



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107743522 B

(45) 授权公告日 2022.11.11

-
- (21) 申请号 201680034444.4
(22) 申请日 2016.04.13
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 107743522 A
(43) 申请公布日 2018.02.27
(30) 优先权数据
 62/146,604 2015.04.13 US
 62/261,361 2015.12.01 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2017.12.12
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2016/027271 2016.04.13
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02016/168286 EN 2016.10.20
(73) 专利权人 阿尔尼拉姆医药品有限公司
 地址 美国马萨诸塞州
(72) 发明人 W·奎贝斯 K·菲茨杰拉德
 J·巴特勒 S·威廉斯
 G·辛克尔 M·迈尔
(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
 11256
 专利代理师 陈文平
(51) Int.Cl.
 C12N 15/113 (2010.01)
 A61K 31/7088 (2006.01)
 A61P 3/06 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 102753186 A, 2012.10.24
 CN 103890000 A, 2014.06.25
 CN 104105790 A, 2014.10.15
 WO 2011085271 A3, 2011.09.09
 审查员 李影
 权利要求书2页 说明书96页
 序列表243页 附图23页
-

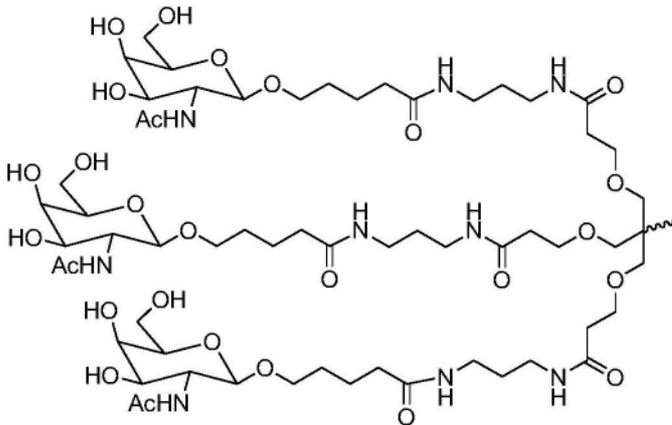
(54) 发明名称

类血管生成素3 (ANGPTL3) iRNA组合物及其使用方法

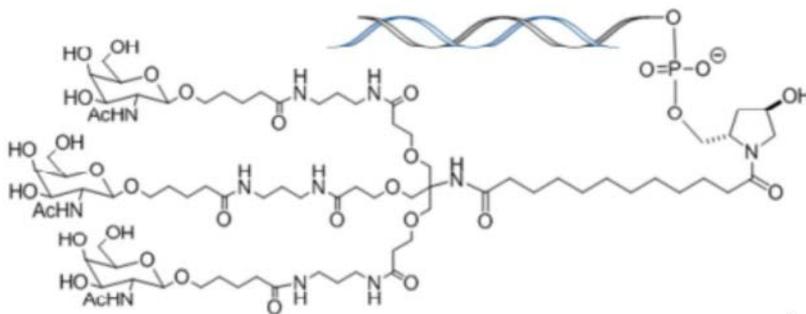
(57) 摘要

本发明涉及靶向ANGPTL3基因的双链核糖核酸(dsRNA)组合物,以及使用此种dsRNA组合物来抑制ANGPTL3表达的方法及治疗具有脂质代谢障碍,诸如高血脂症或高三酸甘油酯血症的受试者的方法。

1. 一种抑制类血管生成素3 (ANGPTL3) 表达的双链核糖核酸 (dsRNA) 试剂，其中该dsRNA试剂包括形成双链区的有义链及反义链，其中所述有义链包含5' -CCAGAAGUAACUUCACUAAAA-3' (SEQ ID NO:470) 的核苷酸序列和所述反义链包含5' -UUUAAGUGAAGUUACUUCUGGGU-3' (SEQ ID NO:511) 的核苷酸序列，或其中所述有义链包含5' -CACUAAAAACUUUUGUAGAAA-3' (SEQ ID NO:488) 的核苷酸序列和所述反义链包含5' -UUUCUACAAAAGUUUUAAGUGAA-3' (SEQ ID NO:529) 的核苷酸序列，其中所述有义链的所有的核苷酸和所述反义链的所有的核苷酸是修饰的核苷酸，其中所述修饰的核苷酸中的至少一者选自2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、包含5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸、无碱基核苷酸、和2'-氨基修饰的核苷酸，和其中包含N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物的配体缀合至所述dsRNA试剂的至少一条链。
2. 如权利要求1所述的dsRNA试剂，其进一步包括至少一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键。
3. 如权利要求1所述的dsRNA试剂，其中至少一条链包含至少一个核苷酸的3'突出端。
4. 如权利要求3所述的dsRNA试剂，其中至少一条链包含具有至少2个核苷酸的3'突出端。
5. 如权利要求1所述的dsRNA试剂，其中该配体与该dsRNA试剂的有义链的3'端轭合。
6. 如权利要求1所述的dsRNA试剂，其中该配体是



7. 如权利要求6所述的dsRNA试剂，其中该dsRNA试剂缀合至以下示意图中所示的配体



8. 一种细胞，该细胞含有权利要求1所述的dsRNA试剂。
9. 一种抑制ANGPTL3基因表达的药物组合物，该药物组合物包括权利要求1所述的dsRNA试剂。

10. 一种用于抑制细胞中ANGPTL3表达的体外方法,该方法包括:
 - (a) 使细胞与权利要求1至7中任一项所述的dsRNA接触;并且
 - (b) 维持步骤(a)产生的细胞经一段时间,该时间足以得到ANGPTL3基因的mRNA转录本的降解,从而抑制细胞中的ANGPTL3基因表达。
11. 如权利要求10所述的方法,其中至少抑制30%的ANGPTL3表达。
12. 如权利要求1所述的dsRNA试剂在制备用于治疗脂质代谢障碍的药物中的用途。
13. 如权利要求12所述的用途,其中该脂质代谢障碍为高血脂症、肥胖症、动脉粥样硬化、糖尿病或心血管疾病。
14. 如权利要求13所述的用途,其中给予该受试者该dsRNA试剂造成一种或多种血清脂质的减少及ANGPTL3蛋白质累积的减低。
15. 如权利要求2所述的dsRNA试剂,其中所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键是在一条链的3'端。
16. 如权利要求15所述的dsRNA试剂,其中所述链是反义链。
17. 如权利要求12所述的用途,其进一步包括向所述受试者施用另外的治疗剂。
18. 如权利要求17所述的用途,其中所述另外的治疗剂是他汀类。
19. 如权利要求12所述的用途,其中所述dsRNA试剂用于以0.1mg/kg至5mg/kg的剂量施用。
20. 如权利要求12所述的用途,其中所述dsRNA试剂用于以0.01mg/kg至50mg/kg的剂量施用。
21. 如权利要求1所述的dsRNA试剂,其中所述修饰核苷酸选自2'-O-甲基修饰的核苷酸和2'-氟修饰的核苷酸;

其中所述反义链包括在3'-端三个末端核苷酸之间的两个硫代磷酸酯核苷酸间键和在5'端三个末端核苷酸之间的两个硫代磷酸酯核苷酸间键;

其中所述有义链包括在5'端三个末端核苷酸之间的两个硫代磷酸酯核苷酸间键。
22. 如权利要求13所述的用途,其中所述高血脂症是高三酸甘油血症。
23. 如权利要求13所述的用途,其中所述心血管疾病是冠状动脉疾病。

类血管生成素3 (ANGPTL3) iRNA组合物及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2015年4月13日提交的美国临时申请案号62/146,604 及2015年12月1日提交的美国临时申请案号62/261,361的优先权的利益。前述申请的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已经以电子方式以ASCII格式提交并且特此通过引用以其全文结合的序列表。所述ASCII复本创建于2016年4月12日,命名为121301-03320_SL.txt及大小为213,246字节。

[0005] 发明背景

[0006] 类血管生成素3 (ANGPTL3) 为分泌调控脂质代谢的因子的类血管生成素家族的成员及主要在肝脏中表达 (Koishi,R.等人,(2002) Nat. Genet. 30 (2) :151-157)。ANGPTL3双重抑制催化三酸甘油酯水解的脂蛋白脂肪酶 (LPL),及水解高密度脂蛋白 (HDL) 磷脂类的内皮脂肪酶 (EL) 的催化活性。在降血脂但肥胖的KK/Snk小鼠中,降低ANGPTL3 表达经由促进清除三酸甘油酯而对高血脂症及动脉粥样硬化具有保护效应 (Ando等人,(2003) J.Lipid Res.,44:1216-1223)。人类ANGPTL3 血浆浓度与血浆HDL胆固醇及HDL磷脂的水平正相关 (Shimamura等人,(2007) Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.,27:366-372)。

[0007] 脂质代谢障碍可导致血清脂质,诸如三酸甘油酯和/或胆固醇的水平升高。血清脂质升高与高血压、心血管疾病、糖尿病及其他病理状况强烈相关。高三酸甘油酯血症为脂质代谢障碍的实例,其特征为三酸甘油酯的高血液水平。这与动脉粥样硬化有关,即使在没有高胆固醇水平 (高胆固醇血症) 的情况。当三酸甘油酯浓度过量时 (即,大于1000mg/dl 或12mmol/l),高三酸甘油酯血症也可导致胰腺炎。高血脂症为脂质代谢障碍的另一个实例,其特征为血液中任一种或全部脂质和/或脂蛋白的水平升高。脂质代谢障碍的现有治疗,包含节食、运动及用他汀类 (statins) 及其他药物治疗,并不总是有效的。据此,在本领域中针对具有脂质代谢障碍的受试者的替代治疗存在需求。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明提供iRNA组合物,该iRNA组合物有效应于ANGPTL3基因的RNA转录本的RNA诱导沉默复合体 (RISC) 介导的切割。该 ANGPTL3基因可以在细胞例如受试者 (例如人) 体内的细胞的内部。本发明还提供使用本发明iRNA组合物用于抑制ANGPTL3基因表达和/ 或用于治疗可从ANGPTL3基因表达的抑制或减低而受益的受试者的方法,如,患有或易患有脂质代谢障碍的受试者,诸如患有或易患有高血脂症或高三酸甘油酯血症的受试者。

[0010] 据此,一方面,本发明提供双链核糖核酸 (dsRNA),用于抑制 ANGPTL3表达。该 dsRNA包括有义链和反义链,其中该有义链包括与 SEQ ID NO:1的核苷酸序列差异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,并且该反义链包括与SEQ ID NO:5的核苷酸序列差异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。在某些实施例中,dsRNA包含有义链及反义链,其中有义链包括与表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任何一个表中所列的任何一个反义链的差异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。

[0011] 另一方面,本发明提供双链核糖核酸(dsRNA),用于抑制ANGPTL3 表达。dsRNA包含有义链及反义链,反义链包括互补区,而该互补区包括与选自下列组成的组的任何一个核苷酸序列的差异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸:

