糖核苷酸提供構象靈活性。在一些實施方式中，翻譯起始序列在多核糖核苷酸的基本上單股的區域內。翻譯起始序列的其他實例在國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0163]-[0165]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

【0254】 多核糖核苷酸可包括多於1個起始密碼子，諸如但不限於至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、至少20個、至少25個、至少30個、至少35個、至少40個、至少50個、至少60個或多於60個起始密碼子。翻譯可在第一個起始密碼子上起始或以在第一個起始密碼子的下游起始。

【0255】 在一些實施方式中，多核糖核苷酸可在不是第一個起始密碼子的密碼子（例如AUG）處起始。多核糖核苷酸的翻譯可在替代性翻譯起始序列（諸如但不限於ACG、AGG、AAG、CTG/CUG（SEQ ID NO: 74）、GTG/GUG（SEQ ID NO: 75）、ATA/AUA（SEQ ID NO: 76）、ATT/AUU（SEQ ID NO: 77）、TTG/UUG（SEQ ID NO: 78））處起始。在一些實施方式中，翻譯在選擇性條件（例如，應激誘導條件）下在替代性翻譯起始序列處開始。作為非限制性實例，

多核糖核苷酸的翻譯可在替代性翻譯起始序列（諸如ACG）處開始。作為另一個非限制性實例，多核糖核苷酸翻譯可在替代性翻譯起始序列CTG/CUG（SEQ ID NO: 74）處開始。作為另一個非限制性實例，多核糖核苷酸翻譯可在替代性翻譯起始序列GTG/GUG（SEQ ID NO: 75）處開始。作為另一個非限制性實例，多核糖核苷酸可在重複相關的非AUG（RAN）序列（諸如包括短重複RNA段的替代性翻譯起始序列（例如，CGG、GGGGCC（SEQ DI NO: 79）、CAG、CTG））處開始翻譯。

終止元件

【0256】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括至少一個終止元件。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括與表現序列可操作地連接的終止元件。在一些實施方式中，多核苷酸缺少終止元件。

【0257】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括一或多個表現序列，並且每個表現序列可或可不具有終止元件。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括一或多個表現序列，並且表現序列缺少終止元件，使得多核糖核苷酸被連續翻譯。終止元素的排除可導致表現產物的滾環翻譯或連續表現。

【0258】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個表現序列，並且每個表現序列可或可不具有終止元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個表現序列，並且表現序列缺少終止元件，使得環狀多核糖核苷酸被連續翻譯。由於缺少核糖體停滯或脫落，終止元件的排除可能導致表現產物例如肽或多肽的滾環翻譯或連續表現。在這種實施方式中，滾環翻譯藉由每個表現序列表現連續表現產物。在一些其他實施方式中，表現序列的終止元件可為交錯元件的一部分。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸中之一或多個表現序列包含終止元件。然而，在環狀多核糖核苷酸中進行滾環翻譯或後繼（例如，第二、

第三、第四、第五等）表現序列的表現。在此類情況下，當核糖體遇到終止元件（例如，終止密碼子）並終止翻譯時，表現產物可以從核糖體上脫落。在一些實施方式中，在核糖體例如核糖體的至少一個亞基與環狀多核糖核苷酸保持接觸時翻譯終止。

【0259】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸在一或多個表現序列的端部包括終止元件。在一些實施方式中，一或多個表現序列連續包含兩個或更多個終止元件。在此類實施方式中，翻譯終止並且滾環翻譯終止。在一些實施方式中，核糖體與環狀多核糖核苷酸完全脫離。在一些此類實施方式中，在環狀多核糖核苷酸中後繼（例如，第二、第三、第四、第五等）表現序列的產生可能需要核糖體在起始翻譯之前與環狀多核糖核苷酸重新接合。通常，終止元件包括發出翻譯終止訊息的框內核苷酸三聯體，例如UAA、UGA、UAG。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸中之一或多個終止元件

【0260】 係移碼終止元件，諸如但不限於可終止翻譯的框外或-1和+1移碼讀框（例如，隱藏終止子）。移碼終止元件包括出現在表現序列的第二讀框和第三讀框中的核苷酸三聯體TAA、TAG和TGA。移碼終止元件在防止mRNA的誤讀中可能很重要，mRNA的誤讀通常對細胞有害。在一些實施方式中，終止元件係終止密碼子。

【0261】 終止元件的其他實例在國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0169]-[0170]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

非翻譯區

【0262】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括非翻譯區（UTR）。包括基因的基因組區域的UTR可以轉錄但不翻譯。在一些實施方式中，UTR可以被包括在本文所述之表現序列的翻譯起始序列的上游。在一些實施方式中，UTR可以被包括在本文所述之表現序列的下游。在一些情況下，第一表現序列的一個

UTR與第二表現序列的另一個UTR相同或連續或重疊。在一些實施方式中，內含子係人內含子。在一些實施方式中，內含子係全長人內含子，例如ZKSCAN1。

【0263】示例性非翻譯區在國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0197]-[201]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

【0264】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括poly-A序列。示例性poly-A序列在國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0202]-[0205]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少poly-A序列。

【0265】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括內嵌有一段或多段的腺苷和尿苷的UTR。該等AU增濃特征可能會增加表現產物的轉化率。

【0266】富含UTR AU的元件（ARE）的引入、去除或修飾可用於調節環狀多核糖核苷酸的穩定性或免疫原性（例如，免疫或炎性響應的一或多種標誌物的水平）。工程化特定的環狀多核糖核苷酸時，可以將ARE的一或多個拷貝引入環狀多核糖核苷酸中，並且ARE的該等拷貝可以調節表現產物的翻譯和/或產生。同樣，可以對ARE進行鑒別和去除或工程化至環狀多核糖核苷酸以調節細胞內穩定性，從而影響所得蛋白質的翻譯和產生。

【0267】應當理解，可以將來自任何基因的任何UTR摻入環狀多核糖核苷酸的相應側翼區中。

【0268】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少5'-UTR，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少3'-UTR，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少poly-A序列，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少終止元件，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少內部核糖體進入位址，並且

能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少帽，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少5'-UTR、3'-UTR和IRES，並且能夠從其一或多個表現序列表現蛋白。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸進一步包括以下序列中之一或多種：編碼一或多個miRNA的序列、編碼一或多個複製蛋白的序列、編碼外源基因的序列、編碼治療劑的序列、調節元件（例如，翻譯調節子，例如翻譯強化子或抑制子）、翻譯起始序列、靶向內源基因的一或多種調節核酸（例如，siRNA、lncRNA、shRNA）和編碼治療性mRNA或蛋白質的序列。

【0269】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少5'-UTR。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少3'-UTR。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少poly-A序列。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少終止元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少內部核糖體進入位址。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少核酸外切酶的降解易感性。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少降解易感性的事實可能意味著環狀多核糖核苷酸不被核酸外切酶降解，或在僅存在核酸外切酶時被降解的有限程度例如與不存在核酸外切酶時相當或相似。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸不被核酸外切酶降解。在一些實施方式中，當暴露於核酸外切酶時，環狀多核糖核苷酸降解減少。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少與帽結合蛋白的結合。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸缺少5'帽。

交錯元件

【0270】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括與表現序列相鄰的至少一個交錯元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括與每個表現序列相鄰的交錯元件。在一些實施方式中，交錯元件存在於每個表現序列的一側或兩側，導致表現產物例如一或多種肽和/或一或多種多肽的分離。在一些實施方式

中，交錯元件係一或多個表現序列的一部分。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包含一或多個表現序列，並且該一或多個表現序列中之每一個藉由環狀多核糖核苷酸上的交錯元件與後繼的表現序列隔開。在一些實施方式中，該交錯元件阻止由 (a) 單個表現序列的兩輪翻譯或 (b) 兩個或更多個表現序列的一輪或多輪翻譯生成單一多肽。在一些實施方式中，該交錯元件係與該一或多個表現序列分離的序列。在一些實施方式中，該交錯元件包含該一或多個表現序列中的表現序列的一部分。

【0271】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括交錯元件。為了避免在保持滾環翻譯的同時產生連續表現產物，例如肽或多肽，可以包括交錯元件以在翻譯期間誘導核糖體暫停。在一些實施方式中，交錯元件在一或多個表現序列中之至少一個的3'端。交錯元件可以被配置為在環狀多核糖核苷酸的滾環翻譯期間使核糖體停滯。交錯元件可包括但不限於2A樣或CHYSEL（SEQ ID NO: 71）（順式作用水解酶元件）序列。在一些實施方式中，交錯元件編碼具有C-末端共通序列的序列，該共通序列係$X_1X_2X_3EX_5$NPGP（SEQ ID NO: 72），其中X_1不存在或者係G或H，X_2不存在或者係D或G，X_3係D或V或I或S或M，並且X_5係任何胺基酸。在一些實施方式中，該序列包含具有強α-螺旋傾向的胺基酸的非保守序列，隨後係共通序列-D(V/I)EXNPGP（SEQ ID NO: 73），其中x = 任何胺基酸。交錯元件的一些非限定性實例包括GDVESNPGP（SEQ ID NO: 52）、GDIEENPGP（SEQ ID NO: 53）、VEPNPGP（SEQ ID NO: 54）、IETNPGP（SEQ ID NO: 55）、GDIESNPGP（SEQ ID NO: 56）、GDVELNPGP（SEQ ID NO: 57）、GDIETNPGP（SEQ ID NO: 58）、GDVENPGP（SEQ ID NO: 59）、GDVEENPGP（SEQ ID NO: 60）、GDVEQNPGP（SEQ ID NO: 61）、IESNPGP（SEQ ID NO: 62）、GDIELNPGP（SEQ ID NO: 63）、HDIETNPGP（SEQ ID NO: 64）、HDVETNPGP（SEQ ID NO: 65）、HDVEMNPGP（SEQ ID NO: 66）、GDMESNPGP（SEQ ID

NO: 67）、GDVETNPGP（SEQ ID NO: 68）、GDIEQNPGP（SEQ ID NO: 69）和DSEFNPGP（SEQ ID NO: 70）。

【0272】在一些實施方式中，本文所述之交錯元件裂解表現產物，諸如在本文所述之共通序列的G與P之間。作為一個非限制性實例，環狀多核糖核苷酸包括至少一個交錯元件以裂解表現產物。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括與至少一個表現序列相鄰的交錯元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括在每個表現序列後的交錯元件。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括存在於每個表現序列的一側或兩側的交錯元件，導致由每個表現序列翻譯一或多種單獨肽和/或多肽。

【0273】在一些實施方式中，交錯元件包含一或多個在翻譯過程中誘導核糖體暫停的經修飾的核苷酸或非天然核苷酸。非天然核苷酸可以包括肽核酸（PNA）、味啉代和鎖核酸（LNA）、以及乙二醇核酸（GNA）和蘇糖核酸（TNA）。諸如此類的實例藉由改變分子主鏈而不同於天然存在的DNA或RNA。示例性修飾可以包括對糖、核鹼基、核苷間鍵（例如，對連接磷酸鹽/磷酸二酯鍵/磷酸二酯主鏈）的修飾以及可以在翻譯期間誘導核糖體暫停的它們的任何組合。本文提供的一些示例性修飾在本文其他處描述。

【0274】在一些實施方式中，交錯元件以其他形式存在於環狀多核糖核苷酸中。例如，在一些示例性環狀多核糖核苷酸中，交錯元件包含環狀多核糖核苷酸中的第一表現序列的終止元件，和將終止元件與第一表現序列後繼表現的第一翻譯起始序列隔開的核苷酸間隔子序列。在一些實例中，第一表現序列的第一交錯元件在環狀多核糖核苷酸中的第一表現序列後繼表現的第一翻譯起始序列的上游（5'）。在一些情況下，第一表現序列和第一表現序列後繼表現序列係環狀多核糖核苷酸中的兩個隔開的表現序列。第一交錯元件和第一翻譯起始序列之間的距離可以使得第一表現序列及其後繼表現序列能夠連續翻譯。

【0275】在一些實施方式中，第一交錯元件包括終止元件，並且將第一表現序列的表現產物與其後繼表現序列的表現產物隔開，從而產生離散的表現產物。在一些情況下，在環狀多核糖核苷酸中後繼序列的第一翻譯起始序列上游包含第一交錯元件的環狀多核糖核苷酸被連續翻譯，而在第二表現序列後繼表現序列的第二翻譯起始序列的上游包含第二表現序列的交錯元件的對應環狀多核糖核苷酸不被連續翻譯。在一些情況下，環狀多核糖核苷酸中僅存在一個表現序列，並且第一表現序列及其後繼表現序列係相同的表現序列。在一些示例性環狀多核糖核苷酸中，交錯元件包含環狀多核糖核苷酸中第一表現序列的第一終止元件，和將終止元件與下游翻譯起始序列隔開的核苷酸間隔子序列。在一些此類實例中，環狀多核糖核苷酸中第一交錯元件在第一表現序列的第一翻譯起始序列的上游（5'）。在一些情況下，第一交錯元件和第一翻譯起始序列之間的距離使得能夠連續翻譯第一表現序列和任何後繼表現序列。

【0276】在一些實施方式中，第一交錯元件將第一表現序列的一輪表現產物與第一表現序列的下一輪表現產物分開，從而產生離散的表現產物。在一些情況下，在環狀多核糖核苷酸中的第一序列的第一翻譯起始序列上游包含第一交錯元件的環狀多核糖核苷酸被連續翻譯，而在相應環狀多核糖核苷酸中的第二表現序列的第二翻譯起始序列上游包含交錯元件的相應環狀多核糖核苷酸不被連續翻譯。在一些情況下，相應環狀多核糖核苷酸中第二交錯元件與第二翻譯起始序列之間的距離係環狀多聚核苷酸中第一交錯元件與第一翻譯起始序列之間的距離的至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍大。在一些情況下，第一交錯元件與第一翻譯起始之間的距離為至少2 nt、3 nt、4 nt、5 nt、6 nt、7 nt、8 nt、9 nt、10 nt、11 nt、12 nt、13 nt、14 nt、15 nt、16 nt、17 nt、18 nt、19 nt、20 nt、25 nt、30 nt、35 nt、40 nt、45 nt、50 nt、55 nt、60 nt、65 nt、70 nt、75 nt或更大。在一些實施方式中，第二交錯元件與第二翻譯起始之間的距離

為至少2 nt、3 nt、4 nt、5 nt、6 nt、7 nt、8 nt、9 nt、10 nt、11 nt、12 nt、13 nt、14 nt、15 nt、16 nt、17 nt、18 nt、19 nt、20 nt、25 nt、30 nt、35 nt、40 nt、45 nt、50 nt、55 nt、60 nt、65 nt、70 nt、75 nt或大於第一交錯元件和第一翻譯起始之間的距離。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包含多於一個表現序列。

【0277】交錯元件的實例在國際專利公開案號WO 2019/118919的第[0172]-[0175]段中描述，該文獻藉由援引以其全文據此併入。

非編碼序列

【0278】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸（例如，多核糖核苷酸的多核糖核苷酸負載物）包括一或多個非編碼序列，例如不編碼多肽表現的序列。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或多於十個非編碼序列。在一些實施方式中，多核糖核苷酸不編碼多肽表現序列。

【0279】非編碼序列可為天然的或合成的序列。在一些實施方式中，非編碼序列可以改變細胞行為，如例如淋巴球行為。在一些實施方式中，該非編碼序列對於細胞RNA序列係反義的。

【0280】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括調節核酸，該等調節核酸係通常約5-500鹼基對（bp）的RNA或RNA樣結構（取決於特定RNA結構（例如，miRNA 5-30 bp，lncRNA 200-500 bp））並且可具有與細胞內表現的靶基因中的編碼序列相同（互補）或幾乎相同（基本上互補）的核鹼基序列。在實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括編碼可以被加工成較小RNA的RNA先質（例如，可以被加工成較小miRNA中間體或成熟miRNA的約50至約1000 bp的miRNA先質）的調節核酸。

【0281】長非編碼RNA（lncRNA）被定義為長於100個核苷酸的非蛋白編碼轉錄物。許多lncRNA被表徵為具有組織特異性。在與附近的蛋白編碼基因相

反的方向上轉錄的不同lncRNA占很大比例（例如，在哺乳動物基因組中占總lncRNA的約20%）並且可能調節附近的基因的轉錄。在一個實施方式中，本文提供的多核糖核苷酸包括lncRNA的有義鏈。在一個實施方式中，本文提供的多核糖核苷酸包括lncRNA的反義鏈。

【0282】 在實施方式中，多核糖核苷酸編碼與內源基因或基因產物（例如，mRNA）的全部或至少一個片段基本上互補或完全互補的調節核酸。在實施方式中，調節核酸與內含子和外顯子之間的邊界處、在外顯子之間的內部、或與外顯子相鄰的序列互補，從而防止特定基因的新生成的核RNA轉錄物成熟化為用於轉錄的mRNA。與特定基因互補的調節核酸可與該基因的mRNA雜交並防止其翻譯。反義調節核酸可為DNA、RNA或其衍生物或雜交體。在一些實施方式中，調節核酸包括可以與參與內源性基因或外源性基因的表現調節的蛋白結合的蛋白結合位點。

【0283】 在實施方式中，多核糖核苷酸編碼與感興趣的轉錄物雜交的調節RNA，其中調節RNA具有約5至30個核苷酸、約10至30個核苷酸或約11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30個或多於30個核苷酸的長度。在實施方式中，調節RNA與靶向轉錄物的序列同一性程度為至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

【0284】 在實施方式中，多核糖核苷酸編碼與靶基因的約5至約25個連續核苷酸相同的微小RNA（miRNA）分子或編碼該miRNA的先質。在一些實施方式中，miRNA具有允許mRNA識別並結合特定靶mRNA的序列。在實施方式中，miRNA序列以二核苷酸AA開始，包括約30%-70%（約30%-60%、約40%-60%或約45%-55%）的GC含量，並且與待引入該序列的受試者（例如，哺乳動物）的基因組中除靶標之外的任何核苷酸序列不具有高百分比同一性，例如如藉由標準BLAST搜索確定的。

【0285】在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括至少一個miRNA（或miRNA先質），例如2、3、4、5、6個或更多個miRNA或miRNA先質。在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括編碼與靶序列具有至少約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%或100%核苷酸序列互補性的miRNA（或其先質）的序列。

【0286】siRNA和shRNA類似於內源性微小RNA（miRNA）基因的加工途徑中的中間體。在一些實施方式中，siRNA可以充當miRNA，並且反之亦然。像siRNA一樣，微小RNA使用RISC來下調靶基因，但與siRNA不同，大多數動物miRNA都不切割mRNA。相反，miRNA藉由翻譯抑制或polyA去除和mRNA降解來降低蛋白輸出。已知的miRNA結合位點位於mRNA 3'UTR內；miRNA似乎靶向與從miRNA 5'端的第2-8個核苷酸幾乎完全互補的位點。該區域稱為種子區域。因為成熟siRNA和miRNA係可互換的，所以外源性siRNA下調具有與siRNA的種子互補性的mRNA。

【0287】已知miRNA序列的清單可在研究組織維護的數據庫中找到，該等組織如維康信託基金會桑格研究院（Wellcome Trust Sanger Institute）、賓夕凡尼亞生物資訊學中心（Penn Center for Bioinformatics）、斯隆凱特靈癌症中心（Memorial Sloan Kettering Cancer Center）和歐洲分子生物學實驗室（European Molecule Biology Laboratory）等。已知的有效的siRNA序列和同源結合位點也很好地呈現在相關文獻中。藉由本領域已知的技術，RNAi分子易於設計和產生。此外，存在增加發現有效且特異性的序列模體的機會的計算工具。

蛋白結合序列

【0288】在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個蛋白質結合位點，使得蛋白質例如核糖體能夠結合至RNA序列中的內部位點。藉由將蛋白質結合位點（例如核糖體結合位點）工程化至環狀多核糖核苷酸中，環狀多核糖

核苷酸可以逃避或更少地被宿主的免疫系統檢測到，藉由掩蔽宿主免疫系統成分中的環狀多核糖核苷酸來調節降解或調節翻譯。

【0289】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括至少一個免疫蛋白結合位點，例如用於逃避免疫響應，例如CTL（細胞毒性T淋巴球）響應。在一些實施方式中，免疫蛋白結合位點係結合至免疫蛋白並且有助於掩蔽為外源性的環狀多核糖核苷酸的核苷酸序列。在一些實施方式中，免疫蛋白結合位點係結合至免疫蛋白並有助於將環狀多核糖核苷酸隱藏為外源或外來的核苷酸序列。

【0290】 核糖體與線性RNA接合的傳統機制包括核糖體與RNA的加帽5'端的結合。從5'端開始，核糖體遷移到起始密碼子，於是形成第一肽鍵。根據本揭露，環狀多核糖核苷酸的翻譯的內部起始（即，不依賴帽）不需要游離末端或加帽端。而是，核糖體結合至未加帽的內部位點，由此核糖體在起始密碼子處開始多肽延長。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸包括一或多個RNA序列，該RNA序列包括核糖體結合位點，例如起始密碼子。

【0291】 天然5'UTR具有在翻譯起始中起作用的特徵。它們帶有類似科札克序列的特征，該等序列眾所周知參與核糖體起始多種基因的翻譯的過程。Kozak序列具有共有CCR（A/G）CCAUGG（SEQ ID NO: 79），其中R係起始密碼子（AUG）上游三個鹼基的嘌呤（腺嘌呤或鳥嘌呤），其後係另一個「G」。還已知5'UTR形成參與延長因子結合的二級結構。

【0292】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸編碼與蛋白質結合的蛋白質結合序列。在一些實施方式中，蛋白質結合序列靶向環狀多核糖核苷酸或將其定位至特定靶標。在一些實施方式中，蛋白質結合序列特異性結合蛋白質的精胺酸增濃區。

【0293】 在一些實施方式中，蛋白質結合位點包括但不限於與蛋白質的結合位點，如ACIN1、AGO、APOBEC3F、APOBEC3G、ATXN2、AUH、BCCIP、

CAPRIN1、CELF2、CPSF1、CPSF2、CPSF6、CPSF7、CSTF2、CSTF2T、CTCF、DDX21、DDX3、DDX3X、DDX42、DGCR8、EIF3A、EIF4A3、EIF4G2、ELAVL1、ELAVL3、FAM120A、FBL、FIP1L1、FKBP4、FMR1、FUS、FXR1、FXR2、GNL3、GTF2F1、HNRNPA1、HNRNPA2B1、HNRNPC、HNRNPK、HNRNPL、HNRNPM、HNRNPU、HNRNPUL1、IGF2BP1、IGF2BP2、IGF2BP3、ILF3、KHDRBS1、LARP7、LIN28A、LIN28B、m6A、MBNL2、METTL3、MOV10、MSI1、MSI2、NONO、NONO-、NOP58、NPM1、NUDT21、PCBP2、POLR2A、PRPF8、PTBP1、RBFOX2、RBM10、RBM22、RBM27、RBM47、RNPS1、SAFB2、SBDS、SF3A3、SF3B4、SIRT7、SLBP、SLTM、SMNDC1、SND1、SRRM4、SRSF1、SRSF3、SRSF7、SRSF9、TAF15、TARDBP、TIA1、TNRC6A、TOP3B、TRA2A、TRA2B、U2AF1、U2AF2、UNK、UPF1、WDR33、XRN2、YBX1、YTHDC1、YTHDF1、YTHDF2、YWHAG、ZC3H7B、PDK1、AKT1和任何其他結合RNA的蛋白質。

間隔子序列

【0294】在一些實施方式中，本文所述之多核糖核苷酸包括一或多個間隔子序列。間隔子係指在兩個相鄰多核苷酸區域之間提供距離或柔性的任何連續核苷酸序列（例如，一或多個核苷酸的連續核苷酸序列）。間隔子可存在於本文所述之任何核酸元件之間。間隔子也可存在於本文所述之核酸元件內。

【0295】例如，其中核酸包括以下元件中之任兩個或更多個：(A) 第I組催化內含子片段的3'這一半；(B) 3'剪接位點；(C) 3'外顯子片段；(D) 多核糖核苷酸負載物；(E) 5'外顯子片段；(F) 5'剪接位點；以及 (G) 第I組催化內含子片段的5'這一半；間隔子可存在於該等元件中之任一或多個之間。元件 (A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F) 或 (G) 中之任一個可被如本文所述之間隔子序列隔開。例如，在 (A) 與 (B) 之間、在 (B) 與 (C) 之間、在 (C) 與 (D) 之間、在 (D) 與 (E) 之間、在

(E) 與 (F) 之間或在 (F) 與 (G) 之間可存在間隔子。

【0296】在一些實施方式中，多核糖核苷酸進一步包括 (C) 的5'外顯子片段與 (D) 的多核糖核苷酸負載物之間的第一間隔子區域。間隔子的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，多核糖核苷酸進一步包括 (D) 的多核糖核苷酸負載物與 (E) 的5'外顯子片段之間的第二間隔子區域。間隔子的長度可以為例如至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。在一些實施方式中，每個間隔子區域的長度為至少5個（例如至少10個、至少15個、至少20個）核糖核苷酸。每個間隔子區域的長度可以為例如5至500個（例如10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500個）核糖核苷酸。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA序列。第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域可以包括polyA-C序列。在一些實施方式中，第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域包括polyA-G序列。在一些實施方式中，第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域包括polyA-T序列。在一些實施方式中，第一間隔子區域、第二間隔子區域或第一間隔子區域和第二間隔子區域包括隨機序列。

【0297】間隔子也可存在於本文所述之核酸區域內。例如，多核苷酸負載物區可包括一或多個間隔子。間隔子可隔開多核苷酸負載物內的區域。

【0298】在一些實施方式中，間隔子序列的長度可為例如至少10個核苷酸、至少15個核苷酸或至少30個核苷酸。在一些實施方式中，間隔子序列的長度係至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25或30個核苷酸。在一些實施方式中，間隔子序列的長度不超過100、90、80、70、60、50、45、40、35或30個核苷酸。在一些實施方式中，間隔子序列的長度係20至50個核

苷酸。在某些實施方式中，間隔子序列的長度係10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個核苷酸。

【0299】 間隔子序列可為polyA序列、polyA-C序列、polyC序列或poly-U序列。

【0300】 在一些實施方式中，間隔子序列可為polyA-T、polyA-C、polyA-G或隨機序列。

【0301】 間隔子序列可用於將IRES與相鄰結構元件隔開，以保證IRES或相鄰元件的結構和功能。可以根據IRES將間隔子特異性工程化。在一些實施方式中，可以利用RNA折疊電腦軟體（如RNAFold）指導載體的各種元件（包括間隔子）的設計。

【0302】 在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括5'間隔子序列（例如，在5'退火區域與多核糖核苷酸負載物之間）。在一些實施方式中，5'間隔子序列的長度係至少10個核苷酸。在另一實施方式中，5'間隔子序列的長度係至少15個核苷酸。在另外的實施方式中，5'間隔子序列的長度係至少30個核苷酸。在一些實施方式中，5'間隔子序列的長度係至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25或30個核苷酸。在一些實施方式中，5'間隔子序列的長度係不多於100、90、80、70、60、50、45、40、35或30個核苷酸。在一些實施方式中，5'間隔子序列的長度係在20與50個核苷酸之間。在某些實施方式中，5'間隔子序列的長度係10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個核苷酸。在一個實施方式中，5'間隔子序列係polyA-C序列。在另一實施方式中，5'間隔子序列係polyA-C序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括polyA-G序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括

polyA-T序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括隨機序列。

【0303】 在一些實施方式中，多核糖核苷酸包括3'間隔子序列（例如，在3'退火區域與多核糖核苷酸負載物之間）。在一些實施方式中，3'間隔子序列的長度係至少10個核苷酸。在另一個實施方式中，3'間隔子序列的長度係至少15個核苷酸。在另一個實施方式中，3'間隔子序列的長度係至少30個核苷酸。在一些實施方式中，3'間隔子序列的長度係至少7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25或30個核苷酸。在一些實施方式中，3'間隔子序列的長度不超過100、90、80、70、60、50、45、40、35或30個核苷酸。在一些實施方式中，3'間隔子序列的長度係20至50個核苷酸。在某些實施方式中，3'間隔子序列的長度係10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個核苷酸。在一個實施方式中，3'間隔子序列係polyA序列。在另一實施方式中，5'間隔子序列係polyA-C序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括polyA-G序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括polyA-T序列。在一些實施方式中，5'間隔子序列包括隨機序列。

【0304】 在一個實施方式中，多核糖核苷酸包括5'間隔子序列，但不包括3'間隔子序列。在另一實施方式中，多核糖核苷酸包括3'間隔子序列，但不包括5'間隔子序列。在另一實施方式中，多核糖核苷酸既不包括5'間隔子序列，又不包括3'間隔子序列。在另一實施方式中，多核糖核苷酸不包括IRES序列。在另外的實施方式中，多核糖核苷酸不包括IRES序列、5'間隔子序列或3'間隔子序列。

【0305】 在一些實施方式中，間隔子序列包括至少3個核糖核苷酸、至少4個核糖核苷酸、至少5個核糖核苷酸、至少約8個核糖核苷酸、至少約10個核糖核苷酸、至少約12個核糖核苷酸、至少約15個核糖核苷酸、至少約20個核糖核苷酸、至少約25個核糖核苷酸、至少約30個核糖核苷酸、至少約40個核糖核苷酸、至少

約50個核糖核苷酸、至少約60個核糖核苷酸、至少約70個核糖核苷酸、至少約80個核糖核苷酸、至少約90個核糖核苷酸、至少約100個核糖核苷酸、至少約120個核糖核苷酸、至少約150個核糖核苷酸、至少約200個核糖核苷酸、至少約250個核糖核苷酸、至少約300個核糖核苷酸、至少約400個核糖核苷酸、至少約500個核糖核苷酸、至少約600個核糖核苷酸、至少約700個核糖核苷酸、至少約800個核糖核苷酸、至少約900個核糖核苷酸或至少約100個核糖核苷酸。

產生方法

無細胞系統中的產生方法

【0306】 本揭露還提供了產生環狀RNA之方法。例如，可在無細胞系統中轉錄（例如，藉由體外轉錄）去氧核糖核苷酸模板以產生線性RNA。線性多核糖核苷酸產生剪接相容的多核糖核苷酸，該剪接相容的多核糖核苷酸可自剪接以產生環狀多核糖核苷酸。

【0307】 在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由以下過程產生環狀多核糖核苷酸（例如，在無細胞系統中）的方法：提供線性多核糖核苷酸；以及在適於剪接線性多核糖核苷酸的3'和5'剪接位點的條件下自剪接線性多核糖核苷酸；從而產生環狀多核糖核苷酸。

【0308】 在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由以下過程產生環狀多核糖核苷酸之方法：提供編碼線性多核糖核苷酸的去氧核糖核苷酸；在無細胞系統中轉錄去氧核糖核苷酸以產生線性多核糖核苷酸；視需要地純化剪接相容的線性多核糖核苷酸；以及在適於剪接線性多核糖核苷酸的3'和5'剪接位點的條件下自剪接線性多核糖核苷酸，從而產生環狀多核糖核苷酸。

【0309】 在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由以下過程產生環狀多核糖核苷酸之方法：提供編碼線性多核糖核苷酸的去氧核糖核苷酸；在無細胞系統中轉錄去氧核糖核苷酸以產生線性多核糖核苷酸，其中轉錄在適於剪接線性

多核糖核苷酸的3'和5'剪接位點的條件下在溶液中發生，從而產生環狀多核糖核苷酸。在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸包含5'斷裂內含子和3'斷裂內含子（例如，用於產生環狀多核糖核苷酸的自剪接構建體）。在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸包含5'退火區域和3'退火區域。

【0310】用於體外轉錄和/或自剪接的合適條件可包括在一或多個方面模擬生理條件的任何條件（例如溶液或緩衝液，諸如水性緩衝液或溶液）。在一些實施方式中，合適的條件包括0.1-100 mM的Mg2+離子或其鹽（例如，1-100 mM、1-50 mM、1-20 mM、5-50 mM、5-20 mM或5-15 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括1-1000 mM K+離子或其鹽諸如KCl（例如，1-1000 mM、1-500 mM、1-200 mM、50-500 mM、100-500 mM或100-300 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括1-1000 mM Cl-離子或其鹽諸如KCl（例如，1-1000 mM、1-500 mM、1-200 mM、50-500 mM、100-500 mM或100-300 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括0.1-100 mM Mn2+離子或其鹽諸如MnCl2（例如，0.1-100 mM、0.1-50 mM、0.1-20 mM、0.1-10 mM、0.1-5 mM、0.1-2 mM、0.5-50 mM、0.5-20 mM、0.5-15 mM、0.5-5 mM、0.5-2 mM或0.1-10 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括二硫蘇糖醇（DTT）（例如，1-1000 μM、1-500 μM、1-200 μM、50-500 μM、100-500 μM、100-300 μM、0.1-100 mM、0.1-50 mM、0.1-20 mM、0.1-10 mM、0.1-5 mM、0.1-2 mM、0.5-50 mM、0.5-20 mM、0.5-15 mM、0.5-5 mM、0.5-2 mM或0.1-10 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括0.1 mM與100 mM之間的核糖核苷三磷酸（NTP）（例如，0.1-100 mM、0.1-50 mM、0.1-10 mM、1-100 mM、1-50 mM或1-10 mM）。在一些實施方式中，合適的條件包括4至10的pH（例如，5至9的pH、6至9的pH或6.5至8.5的pH）。在一些實施方式中，合適的條件包括4°C至50°C的溫度（例如，10°C至40°C、15°C至40°C、20°C至40°C或30°C至40°C），

【0311】在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸由去氧核糖核酸（例如，本文所述之去氧核糖核酸，諸如DNA載體、線性化DNA載體或cDNA）產生。在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸藉由在無細胞系統中轉錄（例如，體外轉錄）由去氧核糖核酸轉錄。

細胞中的產生方法

【0312】本揭露還提供了在細胞（例如，原核細胞或真核細胞）中產生環狀RNA之方法。在一些實施方式中，向細胞提供外源多核糖核苷酸（例如，本文所述之線性多核糖核苷酸或編碼此處所述之線性多核糖核苷酸的轉錄的DNA分子）。線性多核糖核苷酸可在細胞中由向細胞提供的外源DNA分子轉錄。線性多核糖核苷酸可在細胞中由向細胞暫態提供的外源重組DNA分子轉錄。在一些實施方式中，外源DNA分子不整合到細胞的基因組中。在一些實施方式中，線性多核糖核苷酸在細胞中由併入細胞的基因組中的重組DNA分子轉錄。

【0313】在一些實施方式中，細胞係原核細胞。在一些實施方式中，包括本文所述之多核糖核苷酸的原核細胞可為細菌細胞或古菌細胞。例如，包括本文所述之多核糖核苷酸的原核細胞可為大腸桿菌（E coli）、古生菌（例如，沃氏鹽富饒菌（Haloferax volcaniii））、鞘氨醇單胞菌（Sphingomonas）、藍菌（例如，細長聚球藻（Synechococcus elongatus）、螺旋藻（Spirulina）（節旋藻（Arthrospira））屬和集胞藻屬（Synechocystis spp.））、鏈黴菌（Streptomyces）、放線菌（actinomycetes）（例如，野野村菌屬（Nonomuraea）、北裡孢菌屬（Kitasatospora）或溫雙岐菌屬（Thermobifida））、芽孢桿菌屬（Bacillus spp.）（例如，枯草芽孢桿菌（Bacillus subtilis）、炭疽芽孢桿菌（Bacillus anthracis）、蠟樣芽孢桿菌（Bacillus cereus））、β變形菌（betaproteobacteria）（例如，伯克氏菌（Burkholderia））、α變形菌（alphaproteobacterial）（例如，農桿菌（Agrobacterium））、假單胞菌（Pseudomonas）（例如，惡臭假單胞菌（Pseudomonas

putida））和腸桿菌（enterobacteria）。原核細胞可在培養基中生長。原核細胞可包含在生物反應器中。

【0314】在一些實施方式中，細胞係真核細胞。在一些實施方式中，包括本文所述之多核糖核苷酸的真核細胞係單細胞真核細胞。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係單細胞真菌細胞，諸如酵母細胞（例如，釀酒酵母（Saccharomyces cerevisiae）和其他酵母屬（Saccharomyces spp.）、酒香酵母屬（Brettanomyces spp.）、裂殖酵母屬（Schizosaccharomyces spp.）、有孢圓酵母屬（Torulaspora spp.）和畢赤酵母屬（Pichia spp.））。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係單細胞動物細胞。單細胞動物細胞可為從多細胞動物中分離並在培養物中生長的細胞或其繼代細胞。在一些實施方式中，單細胞動物細胞可為去分化的。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係單細胞植物細胞。單細胞植物細胞可為從多細胞植物中分離並在培養物中生長的細胞或其繼代細胞。在一些實施方式中，單細胞植物細胞可為去分化的。在一些實施方式中，單細胞植物細胞來自植物愈傷組織。在實施方式中，單細胞細胞係植物細胞原生質體。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係單細胞真核藻類細胞，諸如單細胞綠藻、矽藻、眼蟲或甲藻。感興趣的單細胞真核藻類的非限制性實例包括鹽生杜氏藻（Dunaliella salina）、普通小球藻（Chlorella vulgaris）、以若夫小球藻（Chlorella zofingiensis）、雨生紅球藻（Haematococcus pluvialis）、富油新綠藻（Neochloris oleoabundans）和其他新綠藻屬（Neochloris spp.）、葡萄原管藻（Protosiphon botryoides）、布朗葡萄藻（Botryococcus braunii）、隱球菌屬（Cryptococcus spp.）、萊茵衣藻（Chlamydomonas reinhardtii）和其他單胞藻屬（Chlamydomonas spp.）。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係原生生物細胞。在一些實施方式中，單細胞真核細胞係原生動物細胞。

【0315】在一些實施方式中，真核細胞係多細胞真核生物的細胞。例如，

多細胞真核生物可選自由脊椎動物、無脊椎動物、多細胞真菌、多細胞藻類和多細胞植物組成之群組。在一些實施方式中，真核生物體係人。在一些實施方式中，真核生物體係非人脊椎動物。在一些實施方式中，真核生物體係無脊椎動物。在一些實施方式中，真核生物係多細胞真菌。在一些實施方式中，真核生物體係多細胞植物。在實施方式中，真核細胞係人的細胞或非人哺乳動物的細胞，諸如非人靈長類動物（例如猴、猿類）、有蹄類動物（例如牛科動物，包括家牛、水牛、野牛、綿羊、山羊和麝牛；豬；駱駝科動物，包括駱駝、駱馬和羊駝；鹿；羚羊；以及馬科動物，包括馬和驢）、食肉動物（例如狗、貓）、齧齒動物（例如大鼠、小鼠、天竺鼠、倉鼠、松鼠）或兔類動物（例如兔、野兔）。在實施方式中，真核細胞係鳥的細胞，諸如鳥類類群雞形目（例如雞、火雞、野雞、鵪鶉）、雁形目（例如鴨、鵝）、古顎下綱（例如鴕鳥、鴯鶓）、鴿形目（例如鴿子、家鴿）或鸚形目（例如鸚鵡）的成員。在實施方式中，真核細胞係節肢動物（例如昆蟲、蛛形綱、甲殼動物）、線蟲、環節動物、蠕蟲或軟體動物的細胞。在實施方式中，真核細胞係多細胞植物的細胞，諸如被子植物（其可為雙子葉植物或單子葉植物）或裸子植物（例如針葉樹、蘇鐵、買麻藤類植物、銀杏）、蕨類、木賊草、石松屬或苔蘚植物。在實施方式中，真核細胞係真核多細胞藻類的細胞。

【0316】 真核細胞可在培養基中生長。真核細胞可包含在生物反應器中。

純化的方法

【0317】 本文所述之方法中可包括一或多個純化步驟。例如，在一些實施方式中，在自剪接線性多核糖核苷酸之前，線性多核糖核苷酸實質上係增濃的或純的（例如，純化的）。在其他實施方式中，在自剪接線性多核糖核苷酸之前不純化線性多核糖核苷酸。在一些實施方式中，純化所得的環狀RNA。

【0318】 純化可包括從一或多種不期望的組分（諸如任何未反應的起始材料、副產物、酶或其他反應組分）中分離或增濃期望的反應產物。例如，在無細

胞系統中轉錄（例如體外轉錄）後純化線性多核糖核苷酸可包括在自剪接線性多核糖核苷酸之前從DNA模板中分離或增濃。剪接後環狀RNA產物的純化可用於從其相應的線性RNA中分離或增濃環狀RNA。RNA的純化方法係熟悉該項技術者已知的，並且包括酶純化或藉由層析法。

【0319】 在一些實施方式中，純化方法產生具有少於50%（例如少於40%、30%、20%、10%、5%、4%、3%、2%或1%）線性多核糖核苷酸的環狀多核糖核苷酸。

生物反應器

【0320】 在一些實施方式中，產生本文所述之環狀多核糖核苷酸的任何方法都可在生物反應器中進行。生物反應器係指在其中進行化學或生物學過程的任何容器，該過程涉及生物體或衍生自此類生物體的生物化學活性物質。生物反應器可與本文所述之用於產生環狀RNA的無細胞方法相容。用於生物反應器的容器可包括培養瓶、培養皿或培養袋，它們可為一次性使用的（一次性的）、可高壓滅菌的或可滅菌的。生物反應器可以由玻璃製成，或者其也可為基於聚合物的，或者其也可以由其他材料製成。

【0321】 生物反應器的實例包括但不限於攪拌罐（例如，充分混合的）生物反應器和管式（例如，活塞流）生物反應器、氣升式生物反應器、膜攪拌罐、旋轉過濾攪拌罐、振動混合器、流體化床反應器、和膜生物反應器。操作生物反應器的模式可為間歇的或連續的過程。當試劑和產物流連續地進出系統時，生物反應器係連續的。間歇式生物反應器可以具有連續的再循環流，但沒有連續的試劑進料或產物收穫。

【0322】 本揭露之一些方法涉及大規模產生環狀多核糖核苷酸。對於大規模產生方法，該方法可在1升（L）至50 L或更大（例如，5 L、10 L、15 L、20 L、25 L、30 L、35 L、40 L、45 L、50 L或更大）的體積中進行。在一些實施方式

中，該方法可在5 L至10 L、5 L至15 L、5 L至20 L、5 L至25 L、5 L至30 L、5 L至35 L、5 L至40 L、5 L至45 L、10 L至15 L、10 L至20 L、10 L至25 L、20 L至30 L、10 L至35 L、10 L至40 L、10 L至45 L、10 L至50 L、15 L至20 L、15 L至25 L、15 L至30 L、15 L至35 L、15 L至40 L、15 L至45 L或15至50 L的體積中進行。

【0323】 在一些實施方式中，生物反應器可產生至少1 g的環狀RNA。在一些實施方式中，生物反應器可產生1-200 g的環狀RNA（例如，1-10 g、1-20 g、1-50 g、10-50 g、10-100 g、50-100 g或50-200 g的環狀RNA）。在一些實施方式中，產生的量係每升（例如，每升1-200 g）、每批次或反應（例如，每批次或反應1-200 g）或每單位時間（例如，每小時或每天1-200 g）測量的。

【0324】 在一些實施方式中，可串聯使用多於一個生物反應器以增加產生能力（例如，可串聯使用一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個或九個生物反應器）。

使用方法

【0325】 在一些實施方式中，如本文所述製備的環狀多核糖核苷酸用作治療或農業中的效應子。

【0326】 例如，可向受試者投與藉由本文所述之方法製備的環狀多核糖核苷酸（例如，在藥物、獸用或農業組成物中）。在一些實施方式中，受試者係脊椎動物（例如哺乳動物、鳥、魚、爬蟲類或兩棲類）。在一些實施方式中，受試者係人。在一些實施方式中，受試者係非人哺乳動物。在實施方式中，受試者係非人哺乳動物，諸如非人靈長類動物（例如猴、猿類）、有蹄類動物（例如家牛、水牛、綿羊、山羊、豬、駱駝、駱馬、羊駝、鹿、馬、驢）、肉食動物（例如狗、貓）、齧齒動物（例如大鼠、小鼠）或兔類動物（例如兔）。在實施方式中，受試者係鳥，諸如鳥類類群雞形目（例如雞、火雞、野雞、鵪鶉）、雁形目（例如

鴨、鵝）、古顎下綱（例如鴕鳥、鴯鶓）、鴿形目（例如鴿子、家鴿）或鸚形目（例如鸚鵡）的成員。在實施方式中，受試者係無脊椎動物，諸如節肢動物（例如昆蟲、蜘蛛、甲殼類動物）、線蟲、環節動物、蠕蟲或軟體動物。在實施方式中，受試者係無脊椎動物農業有害生物或者寄生在無脊椎動物或脊椎動物宿主上的無脊椎動物。在實施方式中，受試者係植物，諸如被子植物（其可為雙子葉植物或單子葉植物）或裸子植物（例如針葉樹、蘇鐵、買麻藤類植物、銀杏）、蕨類、木賊草、石松屬或苔蘚植物。在實施方式中，受試者係真核藻類（單細胞或多細胞）。在實施方式中，受試者係具有農業或園藝重要性的植物，諸如行間作物、生產水果的植物和樹木、蔬菜、樹木以及觀賞植物（包括觀賞花、灌木、樹木、地被植物和草皮草）。

【0327】在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由向受試者提供本文所述之組成物或配製物來改變受試者的方法。在一些實施方式中，組成物或配製物係或包括核酸分子（例如，本文所述之DNA分子或RNA分子），並且向真核受試者提供多核苷酸。在一些實施方式中，組成物或配製物係或包括包含本文所述之核酸的真核或原核細胞。

【0328】在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由向對其有需要的受試者提供本文所述之組成物或配製物來治療受試者的病症的方法。在一些實施方式中，組成物或配製物係或包括核酸分子（例如，本文所述之DNA分子或RNA分子），並且向真核受試者提供多核苷酸。在一些實施方式中，組成物或配製物係或包括包含本文所述之核酸的真核或原核細胞。

【0329】在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由向受試者提供包含本文所述之多核苷酸的真核或原核細胞來向受試者提供環狀多核糖核苷酸之方法。

配製物

【0330】在本揭露之一些實施方式中，本文所述之環狀多核糖核苷酸可被配製在組成物中，例如用於遞送到細胞、植物、無脊椎動物、非人脊椎動物或人類受試者的組成物，例如農業、獸用或藥物組成物。在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸被配製在藥物組成物中。在一些實施方式中，組成物包含環狀多核糖核苷酸和稀釋劑、載劑、佐劑或它們的組合。在特定實施方式中，組成物包含本文所述之環狀多核糖核苷酸和載劑或不含任何載劑的稀釋劑。在一些實施方式中，包括環狀多核糖核苷酸和不含任何載劑的稀釋劑的組成物用於將環狀多核糖核苷酸裸遞送給受試者。

鹽類

【0331】在一些情況下，本文提供的組成物或藥物組成物包含一或多種鹽。為了控制張度，本文提供的組成物可以包含生理鹽諸如鈉鹽。其他鹽可以包括氯化鉀、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鈉和/或氯化鎂等。在一些情況下，該組成物與一或多種藥學上可接受的鹽一起配製。該一或多種藥學上可接受的鹽可以包括無機離子，諸如鈉、鉀、鈣、鎂離子等的那些鹽。此類鹽可以包括與無機酸或有機酸的鹽，該無機酸或有機酸諸如鹽酸、氫溴酸、磷酸、硝酸、硫酸、甲磺酸、對甲苯磺酸、乙酸、反丁烯二酸、琥珀酸、乳酸、苦杏仁酸、蘋果酸、檸檬酸、酒石酸或順丁烯二酸。多核糖核苷酸可以線性或環狀形式存在。

緩衝劑/pH

【0332】本文提供的組成物或藥物組成物可以包含一或多種緩衝劑，諸如Tris緩衝劑；硼酸鹽緩衝劑；琥珀酸鹽緩衝劑；組胺酸緩衝劑（例如，含氫氧化鋁佐劑）；或檸檬酸鹽緩衝劑。在一些情況下，包含5-20 mM範圍內的緩衝劑。

【0333】本文提供的組成物或藥物組成物可以具有約5.0至約8.5、約6.0至約8.0、約6.5至約7.5、或約7.0至約7.8的pH。該組成物或藥物組成物可以具有約7的pH。多核糖核苷酸可以線性或環狀形式存在。

洗滌劑/界面活性劑

【0334】根據預期的投與途徑，本文提供的組成物或藥物組成物可以包含一或多種洗滌劑和/或界面活性劑，例如聚氧乙烯山梨糖醇酯界面活性劑（通常稱為「吐溫（Tween）」），例如聚山梨醇酯20和聚山梨醇酯80；以DOWFAX™商標出售的環氧乙烷（EO）、環氧丙烷（PO）和/或環氧丁烷（BO）的共聚物，諸如線性EO/PO嵌段共聚物；重複的乙氧基(氧基-1,2-乙二基)基團的數目可以變化的辛基酚聚醚，例如辛基酚聚醚-9（Triton X-100或三級辛基苯氧基聚乙氧基乙醇）；(辛基苯氧基)聚乙氧基乙醇（IGEPAL CA-630/NP-40）；磷脂，諸如磷脂醯膽鹼（卵磷脂）；壬基酚聚氧乙烯醚，諸如Tergitol™ NP系列；衍生自月桂醇、鯨蠟醇、硬脂醇和油醇的聚氧乙烯脂肪醚（稱為Brij界面活性劑），諸如三乙二醇單月桂基醚（Brij 30）；和山梨醇酯（通常稱為「SPAN」），諸如山梨糖醇酐三油酸酯（Span 85）和山梨糖醇酐單月桂酸酯、辛基酚聚醚（諸如辛基酚聚醚9（Triton X-100）或三級辛基苯氧基聚乙氧基乙醇）、十六烷基三甲基溴化銨（「CTAB」）或去氧膽酸鈉。該一或多種洗滌劑和/或界面活性劑可僅以痕量存在。在一些情況下，該組成物可以包含小於各1 mg/ml的辛基酚聚醚-10和聚山梨醇酯80。在本文中可使用非離子界面活性劑。界面活性劑可以按其「HLB」（親水/親脂平衡值）進行分類。在一些情況下，界面活性劑的HLB為至少10、至少15和/或至少16。多核糖核苷酸可以線性或環狀形式存在。

稀釋劑

【0335】在一些實施方式中，本揭露之組成物包含環狀多核糖核苷酸和稀釋劑。在一些實施方式中，本揭露之組成物包含線性多核糖核苷酸和稀釋劑。

【0336】稀釋劑可為非載劑賦形劑。非載劑賦形劑用作組成物（諸如，如本文所述之環狀多核糖核苷酸）的媒介物或介質。非載劑賦形劑用作組成物（諸如，如本文所述之線性多核糖核苷酸）的媒介物或介質。非載劑賦形劑的非限制

性實例包括溶劑、水溶劑、非水溶劑、分散介質、稀釋劑、分散劑、助懸劑、界面活性劑、等滲劑、增稠劑、乳化劑、防腐劑、聚合物、肽、蛋白質、細胞、玻醣醛酸酶、分散劑、製粒劑、崩散劑、黏合劑、緩衝劑（例如，磷酸鹽緩衝液（PBS））、潤滑劑、油及其混合物。非載劑賦形劑可為經美國食品和藥物管理局（FDA）批准並列在非活性成分數據庫中的不表現出細胞穿透作用的任一種非活性成分。非載劑賦形劑可為適於投與給非人類動物（例如，適合獸醫用途）的任何非活性成分。為了使組成物適於向各種動物投與，對適於向人投與的組成物的修飾得到很好的理解，並且普通技術的獸醫藥理師可以僅藉由普通的實驗（如果有）來設計和/或進行此類修飾。

【0337】 在一些實施方式中，環狀多核糖核苷酸可以以裸遞送配製物的形式遞送，諸如包含稀釋劑。裸遞送配製物將環狀多核糖核苷酸遞送至細胞，無需藉助於載劑並且無需對環狀多核糖核苷酸、加帽的多核糖核苷酸或其複合物進行修飾或部分或完全封裝。

【0338】 裸遞送配製物係不含載劑的配製物並且其中環狀多核糖核苷酸沒有結合有助於遞送至細胞的部分的共價修飾，或者沒有對環狀多核糖核苷酸的部分或完全封裝。在一些實施方式中，沒有結合有助於遞送至細胞的部分的共價修飾的環狀多核糖核苷酸係未與蛋白質、小分子、顆粒、聚合物或生物聚合物共價結合的多核糖核苷酸。沒有結合有助於遞送至細胞的部分的共價修飾的環狀多核糖核苷酸不含經修飾的磷酸基團。例如，沒有結合有助於遞送至細胞的部分的共價修飾的環狀多核糖核苷酸不含硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、硼代磷酸鹽、硼代磷酸酯、磷酸氫鹽、胺基磷酸酯、二胺基磷酸酯、烷基或芳基膦酸酯或磷酸三酯。

【0339】 在一些實施方式中，裸遞送配製物不含以下任何或全部：轉染試劑、陽離子載劑、碳水化合物載劑、奈米顆粒載劑、或蛋白質載劑。在一些實施

方式中，裸遞送配製物不含植物糖原辛烯基琥珀酸酯、植物糖原β-糊精、酸酐改性的植物糖原β-糊精、脂轉染胺（lipofectamine）、聚乙烯亞胺、聚(三亞甲基亞胺)、聚(四亞甲基亞胺)、聚丙烯亞胺、胺基糖苷-多胺、雙去氧-二胺基-b-環糊精、精胺、亞精胺、聚(2-二甲胺基)乙基甲基丙烯酸酯、聚(離胺酸)、聚(組胺酸)、聚(精胺酸)、陽離子化明膠、樹狀聚合物、殼聚糖、1,2-二油醯基-3-三甲基銨-丙烷（DOTAP）、N-[1-(2,3-二油醯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化銨（DOTMA）、1-[2-(油醯基氧基)乙基]-2-油烯基-3-(2-羥乙基)咪唑鎓氯化物（DOTIM）、2,3-二油醯基氧基-N-[2(精胺甲醯胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙烷銨三氟乙酸酯（DOSPA）、3B-[N-(N\N'-二甲基胺基乙烷)-胺基甲醯基]膽固醇鹽酸鹽（DC-膽固醇鹽酸鹽）、雙十七烷基醯胺基甘胺醯亞精胺（DOGS）、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化銨（DDAB）、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羥乙基溴化銨（DMRIE）、N,N-二油烯基-N,N-二甲基氯化銨（DODAC）、人血清白蛋白（HSA）、低密度脂蛋白（LDL）、高密度脂蛋白（HDL）或球蛋白。

【0340】在某些實施方式中，裸遞送配製物包括非載劑賦形劑。在一些實施方式中，非載劑賦形劑包括不表現出細胞穿透作用的非活性成分。在一些實施方式中，非載劑賦形劑包括緩衝劑，例如PBS。在一些實施方式中，非載劑賦形劑係溶劑、非水溶劑、稀釋劑、助懸劑、界面活性劑、等滲劑、增稠劑、乳化劑、防腐劑、聚合物、肽、蛋白質、細胞、玻醣醛酸酶、分散劑、製粒劑、崩散劑、黏合劑、緩衝劑、潤滑劑或油。

【0341】在一些實施方式中，裸遞送配製物包括稀釋劑。稀釋劑可為液體稀釋劑或固體稀釋劑。在一些實施方式中，稀釋劑係RNA助溶劑、緩衝劑或等滲劑。RNA助溶劑的實例包括水、乙醇、甲醇、丙酮、甲醯胺和2-丙醇。緩衝液的實例包括2-(N-味啉代)乙磺酸（MES）、Bis-Tris、2-[(2-胺基-2-氧乙基)-(羧甲基)胺基]乙酸（ADA）、N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸（ACES）、哌啡-N,N'-雙

(2-乙烷磺酸)(PIPES)、2-[[1,3-二羥基-2-(羥甲基)丙-2-基]胺基]乙烷磺酸(TES)、3-(N-味啉代)丙磺酸(MOPS)、4-(2-羥乙基)-1-哌啡乙烷磺酸(HEPES)、Tris、Tricine、Gly-Gly、Bicine或磷酸鹽。等滲劑的實例包括甘油、甘露醇、聚乙二醇、丙二醇、海藻糖或蔗糖。

載劑

【0342】在一些實施方式中，本揭露之組成物包含環狀多核糖核苷酸和載劑。在一些實施方式中，本揭露之組成物包含線性多核糖核苷酸和載劑。

【0343】在某些實施方式中，組成物在囊泡或其他基於膜的載劑中包括如本文所述之環狀多核糖核苷酸。在某些實施方式中，組成物在囊泡或其他基於膜的載劑中包括如本文所述之線性多核糖核苷酸。

【0344】在其他實施方式中，組成物在細胞、囊泡或其他基於膜的載劑中或經由細胞、囊泡或其他基於膜的載劑包括環狀多核糖核苷酸。在其他實施方式中，組成物在細胞、囊泡或其他基於膜的載劑中或經由細胞、囊泡或其他基於膜的載劑包括線性多核糖核苷酸。在一個實施方式中，組成物在脂質體或其他類似囊泡中包括環狀多核糖核苷酸。在一個實施方式中，組成物在脂質體或其他類似囊泡中包括線性多核糖核苷酸。脂質體係球形囊泡結構，該等球形囊泡結構由圍繞內部水性間室的單層或多層的脂質雙層和相對不可滲透的外部親脂性磷脂雙層構成。脂質體可為陰離子的、中性的或陽離子的。脂質體具有生物相容性，無毒，可以遞送親水性和親脂性藥物分子，保護其負載物免受血漿酶的降解，並且將其負載轉運穿過生物膜和血腦屏障(BBB)(關於綜述，參見例如，Spuch和Navarro, Journal of Drug Delivery [藥物遞送雜誌], 第2011卷, 文章ID 469679, 第12頁, 2011. doi:10.1155/2011/469679)。

【0345】囊泡可以由若干種不同類型的脂質製成；然而，磷脂最常用於生成脂質體作為藥物載劑。用於製備多層囊泡脂質的方法係本領域已知的(參見例

如美國專利案號6,693,086，其關於多層囊泡脂質製備的教導內容藉由援引併入本文）。儘管當脂質膜與水性溶液混合時，囊泡形成可為自發的，但也可以藉由經由使用均質器、超音波波儀或擠壓設備以振盪的形式施加力來加快囊泡形成（關於綜述，參見例如，Spuch和Navarro, Journal of Drug Delivery [藥物遞送雜誌], 第2011卷, 文章ID 469679, 第12頁, 2011. doi:10.1155/2011/469679）。可以藉由擠出通過具有減小尺寸的過濾器來製備擠出的脂質，如Templeton等人, Nature Biotech [自然 生物技術], 15:647-652, 1997中所述，該文獻關於擠出脂質製備的教導內容藉由援引併入本文。

【0346】 在某些實施方式中，本揭露之組成物包含環狀多核糖核苷酸和脂質奈米顆粒，例如本文所述之脂質奈米顆粒。在某些實施方式中，本揭露之組成物包含線性多核糖核苷酸和脂質奈米顆粒。脂質奈米顆粒係為如本文所述之環狀多核糖核苷酸分子提供生物相容性和可生物降解的遞送系統的載劑的另一個實例。脂質奈米顆粒係為如本文所述之線性多核糖核苷酸分子提供生物相容性和可生物降解的遞送系統的載劑的另一個實例。奈米結構化的脂質載劑（NLC）係經修飾的固體脂質奈米顆粒（SLN），該等經修飾的固體脂質奈米顆粒保留了SLN的特徵、改善了藥物穩定性和負載能力、並且防止了藥物洩漏。聚合物奈米顆粒（PNP）係藥物遞送的重要組成部分。該等奈米顆粒可以有效地將藥物遞送引導至特定靶標並且改善藥物穩定性和受控的藥物釋放。也可以使用脂質聚合物奈米顆粒（PLN），即一種組合了脂質體和聚合物的新型載劑。該等奈米顆粒具有PNP和脂質體的互補優勢。PLN由核-殼結構構成；聚合物核提供了穩定的結構，並且磷脂殼提供了良好的生物相容性。這樣，這兩種組分增加了藥物封裝效率、促進了表面修飾、並且防止了水溶性藥物的洩漏。對於綜述，參見例如，Li等人 2017, Nanomaterials [奈米材料] 7, 122；doi:10.3390/nano7060122。