- [0012] 5'-GAAUAUGUCACUUGAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:14)
[0013] 5'-UTGAGUUCAAGTGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:15),
[0014] 5'-GAAUATGUGACUUGAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:16)
[0015] 5'-UUGAGUUCAAGUGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:17),
[0016] 5'-AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU-3' (SEQ ID NO:18)
[0017] 5'-AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG-3' (SEQ ID NO:19),
[0018] 5'-ACAUUUUGAUCAGUCUUUUU-3' (SEQ ID NO:20)
[0019] 5'-AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG-3' (SEQ ID NO:21);
[0020] 5'-UGUCACUUGAACUCAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:22)
[0021] 5'-UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAU-3' (SEQ ID NO:23);
[0022] 5'-AACUAACUAACUAAUUCAAA-3' (SEQ ID NO:24)
[0023] 5'-UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC-3' (SEQ ID NO:25);
[0024] 5'-UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU-3' (SEQ ID NO:26)
[0025] 5'-AAAGAAGGAGCUUAAUUGUGAAC-3' (SEQ ID NO:27);
[0026] 5'-GAGCAACUAACUAACUAAUU-3' (SEQ ID NO:28)
[0027] 5'-AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU-3' (SEQ ID NO:29);
[0028] 5'-UUAUUGUCCUCUAGUUAUUU-3' (SEQ ID NO:30)
[0029] 5'-AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA-3' (SEQ ID NO:31);
[0030] 5'-AUUAAGCUCCUUCUUUUUAAU-3' (SEQ ID NO:32)
[0031] 5'-AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG-3' (SEQ ID NO:33);
[0032] 5'-GAAUAUGUCACUUGAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:34)
[0033] 5'-UUGAGUUCAAGUGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:35);
[0034] 5'-CAACAUUUUGAUCAGUCUUU-3' (SEQ ID NO:36)
[0035] 5'-AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG-3' (SEQ ID NO:37);及
[0036] 5'-CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA-3' (SEQ ID NO:38)
[0037] 5'-UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA-3' (SEQ ID NO:39)。

[0038] 在某些实施例中,有义及反义链包括选自下列组成的组的核苷酸序列:

- [0039] 5'-GAAUAUGUCACUUGAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:14)
[0040] 5'-UTGAGUUCAAGTGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:15),
[0041] 5'-GAAUATGUGACUUGAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:16)
[0042] 5'-UUGAGUUCAAGUGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:17),
[0043] 5'-AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU-3' (SEQ ID NO:18)
[0044] 5'-AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG-3' (SEQ ID NO:19),
[0045] 5'-ACAUUUUGAUCAGUCUUUUU-3' (SEQ ID NO:20)
[0046] 5'-AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG-3' (SEQ ID NO:21);
[0047] 5'-UGUCACUUGAACUCAACUCAAA-3' (SEQ ID NO:22)

- [0048] 5' -UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAU-3' (SEQ ID NO:23) ;
- [0049] 5' -AACUAACUAAUUAUUCAAA-3' (SEQ ID NO:24)
- [0050] 5' -UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC-3' (SEQ ID NO:25) ;
- [0051] 5' -UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU-3' (SEQ ID NO:26)
- [0052] 5' -AAAGAAGGAGCUAAUUGUGAAC-3' (SEQ ID NO:27) ;
- [0053] 5' -GAGCAACUAAACUAAUUAUU-3' (SEQ ID NO:28)
- [0054] 5' -AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU-3' (SEQ ID NO:29) ;
- [0055] 5' -UUAUUGUCCUCUAGUUAUUU-3' (SEQ ID NO:30)
- [0056] 5' -AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA-3' (SEQ ID NO:31) ;
- [0057] 5' -AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU-3' (SEQ ID NO:32)
- [0058] 5' -AAUAAAAAGAAGGAGCUAAUUG-3 (SEQ ID NO:33)' ;
- [0059] 5' -GAAUAUGUCACUUGAACUCAA-3' (SEQ ID NO:34)
- [0060] 5' -UUGAGUUCAAGUGACAUUUCUU-3' (SEQ ID NO:35) ;
- [0061] 5' -CAACAUUUUGAUCAGUCUUU-3' (SEQ ID NO:36)
- [0062] 5' -AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG-3' (SEQ ID NO:37) ;及
- [0063] 5' -CUCCAUGUGAAGCAAUCUAA-3' (SEQ ID NO:38)
- [0064] 5' -UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA-3' (SEQ ID NO:39)。

[0065] 在某些实施例中, dsRNA包括至少一个修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA在有义链中包括不超过4 (即, 4、3、2、1或0) 个未修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA在反义链中包括不超过4 (即, 4、3、2、1或0) 个未修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA在有义链及反义链两者中包括不超过4 (即, 4、3、2、1或0) 个未修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA的所有有义链中的核苷酸均为修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA的所有反义链中的核苷酸均为修饰核苷酸。在某些实施例中, dsRNA的有义链中的所有核苷酸及反义链中所有的核苷酸均为修饰核苷酸。

[0066] 在某些实施例中, 修饰核苷酸独立选自自由2'-O-甲基修饰核苷酸、包括5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸及与胆固醇基衍生物或十二酸双癸酰胺基团相连接的末端核苷酸所组成的组。在某些实施例中, 修饰核苷酸选自自由2'-脱氧-2'-氟修饰核苷酸、2'-脱氧-修饰核苷酸、锁核苷酸、无碱基核苷酸 (abasic nucleotide)、2'-氨基-修饰核苷酸、2'-烷基-修饰核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯及含非天然碱基的核苷酸所组成的组。

[0067] 在某些实施例中, dsRNA包括至少17个核苷酸长度的互补区。在某些实施例中, dsRNA包括19及23个核苷酸长度的互补区。在某些实施例中, dsRNA包括19个核苷酸长度的互补区。

[0068] 在某些实施例中, dsRNA的各链不超过30个核苷酸长度。在某些实施例中, dsRNA为至少15个核苷酸长度。

[0069] 在其他实施例中, 本发明双链RNAi药剂的一条链或两条链多达66个核苷酸长度, 如, 36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53个核苷酸长度, 有至少19个连续核苷酸的区域, 而该区域实质上与ISNR基因的mRNA转录本的至少一部份互补。在一些实施例中, 有义及反义链形成18至30个连续核苷酸的双链体 (duplex)。

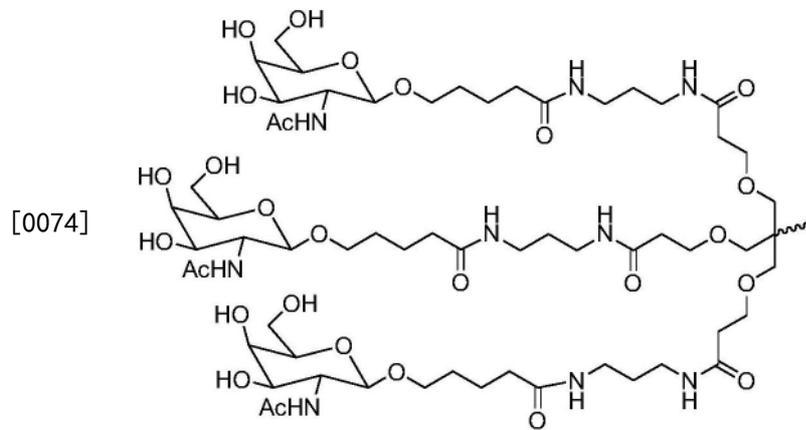
[0070] 在一实施例中, RNAi药剂的至少一条链包括至少1个核苷酸的3' 突出端。在某些

实施例中,至少一条链包括至少2个核苷酸的3'突出端,如,2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸。在其他实施例中,RNAi药剂的至少一条链包括至少1个核苷酸的5'突出端。在某些实施例中,至少一条链包括至少2个核苷酸的5'突出端,如,2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸。在又其他的实施例中,RNAi药剂的一条链的3'及5'皆包括至少1个核苷酸的突出端。

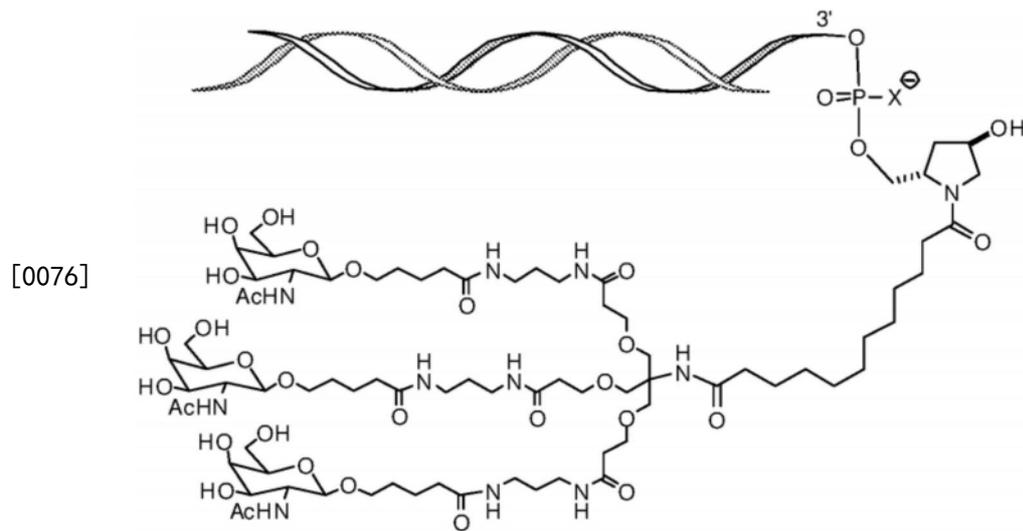
[0071] 在某些实施例中,双链RNAi药剂进一步包括配体。在某些实施例中,配体为N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)。配体可以是经由单价、二价或三价分支接头而附接于RNAi药剂的一个或多个GalNAc。配体可结合至双链RNAi药剂的有义链的3'端、双链RNAi药剂的有义链的5'端、双链RNAi药剂的反义链的3'端或双链RNAi药剂的反义链的5'端。

[0072] 在一些实施例中,本发明的双链RNAi药剂包括复数个GalNAc,如,2、3、4、5或6个,各独立经由复数个单价接头而附接于双链RNAi药剂的复数个核苷酸。

[0073] 在某些实施例中,配体为



[0075] 在某些实施例中,双链RNAi药剂如下列示意图所示与配体结合



[0077] 及,其中X为O或S。在一实施例中,该X为O。

[0078] 在某些实施例中,dsRNA包括选自下列组成的组的双链体: AD-57927.6、AD-63133.1、AD-63136.1、AD-63137.1、AD-63139.1、AD-63142.1、AD-63143.1、AD-63144.1、AD-63145.1、AD-63148.1、AD-63149.1、AD-63150.1、AD-63151.1、AD-63153.1、AD-63154.1、AD-63156.1、AD-63157.1、AD-63160.1、AD-63162.1、AD-63163.1、AD-63167.1、

AD-63168.1、AD-63170.1、AD-63173.1、AD-63174.1、AD-63175.1、AD-63176.1、AD-63177.1、AD-63179.1、AD-63181.1、AD-66916、AD-66920、AD-66921、AD-66923、AD-66922、AD-66917、AD-66918、AD-66919、AD-66924、AD66925及AD-63185.1。在某些实施例中，dsRNA包括选自下列组成的组的双链体：AD-57927.6、AD-63136.1、AD-63137.1、AD-63142.1、AD-63148.1、AD-63151.1、AD-63156.1、AD-63157.1、AD-63160.1、AD-63163.1、AD-63167.1、AD-63170.1、AD-63173.1、AD-63174.1、AD-63176.1、AD-66916、AD-66920、AD-66921、AD-66923、AD-66922、AD-66917、AD-66918、AD-66919、AD-66924、AD66925、AD-67173、AD-67174、AD-67007、及AD-63179.1。在一实施例中，dsRNA的有义及反义链包括选自下列组成的组的核苷酸序列：