【0347】 載劑的其他非限制性實例包括碳水化合物載劑（例如，酸酐改性

的植物糖原或糖原型材料）、蛋白質載劑（例如，與環狀多核糖核苷酸共價連接的蛋白質或與線性多核糖核苷酸共價連接的蛋白質）或陽離子載劑（例如，陽離子脂聚合物或轉染試劑）。碳水化合物載劑的非限制性實例包括植物糖原辛烯基琥珀酸酯、植物糖原β-糊精、和酸酐修飾的植物糖原β-糊精。陽離子載劑的非限制性實例包括脂轉染胺、聚乙烯亞胺、聚(三亞甲基亞胺)、聚(四亞甲基亞胺)、聚丙烯亞胺、胺基糖苷-多胺、雙去氧-二胺基-b-環糊精、精胺、亞精胺、聚(2-二甲胺基)乙基甲基丙烯酸酯、聚(離胺酸)、聚(組胺酸)、聚(精胺酸)、陽離子化明膠、樹狀聚合物、殼聚糖、1,2-二油醯基-3-三甲基銨-丙烷（DOTAP）、N-[1-(2,3-二油醯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化銨（DOTMA）、1-[2-(油醯基氧基)乙基]-2-油烯基-3-(2-羥乙基)咪唑啉鎓氯化物（DOTIM）、2,3-二油醯基氧基-N-[2(精胺甲醯胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙烷銨三氟乙酸酯（DOSPA）、3B-[N—(N\N'-二甲基胺基乙烷)-胺基甲醯基]膽固醇鹽酸鹽（DC-膽固醇鹽酸鹽）、雙十七烷基醯胺基甘胺醯亞精胺（DOGS）、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化銨（DDAB）、N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羥乙基溴化銨（DMRIE）、和N,N-二油烯基-N,N-二甲基氯化銨（DODAC）。蛋白質載劑的非限制性實例包括人血清白蛋白（HSA）、低密度脂蛋白（LDL）、高密度脂蛋白（HDL）、或球蛋白。

【0348】 胞泌體也可用作本文所述之環狀RNA組成物或製劑的藥物遞送媒介物。胞泌體可用作本文所述之線性多核糖核苷酸組成物或製劑的藥物遞送媒介物。對於綜述，參見Ha等人 2016年7月.Acta Pharmaceutica Sinica B [藥學學報] 第6卷第4期, 第287-296頁；https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.02.001。

【0349】 離體分化的紅血球也可以用作本文所述之環狀RNA組成物或製劑的載劑。離體分化的紅血球也可用作本文所述之線性多核糖核苷酸組成物或製劑的載劑。參見，例如，國際專利公開案號WO 2015/073587；WO 2017/123646；WO 2017/123644；WO 2018/102740；WO 2016/183482；WO 2015/153102；WO

2018/151829；WO 2018/009838；Shi等人 2014. Proc Natl Acad Sci USA [美國國家科學院院刊].111(28): 10131-10136；美國專利9,644,180；Huang等人 2017. Nature Communications [自然 通訊] 8: 423；Shi等人 2014. Proc Natl Acad Sci USA [美國國家科學院院刊].111(28): 10131-10136。

【0350】 例如國際專利公開案號WO 2018/208728中所述之融合體組成物也可以用作載劑遞送本文所述之環狀多核糖核苷酸分子。例如WO 2018/208728中所述之融合體組成物也可以用作載劑遞送本文所述之線性多核糖核苷酸分子。

【0351】 病毒體和病毒樣顆粒（VLP）也可用作載劑將本文所述之環狀多核糖核苷酸分子遞送至靶向的細胞。病毒體和病毒樣顆粒（VLP）也可用作載劑將本文所述之線性多核糖核苷酸分子遞送至靶向的細胞。

【0352】 例如國際專利公開案號WO 2011/097480、WO 2013/070324、WO 2017/004526或WO 2020/041784中所述之植物奈米囊泡和植物傳訊者包（PMP）也可用作載劑遞送本文所述之環狀RNA組成物或製劑。植物奈米囊泡和植物傳訊者包（PMP）也可用作載劑遞送本文所述之線性多核糖核苷酸組成物或製劑。

【0353】 微泡也可以用作載劑遞送本文所述之環狀多核糖核苷酸分子。微泡也可用作載劑遞送本文所述之線性多核糖核苷酸分子。參見，例如，US7115583；Beeri, R.等人，Circulation. [循環]2002年10月1日;106(14):1756-1759；Bez, M.等人, Nat Protoc. [自然實驗室指南] 2019年4月; 14(4): 1015-1026；Hernot, S.等人，Adv Drug Deliv Rev. [高級藥物遞送綜述] 2008年6月30日；60(10): 1153-1166；Rychak, J.J.等人，Adv Drug Deliv Rev. [高級藥物遞送綜述] 2014年6月；72: 82-93。在一些實施方式中，微泡係白蛋白包被的全氟化碳微泡。

【0354】 包含本文所述之環狀多核糖核苷酸的載劑可以包含多個顆粒。該等顆粒可具有30至700奈米的中值粒度（例如30至50、50至100、100至200、200

至300、300至400、400至500、500至600、600至700、100至500、50至500或200至700奈米）。可優化顆粒的大小以有利於有效負載（包括環狀多核糖核苷酸）沈積到細胞中。環狀多核糖核苷酸沈積到某些細胞類型中可能有利於不同的粒度。例如，可以優化粒度以使環狀多核糖核苷酸沈積到抗原呈現細胞中。可以優化粒度以使環狀多核糖核苷酸沈積到樹突細胞中。另外，可以優化粒度以使環狀多核糖核苷酸沈積到引流淋巴結細胞中。

脂質奈米顆粒

【0355】 本揭露提供的組成物、方法和遞送系統可以採用本文所述之任何合適的載劑或遞送形式，在某些實施方式中包括脂質奈米顆粒（LNP）。在一些實施方式中，脂質奈米顆粒包含一或多種離子脂質，諸如非陽離子脂質（例如，中性或陰離子或兩性離子脂質）；一或多種軛合脂質（諸如PEG軛合脂質或WO 2019217941的表5中所述之軛合至聚合物的脂質；該文獻藉由援引以其全文併入本文）；一或多種固醇（例如，膽固醇）。

【0356】 可用於形成奈米顆粒（例如，脂質奈米顆粒）的脂質包括例如WO 2019217941（藉由援引併入）的表4中描述的那些—例如，含脂質的奈米顆粒可包含WO 2019217941的表4中之一或多種脂質。脂質奈米顆粒可以包括另外的要素，諸如聚合物，諸如WO 2019217941（藉由援引併入）的表5中描述的聚合物。

【0357】 在一些實施方式中，軛合的脂質，當存在時，可以包括以下的一或多種：PEG-二醯基甘油（DAG）（諸如l-(單甲氧基-聚乙二醇)-2,3-二肉豆蔻醯甘油（PEG-DMG））、PEG-二烷氧基丙基（DAA）、PEG-磷脂、PEG-神經醯胺（Cer）、聚乙二醇化磷脂醯乙醇胺（PEG-PE）、PEG琥珀酸二醯基甘油（PEGS-DAG）（諸如4-0-(2',3'-二(十四烷醯氧基)丙基-l-0-(w-甲氧基(聚乙氧基)乙基)丁二酸酯（PEG-S-DMG））、PEG二烷氧基丙基胺基甲酸酯、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇2000)-1,2-二硬脂醯-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺鈉鹽，以及在WO 2019051289的表2

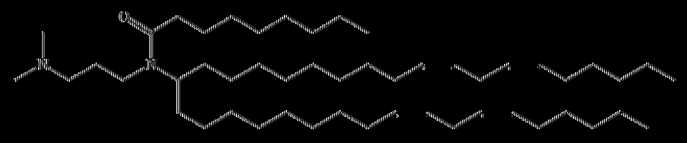
中描述的那些（藉由援引併入）和前述的組合。

【0358】在一些實施方式中，可以摻入脂質奈米顆粒中的固醇包括膽固醇或膽固醇衍生物中之一或多種，諸如W0 2009/127060或US 2010/0130588（藉由援引併入）中的那些。另外的示例性固醇包括植物固醇，包括藉由援引併入本文的Eygeris等人(2020)，dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01386中描述的那些。

【0359】在一些實施方式中，脂質顆粒包含可電離脂質、非陽離子脂質、抑制顆粒聚集的軛合脂質和固醇。該等組分的量可以獨立地變化，以獲得所需特性。例如，在一些實施方式中，脂質奈米顆粒包含可電離脂質，其量為總脂質的約20 mol%至約90 mol%（在其他實施方式中，其可為存在於脂質奈米顆粒中的總脂質的20%-70%（mol）、30%-60%（mol）或40%-50%（mol）；約50 mol%至約90 mol%）；非陽離子脂質，其量為總脂質的約5 mol%至約30 mol%；軛合脂質，其量為總脂質的約0.5 mol%至約20 mol%；以及固醇，其量為總脂質的約20 mol%至約50 mol%。總脂質與核酸的比率可以根據需要變化。例如，總脂質與核酸（質量或重量）的比率可為約10 : 1至約30 : 1。

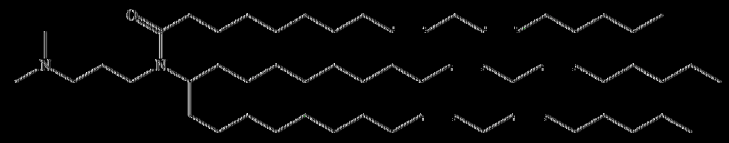
【0360】在一些實施方式中，脂質與核酸的比率（質量/質量比率；w/w比）可處於約1 : 1至約25 : 1、約10 : 1至約14 : 1、約3 : 1至約15 : 1、約4 : 1至約10 : 1、約5 : 1至約9 : 1或約6 : 1至約9 : 1的範圍內。可以調節脂質和核酸的量以提供所需的N/P比，例如3、4、5、6、7、8、9、10或更高的N/P比。通常，脂質奈米顆粒配製物的總脂質含量可在約5 mg/ml至約30 mg/mL的範圍內。

可用於（例如，與其他脂質組分組合）形成用於遞送本文所述之組成物，例如本文所述之核酸（例如，RNA（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸））的脂質奈米顆粒的脂質化合物的一些非限制性實例包括：



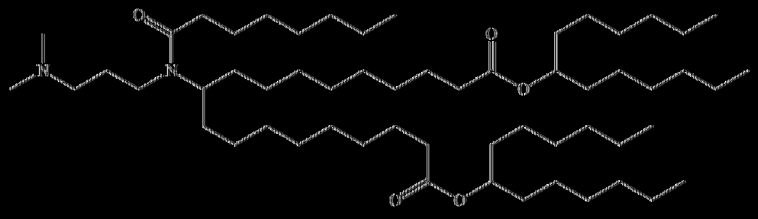
(i)

[0361] 在一些實施方式中，包含式(i)的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。



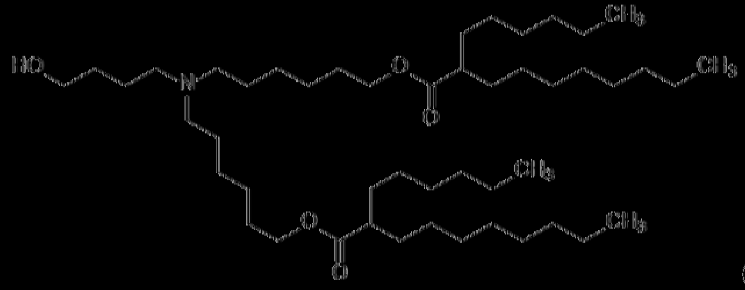
(ii)

[0362] 在一些實施方式中，包含式(ii)的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

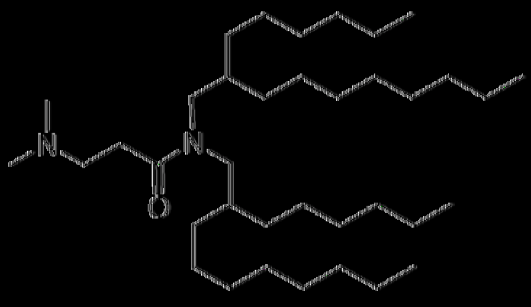


(iii)

[0363] 在一些實施方式中，包含式(iii)的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

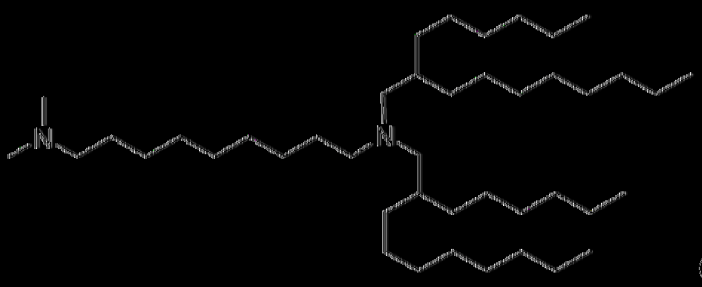


(iv)



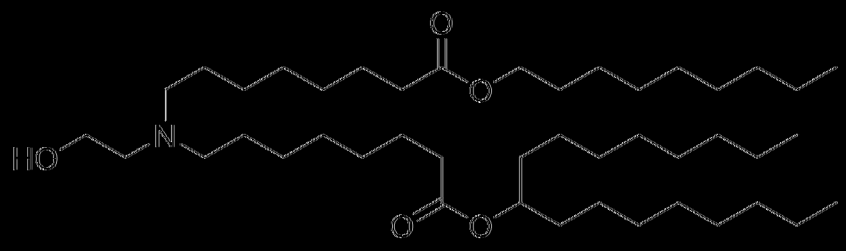
(v)

[0364] 在一些實施方式中，包含式(v)的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。



(vi)

[0365] 在一些實施方式中，包含式 (vi) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

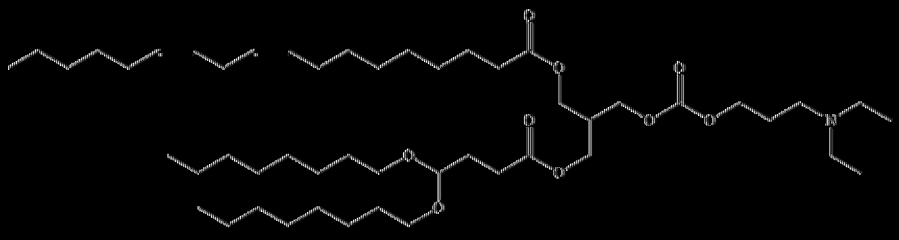


(vii)



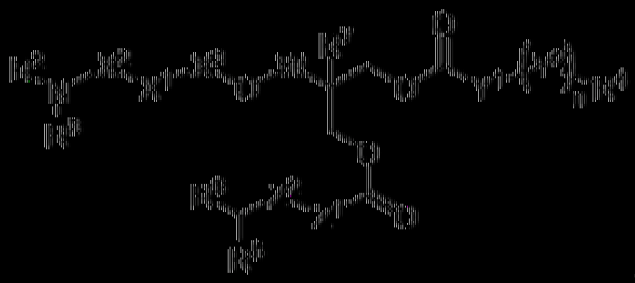
(viii)

[0366] 在一些實施方式中，包含式 (viii) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。



(ix)

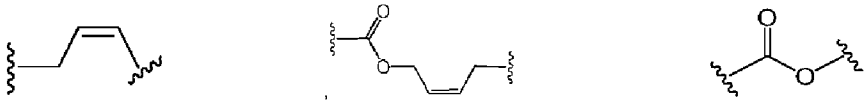
[0367] 在一些實施方式中，包含式 (ix) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。



(x)

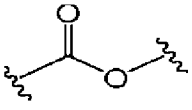
其中

X^1係O、NR^1或直接鍵，X^2係C2-5伸烷基，X^3係C(=O)或直接鍵，R^1係H或Me，R^3係C1-3烷基，R^2係C1-3烷基，或R^2與它所附接的氮原子和X^2的1-3個碳原子一起形成4-元、5-元或6-元環，或X^1係NR^1，R^1和R^2與它們所附接的氮原子一起形成5-元或6-元環，或R^2與R^3和它們所附接的氮原子一起形成5-元、6-元或7-元環，Y^1係C2-12伸烷基，Y^2選自



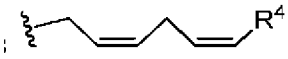
（在任一取向上），（在任一取向上），（在任一取向上），

n為0至3，R^4為C1-15烷基，Z^1為C1-6伸烷基或直接鍵，

Z^2係 

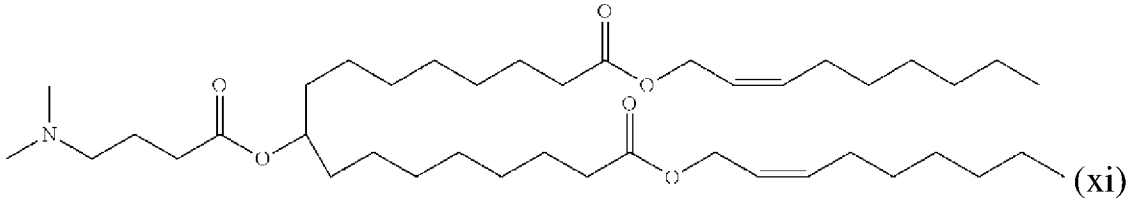
（在任一取向上）或不存在，條件係如果Z^1係直接鍵，則Z^2不存在；

R^5係C5-9烷基或C6-10烷氧基，R^6係C5-9烷基或C6-10烷氧基，W係亞甲基或直接鍵，並且R^7係H或Me，或其鹽，條件係如果R^3和R^2係C2烷基，X^1係O，X^2係直鏈C3伸烷基，X^3係C(=0)，Y^1係直鏈Ce伸烷基，$(Y^2)n-R^4$係



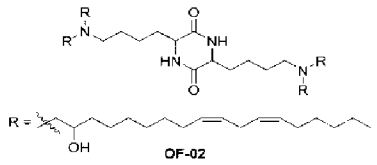
，R^4係直鏈C5烷基，Z^1係C2伸烷基，Z^2不存在，W係亞甲基，並且R^7係H，則R^5和R^6不係Cx烷氧基。

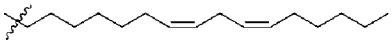
【0368】在一些實施方式中，包含式 (xii) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

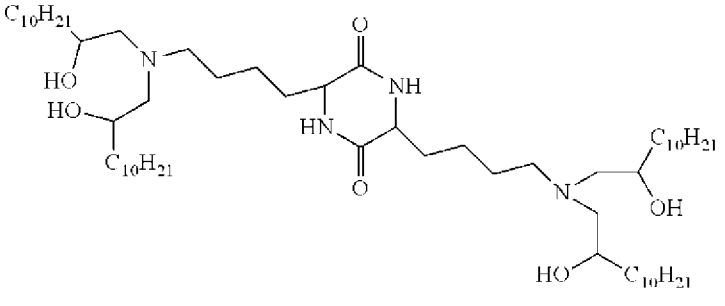


(xi)

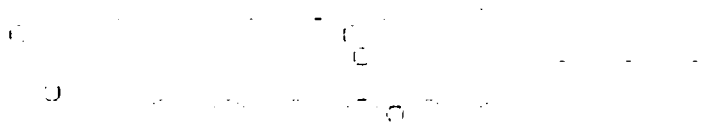
【0369】在一些實施方式中，包含式 (xi) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。



其中R =  (xii)

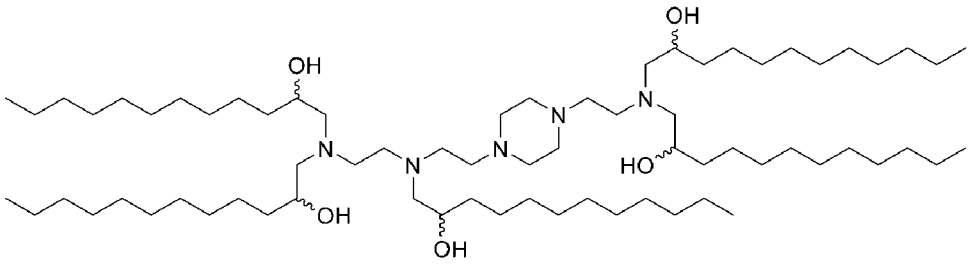


(xiii)



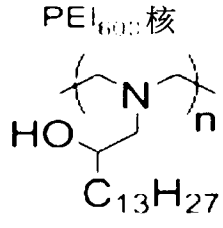
(xiv)

【0370】在一些實施方式中，LNP包含式 (xiii) 的化合物和式 (xiv) 的化合物。



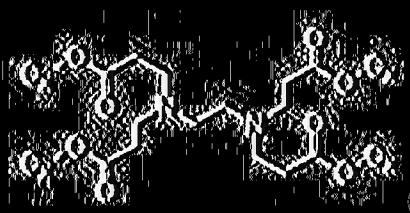
(xv)

【0371】在一些實施方式中，包含式 (xv) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

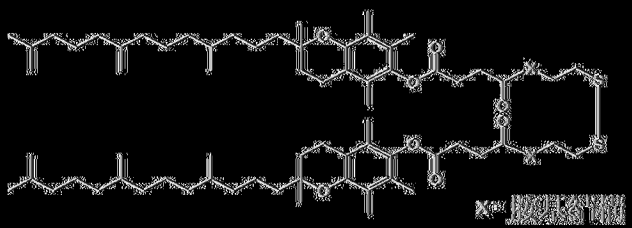


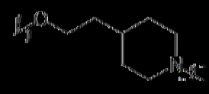
(xvi)

【0372】在一些實施方式中，包含式 (xvi) 的配製物的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。

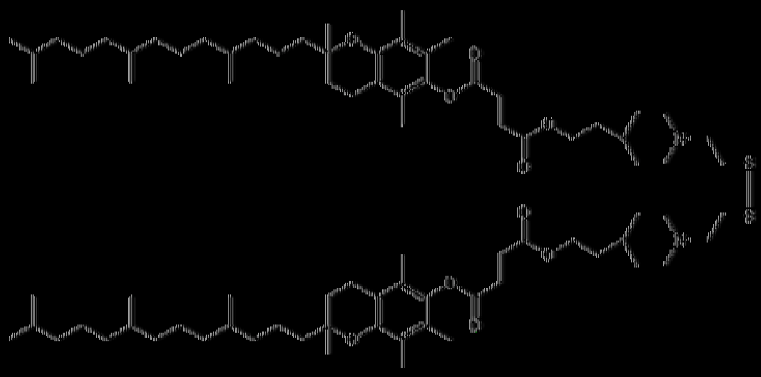


(xvii)

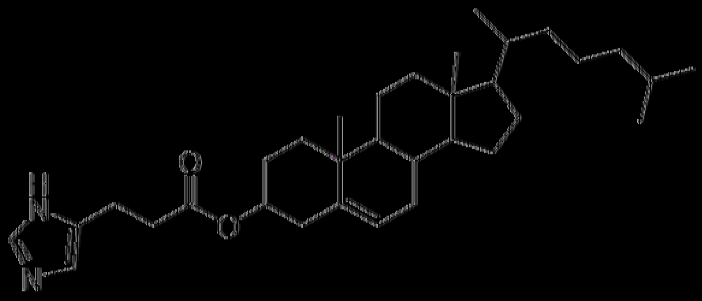


其中X為： 

(xviii)(a)

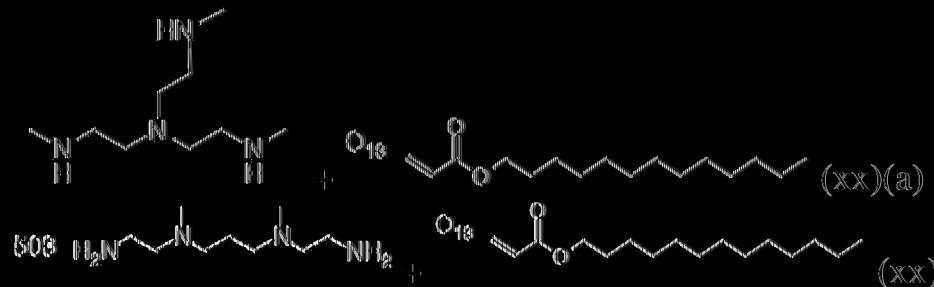


(xviii)(b)



(xix)

[0373] 在一些實施方式中，用於形成用於遞送本文所述之組成物，例如本文所述之核酸（例如，RNA（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸））的脂質奈米顆粒的脂質化合物藉由以下反應之一製成：

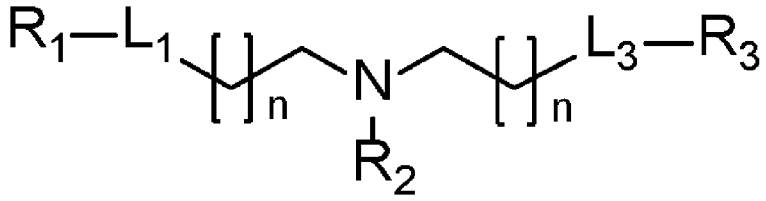


(xx)(a)

(xx)(b)。

[0374] 在一些實施方式中，包含式(xxi)的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。在一些實施方式中，式(xxi)的LNP係WO 2021113777描述的LNP（例如，式(1)的

脂質，諸如WO 2021113777的表1的脂質）。



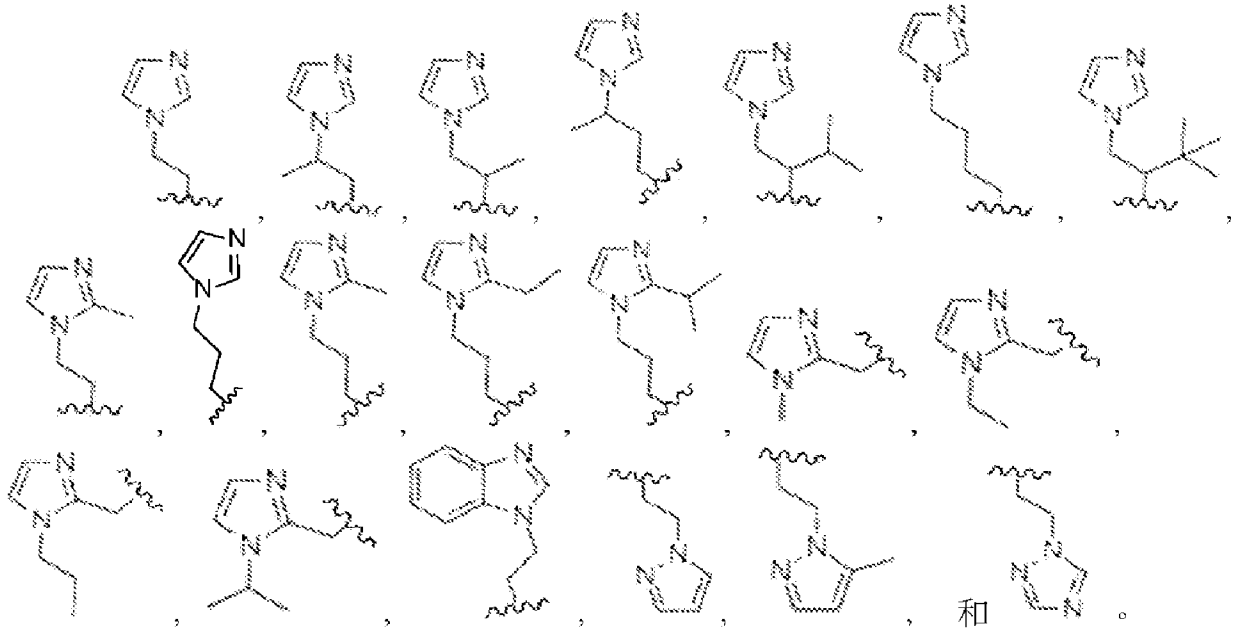
(xxi)

其中

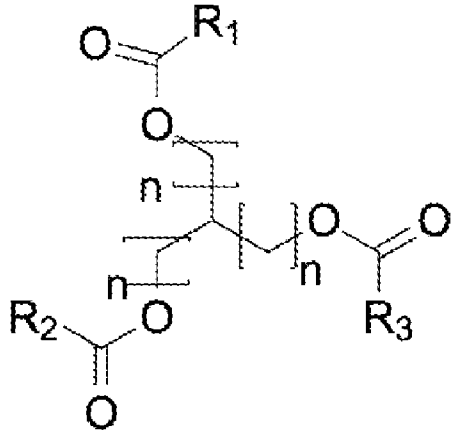
每個n獨立地是2-15的整數；L_1和L_3各自獨立地是-OC(O)-*或-C(O)O-*，其中「*」表示與R_1或R_3的附接點；

R_1和R_3各自獨立地是視需要地被一或多個選自由以下組成之群組的取代基取代的直鏈或支鏈C_9-C_{20}烷基或C_9-C_{20}烯基：側氧基、鹵基、羥基、氰基、烷基、烯基、醛、雜環基烷基、羥基烷基、二羥基烷基、羥基烷基胺基烷基、胺基烷基、烷基胺基烷基、二烷基胺基烷基、(雜環基)(烷基)胺基烷基、雜環基、雜芳基、烷基雜芳基、炔基、烷氧基、胺基、二烷基胺基、胺基烷基羰基胺基、胺基羰基烷基胺基、(胺基羰基烷基)(烷基)胺基、烯基羰基胺基、羥基羰基、烷氧基羰基、胺基羰基、胺基烷基胺基羰基、烷基胺基烷基胺基羰基、二烷基胺基烷基胺基羰基、雜環基烷基胺基羰基、(烷基胺基烷基)(烷基)胺基羰基、烷基胺基烷基羰基、二烷基胺基烷基羰基、雜環基羰基、烯基羰基、炔基羰基、烷基亞碸、烷基亞碸烷基、烷基磺醯基和烷基碸烷基；並且

R_2選自由以下組成之群組：



【0375】在一些實施方式中，包含式 (xxii) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。在一些實施方式中，式 (xxii) 的LNP係WO 2021113777描述的LNP（例如，式 (2) 的脂質，諸如WO 2021113777的表2的脂質）。