- [0079] 5' -ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu-3' (SEQ ID NO:40)
 [0080] 5' -asAfsaaaGfacugaucAfaAfuauugusug-3' (SEQ ID NO:41) ;
 [0081] 5' -usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96-3' (SEQ ID NO:42)
 [0082] 5' -usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa-3' (SEQ ID NO:43) ;
 [0083] 5' -gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa-3' (SEQ ID NO:44)
 [0084] 5' -usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu-3' (SEQ ID NO:45) ;
 [0085] 5' -gsasauadTgudGacuugaa (Cgn) ucaa-3' (SEQ ID NO:46)
 [0086] 5' -usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu-3' (SEQ ID NO:47) ;
 [0087] 5' -asusuaadGcudGcuucuuu (Tgn) uauu-3' (SEQ ID NO:48)
 [0088] 5' -asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaausug-3' (SEQ ID NO:49) ;
 [0089] 5' -AfscaAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf-3' (SEQ ID NO:50)
 [0090] 5' -asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug-3' (SEQ ID NO:51) ;
 [0091] 5' -UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf-3' (SEQ ID NO:52)
 [0092] 5' -usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa-3' (SEQ ID NO:53) ;
 [0093] 5' -asascuaaCfuAfAfCfuuaaucaaa-3' (SEQ ID NO:54) ,
 [0094] 5' -usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc-3' (SEQ ID NO:55) ;
 [0095] 5' -uscsacaaUfuAfAfGfcuccuucuuu-3' (SEQ ID NO:56)
 [0096] 5' -asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc-3' (SEQ ID NO:57) ;
 [0097] 5' -gsasgcaaCfuAfAfCfuuaauuu-3' (SEQ ID NO:58)
 [0098] 5' -asAfsuaaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu-3' (SEQ ID NO:59) ;
 [0099] 5' -ususauugUfuCfCfUfcuaguuuuu-3' (SEQ ID NO:60)
 [0100] 5' -asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfaauaasasa-3' (SEQ ID NO:61) ;
 [0101] 5' -asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuuuu-3' (SEQ ID NO:62)
 [0102] 5' -asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaausug-3' (SEQ ID NO:63) ;
 [0103] 5' -gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa-3' (SEQ ID NO:64)
 [0104] 5' -usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu-3' (SEQ ID NO:65) ;
 [0105] 5' -csasacauAfuUfUfGfaucagucuuu-3' (SEQ ID NO:66)
 [0106] 5' -asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuuguugsasg-3' (SEQ ID NO:67) ;及
 [0107] 5' -csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa-3' (SEQ ID NO:68)
 [0108] 5' -usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa-3' (SEQ ID NO:69) 。

[0109] 另一方面,本发明提供含有本文所提供的dsRNA的细胞。

[0110] 在又另一方面,本发明提供抑制ANGPTL3基因表达用的药物组合物。组合物包含本文所提供的dsRNA药剂。在某些实施例中,药物组合物进一步包括液体配制品。

[0111] 本发明还提供抑制细胞中ANGPTL3表达的方法。该方法包含使细胞与如本文所述dsRNA接触;及维持细胞一段时间而使充分得到ANGPTL3基因的mRNA转录本的降解,从而抑制细胞中ANGPTL3基因的表达。

[0112] 在某些实施例中,细胞在受试者中。在某些实施例中,受试者为人类。在某些实施例中,人类受试者患有脂质代谢障碍。在某些实施例中,脂质代谢障碍为高血脂症或高三酸甘油酯血症。在某些实施例中,抑制至少约30%的ANGPTL3表达。

[0113] 另一方面,本发明提供治疗受试者的方法,该受试者具有可经由降低ANGPTL3表达而受益的障碍。该方法包含对受试者给药治疗有效量的任何本文提供的dsRNA,从而治疗受试者。在某些实施例中,障碍为脂质代谢障碍。在某些实施例中,脂质代谢障碍为高血脂症或高三酸甘油酯血症。在某些实施例中,对受试者给药dsRNA造成一种或多种血清脂质的减少和/或ANGPTL3蛋白累积的减少。

[0114] 在进一步的方面,本发明还提供抑制受试者中ANGPTL3表达的方法。该方法包含对受试者给药治疗有效量的任何本文提供的dsRNA,从而抑制受试者中ANGPTL3表达。

[0115] 在又另一个方面,本发明提供用于执行本发明的方法的试剂盒。一实施例中,本发明提供药剂盒,用于经由使细胞与有效于抑制细胞中 ANGPTL3表达的量的本发明双链RNAi 药剂接触而进行抑制细胞中 ANGPTL3基因表达的方法。该试剂盒包括一种RNAi 药剂和用于使用的说明书和任选地用于将该RNAi 药剂给予受试者的装置。

[0116] 附图简要说明

[0117] 图1为显示在指明的iRNA药剂以单次30mg/kg、10mg/kg或3 mg/kg的皮下剂量给药后第3天,ob/ob雌性小鼠血清中残留的ANGPTL3 mRNA量的图。以相对于对照组样本(PBS)的ANGPTL3 mRNA量对 GAPDH mRNA量的比率的样本中的ANGPTL3 mRNA量对GAPDH mRNA量的比率表示ANGPTL3 mRNA的量。

[0118] 图2为显示多剂量给药AD-57927(第1星期期间每天3mg/kg经5天,随后在第2至4星期以3mg/kg每星期2次(3.0mg/kg qd x 5;qw x 6))对ob/ob雌性小鼠的血清ANGPTL3蛋白水平的效应的图。以相对于给药AD-57927前血清样本中存在的ANGPTL3蛋白量表示该ANGPTL3蛋白的量。

[0119] 图3为显示多剂量给药AD-57927(第1星期期间每天3mg/kg经5天,随后在第2至4星期以3mg/kg每星期2次(3.0mg/kg qd x 5;qw x 6))对ob/ob雌性小鼠的三酸甘油酯(TG)水平的效应的图。以相对于给药AD-57927前血清样本中存在的TG量表示TG的量。

[0120] 图4为显示多剂量给药AD-57927(第1星期期间每天3mg/kg经5天,随后在第2至4星期以3mg/kg每星期2次(3.0mg/kg qd x 5;qw x 6))对ob/ob雌性小鼠的LDL胆固醇(LDLc)水平的效应的图。以相对于给药AD-57927前血清样本中存在的LDLc量表示LDLc的量。

[0121] 图5为显示多剂量给药AD-57927(第1星期期间每天3mg/kg经5天,随后在第2至4星期以3mg/kg每星期2次(3.0mg/kg qd x 5;qw x 6))对ob/ob雌性小鼠的总胆固醇(Tc)水平的效应的图。以相对于给药AD-57927前血清样本中存在的Tc量表示Tc的量。

[0122] 图6A为显示对指明的iRNA药剂的反应的持续时间的图,其以单次3 mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在野生型小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0123] 图6B为显示以单次3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第10天残留在野生型小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0124] 图7A为显示对指明的iRNA药剂的反应的持续时间的图,其以单次3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在野生型小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0125] 图7B为显示以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第5天残留在野生型小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0126] 图8A为显示对指明的iRNA药剂的反应的持续时间的图,其以单次3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在ob/ob小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0127] 图8B为显示以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第5天在ob/ob小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白沉默百分率的图。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白水平表示该小鼠ANGPTL3蛋白的沉默百分率。

[0128] 图9为显示以单次0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg皮下剂量给药AD-65695后第5天在ob/ob小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白沉默百分率的图。以相对于给药前血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白水平表示该小鼠ANGPTL3蛋白的沉默百分率。

[0129] 图10A为显示以单次0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg皮下剂量给药AD-65695 (ALN-ANG)对ob/ob小鼠的三酸甘油酯(TG)水平的效应的图。以给予AD-65695的小鼠血清样本中的TG量对给予PBS的小鼠血清样本中的TG量的比率表示TG的量。

[0130] 图10B为显示以单次0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg皮下剂量给药AD-65695 (ALN-ANG)对ob/ob小鼠的总胆固醇(TC)水平的效应的图。以给予AD-65695的小鼠血清样本中的TC量对给予PBS的小鼠血清样本中的TC量的比率表示TC的量。

[0131] 图10C为显示以单次0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg皮下剂量给药AD-65695 (ALN-ANG)对ob/ob小鼠的低密度脂蛋白胆固醇(LDLc)水平的效应的图。以给予AD-65695的小鼠血清样本中的LDLc量对给予PBS的小鼠血清样本中的LDLc量的比率表示LDLc的量。

[0132] 图10D为显示以单次0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg皮下剂量给药AD-65695 (ALN-ANG)对ob/ob小鼠中高密度脂蛋白胆固醇(HDL)水平对总胆固醇(TC)水平的比率的效应图。

[0133] 图11描述测定指明的iRNA药剂在野生型小鼠(C57BL/6)中的持久性的剂量方案及研究设计,该小鼠经静脉给药 1×10^{11} 个病毒颗粒(AAV8-TBG-ANGPTL3)的腺相关病毒载体8(AAV8)而受感染,该载体编码受肝脏特异性甲状腺素结合球蛋白(TBG)启动子驱动的人类ANGPTL3基因(编码区)。

[0134] 图12A为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类

ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0135] 图12B为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次 3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在受 AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0136] 图13描述剂量滴定及测定指明的iRNA药剂在受 AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠中的持久性的剂量方案及研究设计。

[0137] 图14A为显示以单次3mg/kg、1mg/kg或0.3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第11天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0138] 图14B为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次 3mg/kg、1mg/kg或0.3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第11天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0139] 图15A为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次 3mg/kg、1mg/kg或0.3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0140] 图15B为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次 3mg/kg、1mg/kg或0.3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的小鼠ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的小鼠ANGPTL3蛋白量表示该小鼠ANGPTL3蛋白的量。

[0141] 图16为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次1mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在受 AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0142] 图17A为描述以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA 药剂后第14天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0143] 图17B为描述以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA 药剂后第28天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0144] 图18A为描述以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA 药剂后第14天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0145] 图18B为描述以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA 药剂后第28天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0146] 图19A为显示对指明的iRNA药剂的反应持续时间的图,其以单次 1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂经一段时间后残留在瘦食蟹猴血清中的食蟹猴ANGPTL3蛋白的量表示。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该食蟹猴 ANGPTL3蛋白的量。

[0147] 图19B为显示以单次1mg/kg或3mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA 药剂经一段时间后残留在食蟹猴血清中的三酸甘油酯百分比。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的食蟹猴三酸甘油酯量表示该三酸甘油酯的量。

[0148] 图20为描述以单次1mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第28 天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类ANGPTL3 蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类 ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0149] 图21A为描述以单次1mg/kg皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第 28天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的人类 ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0150] 图21B为描述以单次1mg/k皮下剂量给药指明的iRNA药剂后第 28天残留在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠血清中的小鼠 ANGPTL3蛋白量的图。以相对于给药前 (pre-dose) 血清样本中存在的人类ANGPTL3蛋白量表示该人类ANGPTL3蛋白的量。

[0151] 发明详述

[0152] 本发明提供iRNA组合物,该iRNA组合物有效应于ANGPTL3基因RNA转录本的RNA诱导沉默复合体 (RISC) 介导的切割。该 ANGPTL3基因可以在细胞例如受试者 (例如人) 体内的细胞的内部。本发明还提供方法,以使用本发明iRNA组合物用于抑制ANGPTL3基因表达和/或用于治疗受试者而该受试者具有可从ANGPTL3基因表达的抑制或降低而受益的疾病,如,脂质代谢障碍,诸如高血脂症或高三酸甘油酯血症。

[0153] 本发明的iRNA包括具有下述区域的RNA链(反义链),该区域是 30个或者更少核苷酸长度,例如15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或 21-22个核苷酸,与ANGPTL3基因的mRNA转录本的至少部分基本上互补。

[0154] 在其他实施例中,本发明双链RNAi药剂的一条链或两条链达到66 个核苷酸长度,如,36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53个核苷酸长度,有至少19个连续核苷酸的区域而该区域实质上与ANGPTL3基因的mRNA转录本的至少一部分互补。在一些实施例中,有义及反义链形成18至30个连续核苷酸的双链体 (duplex)。

[0155] 本文所描述的这些iRNA药剂的使用使得靶向降解哺乳动物中的 ANGPTL3基因的mRNA成为可能。很低剂量的ANGPTL3iRNA,特别地,能特异性地及有效地介导RNA干扰 (RNAi),而导致ANGPTL3 基因表达的显著抑制。使用基于细胞及体内的检测,诸位发明人证实靶向ANGPTL3的iRNA可介导RNAi,而导致ANGPTL3基因表达的显著抑制。因此,包含这些iRNA的方法及组合物适用于治疗可从ANGPTL3 蛋白的水平和/或活性的降低而受益的受试者,诸如具有脂质代谢障碍,诸如高血脂症或高三酸甘油酯血症的受试者。