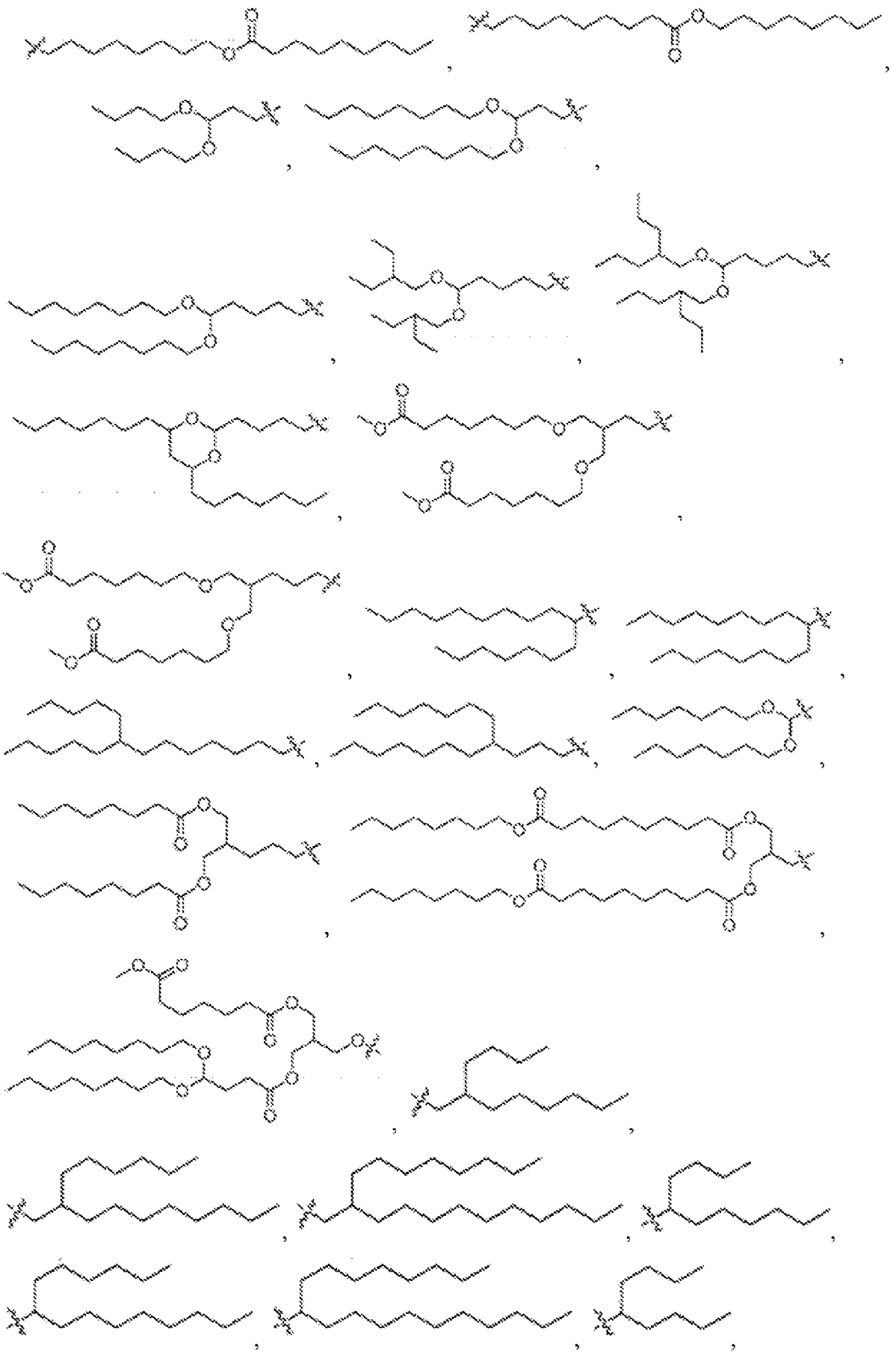


(xxii)

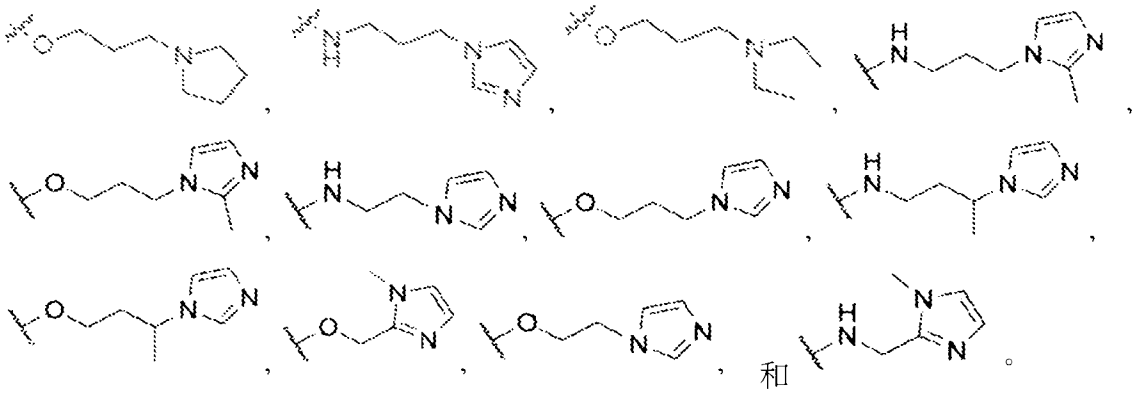
其中

每個n獨立地是1-15的整數；

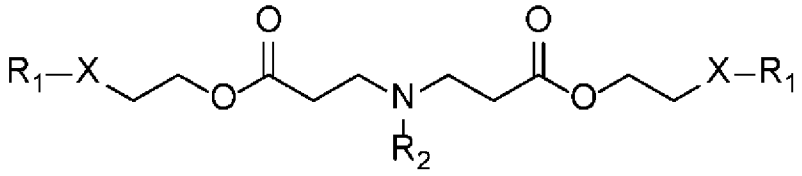
R_1和R_2各自獨立地選自由以下組成之群組：



R_3選自由以下組成之群組：



【0376】在一些實施方式中，包含式 (xxiii) 的LNP用於將本文所述之多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）組成物遞送至細胞。在一些實施方式中，式 (xxiii) 的LNP係WO 2021113777描述的LNP（例如，式 (3) 的脂質，諸如WO 2021113777的表3的脂質）。

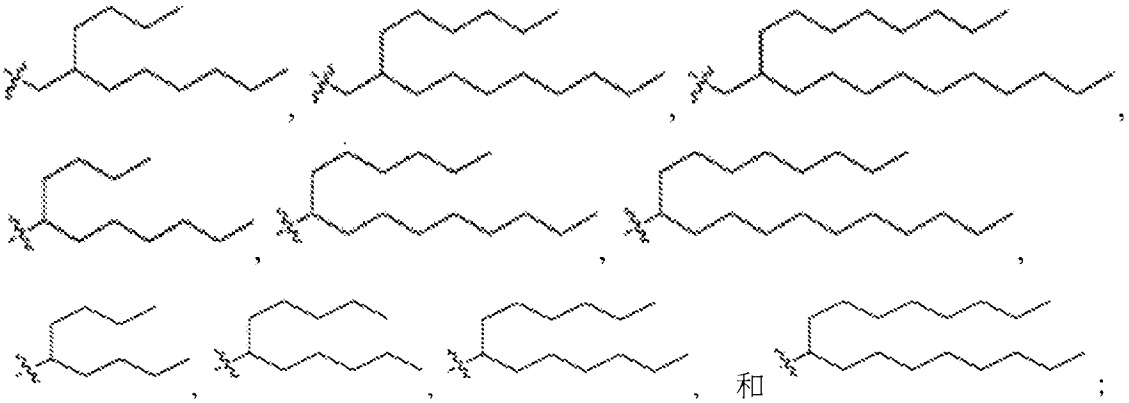


(xxiii)

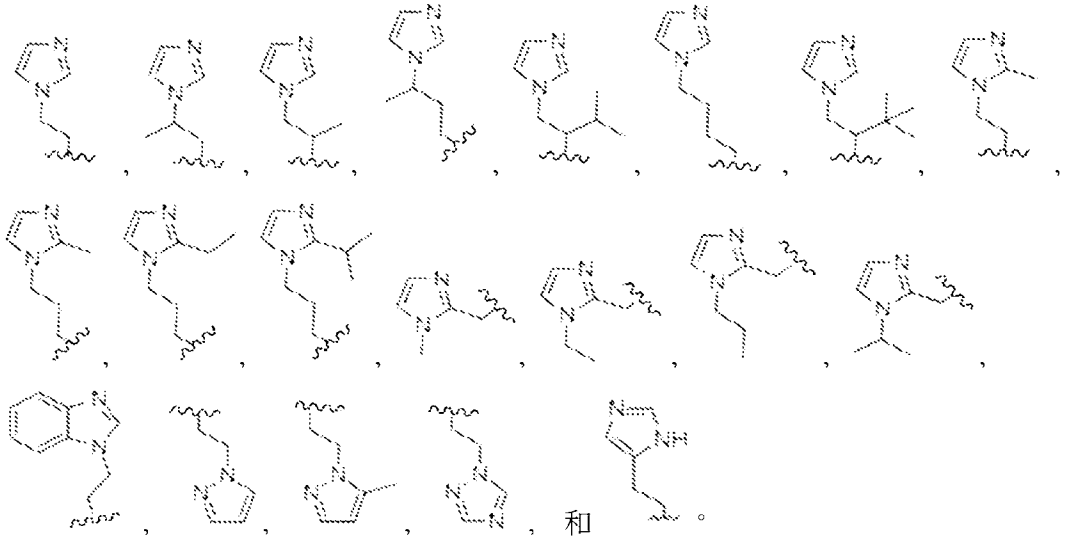
其中

X選自-O-、-S-或-OC(O)-*，其中*表示與R_1的附接點；

R_1選自由以下組成之群組：



並且R_2選自由以下組成之群組：



【0377】在一些實施方式中，在包含可電離脂質的LNP中提供了本文所述之組成物（例如，核酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）或蛋白質）。在一些實施方式中，可電離脂質係十七烷-9-基8-((2-羥乙基)(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)胺基)辛酸酯（SM-102）；例如，如US 9,867,888（藉由援引以其全文併入本文）的實例1中所述。在一些實施方式中，可電離脂質係(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯（LP01），例如，如WO 2015/095340（藉由援引以其全文併入本文）的實例13中合成的。在一些實施方式中，可電離脂質係二((Z)-非-2-烯-1-基)9-((4-二甲胺基)丁醯基)氧基)十七烷二酸酯（L319），例如，如US 2012/0027803（藉由援引以其全文併入本文）的實例7、8和9中合成的。在一些實施方式中，可電離脂質係1,1'-((2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)氮烷二基)雙(十二烷-2-醇)（C12-200），例如，如WO 2010/053572（藉由援引以其全文併入本文）的實例14和實例16中合成的。在一些實施方式中，可電離脂質係咪唑膽固醇酯（ICE）脂質(3S,10R,13R,17R)-10,13-二甲基-17-((R)-6-甲基庚-2-基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氫-1H-環戊[a]菲-3-基3-(1H-咪唑-4-基)丙

酸酯，例如來自WO 2020/106946（藉由援引以其全文併入本文）的結構 (I)。

【0378】 在一些實施方式中，可電離脂質可為陽離子脂質、可電離陽離子脂質，例如可以根據pH以帶正電荷的形式或中性形式存在的陽離子脂質，或可以容易地質子化的含胺脂質。在一些實施方式中，陽離子脂質係例如在生理條件下能夠帶正電的脂質。示例性的陽離子脂質包括一或多個帶有正電荷的胺基。在一些實施方式中，脂質顆粒包含與以下中之一或多種一起配製的陽離子脂質：中性脂質、可電離的含胺脂質、可生物降解的炔烴脂質、類固醇、磷脂（包括多不飽和脂質）、結構脂質（例如甾醇）、PEG、膽固醇和聚合物軛合脂質。在一些實施方式中，陽離子脂質可為可電離的陽離子脂質。如本文所揭露的示例性陽離子脂質可具有超過6.0的有效pKa。在實施方式中，脂質奈米顆粒可包含具有與第一陽離子脂質不同的有效pKa（例如，大於第一有效pKa）的第二陽離子脂質。脂質奈米顆粒可包含40莫耳%至60莫耳%的封裝在脂質奈米顆粒內或與脂質奈米顆粒締合的陽離子脂質、中性脂質、類固醇、聚合物軛合的脂質和治療劑，例如本文所述之核酸（例如RNA（例如環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸））。在一些實施方式中，核酸與陽離子脂質共同配製。核酸可以吸附到LNP（例如包含陽離子脂質的LNP）的表面。在一些實施方式中，核酸可以封裝在LNP（例如包含陽離子脂質的LNP）中。在一些實施方式中，脂質奈米顆粒可包含靶向部分，例如用靶向劑包被的靶向部分。在實施方式中，LNP配製物係生物可降解的。在一些實施方式中，包含一或多種本文所述之脂質（例如式(i)、(ii)、(ii)、(vii) 和/或 (ix)）的脂質奈米顆粒封裝至少1%、至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%或100%的RNA分子。

【0379】 可用於脂質奈米顆粒配製物中的示例性可電離脂質包括但不限於WO 2019051289（藉由援引併入本文）的表1中所列的那些。另外的示例性脂

質包括但不限於下式中之一或多種：US 2016/0311759的X；US 20150376115或US2016/0376224中的I；US20160151284的I、II或III；US 20170210967的I、IA、II或IIA；US 20150140070的I-c；US 2013/0178541的A；US 2013/0303587或US 2013/0123338的I；US 2015/0141678的I；US 2015/0239926的II、III、IV或V；US 2017/0119904 的 I ； WO 2017/117528 的 I 或 II ； US 2012/0149894 的 A ； US 2015/0057373的A ；WO 2013/116126的A ；US 2013/0090372的A ；US 2013/0274523 的 A ； US 2013/0274504 的 A ； US 2013/0053572 的 A ； W02013/016058 的 A ； W02012/162210的A ；US 2008/042973的I ；US2012/01287670的I 、II 、III或IV ；US 2014/0200257的I或II ； US 2015/0203446的I 、II或III ； US 2015/0005363的I或III ； US 2014/0308304的I 、IA 、IB 、IC 、ID 、II 、IIA 、IIB 、IIC 、IID或III-XXIV ；US 2013/0338210 ； W02009/132131的I 、II 、III或IV ； US 2012/01011478的A ； US 2012/0027796的I或XXXV ； US 2012/0058144的XIV或XVII ； US 2013/0323269 ； US 2011/0117125的I ； US 2011/0256175的I 、II或III ； US 2012/0202871的I 、II 、III 、IV 、V 、VI 、VII 、VIII 、IX 、X 、XI 、XII ； US 2011/0076335的I 、II 、III 、IV 、V 、VI 、VII 、VIII 、X 、XII 、XIII 、XIV 、XV或XVI ；US 2006/008378的I或II ；US 2013/0123338的I ；US 2015/0064242的I或X-A-Y-Z ；US 2013/0022649的XVI 、XVII或XVIII ；US 2013/0116307的I 、II或III ；US 2013/0116307的I 、II或III ；US 2010/0062967的I或II ； US 2013/0189351的I-X ； US 2014/0039032的I ； US 2018/0028664的V ；US 2016/0317458的I ；US 2013/0195920的I ；US 10,221,127的5 、6或10 ；WO 2018/081480的III-3 ；WO 2020/081938的I-5或I-8 ；US 9,867,888的18或25 ；US 2019/0136231的A ；WO 2020/219876的II ；US 2012/0027803的1 ；US 2019/0240349的OF-02 ；US 10,086,013的23 ；Miao等人(2020)的cKK-E12/A6 ；WO 2010/053572的C12-200 ；Dahlman等人(2017)的7C1 ；Whitehead等人的304-O13或503-O13 ； US9,708,628的TS-P4C2 ； WO 2020/106946的I ； WO 2020/106946的I ；

以及WO 2021/113777的 (1)、(2)、(3) 或 (4)。示例性脂質還包括WO 2021/113777的表1-16中任一個的脂質。

【0380】 在一些實施方式中，可電離脂質係MC3 (6Z,9Z,28Z,3 lZ)-三十七烷-6,9,28,3l-四烯-l9-基-4-(二甲胺基)丁酸酯（DLin-MC3-DMA或MC3），例如，如WO 2019051289 A9（藉由援引以其全文併入本文）的實例9中所述。在一些實施方式中，可電離脂質係脂質ATX-002，例如，如WO 2019051289 A9（藉由援引以其全文併入本文）的實例10中所述。在一些實施方式中，可電離脂質係(l3Z,l6Z)-A,A-二甲基-3-壬基二十二-l3, l6-二烯-l-胺（化合物32），例如，如WO 2019051289 A9（藉由援引以其全文併入本文）的實例11中所述。在一些實施方式中，可電離脂質係化合物6或化合物22，例如，如WO 2019051289 A9（藉由援引以其全文併入本文）的實例12中所述。

【0381】 示例性非陽離子脂質包括但不限於二硬脂醯-sn-甘油基-磷酸乙醇胺、二硬脂醯磷脂醯膽鹼（DSPC）、二油醯磷脂醯膽鹼（DOPC）、二棕櫚醯磷脂醯膽鹼（DPPC）、二油醯磷脂醯膽鹼（DOPG）、二棕櫚醯磷脂醯甘油（DPPG）、二油醯磷脂醯乙醇胺（DOPE）、棕櫚醯油醯磷脂醯膽鹼（POPC）、棕櫚醯油醯磷脂醯乙醇胺（POPE）、二油醯-磷脂醯乙醇胺4-(N-順丁烯二醯亞胺甲基)-環己烷-1-羧酸酯（DOPE-mal）、二棕櫚醯磷脂醯乙醇胺（DPPE）、二肉豆蔻醯磷酸乙醇胺（DMPE）、二硬脂醯-磷脂醯-乙醇胺（DSPE）、單甲基-磷脂醯乙醇胺（諸如16-O-單甲基PE）、二甲基-磷脂醯乙醇胺（諸如16-O-二甲基PE）、l8-l-反式PE、l-硬脂醯-2-油醯-磷脂醯乙醇胺（SOPE）、氫化大豆磷脂醯膽鹼（HSPC）、卵磷脂醯膽鹼（EPC）、二油醯磷脂醯絲胺酸（DOPS）、神經鞘磷脂（SM）、二肉豆蔻醯磷脂醯膽鹼（DMPC）、二肉豆蔻醯磷脂醯甘油（DMPG）、二硬脂醯磷脂醯甘油（DSPG）、二芥醯基磷脂醯膽鹼（DEPC）、棕櫚醯油醯磷脂醯甘油（POPG）、二反油烯醯-磷脂醯乙醇胺（DEPE）、卵磷脂、磷脂醯乙醇胺、

溶血卵磷脂、溶血磷脂醯乙醇胺、磷脂醯絲胺酸、磷脂酸肌醇、鞘磷脂、卵鞘磷脂（ESM）、腦磷脂、心磷脂、磷脂酸、腦苷脂、雙十六烷基磷酸、溶血磷脂醯膽鹼、二亞油醯基磷脂醯膽鹼或其混合物。應當理解，也可以使用其他二醯基磷脂醯膽鹼和二醯基磷脂醯乙醇胺磷脂。該等脂質中的醯基基團較佳的是為源自具有C10-C24碳鏈的脂肪酸的醯基基團，例如月桂醯基、肉豆蔻醯基、棕櫚醯基、硬脂醯基或油醯基。在某些實施方式中，另外的示例性脂質包括但不限於Kim等人 (2020) dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01386（藉由援引併入本文）中描述的那些。在一些實施方式中，此類脂質包括發現會改善用mRNA進行肝臟轉染的植物脂質（例如DGTS）。

【0382】 適合用於脂質奈米顆粒中的非陽離子脂質的其他實例包括但不限於非磷脂質，例如硬脂胺、十二烷基胺、十六烷基胺、乙醯基棕櫚酸酯、蓖麻酸甘油酯、硬脂酸十六烷基酯、肉豆蔻酸異丙酯、兩性丙烯酸聚合物、三乙醇胺-月桂基硫酸鹽、烷基-芳基硫酸鹽、聚乙氧基化脂肪酸醯胺、雙十八烷基二甲基溴化銨、神經醯胺、鞘磷脂等。其他非陽離子脂質在WO 2017/099823或美國專利公開US 2018/0028664（它們的內容藉由援引以其全文併入本文）中描述。

【0383】 在一些實施方式中，非陽離子脂質係油酸或US 2018/0028664（藉由援引以其全文併入）的式I、II或IV的化合物。非陽離子脂質可以占脂質奈米顆粒中存在的總脂質的例如0-30%（莫耳）。在一些實施方式中，非陽離子脂質含量係脂質奈米顆粒中存在的總脂質的5%-20%（莫耳）或10%-15%（莫耳）。在實施方式中，可電離脂質與中性脂質的莫耳比為約2 : 1至約8 : 1（例如，約2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1或8 : 1）。

【0384】 在一些實施方式中，脂質奈米顆粒不包含任何磷脂。

【0385】 在一些方面，脂質奈米顆粒可進一步包含諸如固醇的組分以提供膜完整性。可用於脂質奈米顆粒中之一種示例性固醇係膽固醇及其衍生物。膽固

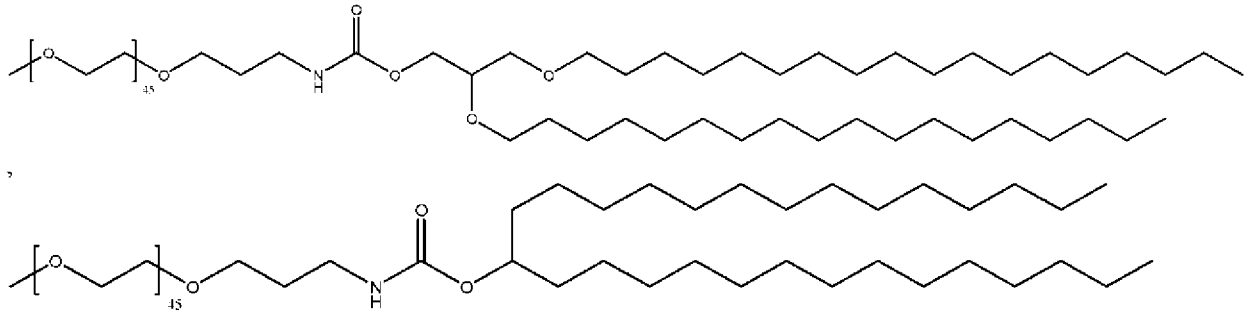
醇衍生物的非限制性實例包括極性類似物，諸如5a-膽甾烷醇、53-糞甾烷醇、膽甾醇基-(2'-羥基)-乙基醚、膽甾醇基-(4'-羥基)-丁基醚和6-酮膽甾烷醇；非極性類似物，諸如5a-膽甾烷、膽甾烯酮、5a-膽甾烷酮、5p-膽甾烷酮和膽甾醇癸酸酯；及其混合物。在一些實施方式中，膽固醇衍生物係極性類似物，例如，膽甾醇基-(4'-羥基)-丁基醚 示例性膽固醇衍生物在PCT公開W02009/127060和美國專利公開US 2010/0130588（它們各自藉由援引以其全文併入本文）中描述。

【0386】 在一些實施方式中，提供膜完整性的組分（諸如固醇）可占脂質奈米顆粒中存在的總脂質的0-50%（莫耳）（例如，0-10%、10%-20%、20%-30%、30%-40%或40%-50%）。在一些實施方式中，這種組分占脂質奈米顆粒的總脂質含量的20%-50%（莫耳）、30%-40%（莫耳）。

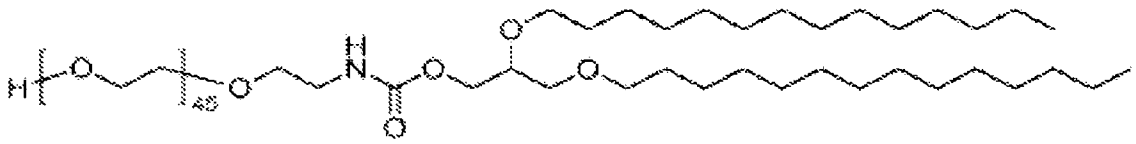
【0387】 在一些實施方式中，脂質奈米顆粒可包含聚乙二醇（PEG）或軛合的脂質分子。通常，該等用於抑制脂質奈米顆粒的聚集和/或提供空間穩定。示例性的軛合脂質包括但不限於PEG-脂質軛合物、聚噁唑啉（POZ）-脂質軛合物、聚醯胺-脂質軛合物（諸如ATTA-脂質軛合物）、陽離子聚合物脂質（CPL）軛合物及其混合物。在一些實施方式中，軛合脂質分子係PEG-脂質軛合物，例如(甲氧基聚乙二醇)軛合脂質。

【0388】 示例性的PEG-脂質軛合物包括但不限於PEG-二醯基甘油（DAG）（諸如l-(單甲氧基-聚乙二醇)-2,3-二肉豆蔻醯甘油（PEG-DMG））、PEG-二烷氧基丙基（DAA）、PEG-磷脂、PEG-神經醯胺（Cer）、聚乙二醇化磷脂醯乙醇胺（PEG-PE）、PEG琥珀酸二醯基甘油（PEGS-DAG）（諸如4-0-(2',3'-二(十四烷醯氧基)丙基-l-0-(w-甲氧基(聚乙氧基)乙基)丁二酸酯（PEG-S-DMG））、PEG二烷氧基丙基胺基甲酸酯、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇2000)-l,2-二硬脂醯-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺鈉鹽或其混合物。另外的示例性PEG-脂質軛合物例如在US 5,885,613、US 6,287,591、US 2003/0077829、US 2003/0077829、US 2005/0175682、

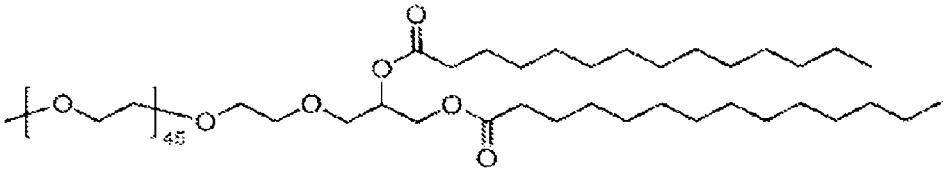
US 2008/0020058、US 2011/0117125、US 2010/0130588、US 2016/0376224、US 2017/0119904和US/099823（所有該等的內容藉由援引以其全文併入本文）中描述。在一些實施方式中，PEG-脂質係US 2018/0028664（其內容藉由援引以其全文併入本文）的式III、III-a-I、III-a-2、III-b-1、III-b-2或V的化合物。在一些實施方式中，PEG-脂質具有US 20150376115或US 2016/0376224（兩者的內容藉由援引以其全文併入本文）的式II。在一些實施方式中，PEG-DAA軛合物可為例如PEG-二月桂基氧基丙基、PEG-二肉豆蔻基氧基丙基、PEG-二棕櫚基氧基丙基或PEG-二硬脂基氧基丙基。PEG-脂質可為以下的一或多種：PEG-DMG、PEG-二月桂基甘油、PEG-二棕櫚醯甘油、PEG-二硬脂基甘油、PEG-二月桂基甘油脂醯胺、PEG-二肉豆蔻基甘油脂醯胺、PEG-二棕櫚醯甘油脂醯胺、PEG-二硬脂基甘油脂醯胺、PEG-膽固醇（l-[8'-(膽甾-5-烯-3[β]-氧基)甲醯胺基-3',6'-二氧雜辛基]胺基甲醯基-[ω]-甲基-聚(乙二醇)、PEG-DMB（3,4-雙十四烷氧基苄基-[ω]-甲基-聚(乙二醇)醚）和1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000]。在一些實施方式中，PEG-脂質包含PEG-DMG、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000]。在一些實施方式中，PEG-脂質包含選自以下的結構：



,



、和



。

【0389】在一些實施方式中，與PEG以外的分子軛合的脂質也可用於代替PEG-脂質。例如，聚噁唑啉（POZ）-脂質軛合物、聚醯胺-脂質軛合物（諸如ATTA-脂質軛合物）和陽離子聚合物脂質（GPL）軛合物可用於代替PEG-脂質或與PEG-脂質一起使用。

【0390】示例性的軛合脂質（即PEG-脂質、（POZ）-脂質軛合物、ATTA-脂質軛合物和陽離子聚合物-脂質）在WO 2019051289 A9的表2中列出的PCT和LIS專利申請（所有該等的內容藉由援引以其全文併入本文）中描述。

【0391】在一些實施方式中，PEG或軛合脂質可以占脂質奈米顆粒中存在的總脂質的0-20%（莫耳）。在一些實施方式中，PEG或軛合脂質的含量為脂質奈米顆粒中存在的總脂質的0.5%-10%或2%-5%（莫耳）。可電離脂質、非陽離子脂質、固醇和PEG/軛合脂質的莫耳比可以根據需要變化。例如，脂質顆粒可包含按組成物的莫耳或總重量計30%-70%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計0-60%的膽固醇，按組成物的莫耳或總重量計0-30%的非陽離子脂質和按組成物的莫耳或總重量計1%-10%的軛合脂質。較佳的是，組成物包含按組成物的莫耳或總重量計30%-40%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計40%-50%的膽固醇，和按組成物的莫耳或總重量計10%-20%的非陽離子脂質。在一些其他實施方式中，該組成物係按組成物的莫耳或總重量計50%-75%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計20%-40%的膽固醇和按組成物的莫耳或總重量計5%至10%的非陽離子脂質以及按組成物的莫耳或總重量計1%-10%的軛合脂質。該組

成物可以含有按組成物的莫耳或總重量計60%-70%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計25%-35%的膽固醇，以及按組成物的莫耳或總重量計5%-10%的非陽離子脂質。該組成物還可含有按組成物的莫耳或總重量計至多90%的可電離脂質和按組成物的莫耳或總重量計2%至15%的非陽離子脂質。配製物也可為脂質奈米顆粒配製物，例如包含按組成物的莫耳或總重量計8%-30%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計5%-30%的非陽離子脂質，以及按組成物的莫耳或總重量計0%-20%的膽固醇；按組成物的莫耳或總重量計4%-25%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計4%-25%的非陽離子脂質，按組成物的莫耳或總重量計2%至25%的膽固醇，按組成物的莫耳或總重量計10%至35%的靶合脂質，以及按組成物的莫耳或總重量計5%的膽固醇；或按組成物的莫耳或總重量計2%-30%的可電離脂質，按組成物的莫耳或總重量計2%-30%的非陽離子脂質，按組成物的莫耳或總重量計1%至15%的膽固醇，按組成物的莫耳或總重量計2%至35%的靶合脂質，以及按組成物的莫耳或總重量計1%-20%的膽固醇；或按組成物的莫耳或總重量計甚至高達90%的可電離脂質和按組成物的莫耳或總重量計2%-10%的非陽離子脂質，或按組成物的莫耳或總重量計甚至100%的陽離子脂質。在一些實施方式中，脂質顆粒配製物包含莫耳比為50 : 10 : 38.5 : 1.5的可電離脂質、磷脂、膽固醇和聚乙二醇化脂質。在一些其他實施方式中，脂質顆粒配製物包含莫耳比為60 : 38.5 : 1.5的可電離脂質、膽固醇和聚乙二醇化脂質。

【0392】 在一些實施方式中，脂質顆粒包含可電離脂質、非陽離子脂質（例如，磷脂）、固醇（例如，膽固醇）和PEG化脂質，其中對於可電離脂質，脂質的莫耳比在20至70莫耳百分比的範圍內，目標為40-60，非陽離子脂質的莫耳百分比在0至30的範圍內，目標為0至15，固醇的莫耳百分比在20至70的範圍內，目標為30至50，並且PEG化脂質的莫耳百分比在1至6的範圍內，目標為2至5。

【0393】 在一些實施方式中，脂質顆粒包含莫耳比為50 : 10 : 38.5 : 1.5的可

電離脂質/非陽離子脂質/固醇/軛合脂質。

【0394】在一個方面，本揭露提供了包含磷脂、卵磷脂、磷脂醯膽鹼和磷脂醯乙醇胺的脂質奈米顆粒配製物。

【0395】在一些實施方式中，還可以包括一或多種另外的化合物。那些化合物可以單獨投與，或者另外的化合物可以包括在本發明的脂質奈米顆粒中。換言之，除核酸或至少第二核酸之外，脂質奈米顆粒可含有不同於第一核酸的其他化合物。非限制性地，其他另外的化合物可以選自由以下組成之群組：小的或大的有機分子或無機分子、單糖、二糖、三糖、寡糖、多糖、肽、蛋白質、其肽類似物和衍生物、肽類比物、核酸、核酸類似物和衍生物、由生物材料製成的提取物，或其任何組合。

【0396】在一些實施方式中，LNP包含生物可降解的可電離脂質。在一些實施方式中，LNP包含(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯，也稱為3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸酯)或另一種可電離脂質。參見，例如，WO 2019/067992、WO/2017/173054、WO 2015/095340和WO 2014/136086以及其中提供的參考文獻的脂質。在一些實施方式中，在LNP脂質的上下文中術語陽離子和可電離係可互換的，例如，其中可電離脂質根據pH係陽離子的。

【0397】在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可以在數十nm和數百nm之間，例如藉由動態光散射（DLS）測量的。在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可以為約40 nm至約150 nm，諸如約40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115 nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm或150 nm。在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可為約50 nm至約100

nm、約50 nm至約90 nm、約50 nm至約80 nm、約50 nm至約70 nm、約50 nm至約60 nm、約60 nm至約100 nm、約60 nm至約90 nm、約60 nm至約80 nm、約60 nm至約70 nm、約70 nm至約100 nm、約70 nm至約90 nm、約70 nm至約80 nm、約80 nm至約100 nm、約80 nm至約90 nm或約90 nm至約100 nm。在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可為約70 nm至約100 nm。在特定實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可為約80 nm。在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑可為約100 nm。在一些實施方式中，LNP配製物的平均LNP直徑範圍為約l mm至約500 mm、約5 mm至約200 mm、約10 mm至約100 mm、約20 mm至約80 mm、約25 mm至約60 mm、約30 mm至約55 mm、約35 mm至約50 mm，或約38 mm至約42 mm。

【0398】 在一些情況下，LNP可為相對均質的。多分散性指數可用於指示LNP的均質性，例如脂質奈米顆粒的粒度分佈。小的（例如，小於0.3）多分散性指數通常指示窄的粒度分佈。LNP的多分散性指數可為約0至約0.25，諸如0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24或0.25。在一些實施方式中，LNP的多分散性指數可為約0.10至約0.20。

【0399】 LNP的ζ電位可用於指示組成物的電動位。在一些實施方式中，ζ電位可以描述LNP的表面電荷。具有相對低電荷（正電荷或負電荷）的脂質奈米顆粒通常是期望的，因為更高電荷的物質可能不理想地與體內的細胞、組織和其他元素相互作用。在一些實施方式中，LNP的ζ電位可為約-10 mV至約+20 mV、約-10 mV至約+15 mV、約-10 mV至約+10 mV、約-10 mV至約+5 mV、約-10 mV至約0 mV、約-10 mV至約-5 mV、約-5 mV至約+20 mV、約-5 mV至約+15 mV、約-5 mV至約+10 mV、約-5 mV至約+5 mV、約-5 mV至約0 mV、約0 mV至約+20 mV、約0 mV至約+15 mV、約0 mV至約+10 mV、約0 mV至約+5 mV、約+5 mV

至約+20 mV、約+5 mV至約+15 mV或約+5 mV至約+10 mV。

【0400】 蛋白質和/或核酸的封裝效率描述了相對於所提供的初始量，在製備後被封裝或以其他方式與LNP締合的蛋白質和/或核酸的量。封裝效率理想的是較高（例如，接近100%）。封裝效率可以例如藉由比較在用一或多種有機溶劑或洗滌劑破碎脂質奈米顆粒之前和之後含有脂質奈米顆粒的溶液中蛋白質或核酸的量來測量。陰離子交換樹脂可用於測量溶液中游離蛋白質或核酸（例如RNA）的量。螢光可用於測量溶液中游離蛋白質和/或核酸（例如RNA）的量。對於本文所述之脂質奈米顆粒，蛋白質和/或核酸的封裝效率可為至少50%，例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些實施方式中，封裝效率可為至少80%。在一些實施方式中，封裝效率可為至少90%。在一些實施方式中，封裝效率可為至少95%。

【0401】 LNP可以視需要地包含一層或多層包衣。在一些實施方式中，LNP可以配製在具有包衣的膠囊、膜或片劑中。包含本文所述之組成物的膠囊、膜或片劑可具有任何可用的尺寸、拉伸強度、硬度或密度。

【0402】 WO 2020/061457和WO 2021/113777（它們各自藉由援引以其全文併入本文）教導了LNP的另外的示例性脂質、配製物、方法和表徵。Hou等人, Lipid nanoparticles for mRNA delivery [用於mRNA遞送的脂質奈米顆粒]. Nat Rev Mater [自然評論材料] (2021). doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0（藉由援引以其全文併入本文）教導了LNP的另外的示例性脂質、配製物、方法和表徵（參見，例如，Hou等人的圖2的示例性脂質和脂質衍生物）。

【0403】 在一些實施方式中，使用Lipofectamine MessengerMax（賽默飛世爾公司（Thermo Fisher））或TransIT-mRNA轉染試劑（米盧斯生物公司（Mirus Bio））進行體外或離體細胞脂質轉染。在某些實施方式中，使用GenVoy_ILM可

電離脂質混合物（精密奈米系統（Precision NanoSystems））配製LNP。在某些實施方式中，使用2,2-二亞油烯基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧戊環（DLin-KC2-DMA）或二亞油烯基甲基-4-二甲基胺基丁酸酯（DLin-MC3-DMA或MC3）配製LNP，其配製和體內用途在Jayaraman等人, Angew Chem Int Ed Engl [德國應用化學] 51(34):8529-8533 (2012)（藉由援引以其全文併入本文）中教導。

【0404】 優化用於遞送CRISPR-Cas系統（例如Cas9-gRNA RNP、gRNA、Cas9 mRNA）的LNP配製物在兩者均藉由援引併入的WO 2019067992和WO 2019067910中有描述，並且可用於遞送本文所述之環狀多核糖核苷酸和線性多核糖核苷酸。

【0405】 可用於遞送核酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）的另外的特定LNP配製物在兩者均藉由援引併入的US 8158601和US 8168775中有描述，其包括帕替西蘭（patisiran）中使用的以名稱ONPATTRO銷售的配製物。

【0406】 多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）LNP的示例性給藥可包括約0.1、0.25、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10或100 mg/kg（RNA）。包含多核糖核苷酸（例如，環狀多核糖核苷酸、線性多核糖核苷酸）的AAV的示例性給藥可包括約10^{11}、10^{12}、10^{13}和10^{14} vg/kg的MOI。

實例

【0407】 提出以下實例係為了向熟悉該項技術者提供可以如何使用、製備和評價本文所述之組成物和方法的描述，並且旨在純粹作為本揭露之示例，而不旨在限制諸位發明人認為是其發明的範圍。

實例1：具有延伸退火區域的魚腥藻自剪接置換內含子-外顯子（PIE）構建體的設計

【0408】 本實例描述了具有延伸退火區域的魚腥藻自剪接置換內含子-外

顯子（PIE）序列的設計，以提供更好的環化效率。

【0409】 圖1A和圖1B提供了描繪DNA構建體的示例性設計的示意圖。在本實例中，構建體從5'到3'包括：第I組催化內含子片段的3'這一半（魚腥藻3'這一半內含子）、3'剪接位點、3'外顯子片段（魚腥藻E2）、間隔子元件、多核苷酸負載物、5'外顯子片段（魚腥藻E1）、5'剪接位點和第I組催化內含子片段的5'這一半（魚腥藻5'這一半內含子）。E2具有與E1（5'-ACGGA-3'）（SEQ ID NO: 2）互補的5個核苷酸的序列（5'-TCCGT-3'）（SEQ ID NO: 1）（圖1A和圖1B，E2和E1上的黑線）。為了生成在E2與E1之間具有延伸退火區域的構建體，將來自E2的5個核苷酸突變為具有延伸的7個核苷酸的退火區域與E1（**TGACCTT**（SEQ ID NO: 3）→ **AGCGTCT**（SEQ ID NO: 4），粗體字母表示突變的序列）（圖1B，E2和E1上的灰線，E2中的星號表示序列上的突變）。具有延伸退火區域的魚腥藻置換內含子-外顯子（PIE）的總退火區域為12個核苷酸（E2；5'-TCCGTAGCGTCT-3'（SEQ ID NO: 5），E1；5'-AGACGCTACGGA-3'（SEQ ID NO: 6））（圖1B）。

【0410】 藉由RNA結構預測工具RNA折疊（rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi）估計RNA結構。藉由修改序列生成的E2-E1相互作用的延伸部產生適當的E2-E1相互作用和縮合的自剪接內含子結構（圖2A和圖2B）。

【0411】 設計具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻1）和具有延伸退火區域的退火序列（魚腥藻2）的構建體以比較環化效率。Wesselhoeft等人, 2018（Nat. Commun. [自然通訊] 9:2629）中描述的魚腥藻PIE構建體（魚腥藻3）也用於比較。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV內部核糖體進入位址（IRES）和ORF的組合作為多核苷酸負載物。測試了兩種不同的ORF：Gaussia螢光素酶（Gluc）ORF（558個核苷酸）和SARS-

CoV-2棘蛋白ORF（3822 nt）。Gluc ORF的環狀RNA大小為1.2 Kb，SARS-CoV-2棘蛋白ORF的環狀RNA大小為4.5 Kb。

【0412】在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄從DNA模板合成未修飾的線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（kit）（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測自剪接效率，將200 ng柱純化的體外轉錄RNA與凝膠加樣緩衝液II（賽默飛世爾公司，AM8546G）混合，並在95°C下加熱3分鐘，然後在冰上孵育3分鐘。然後藉由6%尿素聚丙烯醯胺凝膠電泳（Urea PAGE）分離樣本，並且使用凝膠染色法對RNA條帶進行染色並使用成像系統進行視覺化。將退火序列從5個核苷酸延伸到12個核苷酸使環化效率提高到兩倍，並且在1.2 Kb環狀RNA的情況下顯示出與魚腥藻3類似的環化效率（圖3A）。在4.5 Kb環狀RNA的情況下，具有延伸退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻2）顯示出與魚腥藻3相比提高40%的環化效率，並且比具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻1）高三倍的環化效率（圖3B）。

【0413】被設計成具有延伸E2-E1退火序列的魚腥藻PIE（魚腥藻2）顯示出比具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻1）好2-3倍的環化效率，而與環狀RNA的大小無關。這表明對於更容易環化的1.2 Kb構建體的環化效率相似，而難以環化的4.5 Kb構建體的環化效率提高了40%。

實例2：由具有延伸退火區域的魚腥藻自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現

【0414】本實例說明了由具有延伸退火區域的魚腥藻自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現。

【0415】在本實例中，如實例1中所述設計具有帶5個核苷酸的退火區域（魚腥藻1）和延伸退火序列（魚腥藻2）的魚腥藻PIE的構建體，以比較蛋白質表現。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及

EMCV IRES和ORF的組合作為多核苷酸負載物。測試了兩種不同的ORF：Gluc（558 nt）和SARS-CoV-2棘蛋白（3822 nt）。還測試了如實例1中所述之魚腥藻3以進行比較。

【0416】在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。將編碼Gluc的環狀RNA藉由Urea PAGE純化，在緩衝液（0.5 M乙酸鈉、0.1% SDS、1 mM EDTA）中洗脫，乙醇沈澱並重懸於無RNA酶的水中。藉由逆相層析法純化編碼SARS-CoV-2的棘蛋白的環狀RNA，並將級分與檸檬酸鈉進行緩衝液交換，然後使用Amicon超離心過濾器（西格瑪奧德里奇公司（Sigma Aldrich））藉由超濾與水交換。

【0417】為了比較編碼Gluc的環狀RNA的表現，製備了由魚腥藻1和魚腥藻2生成的環狀RNA。為了比較，還製備了由魚腥藻3產生的環狀RNA。使用LIPOFECTAMINE® MessengerMAX轉染劑（英傑公司（Invitrogen）），根據製造商的方案用0.1 pmole的純化的環狀RNA轉染HeLa細胞（96孔板中每孔10,000個細胞）。收穫細胞培養基，並在24小時、48小時和72小時的時間點用新鮮培養基替換以測量Gluc活性。為了測量Gluc活性，將10 µl收穫的細胞培養基轉移到白色96孔板中，並根據製造商的說明使用生物發光報告測定系統（皮爾斯分泌型膜錨定螢光素酶快速檢測套組（Pierce Gaussia Luciferase Flash Assay Kit），16158，賽默科技公司（Thermo Scientific））。在光度計儀器（普洛麥格公司（Promega））中讀取板。

【0418】為了比較編碼SARS-CoV-2棘蛋白的環狀RNA的表現，製備了由具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻1）和具有延伸退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻2）生成的環狀RNA。為了比較，還製備了由魚腥藻3產生的環狀

RNA。使用LIPOFECTAMINE® MessengerMAX（英傑公司）轉染劑，根據製造商的說明用4 pmol的純化的環狀RNA轉染HeLa細胞（6孔板中每孔120萬個細胞）。轉染48小時後，藉由胰蛋白酶消化收穫細胞，並將其重懸於冷的無血清培養基中。然後將細胞用抗SARS-CoV-2 RBD抗體染色一小時，隨後與抗小鼠IgG1抗體AF647一起孵育30分鐘。藉由流動式細胞分析術測量染色的群體。

【0419】 當編碼Gluc作為多核苷酸負載物時，由具有延伸退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻2）生成的環狀RNA顯示出與由具有5個核苷酸的退火區域的魚腥藻PIE（魚腥藻1）生成的環狀RNA和魚腥藻3產生的環狀RNA類似的表現（圖4）。在編碼SARS-CoV-2棘蛋白的環狀RNA的情況下，由魚腥藻2生成的環狀RNA顯示出比魚腥藻3產生的環狀RNA高約三倍的表現和比魚腥藻1生成的環狀RNA高50%的表現（圖5）。

實例3：退火區域的長度在魚腥藻自剪接PIE中對環化效率的影響

【0420】 本實例說明了退火區域的長度在魚腥藻自剪接PIE中對環化效率的影響。

【0421】 在上述實例1中，我們表明藉由突變E2序列將退火區域從5個核苷酸延伸到12個核苷酸可以提高魚腥藻PIE的環化效率。為了檢查退火區域的長度對環化效率的影響，藉由在E1的5'端包括與E2互補的額外序列，設計了三個額外的構建體以在E2與E1之間具有進一步的延伸退火區域：(1) 5個核苷酸延伸部（5'-CGTTT-3'）（SEQ ID NO: 7），(2) 10個核苷酸延伸部（5'-ACGACCGTTT-3'）（SEQ ID NO: 8），以及 (3) 15個核苷酸延伸部（5'-CCCACACGACCGTTT-3'）（SEQ ID NO: 9）。E2中的互補序列分別係5個核苷酸延伸部（5'-AAACG-3'）（SEQ ID NO: 10）、10個核苷酸延伸部（5'-AAACGGTCGT-3'）（SEQ ID NO: 11）或15個核苷酸延伸部（5'-AAACGGTCGTGTGGG-3'）（SEQ ID NO: 12）。總退火序列分別為17個核苷酸、22個核苷酸或27個核苷酸。圖6提供了描繪在E2

與E1之間具有延伸退火區域的DNA構建體的示例性設計的示意圖。設計具有延伸退火序列（魚腥藻2）和延伸退火區域（5個核苷酸延伸部、10個核苷酸延伸部和15個核苷酸延伸部）的構建體以比較環化效率。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV IRES和Gluc的組合作為多核苷酸負載物。在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。

【0422】 在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測自剪接效率，將200 ng柱純化的體外轉錄RNA與凝膠加樣緩衝液II（賽默飛世爾公司，AM8546G）混合，並在95°C下加熱3分鐘，然後在冰上孵育3分鐘。然後藉由6% Urea PAGE分離樣本，並且使用凝膠染色法對RNA條帶進行染色並使用成像系統進行視覺化。

【0423】 E2與E1之間的退火區域的進一步延伸（5 nt延伸部、10 nt延伸部或15 nt延伸部）顯示出與具有延伸退火區域（魚腥藻2）的魚腥藻PIE相當的環化效率（圖7）。與魚腥藻2相比，退火區域的15個核苷酸延伸部顯示出提高30%的環化效率（圖7）。該數據表明E2-E1相互作用對於有效的環化係重要的，並且進一步延伸退火區域可以提高環化效率。

實例4：由具有延伸退火序列的魚腥藻自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現

【0424】 本實例說明了由具有延伸退火序列的魚腥藻自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現。

【0425】 在本實例中，如實例3中所述設計具有延伸退火序列（魚腥藻2）和延伸退火區域（5個核苷酸延伸部、10個核苷酸延伸部和15個核苷酸延伸部）的構建體以比較蛋白質表現。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV IRES和Gluc的組合作為多核苷酸負載物。

【0426】 在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。將編碼Gluc的環狀RNA藉由Urea PAGE純化，在緩衝液（0.5 M乙酸鈉、0.1% SDS、1 mM EDTA）中洗脫，乙醇沈澱並重懸於無RNA酶的水中。

【0427】 為了比較編碼Gluc的環狀RNA的表現，如實例3中所述製備由具有進一步的延伸退火區域（5個核苷酸延伸部、10個核苷酸延伸部或15個核苷酸延伸部）的魚腥藻2和魚腥藻PIE生成的環狀RNA。使用LIPOFECTAMINE® MessengerMAX（英傑公司）轉染劑，根據製造商的說明用0.1 pmole的純化的環狀RNA轉染HeLa細胞（96孔板中每孔10,000個細胞）。分別製備每個時間點的轉染子。在6小時、24小時和48小時，收穫培養基。為了測量Gluc活性，將10 µl收穫的細胞培養基轉移到白色96孔板中，並根據製造商的說明使用生物發光報告測定系統（皮爾斯分泌型膜錨定螢光素酶快速檢測套組（Pierce Gaussia Luciferase Flash Assay Kit），16158，賽默科技公司）。在光度計儀器（普洛麥格公司（Promega））中讀取板。

【0428】 由具有進一步的延伸退火區域（5 nt延伸部、10 nt延伸部或15 nt延伸部）的魚腥藻PIE生成的環狀RNA顯示出與由魚腥藻2生成的環狀RNA相似或比其更好的表現（圖8）。例如，由具有15個核苷酸的延伸部（總共27個核苷酸）的魚腥藻PIE生成的環狀RNA顯示出比具有12個核苷酸的延伸退火區域（魚腥藻2）的魚腥藻PIE高三倍的表現。該數據表明退火區域延伸不僅對於環化效率而且對於表現係重要的。

實例5：具有延伸退火區域的眼原蟲屬自剪接置換內含子-外顯子（PIE）的設計

【0429】 本實例描述了具有延伸退火區域的眼原蟲屬自剪接置換內含子-外顯子（PIE）的設計。

【0430】 圖9A和圖9B提供了描繪DNA構建體的示例性設計的示意圖。在本實例中，構建體從5'到3'包括：第I組催化內含子片段的3'這一半（眼原蟲屬3'這一半內含子）、3'剪接位點、3'外顯子片段（眼原蟲屬E2）、間隔子元件、多核苷酸負載物、5'外顯子片段（眼原蟲屬E1）、5'剪接位點和第I組催化內含子片段的5'這一半（眼原蟲屬5'這一半內含子）。E2具有與形成螺旋P10的5'這一半內含子（5'-TACCTT-3'）（SEQ ID NO: 14）互補的6個核苷酸的序列（5'-AAGGTA-3'）（SEQ ID NO: 13）（圖9，E1和5'這一半內含子上的黑線）。為了生成在E2與5'這一半內含子之間具有延伸退火區域的構建體，將6個核苷酸添加到E2中的退火區域的3'端（5'-AATATT-3'（SEQ ID NO: 15），圖9A和圖9B中E2上的灰框）。具有延伸退火區域的眼原蟲屬自剪接PIE的總退火區域為12個核苷酸（E2；5'-AAGGTA**AATATT**-3'（SEQ ID NO: 16），5'內含子；5'-**AATATT**TACCTT-3'（SEQ ID NO: 17），粗體字母表示延伸退火區域）（圖9B）。

【0431】 藉由RNA結構預測工具RNA折疊（rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi）估計RNA結構。藉由額外序列產生的E2-5'這一半內含子相互作用的延伸部產生正確的螺旋P10形成和縮合的自剪接內含子結構（圖10A和圖10B）。

【0432】 設計具有6個核苷酸的退火區域的眼原蟲屬置換內含子-外顯子（眼原蟲屬1）和延伸退火序列（眼原蟲屬2）的構建體以比較環化效率。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV IRES和hEPO ORF的組合作為多核苷酸負載物。環狀RNA的大小為1.2 Kb。

【0433】 在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測環化效率，將200 ng柱純化的體

外轉錄RNA與凝膠加樣緩衝液II（賽默飛世爾公司，AM8546G）混合，並在95°C下加熱3分鐘，然後在冰上孵育3分鐘。然後藉由6% Urea PAGE分離樣本，並且使用凝膠染色法對RNA條帶進行染色並使用成像系統進行視覺化。將退火序列從6個核苷酸延伸到12個核苷酸（眼原蟲屬屬2）顯示出與具有6個核苷酸的退火區域（眼原蟲屬1）的眼原蟲屬自剪接PIE類似的環化效率（圖11）。該數據表明環化沒有被眼原蟲屬自剪接PIE中退火序列的延伸所破壞。

實例6：由具有延伸退火區域的眼原蟲屬PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現

【0434】 本實例描述了由具有延伸退火區域的眼原蟲屬自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現。

【0435】 為了比較蛋白質表現，如實例5中所述設計具有6個核苷酸的退火區域（眼原蟲屬1）和延伸退火序列（眼原蟲屬2）的眼原蟲屬自剪接PIE的DNA構建體。構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV IRES和Gluc ORF的組合作為多核苷酸負載物。

【0436】 在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司，T2050）純化合成的線性RNA。將編碼Gluc的環狀RNA藉由Urea PAGE純化，在緩衝液（0.5 M乙酸鈉、0.1% SDS、1 mM EDTA）中洗脫，乙醇沈澱並重懸於無RNA酶的水中。

【0437】 為了比較編碼Gluc的環狀RNA的表現，如上所述製備由具有6個核苷酸的退火區域的眼原蟲屬PIE（眼原蟲屬1）和具有延伸退火區域的眼原蟲屬PIE（眼原蟲屬2）生成的環狀RNA。使用LIPOFECTAMINE® MessengerMAX（英傑公司）轉染劑，根據製造商的說明用0.1 pmole的純化的環狀RNA轉染HeLa細胞（96孔板中每孔10,000個細胞）。分別製備每個時間點的轉染子。在6小時、24小時和48小時，收穫培養基。為了測量Gluc活性，將收穫的細胞培養基轉移到白

色96孔板中，並根據製造商的說明使用生物發光報告測定系統。在光度計儀器中讀取板。

實例7：具有延伸退火區域的T4噬菌體自剪接置換內含子-外顯子（PIE）的設計

【0438】 本實例描述了具有延伸退火區域的T4噬菌體自剪接PIE的設計。

【0439】 圖12A和圖12B提供了描繪DNA構建體的示例性設計的示意圖。構建體從5'到3'包括：第I組催化內含子片段的3'這一半（T4噬菌體3'這一半內含子）、3'剪接位點、3'外顯子片段（T4噬菌體E2）、間隔子元件、多核苷酸負載物、5'外顯子片段（T4噬菌體E1）、5'剪接位點和第I組催化內含子片段的5'這一半（T4噬菌體5'這一半內含子）。E2具有與形成螺旋P10的5'這一半內含子（5'-AG-3'）互補的2個核苷酸的序列（5'-CT-3'）（圖12A和圖12B，E2和5'這一半內含子上的黑線）。為了生成在E2與5'這一半內含子之間具有延伸退火區域的構建體，將來自E2的4個核苷酸突變為具有延伸的5個核苷酸退火區域與5'這一半內含子（5'-**ACCG**T-3'（SEQ ID NO: 18）→ 5'-**CAAT**T-3'（SEQ ID NO: 19），粗體字母表示突變的序列）。具有延伸退火區域的T4噬菌體PIE的總退火區域為7個核苷酸（E2；5'-CT**CAATT**-3'（SEQ ID NO: 20），5'這一半內含子；5'-**AATTG**AG-3'（SEQ ID NO: 21），粗體字母表示延伸退火序列）（圖12A和圖12B）。為了比較環化效率，設計了具有2個核苷酸的退火區域（T4噬菌體1）和延伸退火序列（T4噬菌體2）的T4噬菌體PIE的構建體。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，EMCV IRES和Gluc ORF的組合作為多核苷酸負載物。環狀RNA的大小為1.2 K。在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。

【0440】 在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測環化效率，將200 ng柱純化的體外轉錄RNA與凝膠加樣緩衝液II（賽默飛世爾公司，

AM8546G）混合，並在95°C下加熱3分鐘，然後在冰上孵育3分鐘。然後藉由6% Urea PAGE分離樣本，並且使用凝膠染色法對RNA條帶進行染色並使用成像系統進行視覺化。

【0441】 延伸退火序列（T4噬菌體2）顯示出與具有6個核苷酸的退火區域（T4噬菌體1）的T4噬菌體自剪接PIE類似的環化效率（圖13）。該數據表明環化沒有被T4噬菌體自剪接PIE中退火序列的延伸所破壞。

實例8：由具有延伸退火區域的T4噬菌體自剪接PIE生成的環狀RNA的蛋白質表現

【0442】 本實例描述了由具有延伸退火區域的T4噬菌體自剪接PIE生成的環狀RNA的表現。

【0443】 為了比較蛋白質表現，如實例7中所述設計具有2個核苷酸的退火區域（T4噬菌體1）和延伸退火序列（T4噬菌體2）的T4噬菌體PIE的DNA構建體。在本實例中，該等構建體被設計成包括polyA50作為間隔子元件，以及EMCV IRES和Gluc ORF的組合作為多核苷酸負載物。

【0444】 在7.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄合成線性RNA。藉由用DNA酶處理除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司，T2050）純化合成的線性RNA。將編碼Gluc的環狀RNA藉由Urea PAGE純化，在緩衝液（0.5 M乙酸鈉、0.1% SDS、1 mM EDTA）中洗脫，乙醇沈澱並重懸於無RNA酶的水中。

【0445】 為了比較編碼Gluc的環狀RNA的表現，如上所述製備由具有2個核苷酸的退火區域的T4噬菌體PIE（T4噬菌體1）和具有延伸退火區域的T4噬菌體PIE（T4噬菌體2）生成的環狀RNA。使用LIPOFECTAMINE® MessengerMAX（英傑公司）轉染劑，根據製造商的說明用0.1 pmole的純化的環狀RNA轉染HeLa細胞（96孔板中每孔10,000個細胞）。分別製備每個時間點的轉染子。在6小時、

24小時和48小時，收穫培養基。為了測量Gluc活性，將收穫的細胞培養基轉移到白色96孔板中，並根據製造商的說明使用生物發光報告測定系統。在光度計儀器中讀取板。

實例9：具有延伸退火區域的自剪接置換內含子-外顯子（PIE）構建體的設計

【0446】 本實例描述了具有延伸退火區域的各種自剪接置換內含子-外顯子（PIE）序列的設計，以提供更好的環化效率。

【0447】 圖14A和圖14B提供了描繪DNA構建體的示例性設計的示意圖。在本實例中，構建體從5'到3'包括：第I組催化內含子片段的3'這一半（3'這一半內含子）、3'剪接位點、3'外顯子片段（E2）、間隔子元件、多核苷酸負載物、5'外顯子片段（E1）、5'剪接位點和第I組催化內含子片段的5'這一半（5'這一半內含子）。

【0448】 不同的第I組內含子具有不同長度的互補序列（圖19）。例如，細長聚球藻PCC 6301的E2具有與細長聚球藻PCC 6301的E1互補的7個核苷酸的序列；滿江紅魚腥藻、柱孢魚腥藻和霍夫曼偽枝藻（Scytonema hofmanni）的E2分別具有與滿江紅魚腥藻、柱孢魚腥藻和霍夫曼偽枝藻的E1互補的5個核苷酸的序列。為了生成在E2與E1之間具有延伸退火區域的構建體，將E2中的序列突變為具有如圖19所述之延伸退火區域與E1。具有延伸退火區域的第I組置換內含子-外顯子（PIE）的總退火區域為17個核苷酸。

【0449】 圖19的原始 (1) 和延伸 (2) 退火區域如下：

聚球藻1 TCCGCTGACTGTAAAGG（SEQ ID NO: 92）

聚球藻2 TCCGCTGCGTCTACCGT（SEQ ID NO: 93）

滿江紅魚腥藻1 TCCGTTGACTGTAAAAA（SEQ ID NO: 94）

滿江紅魚腥藻2 TCCGTAGCGTCTACCAT（SEQ ID NO: 95）

柱孢魚腥藻1 TCCGTTGACCTTAAACG（SEQ ID NO: 96）

柱孢魚腥藻2 TCCGTAGCGTCTACCAT（SEQ ID NO: 97）

偽枝藻1 CCCGAAGGTCAGTGGTT（SEQ ID NO: 98）

偽枝藻2 CCCGACGAGCTACCAGG（SEQ ID NO: 99）

【0450】藉由RNA結構預測工具RNA折疊（rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi）估計RNA結構。藉由修改序列生成的E2-E1相互作用的延伸部產生適當的E2-E1相互作用和縮合的自剪接內含子結構（圖15A至圖15B、圖16A至圖16B、圖17A至圖17B和圖18A至圖18B）。

【0451】設計具有原始退火區域的PIE和具有延伸退火區域的退火序列的構建體以比較環化效率。為了比較，還使用了魚腥藻1和魚腥藻2構建體。在本實例中，該等構建體被設計成包括間隔子元件，以及EMCV IRES和3822個核苷酸的ORF的組合作為多核苷酸負載物。環狀RNA的大小為4.5 Kb。