[0156] 在一些实施例中,本发明iRNA药剂包含RNA链(反义链),该RNA链可达到66个核苷酸长度,如,36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53个核苷酸长度,有至少19个连续核苷酸的区域,而该区域实质上与ANGPTL3基因的mRNA转录本的至少一部份互补。在一些实施例中,具有较长长度的反义链的此种iRNA药剂可包含20至60个核苷酸长度的第二RNA链(有义链),其中有义及反义链形成18至30个连续核苷酸的双链体。

[0157] 下列的详细说明披露如何制作及使用含有iRNA的组合物来抑制ANGPTL3基因表达,以及用于治疗具有从抑制和/或降低此基因的表达而受益的疾病或障碍的受试者的组合物或方法。

[0158] I. 定义

[0159] 为了使本发明可更容易理解,首先定义某些术语。此外,应指出的是每当列举参数的数值或数值范围时,意指所列举数值的数值及范围的中间值亦为本发明的一部分。

[0160] 在此使用冠词“一个(a)”和“一种(an)”是指一个或多于一个(即,至少一个)该冠词的语法对象。通过举例,“一个元素”是指一个元素或超过一个元素,例如多个元素。

[0161] 本文所使用的“包含”意指可与短语“包含但不限于”相互替代使用。在此使用术语“或(or)”意指术语“和/或”,并且与该术语可互换使用,除非上下文清楚地另外指明。

[0162] 术语“ANGPTL3”意指具有自任何脊椎动物或哺乳动物来源的氨基酸序列的类血管生成素蛋白3,除非另有说明,包含,但不限于,人类、牛、鸡、啮齿类、小鼠、大鼠、猪、绵羊、灵长类、猴及豚鼠。该术语亦指天然ANGPTL3的片段或变体,其保持天然ANGPTL3的至少一种体内或体外活性。该术语包含ANGPTL3全长未加工的前体形式以及由信号肽的转译后切割造成的成熟形式及由类血纤维蛋白原结构域的蛋白水解加工而造成的形式。可在,例如,GenBank Accession No.GI: 452408443(NM_014495.3;SEQ ID NO:1)找到人类ANGPTL3 mRNA 转录本的序列。可在,例如,GenBank Accession No.GI:297278846(XM_001086114.2;SEQ ID NO:2)找到恒河猴ANGPTL3 mRNA的预测序列。可在,例如,GenBank Accession No.GI:142388354(NM_013913.3;SEQ ID NO:3)找到小鼠ANGPTL3 mRNA的序列。可在,例如,GenBank Accession No.GI:68163568(NM_001025065.1;SEQ ID NO:4)找到大鼠ANGPTL3 mRNA的序列。使用公共可用的数据库,如,GenBank、UniProt及OMIM,方便取得ANGPTL3 mRNA序列的另外实例。

[0163] 本文所使用的“ANGPTL3”亦指经由自然发生的ANGPTL3基因的DNA序列变异而在细胞中表达的特定多肽,诸如ANGPTL3基因的单核苷酸多态性。已辨识出ANGPTL3基因中的许多SNP且其可在,例如,NCBI dbSNP(参见,如,www.ncbi.nlm.nih.gov/snp)找到。ANGPTL3 基因中的SNP的非限制性实例可在,NCBI dbSNP Accession Nos. rs193064039; rs192778191;rs192764027;rs192528948;rs191931953; rs191293319;rs191171206; rs191145608;rs191086880;rs191012841;或rs190255403找到。

[0164] 如本文所使用,“靶标序列”意指在ANGPTL3基因转录期间形成的mRNA分子的核苷酸序列连续部分,包含为初级转录产物的RNA加工产物的mRNA。在一个实施例中,序列的靶标部分至少足够长以作为切割在或靠近ANGPTL3基因转录期间形成的mRNA分子的核苷酸序列部分的iRNA介导的切割的基质。

[0165] 靶标序列可以是约9至36个核苷酸长度,如,约15至30个核苷酸长度。例如靶标序列可以是大约15-30个核苷酸,15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、

15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个核苷酸长度。以上引用的范围和长度的范围与长度中间值也意在成为本发明的部分。

[0166] 如在此所使用，术语“包含序列的链”是指包含一个核苷酸链的寡核苷酸，该核苷酸链通过使用标准核苷酸命名法提到的顺序来描述。

[0167] “G”、“C”、“A”、“T”以及“U”每一者通常分别代表包括鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶以及尿嘧啶作为碱基的核苷酸。然而，应理解术语“核糖核苷酸”或“核苷酸”还可以指一种经修饰的核苷酸(如以下进一步详述)或一种替代性的置换部分(参见，如表1)。技术人员应很好地意识到，鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤以及尿嘧啶可以被其他部分置换而基本上不改变一种寡核苷酸(包括一种具有这种置换部分的核苷酸)的碱基配对特性。例如非限制性地，包含肌苷作为其碱基的核苷酸可以与含有腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶的核苷酸进行碱基配对。因此，含有尿嘧啶、鸟嘌呤或腺嘌呤的核苷酸可以在本发明中体现的dsRNA的核苷酸序列中由含有例如肌苷的核苷酸置换。在另一个实例中，寡核苷酸中任何地方的腺嘌呤和胞嘧啶可以对应地置换为鸟嘌呤和尿嘧啶，以便形成与靶mRNA碱基配对的G-U摇摆。含有这类置换部分的序列适用于在本发明中表征的组合物和方法。

[0168] 如在此可互换使用的术语“iRNA”、“RNAi药剂”、“iRNA药剂”、“RNA干扰药剂”是指含有作为在此定义的所述术语的RNA的药剂，并且该药剂通过一种RNA诱导沉默复合体(RISC)途径介导RNA转录物的靶向切割。经由已知为RNA干扰(RNAi)的过程，iRNA引导mRNA的序列特异性降解。iRNA调节(例如，抑制)细胞(例如，受试者如哺乳动物受试者内的细胞)中ANGPTL3的表达。

[0169] 在一个实施例中，本发明的RNAi药剂包括与靶RNA序列例如ANGPTL3靶mRNA序列相互作用的一个单链RNA，以便引导靶RNA的切割。不希望受到理论的束缚，认为引入细胞的长双链RNA由已知为Dicer的III型核酸内切酶断裂为siRNA(Sharp等人(2001) *Genes Dev.* 15:485)。Dicer，一种核酸内切酶III的酶，处理dsRNA成为19至23个碱基对的有特征性双碱基3'突出端的短干扰RNA(Bernstein,等人，(2001) *Nature* 409:363)。然后将siRNA结合到一种RNA诱导沉默复合体(RISC)中，其中一种或多种螺旋酶使siRNA双链体展开，从而能够实现互补反义链导引靶标识别(Nykanen等人，(2001) *Cell* 107:309)。与合适的靶mRNA结合后，RISC中的一种或多种核酸内切酶切割靶标而诱导沉默(Elbashir,等人，(2001) *Genes Dev.* 15:188)。因此，在一方面本发明涉及细胞内产生的单链RNA(sssiRNA)及其促进RISC复合体形成而引起靶基因，即，ANGPTL3基因的沉默。所以，术语“siRNA”还可以在此用作指代以上所述的RNAi。

[0170] 另一实施例中，RNAi药剂可以是引入细胞或生物体而抑制靶mRNA的单链RNAi药剂。单链RNAi药剂(ssRNAi)结合RISC核酸内切酶，Argonaute 2，然后切割靶mRNA。这些单链siRNA通常是15-30个核苷酸并且是化学修饰的。单链RNA的设计和检测描述于美国专利号8,101,348中，以及Lima等人，(2012) *Cell* 150:883-894中，特此将它们各自的全部内容通过引用结合在此。在此描述的任何反义核苷酸序列可以被用作如在此所描述或如通过描述于Lima等人，(2012) *Cell* 150:883-894中的方法化学修饰的单链siRNA。

[0171] 另一实施例中,本发明使用的组合物及方法中的“iRNA”为双链 RNA且在本文中称为“双链RNAi药剂”、“双链RNA(dsRNA)分子”、“dsRNA药剂”或“dsRNA”。术语“dsRNA”是指核糖核酸分子的一种复合体,该复合体具有包含两条反平行和基本上互补的核酸链的双链体结构,称为相对于一种靶RNA(即一种ANGPTL3基因)具有“有义”和“反义”取向。在本发明的一些实施例中,双链RNA(dsRNA)通过在此称为 RNA干扰或RNAi的转录后基因沉默机理来引发靶RNA例如mRNA的降解。

[0172] 通常,dsRNA分子的每条链的大部分的核苷酸是核糖核苷酸,但是如在此详述的,两条链的每一者或两者还可以包括一个或多个非核糖核苷酸,例如,脱氧核糖核苷酸和/或修饰的核苷酸。另外,如在此说明中所使用,“RNAi药剂”可以包括具有化学修饰的核糖核苷酸;RNAi药剂可以包括在多个核苷酸处的实质性修饰。如在此使用,术语“修饰的核苷酸”是指独立地具有一个修饰的糖部分、一个修饰的核苷酸间键联和/或一个修饰的核碱基的一个核苷酸。因此,该术语修饰的核苷酸涵盖核苷间键联、糖部分或核碱基的例如一个官能团或原子的取代、添加或去除。适用于本发明的药剂中的修饰包括在此披露的或本领域中已知的所有类型的修饰。为了本说明书及权利要求书的目的,“RNAi药剂”包含任何一种如使用于siRNA类型分子的此种修饰。

[0173] 双链体区可以具有容许通过一种RISC途径特异性降解一种所希望的靶RNA的任何长度,并且长度可以在从约9个至36个碱基对的范围内,例如长度是约15-30个碱基对,例如长度是约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或36个碱基对,如长度是约15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22个碱基对。以上列举的范围和长度的范围与长度中间值也被想到成为本发明的部分。

[0174] 形成双链体结构的双链可以是较大RNA分子的不同部分,或可以是分开的RNA分子。当这两条链是一个更大的分子的部分时,并且因此通过一条链的3'-端与形成双链体结构的对应的另一条链的5'-端之间的不间断核苷酸链来连接,连接的RNA链称为“发夹环”。发夹环可以包含至少一个未配对的核苷酸。在一些实施例中,该发夹环可以包含至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少20个、至少23个或更多个未配对的核苷酸。

[0175] 当dsRNA的两个基本上互补的链包含单独的RNA分子时,这些分子不是必须的,但是可以共价连接。在这两条链是通过除了一条链的3'-末端与形成该双链结构的对应另一条链的5'-末端之间的非间断核苷酸链以外的方式而共价连接的情况下,该连接结构称作“接头(linker)”。这些RNA链可以具有相同或不同数目的核苷酸。碱基对的最大数目是该dsRNA的最短链中的核苷酸数目减去存在于该双链体中的任何突出端。除了双链体结构以外,RNAi可以包含一个或多个核苷酸突出端。

[0176] 在一个实施例中,本发明的RNAi药剂是dsRNA,其每条链包括与靶RNA序列例如ANGPTL3靶mRNA序列相互作用的19-23个核苷酸,以便引导靶RNA的切割。不希望受到理论的束缚,经导入细胞的长双链RNA经由已知为Dicer的III型核酸内切酶断裂为siRNA(Sharp

等人(2001) *Genes Dev.* 15:485)。Dicer (核糖核酸酶-III样酶)使dsRNA 加工成具有特征性的两个碱基3'突出端的19-23个碱基对短干扰RNA (伯恩斯坦(Bernstein)等人,(2001)自然(Nature) 409:363)。然后将 siRNA结合到一种RNA诱导沉默复合体(RISC)中,其中一种或多种螺旋酶使siRNA双链体展开,从而能够实现互补反义链导引靶标识别(尼卡能(Nykanen)等人,(2001)细胞(Cell) 107:309)。与合适的靶 mRNA一结合后,RISC中的一种或多种核酸内切酶切割靶标而诱导沉默(Elbashir,等人,(2001) *Genes Dev.* 15:188)。