【0452】在12.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄從DNA模板合成未修飾的線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測自剪接效率，在陰離子交換（AEX）柱上藉由HPLC分離柱純化的體外轉錄RNA。測量線性和環狀峰的百分比，並將環化效率用具有原始退火區域的PIE的構建體的環化效率歸一化。

【0453】延伸退火順序使魚腥藻（魚腥藻2）、細長聚球藻PCC 6301（聚球藻2）和柱孢魚腥藻（柱孢魚腥藻2）的環化效率提高到五倍，並且使滿江紅魚腥藻（滿江紅魚腥藻2）的環化效率提高到十倍，但未觀察到霍夫曼偽枝藻（偽枝藻2）的環化效率增加（圖20）。這表明可以藉由使用與本文針對魚腥藻內含子所述相同或相似的策略修飾其他第I組內含子來提高環化效率。

實例10：具有延伸莖區域以增強端對端相互作用的魚腥藻自剪接置換內含子-外

顯子（PIE）構建體的設計

【0454】本實例描述了具有延伸莖區域的魚腥藻自剪接置換內含子-外顯子（PIE）序列的設計，以藉由增強端對端相互作用提供更好的環化效率。

【0455】圖21A和圖21B提供了描繪DNA構建體的示例性設計的示意圖。在本實例中，構建體從5'到3'包括：第I組催化內含子片段的3'這一半（魚腥藻3'這一半內含子）、3'剪接位點、3'外顯子片段（魚腥藻E2）、間隔子元件、多核苷酸負載物、5'外顯子片段（魚腥藻E1）、5'剪接位點和第I組催化內含子片段的5'這一半（魚腥藻5'這一半內含子）。設計了兩種具有延伸莖區域的構建體版本。對於魚腥藻4的設計，將額外的莖區域（5'-GUAAGUU-3'）彼此緊鄰放置。對於魚腥藻5的設計，填充P6b中的凸起區域以製造莖。

【0456】在12.5 mM NTP存在下使用T7 RNA聚合酶藉由體外轉錄從DNA模板合成未修飾的線性RNA。藉由用DNA酶處理20分鐘除去模板DNA。用RNA清除套組（新英格蘭生物實驗室公司（New England Biolabs），T2050）純化合成的線性RNA。在轉錄期間發生自剪接；不需要另外的反應。為了監測自剪接效率，在陰離子交換（AEX）柱上藉由HPLC分離柱純化的體外轉錄RNA。測量線性和環狀峰的百分比，並將環化效率用相應的原始構建體的環化效率歸一化。

【0457】具有延伸莖區域的構建體顯示出與具有含延伸退火區域（魚腥藻2）的魚腥藻PIE的構建體和具有含5個核苷酸的退火區域（魚腥藻1）的魚腥藻PIE的構建體相當的環化效率（圖22）。

細長聚球藻PCC 6301：3'這一半內含子E2

TAAACAACTAACAGCTTTAGAAGGTGCAGAGACTAGACGGGAGCTACCCTAACGGATTCAGCCG

AGGGTAAAGGGATAGTCCAATTCTCAACATCGCGATTGTTGATGGCAGCGAAAGTTGCAGAGAG

AATGAAAATCCGCTGACTGTAAAGGTCGTGAGGGTTCGAGTCCCTCCGCCCCCA（SEQ ID NO:

80）

細長聚球藻PCC 6301：E1 5'這一半內含子

ACGGTAGACGCAGCGGACTTAGAAAACTGGGCCTCGATCGCGAAAGGGATCGAGTGGCAGCTC

TCAAACTCAGGGAAACCTAAAACTTTAAACATTMAAGTCATGGCAATCCTGAGCCAAGCTAAAGC

（SEQ ID NO: 81）

滿江紅魚腥藻：3'這一半內含子E2

TTAAACTCAAAATTTAAAATCCCAAATTCAAAATTCCGGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCT

ACCCTAACGTAAAGCCGAGGGTAAAGGGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCTGAAGTTGCTGAAGCA

ACAAGGCAGTAGTGAAAGCTGCGAGAGAATGAAAATCCGTTGACTGTAAAAAGTCGTGGGGGTT

CAAGTCCCCCCACCCCC（SEQ ID NO: 82）

滿江紅魚腥藻：E1 5'這一半內含子

ATGGTAGACGCTACGGACTTAGAAAACTGAGCCTTGATAGAGAAATCTTTTAAGTGGAAGCTCTC

AAATTCAGGGAAACCTAAATCTGAATACAGATATGGCAATCCTGAGCCAAGCCCAGAAAATTTAG

ACTTGAGATTTGATTTTGGAG（SEQ ID NO: 83）

柱孢魚腥藻：3'這一半內含子E2

GGCTTTCAATTTGAAATCAGAAATTCAAAATTCAGGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACC

CTAACGTAAAGGCGAGGGTAAAGGGAGAGTCCAATTCTTAAAGCCTGAAGTTGTGCAAGCAACA

AGGCAACAGTGAAAGCTGTGGAAGAATGAAAATCCGTTGACCTTAAACGGTCGTGGGGGTTCAA

GTCCCCCCACCCCC（SEQ ID NO: 84）

柱孢魚腥藻：E1 5'這一半內含子

ATGGTAGACGCTACGGACTTAGAAAACTGAGCCTTGATAGAGAAATCTTTCAAGTGGAAGCTCTC

AAATTCAGGGAAACCTAAATCTGAATACAGATATGGCAATCCTGAGCCAAGCCCGGAAATTTTAG

AATCAAGATTTTATTTT（SEQ ID NO: 85）

霍夫曼偽枝藻：3'這一半內含子E2

AGAAATGGAGAAGGTGTAGAGACTGGAAGGCAGGCACCCTAACGTTAAAGGCGAGGGTGAAGG

GACAGTCCAGACCACAAACCAGTAAATCTGGGCAGCGAAAGCTGTAGATGGTAAGCATAACCCG

AAGGTCAGTGGTTCAAATCCACTTCCCGCCACCAAATTAAAAAAACAATAA（SEQ ID NO: 86）

霍夫曼偽枝藻：E1 5'這一半內含子

AGAAATGGAGAAGGTGTAGAGACTGGAAGGCAGGCACCCTAACGTTAAAGGCGAGGGTGAAGG

GACAGTCCAGACCACAAACCAGTAAATCTGGGCAGCGAAAGCTGTAGATGGTAAGCATAACCCG

AAGGTCAGTGGTTCAAATCCACTTCCCGCCACCAAATTAAAAAAACAATAA（SEQ ID NO: 87）

魚腥藻4：3'這一半內含子E2

AACAACAGATAACTTACTAACTTACAGCTAGTCGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCC

TAACGTCAAGACGAGGGTAAAGAGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCAATAGGCAGTAGCGAAAGCT

GCGGGAGAATGAAAATCCGTAGCGTCTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA

（SEQ ID NO: 88）

魚腥藻4：E1 5'這一半內含子

AGACGCTACGGACTTAAATAATTGAGCCTTAGAGAAGAAATTCTTTAAGTGGATGCTCTCAAACTC

AGGGAAACCTAAATCTAGCTATAGACAAGGCAATCCTGAGCCAAGCCGAAGTAGTAATTAGTAAG

TTAGTAAGTT（SEQ ID NO: 89）

魚腥藻5：3'這一半內含子E2

AACAACAGATAACTTACTAGTTACTAGTCGGAAGGTGCAGAGACTCGACGGGAGCTACCCTAAC

GTCAAGACGAGGGTAAAGAGAGAGTCCAATTCTCAAAGCCAATAGGCAGTAGCGAAAGCTGCGG

GAGAATGAAAATCCGTAGCGTCTAAACGGTCGTGTGGGTTCAAGTCCCTCCACCCCCA（SEQ

ID NO: 90）

魚腥藻5：E1 5'這一半內含子

AGACGCTACGGACTTAAATAATTGAGCCTTAGAGAAGAAATTCTTTAAGTGGATGCTCTCAAACTC

AGGGAAACCTAAATCTAGCTATAGACAAGGCAATCCTGAGCCAAGCCGAAGTAGTAATTAGTAAG

TT（SEQ ID NO: 91）

其他實施方式

【0458】雖然已經結合本發明的特定實施方式描述了本發明，但是應當理解，能夠進行進一步的修改，並且本申請旨在涵蓋總體上遵循本發明的原理並且包括在本發明所屬領域內的已知或常規實踐內的與本發明的此類偏離的本發明的任何變化、使用或改編，並且可應用於在上文中闡述的基本特徵，並且遵循申請專利範圍的範圍。其他實施方式在申請專利範圍中。

【符號說明】

【0459】無

【生物材料寄存】

【0460】無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="tw" dtdVersion="V1_3" fileName="C250312SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-01-
12">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>PCT/US2022/043808</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-09-16</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>51509-031WO2</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/245,354</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-09-17</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="tw">美商旗艦先鋒創新有限責任公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS VI,
LLC</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="en">COMPOSITIONS AND METHODS FOR PRODUCING
CIRCULAR POLYRIBONUCLEOTIDES</InventionTitle>
 <InventionTitle languageCode="tw">用於產生環狀多核糖核苷酸之組成物和方法
</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>99</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q6">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>agacgctacgga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="8">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q8">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgttt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q9">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgttt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q11">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaacggtcgt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q12">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaacggtcgtgtggg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q16">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaggtaaatatt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="17">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q17">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aatatttacctt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length/>
<INSDSeq_moltype/>
<INSDSeq_division/>
<INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length/>
<INSDSeq_moltype/>
<INSDSeq_division/>
<INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q23">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q24">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacggtcgt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q26">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacggtcgtgtggg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q27">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>131</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..131</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q28">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttacagctagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctaccctaacgt
caagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatg</INSDSeq_s
equence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

```
 <SequenceData sequenceIDNumber="29">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q29">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaaactcagggaaaccta
aatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagtt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q30">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cttctgttgatatggatgcagttcacagactaaatgtcggtcggggaagatgtattcttctc
ataagatatagtcggacctctccttaatgggagctagcggatgaagtgatgcaacactggagccgctgggaactaatttg
tatgcgaaagtatattgattagttttggagtactcg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>235</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..235</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q31">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaatagcaatatttacctttggagggaaaagttatcaggcatgcacctggtagctagtcttt
aaaccaatagattgcatcggtttaaaaggcaagaccgtcaaattgcgggaaaggggtcaacagccgttcagtaccaagtc
tcaggggaaactttgagatggccttgcaaagggtatggtaataagctgacggacatggtcctaaccacgcagccaagtcc
taagtcaacagat</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>167</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..167</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggttctacataaatgcctaacgactatccctttggggagtagggtcaagtgactcgaaacga
tagacaacttgctttaacaagttggagatatagtctgctctgcatggtgacatgcagctggatataattccggggtaaga
ttaacgaccttatctgaacataatg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>93</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..93</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q33">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taattgaggcctgagtataaggtgacttatacttgtaatctatctaaacggggaacctctct
agtagacaatcccgtgctaaattgtaggact</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>agaatgaaaatc</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ggacttaaataa</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tactcgtaaggt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q37">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ctctctaaatag</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ataatgctaccg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttgggttaattg</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="40">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q40">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaatccgttgaccttaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="41">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q41">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaatccgtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="42">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q42">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>taaggtaaatattgc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="48">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q48">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgactctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q49">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ctaccgtttaatatt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q50">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ctcaattttaatatt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q51">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atgttttcttgggt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIEENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q54">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>VEPNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q55">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>IETNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q57">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GDVELNPGP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="58">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q58">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GDIETNPGP</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q59">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVEENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q61">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVEQNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q63">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIELNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>HDIETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="65">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q65">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>HDVETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q66">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>HDVEMNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q67">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDMESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q68">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q69">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIEQNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q70">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DSEFNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q71">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>CHYSEL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q72">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
```

```
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q100">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>V, H, or absent</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>V、H或不存在</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q101">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>D, G, or absent</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>D、G或不存在</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>3</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q102">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>D, V, I, S, or M</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>D、V、I、S或M</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q103">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>X係任何胺基酸</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>XXXEXNPGP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="73">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q104">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q105">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>V or I</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>V或I</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q106">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>X係任何胺基酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DXEXNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q107">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccrrccatgg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>182</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..182</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q108">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taaacaactaacagctttagaaggtgcagagactagacgggagctaccctaacggattcagc
cgagggtaaagggatagtccaattctcaacatcgcgattgttgatggcagcgaaagttgcagagagaatgaaaatccgct
gactgtaaaggtcgtgagggttcgagtccctccgcccccca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>128</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
```

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q109">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>acggtagacgcagcggacttagaaaactgggcctcgatcgcgaaagggatcgagtggcagct
ctcaaactcagggaaacctaaaactttaaacattmaagtcatggcaatcctgagccaagctaaagc</INSDSeq_sequ
ence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>210</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..210</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q110">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttaaactcaaaatttaaaatcccaaattcaaaattccgggaaggtgcagagactcgacggga
gctaccctaacgtaaagccgagggtaaagggagagtccaattctcaaagcctgaagttgctgaagcaacaaggcagtagt

gaaagctgcgagagaatgaaaatccgttgactgtaaaaagtcgtgggggttcaagtccccccaccccc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>151</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..151</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q111">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggtagacgctacggacttagaaaactgagccttgatagagaaatcttttaagtggaagctctcaaattcagggaaacctaaatctgaatacagatatggcaatcctgagccaagcccagaaaatttagacttgagatttgattttggag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>207</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```
      <INSDFeature_location>1..207</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q112">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>柱孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggctttcaatttgaaatcagaaattcaaaattcagggaaggtgcagagactcgacgggagct
accctaacgtaaaggcgagggtaaagggagagtccaattcttaaagcctgaagttgtgcaagcaacaaggcaacagtgaa
agctgtggaagaatgaaaatccgttgaccttaaacggtcgtgggggttcaagtccccccaccccc</INSDSeq_seque
nce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="85">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>147</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..147</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q113">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>柱孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggtagacgctacggacttagaaaactgagccttgatagagaaatctttcaagtggaagct
ctcaaattcagggaaacctaaatctgaatacagatatggcaatcctgagccaagcccggaaattttagaatcaagatttt
atttt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="86">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q126">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaaatggagaaggtgtagagactggaaggcaggcaccctaacgttaaaggcgagggtgaag
gacagtccagaccacaaaccagtaaatctgggcagcgaaagctgtagatggtaagcataacccgaaggtcagtggttca
aatccacttcccgccaccaaattaaaaaaacaataa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="87">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q127">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaaatggagaaggtgtagagactggaaggcaggcaccctaacgttaaaggcgagggtgaag
gacagtccagaccacaaaccagtaaatctgggcagcgaaagctgtagatggtaagcataacccgaaggtcagtggttca
aatccacttcccgccaccaaattaaaaaaacaataa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="88">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>190</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..190</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q128">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

<INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttactaacttacagctagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctac
cctaacgtcaagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatgaaa
atccgtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>141</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..141</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q129">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agacgctacggacttaaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaa
actcagggaaacctaaatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagttagtaagtt<
/INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>186</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..186</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q130">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttactagttactagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctacccta
acgtcaagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatgaaaatcc
gtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="91">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>133</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..133</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q131">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agacgctacggacttaaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaa
actcagggaaacctaaatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagtt</INSDSeq
_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="92">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q132">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgctgactgtaaagg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="93">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q133">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tccgctgcgtctaccgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q134">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgttgactgtaaaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="95">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q135">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaccat</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q136">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgttgaccttaaacg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q137">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaccat</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q138">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccgaaggtcagtggtt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q139">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>cccgacgagctaccagg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種線性多核糖核苷酸，該線性多核糖核苷酸具有式5'-(A)-(B)-(C)-(D)-(E)-(F)-(G)-3'，其中：

(A) 包含第I組催化內含子片段的3'這一半；

(B) 包含3'剪接位點；

(C) 包含3'外顯子片段；

(D) 包含多核糖核苷酸負載物；

(E) 包含5'外顯子片段；

(F) 包含5'剪接位點；並且

(G) 包含第I組催化內含子片段的5'這一半；

並且其中 (A)、(B) 或 (C) 包含含有8至50個核糖核苷酸的第一退火區域，並且 (E)、(F) 或 (G) 包含含有8至50個核糖核苷酸的第二退火區域，

其中該第一退火區域和該第二退火區域具有80%至100%的互補性，或者

該第一退火區域和該第二退火區域包含0至10個誤配鹼基對。

【請求項2】 如請求項1所述之線性多核糖核苷酸，其中(A) 或 (C) 包含該第一退火區域，並且 (E) 或 (G) 包含該第二退火區域。

【請求項3】如請求項1或2所述之線性多核糖核苷酸，其中(C) 的該3'外顯子片段包含該第一退火區域，並且 (E) 的該5'外顯子片段包含該第二退火區域。

【請求項4】 如請求項1或2所述之線性多核糖核苷酸，其中(A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半包含該第一退火區域，並且 (E) 的該5'外顯子片段包含該第二退火區域。

【請求項5】如請求項1-4中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含10至30個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含10至30個核糖核苷

酸。

【請求項6】如請求項1-4中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含10至20個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含10至20個核糖核苷酸。

【請求項7】如請求項1-4中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含10至15個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含10至15個核糖核苷酸。

【請求項8】如請求項1-7中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域和該第二退火區域具有90%至100%的互補性。

【請求項9】如請求項1-7中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域和該第二退火區域包含0或1個誤配鹼基對。

【請求項10】 如請求項1-7中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域和該第二退火區域係100%互補的。

【請求項11】 如請求項1-10中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因或眼原蟲屬pre-rRNA。

【請求項12】 如請求項1所述之線性多核糖核苷酸，

其中 (A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半來自魚腥藍細菌pre-tRNA-Leu基因，

並且其中 (C) 的該3'外顯子片段包含該第一退火區域，並且 (E) 的該5'外顯子片段包含該第二退火區域。

【請求項13】如請求項12所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含10至15個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含10至15個核糖核苷酸。

【請求項14】 如請求項1所述之線性多核糖核苷酸，

其中 (A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半來自眼原蟲屬pre-rRNA，

並且其中 (A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半包含該第一退火區域，並且 (E) 的該5'外顯子片段包含該第二退火區域。

【請求項15】如請求項14所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含10至16個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含10至16個核糖核苷酸。

【請求項16】 如請求項1所述之線性多核糖核苷酸，

其中 (A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半和 (G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半來自T4噬菌體td基因，並且其中 (C) 的該3'外顯子片段包含該第一退火區域，並且 (G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半包含該第二退火區域。

【請求項17】如請求項16所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一退火區域包含2至16個核糖核苷酸，並且該第二退火區域包含2至16個核糖核苷酸。

【請求項18】 如請求項1-17中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(A) 的該第I組催化內含子片段的3'這一半係該線性多核苷酸的5'末端。

【請求項19】 如請求項1-18中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(G) 的該第I組催化內含子片段的5'這一半係該線性多核糖核苷酸的3'末端。

【請求項20】如請求項1-19中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸不包含另外的退火區域。

【請求項21】如請求項1-20中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸不包含 (A) 的3'的退火區域，該退火區域包含與 (G) 的5'的退火區域的部分或完全核酸互補性。

【請求項22】 如請求項1-21中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(D) 的該多核糖核苷酸負載物包含表現序列、非編碼序列或表現序列和非編碼序列。

【請求項23】 如請求項1-22中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(D) 的該多核糖核苷酸負載物包含編碼多肽的表現序列。

【請求項24】 如請求項1-23中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(D) 的該多核糖核苷酸負載物包含與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。

【請求項25】 如請求項1-24中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中(D) 的該多核糖核苷酸負載物包含編碼對受試者具有生物學效應的多肽的表現序列。

【請求項26】如請求項1-25中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸進一步包含 (C) 的該3'外顯子片段與 (D) 的該多核糖核苷酸負載物之間的第一間隔子區域。

【請求項27】如請求項1-26中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸進一步包含 (D) 的該多核糖核苷酸負載物與 (E) 的該5'外顯子片段之間的第二間隔子區域。

【請求項28】如請求項26或27所述之線性多核糖核苷酸，其中每個間隔子區域的長度為至少5個核糖核苷酸。

【請求項29】如請求項28所述之線性多核糖核苷酸，其中每個間隔子區域的長度為5至500個核糖核苷酸。

【請求項30】 如請求項26-29中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一間隔子區域、該第二間隔子區域或該第一間隔子區域和該第二間隔子區域包含polyA序列。

【請求項31】 如請求項26-29中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該第一間隔子區域、該第二間隔子區域或該第一間隔子區域和該第二間隔子區域包含polyA-C序列。

【請求項32】如請求項1-31中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸的長度為300至20,000個核糖核苷酸。

【請求項33】如請求項1-32中任一項所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸的長度為至少1,000個核糖核苷酸。

【請求項34】如請求項33所述之線性多核糖核苷酸，其中該線性多核糖核苷酸的長度為至少3,000個核糖核苷酸。

【請求項35】一種DNA載體，該DNA載體包含與編碼如請求項1-34中任一項所述之線性多核糖核苷酸的DNA序列可操作地連接的RNA聚合酶啟動子。

【請求項36】一種環狀多核糖核苷酸，該環狀多核糖核苷酸由如請求項1-32中任一項所述之線性多核糖核苷酸或由如請求項35所述之DNA載體產生。

【請求項37】一種環狀多核糖核苷酸，該環狀多核糖核苷酸包含連接5'外顯子片段和3'外顯子片段的剪接點，

其中該3'外顯子片段包含含有8至50個核糖核苷酸的第一退火區域，並且該5'外顯子片段包含含有8至50個核糖核苷酸的第二退火區域，

並且其中該第一退火區域和該第二退火區域包含80%至100%的互補性，或者該第一退火區域和該第二退火區域包含0至10個誤配鹼基對。

【請求項38】如請求項37所述之環狀多核糖核苷酸，其中該環狀多核糖核苷酸進一步包含多核糖核苷酸負載物。

【請求項39】如請求項38所述之環狀多核糖核苷酸，其中該多核糖核苷酸負載物包含表現序列、非編碼序列或表現序列和非編碼序列的組合。

【請求項40】如請求項39所述之環狀多核糖核苷酸，其中該多核糖核苷酸負載物包含編碼多肽的表現序列。

【請求項41】如請求項40所述之環狀多核糖核苷酸，其中該多核糖核苷酸包含與編碼多肽的表現序列可操作地連接的IRES。

【請求項42】如請求項41所述之環狀多核糖核苷酸，其中該環狀多核糖核苷酸進一步包含該IRES與該3'外顯子片段或該5'外顯子片段之間的間隔子區域。

【請求項43】如請求項42所述之環狀多核糖核苷酸，其中該間隔子區域的長度為至少5個核糖核苷酸。

【請求項44】如請求項43所述之環狀多核糖核苷酸，其中該間隔子區域的長度為5至500個核糖核苷酸。

【請求項45】 如請求項42-44中任一項所述之環狀多核糖核苷酸，其中該間隔子區域包含polyA序列。

【請求項46】 如請求項42-44中任一項所述之環狀多核糖核苷酸，其中該間隔子區域包含polyA-C序列。

【請求項47】 如請求項37-46中任一項所述之環狀多核糖核苷酸，其中該環狀多核糖核苷酸的長度為至少500個核糖核苷酸。

【請求項48】如請求項47所述之環狀多核糖核苷酸，其中該環狀多核糖核苷酸的長度為500至20,000個核糖核苷酸。

【請求項49】 如請求項37-48中任一項所述之環狀多核糖核苷酸，該環狀多核糖核苷酸由如請求項1-32中任一項所述之線性多核糖核苷酸或由如請求項33所述之載體產生。

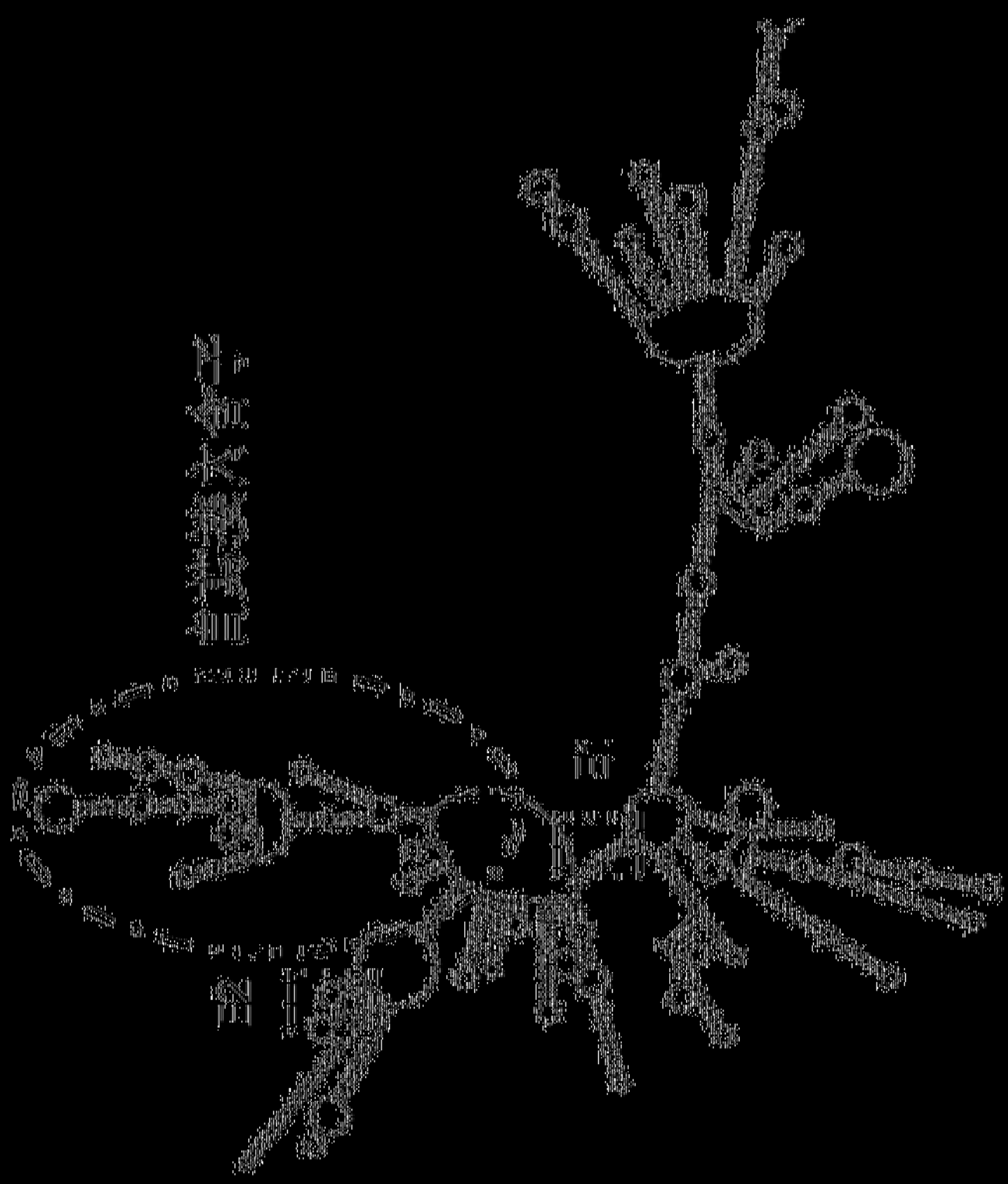
【請求項50】一種在細胞中表現多肽的方法，該方法包括向該細胞提供如請求項1-34中任一項所述之線性多核糖核苷酸、如請求項35所述之DNA載體或如請求項36-49中任一項所述之環狀多核糖核苷酸。

【請求項51】一種由如請求項1-34中任一項所述之線性多核糖核苷酸產生環狀多核糖核苷酸之方法，該方法包括在適於該線性多核糖核苷酸自剪接以產生該環狀多核糖核苷酸的條件下提供該線性多核糖核苷酸。