[0177] 如在此所使用的,术语“核苷酸突出端”是指至少一个非配对的核苷酸,其从iRNA的双链体结构(例如,dsRNA)突出。例如,当dsRNA 的一条链的3'-端延伸超过另一条链的5'-端时或反之亦然,存在核苷酸突出端。dsRNA可以包括具有至少一个核苷酸的突出端;替代地该突出端可以包含至少两个核苷酸、至少三个核苷酸、至少四个核苷酸、至少五个核苷酸或更多。核苷酸突出端可以包括核苷酸/核苷类似物(包括脱氧核苷酸/核苷)或由其组成。一个或多个突出端可以处于有义链、反义链或其任意组合上。另外,突出端的一个或多个核苷酸可以存在于 dsRNA的反义或有义链的5'末端、3'末端或两个末端上。

[0178] 在一个实施例中,dsRNA的反义链在3'-末端和/或5'-末端具有1-10个核苷酸,如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个核苷酸的突出端。在一个实施例中,dsRNA的有义链在3'-末端和/或5'-末端具有一个1-10个核苷酸,如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个核苷酸的突出端。另一个实施例中,突出端中的一个或多个核苷酸经核苷硫代磷酸酯置换。

[0179] 在某些实施例中,在有义链或反义链或两者的突出端可包含比10个核苷酸为较长的延长长度,如,10至30个核苷酸、10至25个核苷酸、10至20个核苷酸或10至15个核苷酸长度。某些实施例中,延长的突出端位于双链体的有义链。在某些实施例中,延长的突出端位于双链体有义链的3'端。在某些实施例中,延长的突出端位于双链体有义链的5'端。在某些实施例中,延长的突出端位于双链体的反义链。在某些实施例中,延长的突出端位于双链体反义链的3'端。在某些实施例中,延长的突出端位于双链体反义链的5'端。在某些实施例中,延伸的突出端中的一个或多个核苷酸经核苷硫代磷酸酯置换。

[0180] 如在此使用的,提及的术语“齐平”或“平端”意思是在dsRNA的给定末端没有非配对的核苷酸或核苷酸类似物,即,没有核苷酸突出端。dsRNA的一个或两个端可以是齐平的。当dsRNA的两个末端都是平末端,该dsRNA被称为平末端的。为了清楚起见,一个“平端的”dsRNA 是一个在其两端齐平的dsRNA,即,在该分子的任何一端都没有核苷酸突出端。大多数情况下,这种分子将在其整个长度范围内是双链的。

[0181] 术语“反义链”或“引导链”是指一种iRNA(如一种dsRNA)的包括与一个靶序列(例如一种ANGPTL3 mRNA)基本上互补的一个区的链。如在此所使用,术语“互补性区域”是指反义链上与一个序列(例如,如在此定义的一个靶序列,例如如一个ANGPTL3核苷酸序列)基本上互补的区。在互补区非完全与靶标序列互补的情况,可在分子的内部或末端区域有误配。通常,最耐受的错配存在于末端区域内,例如在iRNA 的5'-和/或3'-末端的5、4、3或2个核苷酸内部。

[0182] 如本文所使用的术语“有义链”或“过客链”,意指iRNA之链,其包含与本文所定义的反义链的区域实质上互补的区域。

[0183] 如在此所使用,术语“切割区”是指位于紧邻切割位点处的一个区。切割位点是在其上发生切割的靶标上的位点。在一些实施例中,该切割区包含三个在该切割位点的任一

端上并且与其紧紧相邻的碱基。在一些实施例中,该切割区包含两个在该切割位点的任一端上并且与其紧紧相邻的碱基。在一些实施例中,该切割位点具体来说存在于由该反义链的核苷酸10和11结合的位点处,并且该切割区包含核苷酸11、12以及 13。

[0184] 如在此所使用,并且除非另外指明,当用来描述与第二核苷酸序列相关的第一核苷酸序列时,术语“互补”是指包含该第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在某些条件下与包含该第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交并且形成双链体结构的能力,如技术人员将理解。这类条件可以例如是严格条件,其中严格条件可以包括:400mM NaCl,40 mM PIPES,pH 6.4,1mM EDTA,50°C或70°C持续12-16小时,随后洗涤(参见例如“分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),萨拉布鲁克(Sambrook)等人(1989)冷泉港实验室出版社)。其他条件如生物体内部可以遇到的生理相关的条件可以应用。技术人员将能够根据杂交核苷酸的最终应用,确定最适宜于测试两个序列的互补性的条件集合。

[0185] 一种iRNA内(例如,如在此描述的一种dsRNA内)的互补序列包括包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一个或两个核苷酸序列的整个长度上的碱基配对。此类序列在此可以称作相对于彼此“完全互补”。然而,当一个第一序列在此称为相对于一个第二序列“基本上互补”时,这两个序列可以是完全互补的,或在对于高达30个碱基对的一种双链体杂交时,它们可以形成一个或多个但通常不多于5、4、3或2个错配的碱基对,同时保持在与其最终应用(例如经由一种RISC途径抑制基因表达)最相关的条件下杂交的能力。然而,当两个寡核苷酸被设计成在杂交时形成一个或多个单链突出端时,此类突出端不应该被认为是关于互补性确定的错配。例如,出于在此描述的目的,包含长度为21个核苷酸的一个寡核苷酸和长度为23个核苷酸的另一个寡核苷酸的一种dsRNA也可以称为“完全互补”,其中更长的寡核苷酸包含与更短的寡核苷酸完全互补的具有21个核苷酸的一个序列。

[0186] 如在此使用的,就满足以上相对于它们杂交的能力而言的要求来说,“互补”序列还可以包括或完全形成自非沃森-克里克碱基对和/或从非天然的以及经修饰的核苷酸形成的碱基对。此类非沃森-克里克碱基对包括但不限于G:U摇摆碱基配对或Hoogstein碱基配对。

[0187] 在此的术语“互补”、“完全互补”和“基本上互补”可以相对于一种 dsRNA的有义链与反义链之间,或一种iRNA药剂的反义链与一个靶序列之间的碱基配对使用,如将从其使用的上下文理解。

[0188] 如在此使用,与一种信使RNA(mRNA)的“至少部分基本上互补”的多核苷酸是指与感兴趣的mRNA(例如,编码ANGPTL3的一种 mRNA)的一个连续部分基本互补的多核苷酸。例如,如果序列与编码 ANGPTL3的mRNA的非中断部分实质上互补则多核苷酸与ANGPTL3 mRNA的至少一部份互补。

[0189] 据此,在一些实施例中,本文所披露的反义链多核苷酸与靶 ANGPTL3序列完全互补。在其他实施例中,本文所披露的反义链多核苷酸与靶ANGPTL3序列实质上互补且包括在整个长度上与核苷酸序列 SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:1的片段的等效区域至少约80%互补,诸如约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约 92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%互补的连续核苷酸序列。

[0190] 在一个实施例中,本发明RNAi药剂包含与反义多核苷酸实质上互补的有义链,而该反义多核苷酸依序与靶ANGPTL3序列互补,及其中有义链多核苷酸包括在整个长度上与核苷酸序列SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:5的片段的等效区域至少约80%互补,诸如约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%互补的连续核苷酸序列。如本文所使用的术语“抑制”,与“降低”、“沉默”、“下调”、“抑止”及其他相似术语相互替代使用,且包含任何级别的抑制。

[0191] 如本文所使用的短语“抑制ANGPTL3表达”,包含抑制任何 ANGPTL3基因表达(诸如,如小鼠ANGPTL3基因、大鼠ANGPTL3 基因、猴ANGPTL3基因或人类ANGPTL3基因)以及编码ANGPTL3 蛋白的ANGPTL3基因的变异体或突变体。

[0192] “抑制ANGPTL3基因表达”包含任何级别的ANGPTL3基因抑制,如,至少部分抑止ANGPTL3基因表达,诸如至少约20%抑制。在某些实施例中,抑制为至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%。

[0193] 可基于与ANGPTL3基因表达有关的任何变量水平而评估 ANGPTL3基因表达,如,ANGPTL3 mRNA水平或ANGPTL3蛋白水平。还可间接基于血清脂质、三酸甘油酯、胆固醇(包含LDL-C、HDL-C、VLDL-C、IDL-C及总胆固醇)或游离脂肪酸的水平而评估ANGPTL3 基因表达。抑制可通过这些变量中的一个或多个与对照水平相比的绝对或相对水平的减少来评估。该对照水平可以是本领域中使用的任何类型的对照水平,例如给药前基线水平或从类似的未经处理或经对照(例如仅缓冲液对照或惰性剂对照)处理的受试者、细胞、或样品确定的水平。

[0194] 在一实施例中,ANGPTL3基因表达的至少部分抑止,由ANGPTL3 mRNA量的降低而评估,可从其中ANGPTL3基因经转录而已接受治疗以使得ANGPTL3基因表达受抑制的第一细胞或细胞群组中分离或检测出ANGPTL3 mRNA量,而与实质上与第一细胞或细胞群组相同而未曾接受治疗(对照细胞)的第二细胞或细胞组比较。抑制程度可以表示为:

$$[0195] \quad \frac{(\text{对照细胞中之 mRNA}) - (\text{治疗细胞中之 mRNA})}{(\text{对照细胞中之 mRNA})} \cdot 100\%$$

[0196] 如此处使用的短语“使细胞接触RNAi药剂”(如一种dsRNA)包括通过任何可能的手段接触细胞。使细胞接触RNAi药剂包括在体外使细胞接触iRNA或在体内使细胞接触iRNA。该接触可以直接或间接地进行。因此,例如,可由个别进行的方法使RNAi药剂与细胞作物理接触,或者,可将RNAi药剂投入允许或造成随后与细胞接触的情况。

[0197] 在体外接触细胞可通过例如用该RNAi药剂孵育该细胞来进行。体内接触细胞可以通过以下进行,例如通过将RNAi药剂注入该细胞所在的组织或其附近,或通过将该RNAi药剂注入另一个区域例如血流或皮下空间,这样该药剂将随后到达待要接触的细胞所在的组织。例如该RNAi 药剂可包含和/或被偶联到一个配体,例如GalNAc3,其用来将RNAi药剂引导到感兴趣的位点例如肝脏。体外和体内接触方法的组合也是可能的。例如也可以在体外用RNAi药剂接触细胞,并随后移植入受试者。

[0198] 在一个实施例中,使细胞与一种iRNA接触包括通过促进或实现摄取或吸收入细胞来将该iRNA“引入”或“递送到该细胞”。吸收或摄取 iRNA可以通过无协助扩散过程或主动细胞过程或借助助剂或装置发生。向细胞中引入iRNA可以在体外和/或体内进行。例如对于体内引入,可以将iRNA注射到组织位点中或全身施用。体内递送也可以通过一种 β -葡聚糖递送系统来进行,如在美国专利号5,032,401和5,607,677以及美国公开号2005/0281781(其全部内容特此通过引用结合在此)中所描述的那些。体外引入到细胞中包括本领域中已知的方法,如电穿孔和脂质转染。其他方案在下文描述和/或是本领域已知的。

[0199] 术语“脂质纳米颗粒”或“LNP”是包含一个脂质层的一种囊泡,该脂质层包囊一种药物活性分子,如一种核酸分子,例如一种iRNA或从其中转录一种iRNA的一种质粒。LNP描述在例如美国专利号6,858,225、6,815,432、8,158,601和8,058,069中,特此将其全部内容通过引用结合在此。

[0200] 如在此使用的,“受试者”是动物,例如哺乳动物,包括灵长类动物(如人、非人灵长类动物(例如猴子和黑猩猩))、非灵长类(如牛、猪、骆驼、美洲驼、马、山羊、兔、绵羊、仓鼠、豚鼠、猫、狗、大鼠、小鼠、马、以及鲸)、或鸟(如鸭或鹅)。在实施例中,受试者为人类,诸如正在接受治疗或评定为可从ANGPTL3表达的降低而受益的疾病、障碍或病状的人类;可从ANGPTL3表达的降低而受益的、处于疾病、障碍或病状风险的人类;患有可从ANGPTL3表达的降低而受益的疾病、障碍或病状的人类;和/或针对可从ANGPTL3表达的降低而受益的疾病、障碍或病状正在接受治疗的人类,如本文所说明。

[0201] 如本文所使用,术语“治疗(treating)”或“处理(treatment)”意指有利或想得到的结果包含,诸如减低受试者的三酸甘油酯水平。术语“治疗”或“处理”亦包含,但不限于,脂质代谢障碍的一种或多种症状的缓解或改善,诸如,如疹黄瘤(eruptive xanthomas)尺寸的减小。“处理”亦指与没有处理的预期存活期相比的延长存活期。

[0202] 在疾病标志物或症状的语境中的“更低”是指此类水平的统计学上显著的下降。降低可以是例如至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或更多,并且优选地降至作为不患这种病症的个体的正常范围内所接受的水平。

[0203] 如本文所使用,“预防”或“防止”,当使用在关于可从ANGPTL3基因表达的降低而受益的疾病、障碍或其病状时,意指降低受试者将发展出与此种疾病、障碍或病状有关的症状的可能性,如,高三酸甘油酯水平或疹黄瘤。发展出高三酸甘油酯水平或疹黄瘤之可能性的降低为,例如,当个体具有一种或多种高三酸甘油酯水平或疹黄瘤的风险因素时不是无法发展成高三酸甘油酯水平或疹黄瘤就是发展成相对于具有相同风险因素但未接受如本文所说明的处理的群体的较低严重性的高三酸甘油酯水平或疹黄瘤。没有发展一种疾病、障碍或病症,或者减少发展与该疾病、障碍或病症相关的症状(例如在临床上接受的比例上,针对该疾病或病症减少至少约10%),或表现出症状延迟(如延迟数天、周、月或年)被认为是有效的预防。

[0204] 如本文所使用,术语“血清脂质”意指任何存在于血液中的主要脂质。血清脂质可以游离形式或以蛋白复合体,如脂蛋白复合体的一部分,存在于血液中。血清脂质的非限制性实例可包含三酸甘油酯及胆固醇,诸如总胆固醇(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)及中间密度脂蛋白胆固醇(IDL-C)。

[0205] 如本文所使用,“脂质代谢障碍”意指与脂质代谢的干扰有关或由其所造成的障碍。例如,此术语包含导致高血脂症的任何障碍、疾病或病状,或以血中任何或所有脂质和/或脂蛋白水平的不正常提升为特征的病状。此术语意指遗传性障碍,诸如家族性高三酸甘油酯血症、家族性部分脂质营养不良1型(FPLD1),或诱发或获得性障碍,诸如因为疾病、障碍或病状(如,肾衰竭)、节食或摄取某些药物(如,因为使用于治疗,如AIDS或HIV的高效抗反转录病毒疗法(HAART)的结果)的结果而诱发或获得的障碍。示例的脂质代谢障碍包含,但不限于,动脉粥样硬化、血脂异常、高三酸甘油酯血症(包含药物诱发高三酸甘油酯血症、利尿剂诱发高三酸甘油酯血症、酒精诱发高三酸甘油酯血症、 β -肾上腺素阻断剂诱发高三酸甘油酯血症、雌激素诱发高三酸甘油酯血症、糖皮质激素诱发高三酸甘油酯血症、类视色素诱发高三酸甘油酯血症、希美替定(cimetidine)诱发高三酸甘油酯血症及家族性高三酸甘油酯血症)、高三酸甘油酯血症相关的急性胰腺炎、乳糜微粒症候群、家族性乳糜微粒血症、Apo-E敲除或抗性、LPL缺陷或活性减退、高血脂症(包含家族性混合型高脂血症)、高胆固醇血症、高胆固醇血症相关的痛风、黄瘤症(皮下胆固醇沉积)、异质性LPL缺乏的高血脂症及高LDL及异质性LPL缺乏的高血脂症。

[0206] 如本文所定义,脂质代谢障碍相关的心血管疾病亦被认为是“脂质代谢障碍”。这些疾病可包含冠状动脉疾病(亦称为缺血性心脏疾病)、冠状动脉疾病相关的炎症、再狭窄、周边血管疾病及中风。

[0207] 如本文所定义,与体重相关的障碍亦被认为是“脂质代谢障碍”。此种障碍可包含肥胖症、代谢症候群包含代谢症候群的独立成分(如,中心性肥胖症、FBG/糖尿病前期/糖尿病、高胆固醇血症、高三酸甘油酯血症及高血压)、甲状腺功能减退症、尿毒症,及其他与体重增加相关的病状(包含快速体重增加)、体重减轻、体重减轻的维持或体重减轻后的体重再增加的风险。

[0208] 如本文所定义,进一步认为血糖障碍为“脂质代谢障碍”。此种障碍可包含胰岛素抗性相关的糖尿病、高血压及多囊性卵巢症候群。其他示例的脂质代谢障碍还可包含肾脏移植、肾病症候群、库欣氏症候群、肢端肥大症、全身性红斑性狼疮、球蛋白异常血症、脂质营养不良、I型糖原贮积症及爱迪生氏病。

[0209] 如本文所使用,“治疗有效量”,意指包含RNAi药剂的量,当给予具有脂质代谢障碍的受试者时,足够有效治疗疾病(如,经由减少、改善或维持现有疾病或一种或多种疾病的症状)的量。该“治疗有效量”可以根据RNAi药剂而变化,怎么给予该药剂,疾病及其严重程度以及待治疗的受试者的病史、年龄、体重、家族史、遗传组成、在前或同时治疗(如果有)的类型及其他个体特征。

[0210] 如本文所使用,“预防有效量”,意指包含RNAi的量,当给予具有脂质代谢障碍的受试者时,足够防止或改善疾病或疾病的一种或多种症状。改善疾病包括减缓疾病的进程或减少后发疾病的严重度。该“预防有效量”可以根据该iRNA而变化,怎么给予该药剂,疾病的风险的程度以及待治疗的患者的病史、年龄、体重、家族史、遗传组成、在前或同时治疗(如果有)的类型及其他个体特征。

[0211] “治疗有效量”或“预防有效量”还包括在适用于任何治疗的合理利益/风险比下产生某种所希望的局部或全身效应的RNAi药剂的量。在本发明的方法中使用的iRNA能以足够于产生适用于这种治疗的合理的效益/风险比的量给予。

[0212] 此处使用的短语“药学上可接受的”是指那些化合物、材料、组合物和/或剂型,其在正确医学判断范围内,适合于接触人类受试者和动物受试者的组织而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的效益/风险比相称。

[0213] 如在此所使用的短语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、制造助剂(例如润滑剂、滑石镁、硬脂酸钙或硬脂酸锌、或硬脂酸)、或溶剂封装材料(涉及将主题化合物从身体的一个器官或部分携带或运输到身体的另一个器官或部分)。在与该配制品的其他成分相容并且对所治疗的受试者无害的意义上来讲,每种载体必须是“可接受的”。可以充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素和它的衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉状黄蓍;(5)麦芽;(6)明胶;(7)润滑剂,如硬脂酸镁、月桂基硫酸钠和滑石;(8)赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;(9)油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油、以及大豆油;(10)二醇,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨醇、甘露醇、以及聚乙二醇;(12)酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)褐藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)pH缓冲溶液;(21)聚酯类、聚碳酸酯类和/或聚酞类;(22)增量剂,如多肽和氨基酸;(23)血清组分,如血清白蛋白、HDL和LDL;以及(22)在药物配制品中采用的其他无毒相容的物质。

[0214] 如在此使用,术语“样品”包括从受试者体内分离的类似的流体、细胞、或组织,以及受试者体内存在的流体、细胞、或组织的一个集合。生物流体的实例包括血液、血清和浆膜液、血浆、脑脊髓液、眼内液(ocular fluid)、淋巴液、尿液、唾液等。组织样品可包括来自组织、器官或局部区域的样品。例如样品可以源自特定器官、器官部分、或这些器官内的流体或细胞。在某些实施例中,样品可源自于肝脏(例如整个肝脏或肝脏的某些段,或肝脏中的某些类型的细胞,例如肝上皮实质细胞)。在一些实施例中,“源自受试者的样品”是指取自于该受试者的血液或血浆。

[0215] II. 本发明的iRNA

[0216] 本文所说明的是抑制ANGPTL3基因表达的iRNA。在实施例中,iRNA药剂包含抑制细胞中ANGPTL3基因表达的双链核糖核酸(dsRNA)分子,该细胞诸如于受试者,如哺乳动物,诸如具有脂质代谢障碍,如家族性高血脂症的人类中的细胞。dsRNA包含具有与ANGPTL3基因表达中形成的mRNA之至少一部分互补之互补区的反义链,互补区为约30个或较少的核苷酸长度(如,约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19或18个或较少的核苷酸长度)。当与表达ANGPTL3基因的细胞接触时,iRNA使ANGPTL3基因(例如,人、灵长类动物、非灵长类动物或禽类ANGPTL3基因)的表达抑制至少约**10%**,如通过例如PCR或基于支链DNA(bDNA)的方法,或通过基于蛋白质的方法,如通过免疫荧光分析,使用例如蛋白质印迹法或流式细胞术技术所测定。

[0217] 在要使用dsRNA的条件下,dsRNA包含杂交以形成双链体结构的两条RNA链。dsRNA的一条链(反义链)包含与靶序列实质上互补,及通常完全互补的互补区。靶标序列可衍生自ANGPTL3基因表达期间形成的mRNA序列。另一条链(有义链)包括与反义链互补的区域,从而在适合的条件下组合时,这两条链杂交并形成双链体结构。如在此的其他地方所描述并且如本领域中所知,与处于单独的寡核苷酸上相反,dsRNA的互补序列还可以作为单一核

酸分子的自我互补区被包含。

[0218] 通常,双链结构是15到30个碱基对之间的长度,例如在15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个碱基对之间的长度。以上列举的范围和长度的范围与长度中间值也被想到成为本发明的部分。

[0219] 类似地,靶标序列的互补区是在15到30个核苷酸之间的长度,例如在15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23、或21-22个核苷酸之间的长度。以上引用的范围和长度的范围与长度中间值也意在成为本发明的部分。

[0220] 在一些实施例中,dsRNA是在约15至约23个核苷酸之间的长度,或者在约25至约30个核苷酸之间长度。总之,dsRNA作为Dicer酶的底物是足够长的。例如,所属领域熟知比约21至23个核苷酸长的dsRNA可充当Dicer之受质。如技术人员也将认识,被靶向用于切割的RNA的区将最经常是较大RNA分子(经常是mRNA分子)的部分。在相关的情况下,mRNA靶的“一部分”是mRNA靶的连续序列,其长度足够允许其作为RNAi指导的切割的底物(即,经RISC途径的切割)。

[0221] 本领域技术人员还将认识到,双链体区是dsRNA的一个主要功能部分,例如具有约9至36个碱基对,例如约10-36、11-36、12-36、13-36、14-36、15-36、9-35、10-35、11-35、12-35、13-35、14-35、15-35、9-34、10-34、11-34、12-34、13-34、14-34、15-34、9-33、10-33、11-33、12-33、13-33、14-33、15-33、9-32、10-32、11-32、12-32、13-32、14-32、15-32、9-31、10-31、11-31、12-31、13-32、14-31、15-31、15-30、15-29、15-28、15-27、15-26、15-25、15-24、15-23、15-22、15-21、15-20、15-19、15-18、15-17、18-30、18-29、18-28、18-27、18-26、18-25、18-24、18-23、18-22、18-21、18-20、19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20、20-30、20-29、20-28、20-27、20-26、20-25、20-24、20-23、20-22、20-21、21-30、21-29、21-28、21-27、21-26、21-25、21-24、21-23或21-22个碱基对的双链体区。因此,在一个实施例中,达到加工成靶向所希望的RNA以用于切割的具有例如15-30个碱基对的一种功能双链体的程度,具有大于30个碱基对的双链体区的RNA分子或RNA分子的复合体是dsRNA。因此,技术人员将认识到在一个实施例中miRNA是dsRNA。在另一个实施例中,dsRNA不是天然存在的miRNA。另一个实施例中,适用于靶向ANGPTL3表达的iRNA药剂不是经由切割较大的dsRNA而在靶细胞中产生。