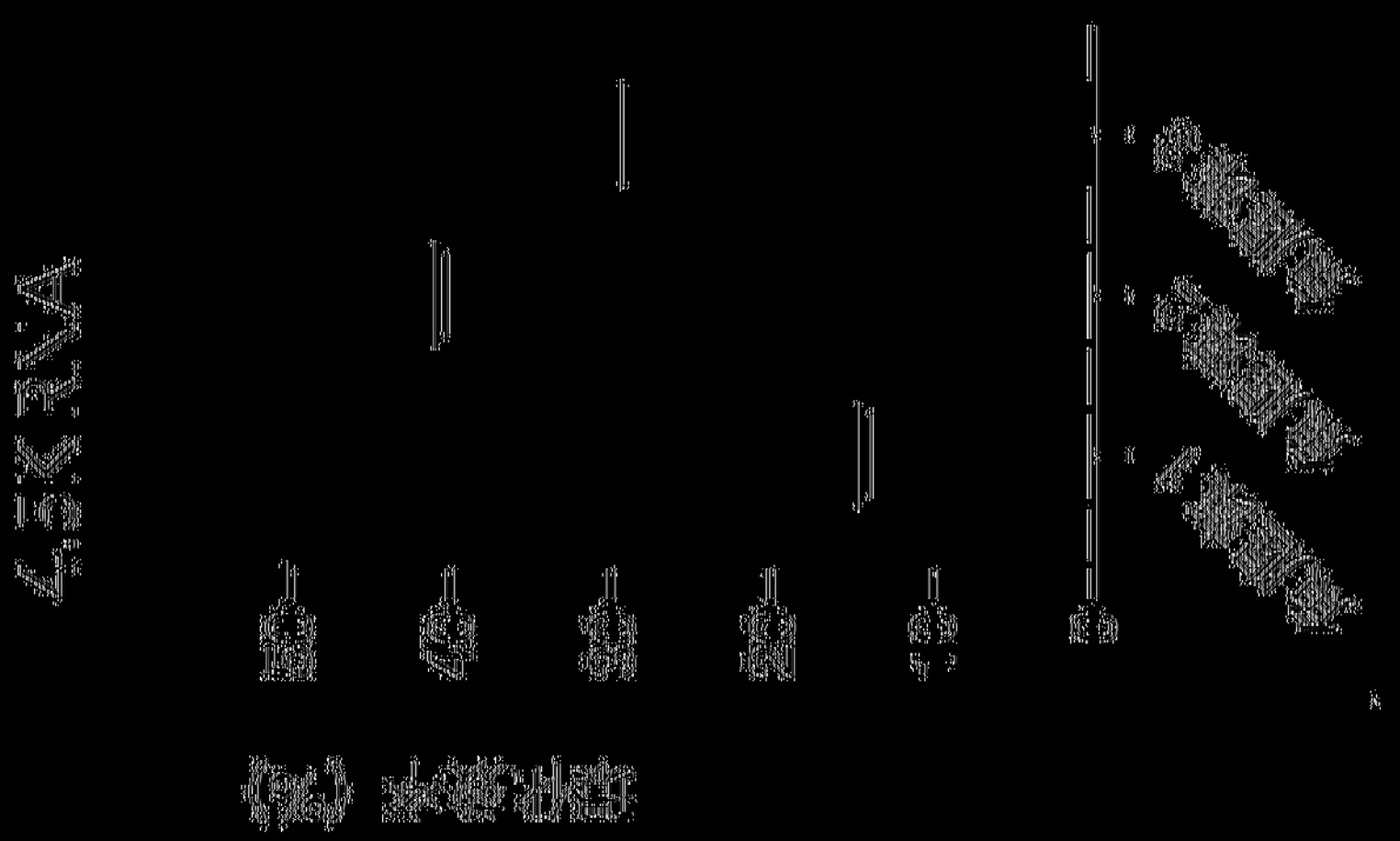
【發明圖式】



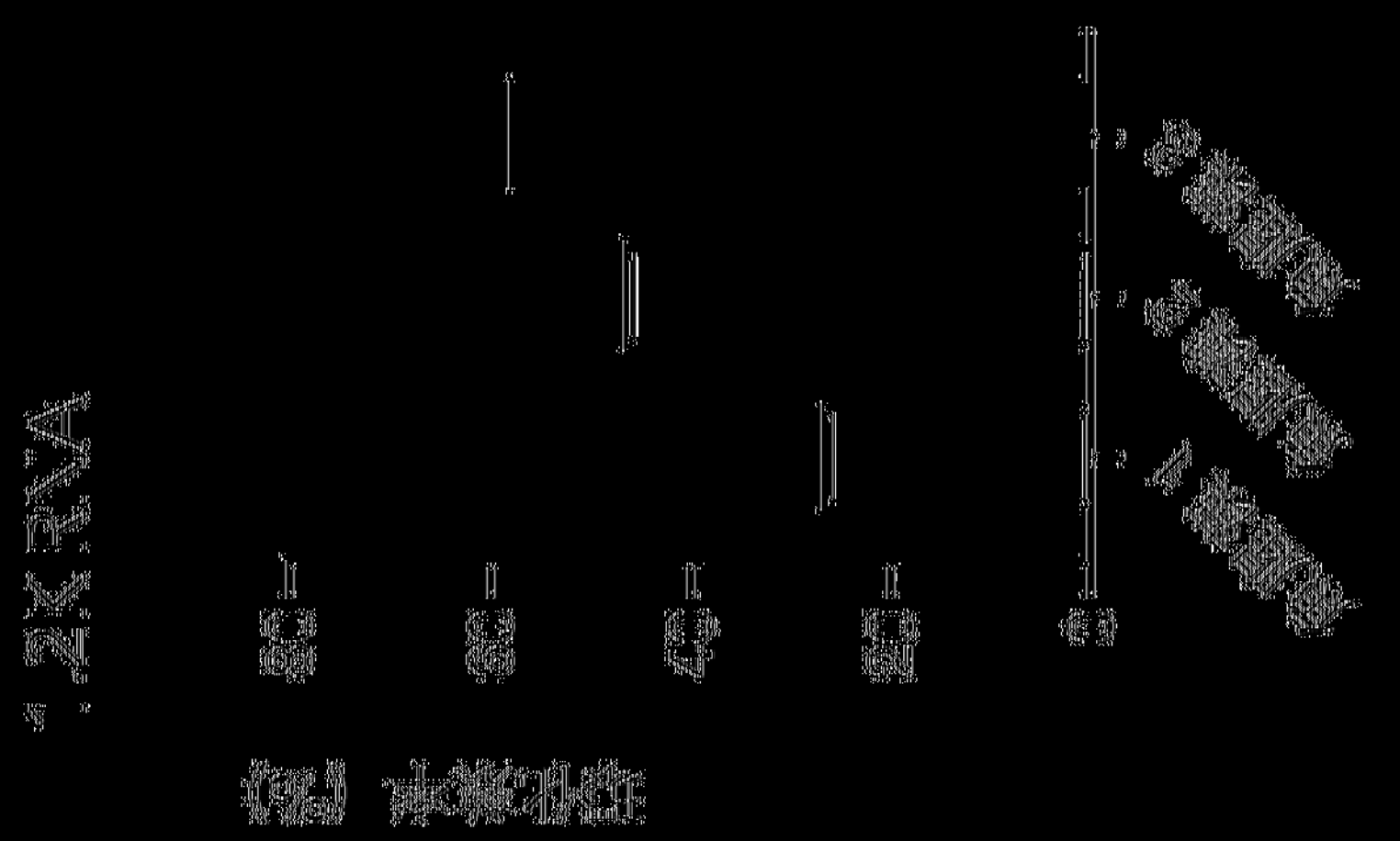
【圖 2B】



【圖 2A】



【圖3B】



【圖3A】

發明說明書

[中文發明名稱]

[英文發明名稱]

[技術領域]

[先前技術]

[發明內容]

[實施方式]

[圖式簡單說明]

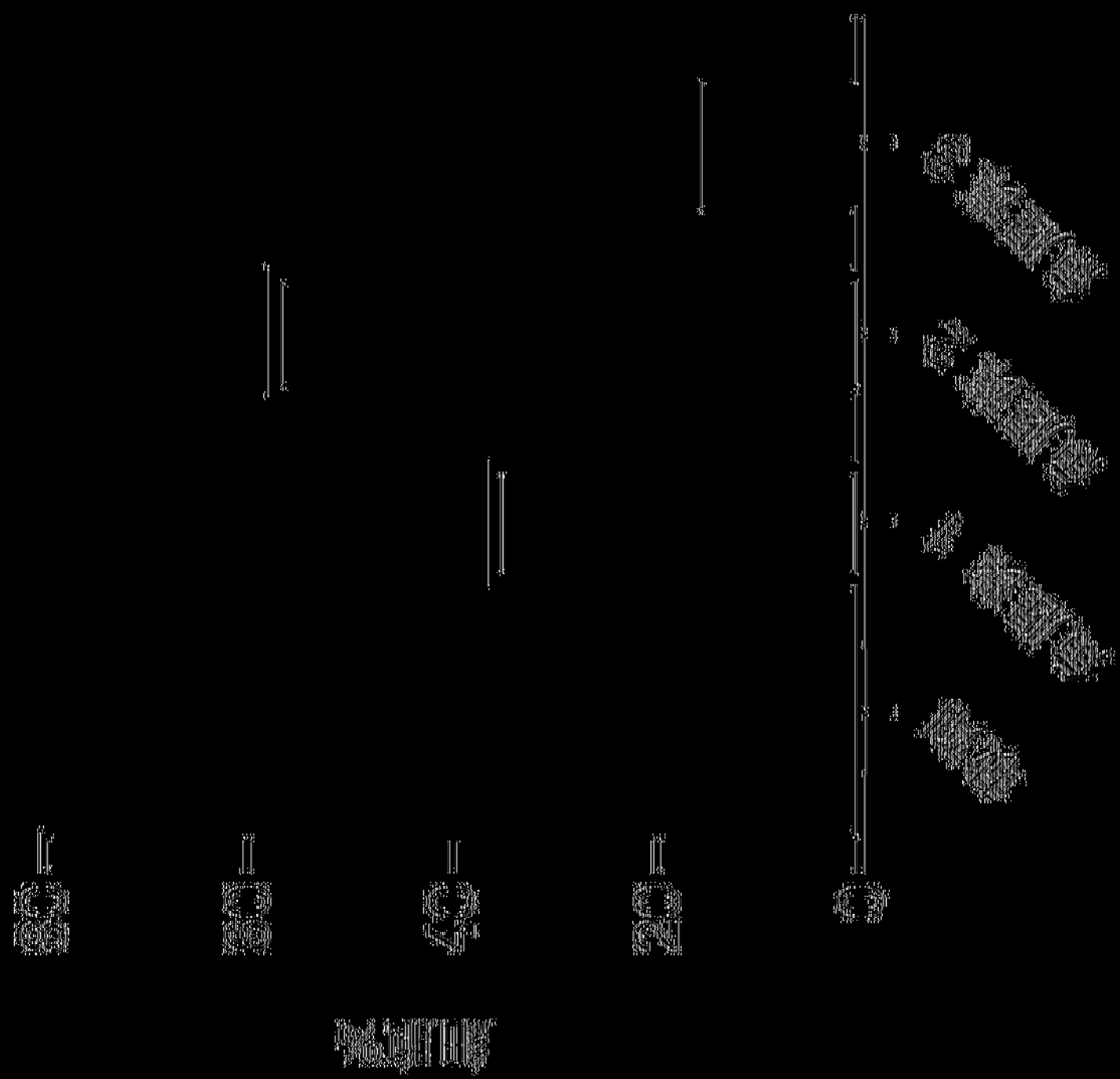
[符號說明]

[申請專利範圍]

[摘要]

[指定代表圖]

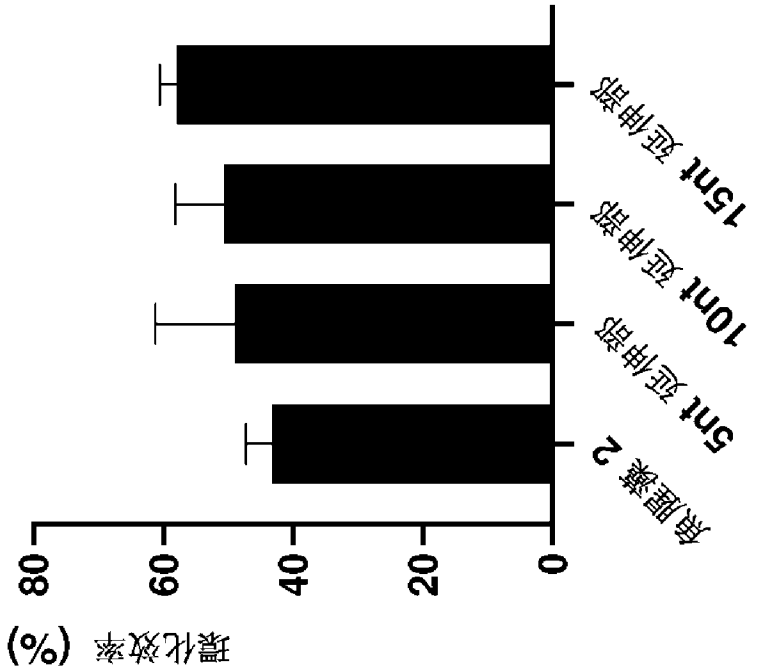
圖 2



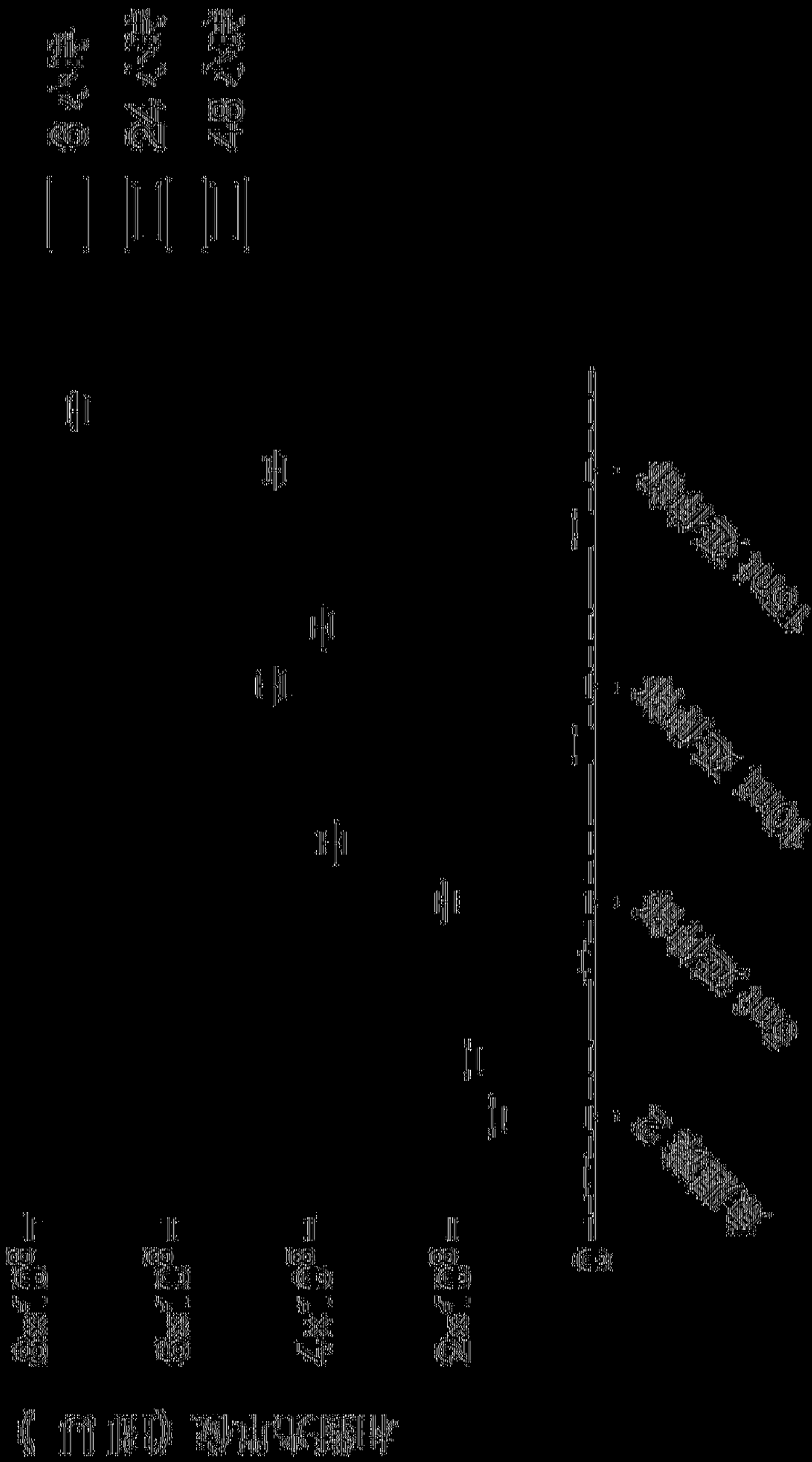
【圖 5】

第一實施例
第二實施例
第三實施例
光學成像鏡頭
物側
像側
光圈
第一透鏡
第二透鏡
第三透鏡
第四透鏡
第五透鏡
第六透鏡
濾光元件
成像面

圖 7



【圖7】



【圖8】

第9A圖

第9B圖

圖 1C

圖 1A

(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
(k)
(l)
(m)
(n)
(o)
(p)
(q)
(r)
(s)
(t)
(u)
(v)
(w)
(x)
(y)
(z)
(aa)
(ab)
(ac)
(ad)
(ae)
(af)
(ag)
(ah)
(ai)
(aj)
(ak)
(al)
(am)
(an)
(ao)
(ap)
(aq)
(ar)
(as)
(at)
(au)
(av)
(aw)
(ax)
(ay)
(az)
(ba)
(bb)
(bc)
(bd)
(be)
(bf)
(bg)
(bh)
(bi)
(bj)
(bk)
(bl)
(bm)
(bn)
(bo)
(bp)
(bq)
(br)
(bs)
(bt)
(bu)
(bv)
(bw)
(bx)
(by)
(bz)
(ca)
(cb)
(cc)
(cd)
(ce)
(cf)
(cg)
(ch)
(ci)
(cj)
(ck)
(cl)
(cm)
(cn)
(co)
(cp)
(cq)
(cr)
(cs)
(ct)
(cu)
(cv)
(cw)
(cx)
(cy)
(cz)
(da)
(db)
(dc)
(dd)
(de)
(df)
(dg)
(dh)
(di)
(dj)
(dk)
(dl)
(dm)
(dn)
(do)
(dp)
(dq)
(dr)
(ds)
(dt)
(du)
(dv)
(dw)
(dx)
(dy)
(dz)
(ea)
(eb)
(ec)
(ed)
(ee)
(ef)
(eg)
(eh)
(ei)
(ej)
(ek)
(el)
(em)
(en)
(eo)
(ep)
(eq)
(er)
(es)
(et)
(eu)
(ev)
(ew)
(ex)
(ey)
(ez)
(fa)
(fb)
(fc)
(fd)
(fe)
(ff)
(fg)
(fh)
(fi)
(fj)
(fk)
(fl)
(fm)
(fn)
(fo)
(fp)
(fq)
(fr)
(fs)
(ft)
(fu)
(fv)
(fw)
(fx)
(fy)
(fz)
(ga)
(gb)
(gc)
(gd)
(ge)
(gf)
(gg)
(gh)
(gi)
(gj)
(gk)
(gl)
(gm)
(gn)
(go)
(gp)
(gq)
(gr)
(gs)
(gt)
(gu)
(gv)
(gw)
(gx)
(gy)
(gz)
(ha)
(hb)
(hc)
(hd)
(he)
(hf)
(hg)
(hh)
(hi)
(hj)
(hk)
(hl)
(hm)
(hn)
(ho)
(hp)
(hq)
(hr)
(hs)
(ht)
(hu)
(hv)
(hw)
(hx)
(hy)
(hz)
(ia)
(ib)
(ic)
(id)
(ie)
(if)
(ig)
(ih)
(ii)
(ij)
(ik)
(il)
(im)
(in)
(io)
(ip)
(iq)
(ir)
(is)
(it)
(iu)
(iv)
(iw)
(ix)
(iy)
(iz)
(ja)
(jb)
(jc)
(jd)
(je)
(jf)
(jg)
(jh)
(ji)
(jj)
(jk)
(jl)
(jm)
(jn)
(jo)
(jp)
(jq)
(jr)
(js)
(jt)
(ju)
(jv)
(jw)
(jx)
(jy)
(jz)
(ka)
(kb)
(kc)
(kd)
(ke)
(kf)
(kg)
(kh)
(ki)
(kj)
(kk)
(kl)
(km)
(kn)
(ko)
(kp)
(kq)
(kr)
(ks)
(kt)
(ku)
(kv)
(kw)
(kx)
(ky)
(kz)
(la)
(lb)
(lc)
(ld)
(le)
(lf)
(lg)
(lh)
(li)
(lj)
(lk)
(ll)
(lm)
(ln)
(lo)
(lp)
(lq)
(lr)
(ls)
(lt)
(lu)
(lv)
(lw)
(lx)
(ly)
(lz)
(ma)
(mb)
(mc)
(md)
(me)
(mf)
(mg)
(mh)
(mi)
(mj)
(mk)
(ml)
(mm)
(mn)
(mo)
(mp)
(mq)
(mr)
(ms)
(mt)
(mu)
(mv)
(mw)
(mx)
(my)
(mz)
(na)
(nb)
(nc)
(nd)
(ne)
(nf)
(ng)
(nh)
(ni)
(nj)
(nk)
(nl)
(nm)
(nn)
(no)
(np)
(nq)
(nr)
(ns)
(nt)
(nu)
(nv)
(nw)
(nx)
(ny)
(nz)
(oa)
(ob)
(oc)
(od)
(oe)
(of)
(og)
(oh)
(oi)
(oj)
(ok)
(ol)
(om)
(on)
(oo)
(op)
(oq)
(or)
(os)
(ot)
(ou)
(ov)
(ow)
(ox)
(oy)
(oz)
(pa)
(pb)
(pc)
(pd)
(pe)
(pf)
(pg)
(ph)
(pi)
(pj)
(pk)
(pl)
(pm)
(pn)
(po)
(pp)
(pq)
(pr)
(ps)
(pt)
(pu)
(pv)
(pw)
(px)
(py)
(pz)
(qa)
(qb)
(qc)
(qd)
(qe)
(qf)
(qg)
(qh)
(qi)
(qj)
(qk)
(ql)
(qm)
(qn)
(qo)
(qp)
(qq)
(qr)
(qs)
(qt)
(qu)
(qv)
(qw)
(qx)
(qy)
(qz)
(ra)
(rb)
(rc)
(rd)
(re)
(rf)
(rg)
(rh)
(ri)
(rj)
(rk)
(rl)
(rm)
(rn)
(ro)
(rp)
(rq)
(rr)
(rs)
(rt)
(ru)
(rv)
(rw)
(rx)
(ry)
(rz)
(sa)
(sb)
(sc)
(sd)
(se)
(sf)
(sg)
(sh)
(si)
(sj)
(sk)
(sl)
(sm)
(sn)
(so)
(sp)
(sq)
(sr)
(ss)
(st)
(su)
(sv)
(sw)
(sx)
(sy)
(sz)
(ta)
(tb)
(tc)
(td)
(te)
(tf)
(tg)
(th)
(ti)
(tj)
(tk)
(tl)
(tm)
(tn)
(to)
(tp)
(tq)
(tr)
(ts)
(tt)
(tu)
(tv)
(tw)
(tx)
(ty)
(tz)
(ua)
(ub)
(uc)
(ud)
(ue)
(uf)
(ug)
(uh)
(ui)
(uj)
(uk)
(ul)
(um)
(un)
(uo)
(up)
(uq)
(ur)
(us)
(ut)
(uu)
(uv)
(uw)
(ux)
(uy)
(uz)
(va)
(vb)
(vc)
(vd)
(ve)
(vf)
(vg)
(vh)
(vi)
(vj)
(vk)
(vl)
(vm)
(vn)
(vo)
(vp)
(vq)
(vr)
(vs)
(vt)
(vu)
(vv)
(vw)
(vx)
(vy)
(vz)
(wa)
(wb)
(wc)
(wd)
(we)
(wf)
(wg)
(wh)
(wi)
(wj)
(wk)
(wl)
(wm)
(wn)
(wo)
(wp)
(wq)
(wr)
(ws)
(wt)
(wu)
(wv)
(ww)
(wx)
(wy)
(wz)
(xa)
(xb)
(xc)
(xd)
(xe)
(xf)
(xg)
(xh)
(xi)
(xj)
(xk)
(xl)
(xm)
(xn)
(xo)
(xp)
(xq)
(xr)
(xs)
(xt)
(xu)
(xv)
(xw)
(xx)
(xy)
(xz)
(ya)
(yb)
(yc)
(yd)
(ye)
(yf)
(yg)
(yh)
(yi)
(yj)
(yk)
(yl)
(ym)
(yn)
(yo)
(yp)
(yq)
(yr)
(ys)
(yt)
(yu)
(yv)
(yw)
(yx)
(yy)
(yz)
(za)
(zb)
(zc)
(zd)
(ze)
(zf)
(zg)
(zh)
(zi)
(zj)
(zk)
(zl)
(zm)
(zn)
(zo)
(zp)
(zq)
(zr)
(zs)
(zt)
(zu)
(zv)
(zw)
(zx)
(zy)
(zz)
(aaa)
(aab)
(aac)
(aad)
(aae)
(aaf)
(aag)
(aah)
(aai)
(aaj)
(aak)
(aal)
(aam)
(aan)
(aao)
(aap)
(aaq)
(aar)
(aas)
(aat)
(aau)
(aav)
(aaw)
(aax)
(aay)
(aaz)
(aba)
(abb)
(abc)
(abd)
(abe)
(abf)
(abg)
(abh)
(abi)
(abj)
(abk)
(abl)
(abm)
(abn)
(abo)
(abp)
(abq)
(abr)
(abs)
(abt)
(abu)
(abv)
(abw)
(abx)
(aby)
(abz)
(aca)
(acb)
(acc)
(acd)
(ace)
(acf)
(acg)
(ach)
(aci)
(acj)
(ack)
(acl)
(acm)
(acn)
(aco)
(acp)
(acq)
(acr)
(acs)
(act)
(acu)
(acv)
(acw)
(acx)
(acy)
(acz)
(ada)
(adb)
(adc)
(add)
(ade)
(adf)
(adg)
(adh)
(adi)
(adj)
(adk)
(adl)
(adm)
(adn)
(ado)
(adp)
(adq)
(adr)
(ads)
(adt)
(adu)
(adv)
(adw)
(adx)
(ady)
(adz)
(aea)
(aeb)
(aec)
(aed)
(aee)
(aef)
(aeg)
(aeh)
(aei)
(aej)
(aek)
(ael)
(aem)
(aen)
(aeo)
(aep)
(aeq)
(aer)
(aes)
(aet)
(aeu)
(aev)
(aew)
(aex)
(aey)
(aez)
(afa)
(afb)
(afc)
(afd)
(afe)
(aff)
(afg)
(afh)
(afi)
(afj)
(afk)
(afl)
(afm)
(afn)
(afo)
(afp)
(afq)
(afr)
(afs)
(aft)
(afu)
(afv)
(afw)
(afx)
(afy)
(afz)
(aga)
(agb)
(agc)
(agd)
(age)
(agf)
(agg)
(agh)
(agi)
(agj)
(agk)
(agl)
(agm)
(agn)
(ago)
(agp)
(agq)
(agr)
(ags)
(agt)
(agu)
(agv)
(agw)
(agx)
(agy)
(agz)
(aha)
(ahb)
(ahc)
(ahd)
(ahe)
(ahf)
(ahg)
(ahh)
(ahi)
(ahj)
(ahk)
(ahl)
(ahm)
(ahn)
(aho)
(ahp)
(ahq)
(ahr)
(ahs)
(aht)
(ahu)
(ahv)
(ahw)
(ahx)
(ahy)
(ahz)
(aia)
(aib)
(aic)
(aid)
(aie)
(aif)
(aig)
(aih)
(aii)
(aij)
(aik)
(ail)
(aim)
(ain)
(aio)
(aip)
(aiq)
(air)
(ais)
(ait)
(aiu)
(aiv)
(aiw)
(aix)
(aiy)
(aiz)
(aja)
(ajb)
(ajc)
(ajd)
(aje)
(ajf)
(ajg)
(ajh)
(aji)
(ajj)
(ajk)
(ajl)
(ajm)
(ajn)
(ajo)
(ajp)
(ajq)
(ajr)
(ajs)
(ajt)
(aju)
(ajv)
(ajw)
(ajx)
(ajy)
(ajz)
(aka)
(akb)
(akc)
(akd)
(ake)
(akf)
(akg)
(akh)
(aki)
(akj)
(akk)
(akl)
(akm)
(akn)
(ako)
(akp)
(akq)
(akr)
(aks)
(akt)
(aku)
(akv)
(akw)
(akx)
(aky)
(akz)
(ala)
(alb)
(alc)
(ald)
(ale)
(alf)
(alg)
(alh)
(ali)
(alj)
(alk)
(all)
(alm)
(aln)
(alo)
(alp)
(alq)
(alr)
(als)
(alt)
(alu)
(alv)
(alw)
(alx)
(aly)
(alz)
(ama)
(amb)
(amc)
(amd)
(ame)
(amf)
(amg)
(amh)
(ami)
(amj)
(amk)
(aml)
(amm)
(amn)
(amo)
(amp)
(amq)
(amr)
(ams)
(amt)
(amu)
(amv)
(amw)
(amx)
(amy)
(amz)
(ana)
(anb)
(anc)
(and)
(ane)
(anf)
(ang)
(anh)
(ani)
(anj)
(ank)
(anl)
(anm)
(ann)
(ano)
(anp)
(anq)
(anr)
(ans)
(ant)
(anu)
(anv)
(anw)
(anx)
(any)
(anz)
(aoa)
(aob)
(aoc)
(aod)
(aoe)
(aof)
(aog)
(aoh)
(aoi)
(aoj)
(aok)
(aol)
(aom)
(aon)
(aoo)
(aop)
(aoq)
(aor)
(aos)
(aot)
(aou)
(aov)
(aow)
(aox)
(aoy)
(aoz)
(apa)
(apb)
(apc)
(apd)
(ape)
(apf)
(apg)
(aph)
(api)
(apj)
(apk)
(apl)
(apm)
(apn)
(apo)
(app)
(apq)
(apr)
(aps)
(apt)
(apu)
(apv)
(apw)
(apx)
(apy)
(apz)
(aqa)
(aqb)
(aqc)
(aqd)
(aqe)
(aqf)
(aqg)
(aqh)
(aqi)
(aqj)
(aqk)
(aql)
(aqm)
(aqn)
(aqo)
(aqp)
(aqq)
(aqr)
(aqs)
(aqt)
(aqu)
(aqv)
(aqw)
(aqx)
(aqy)
(aqz)
(ara)
(arb)
(arc)
(ard)
(are)
(arf)
(arg)
(arh)
(ari)
(arj)
(ark)
(arl)
(arm)
(arn)
(aro)
(arp)
(arq)
(arr)
(ars)
(art)
(aru)
(arv)
(arw)
(arx)
(ary)
(arz)
(asa)
(asb)
(asc)
(asd)
(ase)
(asf)
(asg)
(ash)
(asi)
(asj)
(ask)
(asl)
(asm)
(asn)
(aso)
(asp)
(asq)
(asr)
(ass)
(ast)
(asu)
(asv)
(asw)
(asx)
(asy)
(asz)
(ata)
(atb)
(atc)
(atd)
(ate)
(atf)
(atg)
(ath)
(ati)
(atj)
(atk)
(atl)
(atm)
(atn)
(ato)
(atp)
(atq)
(atr)
(ats)
(att)
(atu)
(atv)
(atw)
(atx)
(aty)
(atz)
(aua)
(aub)
(auc)
(aud)
(aue)
(auf)
(aug)
(auh)
(aui)
(auj)
(auk)
(aul)
(aum)
(aun)
(auo)
(aup)
(auq)
(aur)
(aus)
(aut)
(auu)
(auv)
(auw)
(aux)
(auy)
(auz)
(ava)
(avb)
(avc)
(avd)
(ave)
(avf)
(avg)
(avh)
(avi)
(avj)
(avk)
(avl)
(avm)
(avn)
(avo)
(avp)
(avq)
(avr)
(avs)
(avt)
(avu)
(avv)
(avw)
(avx)
(avy)
(avz)
(awa)
(awb)
(awc)
(awd)
(awe)
(awf)
(awg)
(awh)
(awi)
(awj)
(awk)
(awl)
(awm)
(awn)
(awo)
(awp)
(awq)
(awr)
(aws)
(awt)
(awu)
(awv)
(aww)
(awx)
(awy)
(awz)
(axa)
(axb)
(axc)
(axd)
(axe)
(axf)
(axg)
(axh)
(axi)
(axj)
(axk)
(axl)
(axm)
(axn)
(axo)
(axp)
(axq)
(axr)
(axs)
(axt)
(axu)
(axv)
(axw)
(axx)
(axy)
(axz)
(aya)
(ayb)
(ayc)
(ayd)
(aye)
(ayf)
(ayg)
(ayh)
(ayi)
(ayj)
(ayk)
(ayl)
(aym)
(ayn)
(ayo)
(ayp)
(ayq)
(ayr)
(ays)
(ayt)
(ayu)
(ayv)
(ayw)
(ayx)
(ayy)
(ayz)
(aza)
(azb)
(azc)
(azd)
(aze)
(azf)
(azg)
(azh)
(azi)
(azj)
(azk)
(azl)
(azm)
(azn)
(azo)
(azp)
(azq)
(azr)
(azs)
(azt)
(azu)
(azv)
(azw)
(azx)
(azy)
(azz)
(baa)
(bab)
(bac)
(bad)
(bae)
(baf)
(bag)
(bah)
(bai)
(baj)
(bak)
(bal)
(bam)
(ban)
(bao)
(bap)
(baq)
(bar)
(bas)
(bat)
(bau)
(bav)
(baw)
(bax)
(bay)
(baz)
(bba)
(bbb)
(bbc)
(bbd)
(bbe)
(bbf)
(bbg)
(bbh)
(bbi)
(bbj)
(bbk)
(bbl)
(bbm)
(bbn)
(bbo)
(bbp)
(bbq)
(bbr)
(bbs)
(bbt)
(bbu)
(bbv)
(bbw)
(bbx)
(bby)
(bbz)
(bca)
(bcb)
(bcc)
(bcd)
(bce)
(bcf)
(bcg)
(bch)
(bci)
(bcj)
(bck)
(bcl)
(bcm)
(bcn)
(bco)
(bcp)
(bcq)
(bcr)
(bcs)
(bct)
(bcu)
(bcv)
(bcw)
(bcx)
(bcy)
(bcz)
(bda)
(bdb)
(bdc)
(bdd)
(bde)
(bdf)
(bdg)
(bdh)
(bdi)
(bdj)
(bdk)
(bdl)
(bdm)
(bdn)
(bdo)
(bdp)
(bdq)
(bdr)
(bds)
(bdt)
(bdu)
(bdv)
(bdw)
(bdx)
(bdy)
(bdz)
(bea)
(beb)
(bec)
(bed)
(bee)
(bef)
(beg)
(beh)
(bei)
(bej)
(bek)
(bel)
(bem)
(ben)
(beo)
(bep)
(beq)
(ber)
(bes)
(bet)
(beu)
(bev)
(bew)
(bex)
(bey)
(bez)
(bfa)
(bfb)
(bfc)
(bfd)
(bfe)
(bff)
(bfg)
(bfh)
(bfi)
(bfj)
(bfk)
(bfl)
(bfm)
(bfn)
(bfo)
(bfp)
(bfq)
(bfr)
(bfs)
(bft)
(bfu)
(bfv)
(bfw)
(bfx)
(bfy)
(bfz)
(bga)
(bgb)
(bgc)
(bgd)
(bge)
(bgf)
(bgg)
(bgh)
(bgi)
(bgj)
(bgk)
(bgl)
(bgm)
(bgn)
(bgo)
(bgp)
(bgq)
(bgr)
(bgs)
(bgt)
(bgu)
(bgv)
(bgw)
(bgx)
(bgy)
(bgz)
(bha)
(bhb)
(bhc)
(bhd)
(bhe)
(bhf)
(bhg)
(bhh)
(bhi)
(bhj)
(bhk)
(bhl)
(bhm)
(bhn)
(bho)
(bhp)
(bhq)
(bhr)
(bhs)
(bht)
(bhu)
(bhv)
(bhw)
(bhx)
(bhy)
(bhz)
(bia)
(bib)
(bic)
(bid)
(bie)
(bif)
(big)
(bih)
(bii)
(bij)
(bik)
(bil)
(bim)
(bin)
(bio)
(bip)
(biq)
(bir)
(bis)
(bit)
(biu)
(biv)
(biw)
(bix)
(biy)
(biz)
(bja)
(bjb)
(bjc)
(bjd)
(bje)
(bjf)
(bjg)
(bjh)
(bji)
(bjj)
(bjk)
(bjl)
(bjm)
(bjn)
(bjo)
(bjp)
(bjq)
(bjr)
(bjs)
(bjt)
(bju)
(bjv)
(bjw)
(bjx)
(bjy)
(bjz)
(bka)
(bkb)
(bkc)
(bkd)
(bke)
(bkf)
(bkg)
(bkh)
(bki)
(bkj)
(bkk)
(bkl)
(bkm)
(bkn)
(bko)
(bkp)
(bkq)
(bkr)
(bks)
(bkt)
(bku)
(bkv)
(bkw)
(bkx)
(bky)
(bkz)
(bla)
(blb)
(blc)
(bld)
(ble)
(blf)
(blg)
(blh)
(bli)
(blj)
(blk)
(bll)
(blm)
(bln)
(blo)
(blp)
(blq)
(blr)
(bls)
(blt)
(blu)
(blv)
(blw)
(blx)
(bly)
(blz)
(bma)
(bmb)
(bmc)
(bmd)
(bme)
(bmf)
(bmg)
(bmh)
(bmi)
(bmj)
(bmk)
(bml)
(bmm)
(bmn)
(bmo)
(bmp)
(bmq)
(bmr)
(bms)
(bmt)
(bmu)
(bmv)
(bmw)
(bmx)
(bmy)
(bmz)
(bna)
(bnb)
(bnc)
(bnd)
(bne)
(bnf)
(bng)
(bnh)
(bni)
(bnj)
(bnk)
(bnl)
(bnm)
(bnn)
(bno)
(bnp)
(bnq)
(bnr)
(bns)
(bnt)
(bnu)
(bnv)
(bnw)
(bnx)
(bny)
(bnz)
(boa)
(bob)
(boc)
(bod)
(boe)
(bof)
(bog)
(boh)
(boi)
(boj)
(bok)
(bol)
(bom)
(bon)
(boo)
(bop)
(boq)
(bor)
(bos)
(bot)
(bou)
(bov)
(bow)
(box)
(boy)
(boz)
(bpa)
(bpb)
(bpc)
(bpd)
(bpe)
(bpf)
(bpg)
(bph)
(bpi)
(bpj)
(bpk)
(bpl)
(bpm)
(bpn)
(bpo)
(bpp)
(bpq)
(bpr)
(bps)
(bpt)
(bpu)
(bpv)
(bpw)
(bpx)
(bpy)
(bpz)
(bqa)
(bqb)
(bqc)
(bqd)
(bqe)
(bqf)
(bqg)
(bqh)
(bqi)
(bqj)
(bqk)
(bql)
(bqm)
(bqn)
(bqo)
(bqp)
(bqq)
(bqr)
(bqs)
(bqt)
(bqu)
(bqv)
(bqw)
(bqx)
(bqy)
(bqz)
(bra)
(brb)
(brc)
(brd)
(bre)
(brf)
(brg)
(brh)
(bri)
(brj)
(brk)
(brl)
(brm)
(brn)
(bro)
(brp)
(brq)
(brr)
(brs)
(brt)
(bru)
(brv)
(brw)
(brx)
(bry)
(brz)
(bsa)
(bsb)
(bsc)
(bsd)
(bse)
(bsf)
(bsg)
(bsh)
(bsi)
(bsj)
(bsk)
(bsl)
(bsm)
(bsn)
(bso)
(bsp)
(bsq)
(bsr)
(bss)
(bst)
(bsu)
(bsv)
(bsw)
(bsx)
(bsy)
(bsz)
(bta)
(btb)
(btc)
(btd)
(bte)
(btf)
(btg)
(bth)
(bti)
(btj)
(btk)
(btl)
(btm)
(btn)
(bto)
(btp)
(btq)
(btr)
(bts)
(btt)
(btu)
(btv)
(btw)
(btx)
(bty)
(btz)
(bua)
(bub)
(buc)
(bud)
(bue)
(buf)
(bug)
(buh)
(bui)
(buj)
(buk)
(bul)
(bum)
(bun)
(buo)
(bup)
(buq)
(bur)
(bus)
(but)
(buu)
(buv)
(buw)
(bux)
(buy)
(buz)
(bva)
(bvb)
(bvc)
(bvd)
(bve)
(bvf)
(bvg)
(bvh)
(bvi)
(bvj)
(bvk)
(bvl)
(bvm)
(bvn)
(bvo)
(bvp)
(bvq)
(bvr)
(bvs)
(bvt)
(bvu)
(bvv)
(bvw)
(bvx)
(bvy)
(bvz)
(bwa)
(bwb)
(bwc)
(bwd)
(bwe)
(bwf)
(bwg)
(bwh)
(bwi)
(bwj)
(bwk)
(bwl)
(bwm)
(bwn)
(bwo)
(bwp)
(bwq)
(bwr)
(bws)
(bwt)
(bwu)
(bwv)
(bww)
(bwx)
(bwy)
(bwz)
(bxa)
(bxb)
(bxc)
(bxd)
(bxe)
(bxf)
(bxg)
(bxh)
(bxi)
(bxj)
(bxk)
(bxl)
(bxm)
(bxn)
(bxo)
(bxp)
(bxq)
(bxr)
(bxs)
(bxt)
(bxu)
(bxv)
(bxw)
(bxx)
(bxy)
(bxz)
(bya)
(byb)
(byc)
(byd)
(bye)
(byf)
(byg)
(byh)
(byi)
(byj)
(byk)
(byl)
(bym)
(byn)
(byo)
(byp)
(byq)
(byr)
(bys)
(byt)
(byu)
(byv)
(byw)
(byx)
(byy)
(byz)
(bza)
(bzb)
(bzc)
(bzd)
(bze)
(bzf)
(bzg)
(bzh)
(bzi)
(bzj)
(bzk)
(bzl)
(bzm)
(bzn)
(bzo)
(bzp)
(bzq)
(bzr)
(bzs)
(bzt)
(bzu)
(bzv)
(bzw)
(bzx)
(bzy)
(bzz)
(caa)
(cab)
(cac)
(cad)
(cae)
(caf)
(cag)
(cah)
(cai)
(caj)
(cak)
(cal)
(cam)
(can)
(cao)
(cap)
(caq)
(car)
(cas)
(cat)
(cau)
(cav)
(caw)
(cax)
(cay)
(caz)
(cba)
(cbb)
(cbc)
(cbd)
(cbe)
(cbf)
(cbg)
(cbh)
(cbi)
(cbj)
(cbk)
(cbl)
(cbm)
(cbn)
(cbo)
(cbp)
(cbq)
(cbr)
(cbs)
(cbt)
(cbu)
(cbv)
(cbw)
(cbx)
(cby)
(cbz)
(cca)
(ccb)
(ccc)
(ccd)
(cce)
(ccf)
(ccg)
(cch)
(cci)
(ccj)
(cck)
(ccl)
(ccm)
(ccn)
(cco)
(ccp)
(ccq)
(ccr)
(ccs)
(cct)
(ccu)
(ccv)
(ccw)
(ccx)
(ccy)
(ccz)
(cda)
(cdb)
(cdc)
(cdd)
(cde)
(cdf)
(cdg)
(cdh)
(cdi)
(cdj)
(cdk)
(cdl)
(cdm)
(cdn)
(cdo)
(cdp)
(cdq)
(cdr)
(cds)
(cdt)
(cdu)
(cdv)
(cdw)
(cdx)
(cdy)
(cdz)
(cea)
(ceb)
(cec)
(ced)
(cee)
(cef)
(ceg)
(ceh)
(cei)
(cej)
(cek)
(cel)
(cem)
(cen)
(ceo)
(cep)
(ceq)
(cer)
(ces)
(cet)
(ceu)
(cev)
(cew)
(cex)
(cey)
(cez)
(cfa)
(cfb)
(cfc)
(cfd)
(cfe)
(cff)
(cfg)
(cfh)
(cfi)
(cfj)
(cfk)
(cfl)
(cfm)
(cfn)
(cfo)
(cfp)
(cfq)
(cfr)
(cfs)
(cft)
(cfu)
(cfv)
(cfw)
(cfx)
(cfy)
(cfz)
(cga)
(cgb)
(cgc)
(cgd)
(cge)
(cgf)
(cgg)
(cgh)
(cgi)
(cgj)
(cgk)
(cgl)
(cgm)
(cgn)
(cgo)
(cgp)
(cgq)
(cgr)
(cgs)
(cgt)
(cgu)
(cgv)
(cgw)
(cgx)
(cgy)
(cgz)
(cha)
(chb)
(chc)
(chd)
(che)
(chf)
(chg)
(chh)
(chi)
(chj)
(chk)
(chl)
(chm)
(chn)
(cho)
(chp)
(chq)
(chr)
(chs)
(cht)
(chu)
(chv)
(chw)
(chx)
(chy)
(chz)
(cia)
(cib)
(cic)
(cid)
(cie)
(cif)
(cig)
(cih)
(cii)
(cij)
(cik)
(cil)
(cim)
(cin)
(cio)
(cip)
(ciq)
(cir)
(cis)
(cit)
(ciu)
(civ)
(ciw)
(cix)
(ciy)
(ciz)
(cja)
(cjb)
(cjc)
(cjd)
(cje)
(cjf)
(cjg)
(cjh)
(cji)
(cjj)
(cjk)
(cjl)
(cjm)
(cjn)
(cjo)
(cjp)
(cjq)
(cjr)
(cjs)
(cjt)
(cju)
(cjv)
(cjw)
(cjx)
(cjy)
(cjz)
(cka)
(ckb)
(ckc)
(ckd)
(cke)
(ckf)
(ckg)
(ckh)
(cki)
(ckj)
(ckk)
(ckl)
(ckm)
(ckn)
(cko)
(ckp)
(ckq)
(ckr)
(cks)
(ckt)
(cku)
(ckv)
(ckw)
(ckx)
(cky)
(ckz)
(cla)
(clb)
(clc)
(cld)
(cle)
(clf)
(clg)
(clh)
(cli)
(clj)
(clk)
(cll)
(clm)
(cln)
(clo)
(clp)
(clq)
(clr)
(cls)
(clt)
(clu)
(clv)
(clw)
(clx)
(cly)
(clz)
(cma)
(cmb)
(cmc)
(cmd)
(cme)
(cmf)
(cmg)
(cmh)
(cmi)
(cmj)
(cmk)
(cml)
(cmm)
(cmn)
(cmo)
(cmp)
(cmq)
(cmr)
(cms)
(cmt)
(cmu)
(cmv)
(cmw)
(cmx)
(cmy)
(cmz)
(cna)
(cnb)
(cnc)
(cnd)
(cne)
(cnf)
(cng)
(cnh)
(cni)
(cnj)
(cnk)
(cnl)
(cnm)
(cnn)
(cno)
(cnp)
(cnq)
(cnr)
(cns)
(cnt)
(cnu)
(cnv)
(cnw)
(cnx)
(cny)
(cnz)
(coa)
(cob)
(coc)
(cod)
(coe)
(cof)
(cog)
(coh)
(coi)
(coj)
(cok)
(col)
(com)
(con)
(coo)
(cop)
(coq)
(cor)
(cos)
(cot)
(cou)
(cov)
(cow)
(cox)
(coy)
(coz)
(cpa)
(cpb)
(cpc)
(cpd)
(cpe)
(cpf)
(cpg)
(cph)
(cpi)
(cpj)
(cpk)
(cpl)
(cpm)
(cpn)
(cpo)
(cpp)
(cpq)
(cpr)
(cps)
(cpt)
(cpu)
(cpv)
(cpw)
(cpx)
(cpy)
(cpz)
(cqa)
(cqb)
(cqc)
(cqd)
(cqe)
(cqf)
(cqg)
(cqh)
(cqi)
(cqj)
(cqk)
(cql)
(cqm)
(cqn)
(cqo)
(cqp)
(cqq)
(cqr)
(cqs)
(cqt)
(cqu)
(cqv)
(cqw)
(cqx)
(cqy)
(cqz)
(cra)
(crb)
(crc)
(crd)
(cre)
(crf)
(crg)
(crh)
(cri)
(crj)
(crk)
(crl)
(crm)
(crn)
(cro)
(crp)
(crq)
(crr)
(crs)
(crt)
(cru)
(crv)
(crw)
(crx)
(cry)
(crz)
(csa)
(csb)
(csc)
(csd)
(cse)
(csf)
(csg)
(csh)
(csi)
(csj)
(csk)
(csl)
(csm)
(csn)
(cso)
(csp)
(csq)
(csr)
(css)
(cst)
(csu)
(csv)
(csw)
(csx)
(csy)
(csz)
(cta)
(ctb)
(ctc)
(ctd)
(cte)
(ctf)
(ctg)
(cth)
(cti)
(ctj)
(ctk)
(ctl)
(ctm)
(ctn)
(cto)
(ctp)
(ctq)
(ctr)
(cts)
(ctt)
(ctu)
(ctv)
(ctw)
(ctx)
(cty)
(ctz)
(cua)
(cub)
(cuc)
(cud)
(cue)
(cuf)
(cug)
(cuh)
(cui)
(cuj)
(cuk)
(cul)
(cum)
(cun)
(cuo)
(cup)
(cuq)
(cur)
(cus)
(cut)
(cuu)
(cuv)
(cuw)
(cux)
(cuy)
(cuz)
(cva)
(cvb)
(cvc)
(cvd)
(cve)
(cvf)
(cvg)
(cvh)
(cvi)
(cvj)
(cvk)
(cvl)
(cvm)
(cvn)
(cvo)
(cvp)
(cvq)
(cvr)
(cvs)
(cvt)
(cvu)
(cvv)
(cvw)
(cvx)
(cvy)
(cvz)
(cwa)
(cwb)
(cwc)
(cwd)
(cwe)
(cwf)
(cwg)
(cwh)
(cwi)
(cwj)
(cwk)
(cwl)
(cwm)
(cwn)
(cwo)
(cwp)
(cwq)
(cwr)
(cws)
(cwt)
(cwu)
(cwv)
(cww)
(cwx)
(cwy)
(cwz)
(cxa)
(cxb)
(cxc)
(cxd)
(cxe)
(cxf)
(cxg)
(cxh)
(cxi)
(cxj)
(cxk)
(cxl)
(cxm)
(cxn)
(cxo)
(cxp)
(cxq)
(cxr)
(cxs)
(cxt)
(cxu)
(cxv)
(cxw)
(cxx)
(cxy)
(cxz)
(cya)
(cyb)
(cyc)
(cyd)
(cye)
(cyf)
(cyg)
(cyh)
(cyi)
(cyj)
(cyk)
(cyl)
(cym)
(cyn)
(cyo)
(cyp)
(cyq)
(cyr)
(cys)
(cyt)
(cyu)
(cyv)
(cyw)
(cyx)
(cyy)
(cyz)
(cza)
(czb)
(czc)
(czd)
(cze)
(czf)
(czg)
(czh)
(czi)
(czj)
(czk)
(czl)
(czm)
(czn)
(czo)
(czp)
(czq)
(czr)
(czs)
(czt)
(czu)
(czv)
(czw)
(czx)
(czy)
(czz)
(daa)
(dab)
(dac)
(dad)
(dae)
(daf)
(dag)
(dah)
(dai)
(daj)
(dak)
(dal)
(dam)
(dan)
(dao)
(dap)
(daq)
(dar)
(das)
(dat)
(dau)
(dav)
(daw)
(dax)
(day)
(daz)
(dba)
(dbb)
(dbc)
(dbd)
(dbe)
(dbf)
(dbg)
(dbh)
(dbi)
(dbj)
(dbk)
(dbl)
(dbm)
(dbn)
(dbo)
(dbp)
(dbq)
(dbr)
(dbs)
(dbt)
(dbu)
(dbv)
(dbw)
(dbx)
(dby)
(dbz)
(dca)
(dcb)
(dcc)
(dcd)
(dce)
(dcf)
(dcg)
(dch)
(dci)
(dcj)
(dck)
(dcl)
(dcm)
(dcn)
(dco)
(dcp)
(dcq)
(dcr)
(dcs)
(dct)
(dcu)
(dcv)
(dcw)
(dcx)
(dcy)
(dcz)
(dda)
(ddb)
(ddc)
(ddd)
(dde)
(ddf)
(ddg)
(ddh)
(ddi)
(ddj)
(ddk)
(ddl)
(ddm)
(ddn)
(ddo)
(ddp)
(ddq)
(ddr)
(dds)
(ddt)
(ddu)
(ddv)
(ddw)
(ddx)
(ddy)
(ddz)
(dea)
(deb)
(dec)
(ded)
(dee)
(def)
(deg)
(deh)
(dei)
(dej)
(dek)
(del)
(dem)
(den)
(deo)
(dep)
(deq)
(der)
(des)
(det)
(deu)
(dev)
(dew)
(dex)
(dey)
(dez)
(dfa)
(dfb)
(dfc)
(dfd)
(dfe)
(dff)
(dfg)
(dfh)
(dfi)
(dfj)
(dfk)
(dfl)
(dfm)
(dfn)
(dfo)
(dfp)
(dfq)
(dfr)
(dfs)
(dft)
(dfu)
(dfv)
(dfw)
(dfx)
(dfy)
(dfz)
(dga)
(dgb)
(dgc)
(dgd)
(dge)
(dgf)
(dgg)
(dgh)
(dgi)
(dgj)
(dgk)
(dgl)
(dgm)
(dgn)
(dgo)
(dgp)
(dgq)
(dgr)
(dgs)
(dgt)
(dgu)
(dgv)
(dgw)
(dgx)
(dgy)
(dgz)
(dha)
(dhb)
(dhc)
(dhd)
(dhe)
(dhf)
(dhg)
(dhh)
(dhi)
(dhj)
(dhk)
(dhl)
(dhm)
(dhn)
(dho)
(dhp)
(dhq)
(dhr)
(dhs)
(dht)
(dhu)
(dhv)
(dhw)
(dhx)
(dhy)
(dhz)
(dia)
(dib)
(dic)
(did)
(die)
(dif)
(dig)
(dih)
(dii)
(dij)
(dik)
(dil)
(dim)
(din)
(dio)
(dip)
(diq)
(dir)
(dis)
(dit)
(diu)
(div)
(diw)
(dix)
(diy)
(diz)
(dja)
(djb)
(djc)
(djd)
(dje)
(djf)
(djg)
(djh)
(dji)
(djj)
(djk)
(djl)
(djm)
(djn)
(djo)
(djp)
(djq)
(djr)
(djs)
(djt)
(dju)
(djv)
(djw)
(djx)
(djy)
(djz)
(dka)
(dkb)
(dkc)
(dkd)
(dke)
(dkf)
(dkg)
(dkh)
(dki)
(dkj)
(dkk)
(dkl)
(dkm)
(dkn)
(dko)
(dkp)
(dkq)
(dkr)
(dks

第一導光元件
第一側
第一出光面
第一入光面
第一底面
第二導光元件
第二側
第二出光面
第二入光面
第二底面
光學膜片
光源
光學膜片
光源

【圖 2A】

【圖 2B】

圖 7-3

（圖7A）　（圖7B）

圖 3B

圖 3A

圖 3A

圖 3B

圖 1A

圖 1B

序列號	長度	類型	序列
序列號 1	長度 1	類型 1	序列 1
序列號 2	長度 2	類型 2	序列 2
序列號 3	長度 3	類型 3	序列 3
序列號 4	長度 4	類型 4	序列 4

圖 17

圖 7 (28)

【圖 2.3】

【圖 2.4】

圖 22

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="tw" dtdVersion="V1_3" fileName="C250312SEQA-
revised.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2023-03-10">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>PCT/US2022/043808</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-09-16</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>51509-031WO2</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/245,354</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-09-17</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="tw">美商旗艦先鋒創新有限責任公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS VI,
LLC</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="en">COMPOSITIONS AND METHODS FOR PRODUCING
CIRCULAR POLYRIBONUCLEOTIDES</InventionTitle>
 <InventionTitle languageCode="tw">用於產生環狀多核糖核苷酸之組成物和方法
</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>99</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q6">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>agacgctacgga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="8">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q8">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgttt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q9">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgttt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q11">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaacggtcgt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q12">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaacggtcgtgtggg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q16">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aaggtaaatatt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q17">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>aatatttacctt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q23">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q24">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacggtcgt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q26">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaaacggtcgtgtggg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q27">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgtttagacgctacgga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>131</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..131</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q28">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttacagctagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctaccctaacgt
caagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatg</INSDSeq_s
equence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="29">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q29">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaaactcagggaaacctaaatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagtt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q30">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cttctgttgatatggatgcagttcacagactaaatgtcggtcggggaagatgtattcttctc
ataagatatagtcggacctctccttaatgggagctagcggatgaagtgatgcaacactggagccgctgggaactaatttg
tatgcgaaagtatattgattagttttggagtactcg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>235</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..235</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q31">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaatagcaatatttacctttggagggaaaagttatcaggcatgcacctggtagctagtcttt
aaaccaatagattgcatcggtttaaaaggcaagaccgtcaaattgcgggaaaggggtcaacagccgttcagtaccaagtc
tcaggggaaactttgagatggccttgcaaagggtatggtaataagctgacggacatggtcctaaccacgcagccaagtcc
taagtcaacagat</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>167</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..167</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggttctacataaatgcctaacgactatccctttggggagtagggtcaagtgactcgaaacga
tagacaacttgctttaacaagttggagatatagtctgctctgcatggtgacatgcagctggatataattccggggtaaga
ttaacgaccttatctgaacataatg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>93</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..93</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q33">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taattgaggcctgagtataaggtgacttatacttgtaatctatctaaacggggaacctctct
agtagacaatcccgtgctaaattgtaggact</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>agaatgaaaatc</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ggacttaaataa</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tactcgtaaggt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q37">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ctctctaaatag</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ataatgctaccg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttgggttaattg</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="40">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q40">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaatccgttgaccttaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="41">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q41">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaatccgtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="42">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q42">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>acgaccgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccacacgaccgtttagacgctacggactt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>taaggtaaatattgc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="48">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q48">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgactctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q49">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ctaccgtttaatatt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ctcaattttaatatt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q51">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atgttttcttgggt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIEENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q54">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>VEPNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q55">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>IETNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q56">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GDIESNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="57">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
```

```
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q57">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVELNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q58">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIETNPGP</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q59">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVEENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q61">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVEQNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q63">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIELNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>HDIETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="65">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q65">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>HDVETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q66">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>HDVEMNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q67">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDMESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q68">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDVETNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q69">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GDIEQNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q70">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DSEFNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q71">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>CHYSEL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q72">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
```

```
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q100">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>G, H, or absent</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>G、H或不存在</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q101">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>D, G, or absent</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>D、G或不存在</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>3</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q102">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>D, V, I, S, or M</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>D、V、I、S或M</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q103">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
   <NonEnglishQualifier_value>X係任何胺基酸</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>XXXEXNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q104">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q105">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>V or I</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>V或I</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q106">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>X係任何胺基酸</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DXEXNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q107">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ccrrccatgg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>182</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..182</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q108">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>taaacaactaacagctttagaaggtgcagagactagacgggagctaccctaacggattcagc
cgagggtaaagggatagtccaattctcaacatcgcgattgttgatggcagcgaaagttgcagagagaatgaaaatccgct
gactgtaaaggtcgtgagggttcgagtccctccgcccccca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>128</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
```

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q109">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>acggtagacgcagcggacttagaaaactgggcctcgatcgcgaaagggatcgagtggcagct
ctcaaactcagggaaacctaaaactttaaacattmaagtcatggcaatcctgagccaagctaaagc</INSDSeq_sequ
ence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>210</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..210</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q110">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttaaactcaaaatttaaaatcccaaattcaaaattccgggaaggtgcagagactcgacggga
gctaccctaacgtaaagccgagggtaaagggagagtccaattctcaaagcctgaagttgctgaagcaacaaggcagtagt

gaaagctgcgagagaatgaaaatccgttgactgtaaaaagtcgtgggggttcaagtccccccaccccc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>151</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..151</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q111">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggtagacgctacggacttagaaaactgagccttgatagagaaatcttttaagtggaagctctcaaattcagggaaacctaaatctgaatacagatatggcaatcctgagccaagcccagaaaatttagacttgagatttgattttggag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>207</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```
      <INSDFeature_location>1..207</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q112">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>柱孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggctttcaatttgaaatcagaaattcaaaattcagggaaggtgcagagactcgacgggagct
accctaacgtaaaggcgagggtaaagggagagtccaattcttaaagcctgaagttgtgcaagcaacaaggcaacagtgaa
agctgtggaagaatgaaaatccgttgaccttaaacggtcgtgggggttcaagtccccccaccccc</INSDSeq_seque
nce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="85">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>147</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..147</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q113">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>柱孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggtagacgctacggacttagaaaactgagccttgatagagaaatctttcaagtggaagct
ctcaaattcagggaaacctaaatctgaatacagatatggcaatcctgagccaagcccggaaattttagaatcaagatttt
atttt</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="86">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q126">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaaatggagaaggtgtagagactggaaggcaggcaccctaacgttaaaggcgagggtgaag
gacagtccagaccacaaaccagtaaatctgggcagcgaaagctgtagatggtaagcataacccgaaggtcagtggttca
aatccacttcccgccaccaaattaaaaaaacaataa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="87">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>178</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..178</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q127">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaaatggagaaggtgtagagactggaaggcaggcaccctaacgttaaaggcgagggtgaag
gacagtccagaccacaaaccagtaaatctgggcagcgaaagctgtagatggtaagcataacccgaaggtcagtggttca
aatccacttcccgccaccaaattaaaaaaacaataa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="88">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>190</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..190</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q128">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

<INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttactaacttacagctagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctac
cctaacgtcaagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatgaaa
atccgtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>141</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..141</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q129">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agacgctacggacttaaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaa
actcagggaaacctaaatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagttagtaagtt<
/INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>186</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..186</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q130">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacaacagataacttactagttactagtcggaaggtgcagagactcgacgggagctacccta
acgtcaagacgagggtaaagagagagtccaattctcaaagccaataggcagtagcgaaagctgcgggagaatgaaaatcc
gtagcgtctaaacggtcgtgtgggttcaagtccctccaccccca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="91">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>133</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..133</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q131">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena sp.</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>魚腥藻種</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agacgctacggacttaaataattgagccttagagaagaaattctttaagtggatgctctcaa
actcagggaaacctaaatctagctatagacaaggcaatcctgagccaagccgaagtagtaattagtaagtt</INSDSeq
_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="92">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q132">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgctgactgtaaagg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="93">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q133">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synechococcus elongatus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>細長聚球藻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tccgctgcgtctaccgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q134">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tccgttgactgtaaaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="95">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q135">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena azollae</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>滿江紅魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaccat</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q136">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgttgaccttaaacg</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q137">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Anabaena cylindrica</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>孢魚腥藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>tccgtagcgtctaccat</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q138">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cccgaaggtcagtggtt</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q139">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Scytonema hofmannii</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>霍夫曼偽枝藻</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>cccgacgagctaccagg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```