[0222] 如在此所描述的dsRNA可以进一步包含一个或多个单链核苷酸突出端,例如1、2、3或4个核苷酸。具有至少一个核苷酸突出端的dsRNA相对于其平端的对应物可以具有出乎意料地优越的抑制特性。核苷酸突出端可以包括核苷酸/核苷类似物(包括脱氧核苷酸/核苷)或由其组成。一个或多个突出端可以处于有义链、反义链或其任意组合上。另外,突出端

的一个或多个核苷酸可以存在于dsRNA的反义或有义链的5'末端、3'末端或两个末端上。

[0223] dsRNA可以通过如进一步在以下所讨论的、本领域内已知的标准方法来进行合成,例如通过使用自动化的DNA合成仪,例如从例如生物研究(Biosearch)、应用生物系统公司(Applied Biosystems, Inc)可商购的合成仪。

[0224] 本发明的iRNA化合物可以使用二步程序来制备。首先,分别制备该双链RNA分子的各链。然后,将这些组分链退火。siRNA化合物的各链可以使用溶液相或固相有机合成或这两者来制备。有机合成提供了以下优点,可以容易地制备包含非天然或经修饰的核苷酸的寡核苷酸链。本发明的单链寡核苷酸可以通过使用溶液相或固相有机合成或二者来制备。

[0225] 一个方面,本发明的dsRNA包括至少两个核苷酸序列,一个有义序列和一个反义序列。有义链序列选自表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任一者中所提供的序列组且有义链的反义链的相应核苷酸序列选自表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任一者的序列组。在这方面,两序列的一者与两序列的另一者互补,序列中的一者与ANGPTL3基因表达所产生的mRNA序列实质上互补。因此,在这方面,dsRNA将包含2个寡核苷酸,其中一个寡核苷酸为表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任一者中所述的有义链(过客链)且第二个寡核苷酸为表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任一者中所述的有义链的相应反义链(引导链)。在一实施例中,分开的寡核苷酸含有dsRNA的实质上互补序列。在另一个实施例中,该dsRNA的实质上互补的序列被包含在单一寡核苷酸上。

[0226] 应了解的是,虽然说明表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B中的序列为修饰的、未修饰的、未匹配的和/或匹配的,但是本发明iRNA的RNA,如本发明 dsRNA,可包括列于表2A、2B、4A、4B、5、7A、7B、7C、8A、8B、10A、10B、13A、13B、14、15A及15B的任一者中的任何一个序列,该序列为与其中所述不同的未修饰的、未匹配的,和/或修饰的和/或匹配的。

[0227] 另一方面,本发明用于抑制ANGPTL3表达的双链核糖核酸(dsRNA)包括、主要由或由有义链及反义链所组成,其中有义链包括核苷酸序列5'-

usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96-3',及反义链包括核苷酸序列5'-asusUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa-3';或有义链包括核苷酸序列5'-

gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96-3',及反义链包括核苷酸序列usUfsgagUfuCfAfaGfugAfcAfuauucsusu。

[0228] 熟练技术人员很清楚知道具有约20及23个碱基对之间,如21个碱基对的双链体结构的dsRNA被誉为对诱发RNA干扰特别有效(Elbashir等人,(2001)EMBO J.,20:6877-6888)。然而,其他人已经发现较短或较长的RNA双链体结构物也可以是有效的(朱(Chu)和拉纳(Rana)(2007)RNA 14:1714-1719;金姆(Kim)等人(2005)自然生物技术(Nat Biotech)23:222-226)。上述实施例中,凭借本文提供的寡核苷酸序列的性质,本文所说明的dsRNA至少可包含长度最低限度为21个核苷酸的一条链。可合理预期相较于上述dsRNA,只在一端或两端减掉少数个核苷酸的较短双链体可同样地有效。因此,具有衍生自本文提供的序列之一之含至少15、16、17、18、19、20或更多连续核苷酸的序列,且抑制ANGPTL3基因表达的能力不同于包括全序列的 dsRNA不超过约5%、10%、15%、20%、25%或30%抑制之dsRNA,系

涵盖于本发明的范围内。

[0229] 此外,本文所说明的RNAs识别在ANGPTL3转录本中对RISC-介导的切割敏感的位点。因此,本发明进一步特征为靶向此位点内部的 iRNA。如本文所使用,如果iRNA促进特别位点内任何地方的转录本切割,则称该iRNA靶向于RNA转录本的特别位点内。此种iRNA通常将包含来自本文提供的序列之一的至少约15个连续核苷酸,该连续核苷酸连接从与ANGPTL3基因选择序列连续的区域取得的额外核苷酸序列。

[0230] 虽然靶序列的长度通常是约15-30个核苷酸,但在用于引导任何给定靶RNA的切割的这个范围内的具体序列适用性上存在广泛的变化。此处所列出的各种软件包和准则提供了用于鉴别对于任何给定的基因靶的最佳靶标序列的准则,但还可以采取经验方法,其中一个给定尺寸(如一个非限制性实例,21个核苷酸)的“窗口”或“掩模”被照字面地或象征性(包括,例如计算机模拟)地放置在靶RNA序列上,以鉴别可以充当靶标序列的在该尺寸范围内的序列。通过将该序列“窗口”向初始靶序列位置的上游或下游渐进地移动一个核苷酸,可以鉴别出下一个潜在的靶序列,直到针对所选择的任何给定靶尺寸鉴别出全套可能的序列。这个过程(加上为了鉴定最佳执行的那些序列的所鉴定的序列的系统合成和测试(使用在此所述的或如本领域中已知的测定))可以鉴定当用一种iRNA药剂靶向时介导靶基因表达的最好抑制的那些RNA序列。因此,当本文识别的序列表示有效的靶标序列时,预期可渐进地经由“拖曳窗口”沿指定序列向上游或下游一个核苷酸而得到抑制效率的进一步优化而识别有相等的或更好的抑制特征的序列。

[0231] 此外,预期对本文识别的任何序列,可由系统地添加或移出核苷酸而产生较长或较短序列并测试经由将较长或较短尺寸之窗口从该点沿靶RNA向上或向下拖曳而产生的那些序列,而达成进一步优化。再次地,使产生新候选物的靶标的此方案,与基于那些靶标序列在所属领域已知和/或本文所说明的抑制检测中测试iRNA的有效性联合,可导致进一步抑制效率的改进。此外,可以例如通过引入如在此所描述或如本领域中所知的修饰核苷酸、添加或改变突出端或如本领域中所知和/或在此讨论的其他修饰,调节此类优化的序列以便进一步优化分子(例如,增加血清稳定性或循环半衰期、增加热稳定性、增强跨膜递送、靶向特定位置或细胞类型、增加与沉默途径酶的相互作用、增加核内体释放)作为表达抑制剂。

[0232] 如本文所说明的iRNA药剂可含有对靶标序列的一个或多个误配。在一个实施例中,如在此所描述的iRNA含有不多于3个错配。如果iRNA的反义链含有与靶序列的错配,则优选错配区域不应当位于互补区的中心内。如果iRNA的反义链含有与靶序列的错配,则优选错配被局限在离互补区的5'-端或3'-端最后5个核苷酸内。例如,对链与ANGPTL3基因的区域互补的23个核苷酸iRNA药剂而言,通常在中央的13个核苷酸内不含有任何误配。可使用本文所述方法或所属领域已知的方法测定含有对靶标序列误配的iRNA是否有效于抑制ANGPTL3基因表达。考虑带有误配之iRNA在抑制ANGPTL3基因表达的效能是重要的,特别是如果已知ANGPTL3基因中的特别互补区在群体内具有多态性序列变异时。

[0233] III. 本发明的修饰的iRNA

[0234] 在一个实施例中,本发明的iRNA的RNA(例如dsRNA)是未经修饰的,并且不包含例如本领域中已知的和在此所述的化学修饰和/或共轭。在另一个实施例中,本发明的iRNA例如dsRNA的RNA被化学修饰以增强稳定性或其他有益特征。在本发明某些实施例中,本发明

iRNA 的实质上所有核苷酸均为修饰的核苷酸。在本发明其他实施例中,本发明iRNA的所有核苷酸均为修饰的核苷酸。本发明iRNAs其中“实质上所有核苷酸均为修饰的核苷酸”为在很大程度上但不是全部经修饰及可包含不超过5、4、3、2或1个未修饰的核苷酸。

[0235] 本发明表征的核酸可经由所属领域良好建立的方法合成和/或修饰,诸如“Current protocols in nucleic acid chemistry,”Beaucage,S.L.等人(编),John Wiley&Sons,Inc.,New York,NY,USA中所述者,所述文献特此通过引用方式结合在此。修饰包括,例如,末端修饰,例如,5'-端修饰(磷酸化、钶合、倒置键联)或3'-端修饰(钶合、DNA核苷酸、倒置键联等);碱基修饰,例如,置换为稳定性碱基、去稳定性碱基或与扩充的配伍物库发生碱基配对的碱基、移除碱基(脱碱基核苷酸)、或共钶的碱基;糖修饰(例如,在2'位置或4'位置)或糖的置换;和/或骨架修饰,包括磷酸二酯键联的修饰或置换。有用于在此所描述的这些实施例的iRNA化合物的具体实例包括,但不限于含有修饰的骨架或无天然核苷间键联的RNA。具有修饰的骨架的RNA包括在骨架中不具有磷原子的那些,连同其他。出于本说明书的目的和如有时本领域中谈及,也可以将在其核苷间骨架中不具有磷原子的修饰RNA视为寡核苷。在一些实施例中,修饰的iRNA将在其核苷间骨架中具有磷原子。

[0236] 修饰的RNA骨架包括例如硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯,包括3'-亚烷基磷酸酯和手性磷酸酯、次磷酸酯、磷酸胺酯,包括3'-氨基磷酸胺酯和氨基烷基磷酸胺酯、硫代羰基磷酸胺酯、硫代羰基烷基磷酸酯、硫代羰基烷基磷酸三酯和具有正常3'-5'键的硼烷磷酸酯、这些酯的2'-5'连接的类似物,和具有反转极性的那些酯,其中相邻对的核苷单位为3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2'连接。还包括不同盐、混合盐以及游离酸形式。

[0237] 教导制备以上含磷键联的代表性美国专利包含,但不限于,美国专利案号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,195;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,316;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,625,050;6,028,188;6,124,445;6,160,109;6,169,170;6,172,209;6,239,265;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;以及美国专利RE39464,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0238] 其中不包含磷原子的修饰的RNA骨架具有由短链烷基或环烷基核苷间键、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间键或者一个或多个短链杂原子核苷间键或杂环核苷间键形成的骨架。这些包括具有以下结构的那些:吗啉代键联(从核苷的糖部分中部分地形成);硅氧烷骨架;硫化物、亚砷和砷骨架;甲酰乙酰基和硫代甲酰乙酰基骨架;亚甲基甲酰乙酰基和硫代甲酰乙酰基骨架;含烯的骨架;氨基磺酸盐骨架;亚甲亚氨基和亚甲胍基骨架;磺酸酯和磺酰胺骨架;酰胺骨架;以及具有混合N、O、S和CH₂组分部分的其他骨架。

[0239] 教导制备以上寡核苷的代表性美国专利包含,但不限于,美国专利案号5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,64,562;5,264,564;5,405,938;5,434,257;5,466,677;5,470,967;5,489,677;5,541,307;5,561,225;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,663,312;5,633,360;5,677,437;以及5,677,439,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0240] 在其他实施例中,构思了用于iRNA的适合的RNA模拟物,其中核苷酸单位的糖和核苷间键联即骨架被置换为新基团。维持碱基单元用于与适当的核酸靶化合物杂交。一种这样的低聚化合物(已经显示具有优异杂交特性的RNA模拟物)被称为肽核酸(PNA)。在PNA化合物中, RNA的糖骨架被含有酰胺的骨架置换,具体是氨基乙基甘氨酸骨架。这些核碱基得以保持并且直接或间接地结合至该骨架的酰胺部分的氮杂氮原子上。教导制备PNA化合物的代表性美国专利包含,但不限于,美国专利案号5,539,082;5,714,331;以及5,719,262,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。适合用于本发明的iRNA中的另外 PNA化合物被描述于例如尼尔森(Nielsen)等人,科学(Science),1991, 254,1497-1500中。

[0241] 本发明中表征的一些实施例包括具有硫代磷酸酯骨架的RNA和具有杂原子骨架的寡核苷,并且尤其上文所参考的美国专利号5,489,677 的 $--CH_2--NH--CH_2--$ 、 $--CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--$ [称作亚甲基(甲基亚氨基)或MMI骨架]、 $--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--$ 、 $--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2--$ 和 $--N(CH_3)--CH_2--CH_2--$ [其中天然磷酸二酯骨架表述为 $--O--P--O--CH_2--$],和上文所参考美国专利号5,602,240的酰胺骨架。在一些实施例中,在此表征的RNA具有以上提及的美国专利号5,034,506 的吗啉代骨架结构。

[0242] 修饰的RNA还可以含有一个或多个取代的糖部分。在此表征的 iRNA(例如dsRNA)可以在2'位置包括以下之一:OH;F;O-、S-或 N-烷基;O-、S-或N-烯基;O-、S-或N-炔基;或O-烷基-O-烷基,其中该烷基、烯基以及炔基可以是被取代的或未被取代的 C_1 至 C_{10} 烷基或 C_2 至 C_{10} 烯基和炔基。示例性适合的修饰包括 $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$ 、 $O(CH_2)_nOCH_3$ 、 $O(CH_2)_nNH_2$ 、 $O(CH_2)_nCH_3$ 、 $O(CH_2)_nONH_2$ 和 $O(CH_2)_nN[(CH_2)_nCH_3]_2$,其中n和m是从1至约10。在其他实施例中, dsRNA在2'位置处包括下列基团中的一个: C_1 至 C_{10} 低级烷基、取代的低级烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、多烷基氨基、取代的甲硅烷基、RNA切割基团、报告基因基团、嵌入剂、用于改进iRNA的药物代谢动力学特性的基团或用于改进iRNA的药效特性的基团以及具有类似特性的其他取代基。在一些实施例中,该修饰包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O-CH₂CH₂OCH₃,也称作2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(马丁(Martin)等人,瑞士化学学报(Helv.Chim.Acta),1995,78:486-504),即,烷氧基-烷氧基基团。另一个示例性修饰是2'-二甲基氨基氧基乙氧基,即 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 基团,也称为2'-DMAOE,如下在此实例中所描述;和2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基(在本领域中又称为2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE),即2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂。进一步示例的修饰包含:5'-Me-2'-F核苷酸、5'-Me-2'-OMe核苷酸、5'-Me-2'-脱氧核苷酸,(这3种均有R及S异构物);2'-烷氧基烷基;及2'-NMA(N-甲基乙酰胺)。

[0243] 其他修饰包括2'-甲氧基(2'-OCH₃)、2'-氨基丙氧基(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂)以及2'-氟代(2'-F)。也可以在iRNA的RNA上的其他位置处作出相似的修饰,尤其在3'末端核苷酸上或在2'-5'连接的dsRNA中糖的3'位置和5'末端核苷酸的5'位置。iRNA也可以具有糖模拟物,如替代戊呋喃糖基糖的环丁基部分。教导制备这类修饰的糖结构的代表性美国专利包括但不限于:美国专利号4,981,957;5,118,800;5,319,080;5,359,044;5,393,878;5,446,137;5,466,786;5,514,785;5,519,134;5,567,811;5,576,427;5,591,722;5,597,909;5,610,300;5,627,053;5,639,873;5,646,265;5,658,873;5,670,633;以及5,700,920,这些专利中的某些与本申请属于同一申请人。前述的每个的全部内容特此通过引用结

合在此。

[0244] 本发明iRNA还可包含核碱基(在所属领域中常简称为“碱基”)修饰或取代。如本文所使用,“未修饰”或“天然”核碱基包含嘌呤碱基腺嘌呤(A)及鸟嘌呤(G),及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。经修饰的核碱基包括其他合成和天然的核碱基,如5-甲基胞嘧啶(5-me-C);5-羟基甲基胞嘧啶;黄嘌呤;次黄嘌呤;2-氨基腺嘌呤;腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基和其他烷基衍生物;腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其他烷基衍生物;2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶;5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶;5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶;6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶;5-尿嘧啶(假尿嘧啶);4-硫尿嘧啶;8-卤代、8-氨基、8-硫醇、8-硫烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤;5-卤代、尤其5-溴、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶;7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤;8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤;7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤;以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤。进一步的核碱基包括披露于美国专利号3,687,808中的那些,披露于生物化学、生物技术和医药(Biochemistry, Biotechnology and Medicine)赫德威(Herdewijn), P. 编辑, Wiley-VCH, 2008中的修饰核苷(Modified Nucleosides)中的那些;披露于聚合物科学与工程简明百科全书(The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering),第858-859页,克奥赤威兹(Kroschwitz, J.L.)编辑,约翰威利父子公司(John Wiley&Sons), 1990中的那些;由英格力士(Englisch)等人,应用化学(Angewandte Chemie),国际版,1991,30:613披露的那些;以及由桑格威(Sanghvi, Y.S.)第15章,dsRNA研究与应用(dsRNA Research and Applications),第289-302页,克鲁克(Crooke, S.T.)和黎布鲁(Lebleu, B.),编辑, CRC出版社,1993披露的那些。这些核碱基的某些特别地适用于增加本发明表征的寡聚化合物的结合亲和力。这些碱基包括5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶以及N-2、N-6和O-6取代的嘌呤,包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代显示增加核酸双链体稳定性0.6°C至1.2°C(Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)且为示例的碱基取代,与2'-O-甲氧基乙基糖修饰组合时更加特别。

[0245] 教授制备以上修饰的核碱基以及其他修饰的核碱基中的某些的代表性美国专利包括但不限于上述的美国专利号3,687,808;4,845,205;5,130,30;5,134,066;5,175,273;5,367,066;5,432,272;5,457,187;5,459,255;5,484,908;5,502,177;5,525,711;5,552,540;5,587,469;5,594,121;5,596,091;5,614,617;5,681,941;5,750,692;6,015,886;6,147,200;6,166,197;6,222,025;6,235,887;6,380,368;6,528,640;6,639,062;6,617,438;7,045,610;7,427,672;以及7,495,088,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0246] 本发明iRNA还可经修饰而包含一种或多种锁核酸(LNA)。锁核酸为具有修饰的核糖部分的核苷酸其中该核糖部分包括连接2'及4'碳之额外的桥。这个结构有效地将该核糖“锁”在3'-内切结构构象中。将锁核酸添加到siRNA显示增加siRNA在血清中的稳定性,且降低脱靶效应(Elmen, J.等人, (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447; Mook, OR.等人, (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843; Grunweller, A.等人, (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。

[0247] 本发明iRNA还可经修饰而包含一个或多个双环糖部分。“双环糖”是通过两个原子

桥联而修饰的呋喃糖基环。“双环核苷” (“BNA”) 是具有糖部分的核苷, 该糖部分包含连接糖环的两个碳原子的桥, 从而形成一种双环系统。在某些实施例中, 该桥连接糖环的4'-碳与2'-碳。因此, 在一些实施例中, 本发明的一种药剂可以包含一种或多种锁核酸 (LNA)。锁核酸是具有一个修饰的核糖部分的核苷酸, 其中该核糖部分包含连接2' 碳和4' 碳的额外桥。换言之, LNA是包含含有4'-CH₂-O-2' 桥的双环糖部分的核苷酸。这个结构有效地将该核糖“锁”在3'-内切结构构象中。将锁核酸添加到siRNA显示增加siRNA在血清中的稳定性, 且降低脱靶效应(Elmen, J. 等人, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. 等人, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. 等人, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193)。用于在本发明的多核苷酸中使用的双环核苷的实例包括不限于在4' 与2' 核糖基环原子之间包含桥的核苷。在某些实施例中, 本发明的反义多核苷酸药剂包含一个或多个双环核苷, 该一个或多个双环核苷包含一个4' 至2' 桥。这种4' 至2' 桥接双环核苷的实例, 包含但不限于4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)-2-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (亦称为“拘束性乙基”或“cEt”) 及4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (及其类似物; 参见, 如, 美国专利案号7,399,845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (及其类似物; 参见, 如, 美国专利案号8,278,283); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (及其类似物; 参见, 如, 美国专利案号8,278,425); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (参见, 如, 美国专利公开号2004/0171570); 4'-CH₂-N(R)-O-2', 其中R为H, C₁-C₁₂烷基或保护基(参见, 如, 美国专利案号7,427,672); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (参见, 如, Chattopadhyaya等人, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); 及4'-CH₂-C(-CH₂)-2' (及其类似物; 参见, 如, 美国专利案号8,278,426)。特此通过引用将前述的每个的全部内容结合在此。

[0248] 传授制备锁核酸核苷酸的另外代表性美国专利和美国专利公开包括但不限于以下: 美国专利号6,268,490; 6,525,191; 6,670,461; 6,770,748; 6,794,499; 6,998,484; 7,053,207; 7,034,133; 7,084,125; 7,399,845; 7,427,672; 7,569,686; 7,741,457; 8,022,193; 8,030,467; 8,278,425; 8,278,426; 8,278,283; US 2008/0039618; 以及US 2009/0012281, 前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0249] 任何上述双环核苷可以被制备为具有一种或多种立体化学糖构型, 包括例如 α -L-呋喃核糖及 β -D-呋喃核糖(参见WO 99/14226)。

[0250] 还可将本发明iRNA修饰成包含一个或多个拘束性乙基核苷酸。如在此所使用, “限制性乙基核苷酸”或“cEt”是包含一个双环糖部分的锁核酸, 该双环糖部分包含一个4'-CH(CH₃)-O-2' 桥。在一个实施例中, 一个限制性乙基核苷酸是呈S构象, 在此称为“S-cEt”。

[0251] 本发明的一种iRNA还可以包含一个或多个“构象限制的核苷酸” (“CRN”)。CRN是具有连接核糖的C2' 和C4' 碳或核糖的C3和-C5' 碳的一个接头的核苷酸类似物。CRN将核糖环锁定成一种稳定构象且增加对mRNA的杂交亲和力。该接头具有足够长度以将氧置于一个最佳位置中以获得稳定性和亲和力, 从而产生更少核糖环缩拢。

[0252] 传授制备某种以上标记的CRN的代表性公开包括但不限于: 美国专利公开号2013/0190383; 以及PCT公开WO 2013/036868, 前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0253] 在一些实施例中, 本发明iRNA包括为UNA(解锁核酸)核苷酸的一个或多个单体。UNA为解锁非环核酸, 其中糖的任何键结都被移除, 而形成解锁的“糖”残基。在实例中, UNA

亦包含在C1'-C4'间的键结已被移除的单体(即,C1'及C4'碳间的共价碳-氧-碳键结)。另一个实例中,糖的C2'-C3'键结(即,C2'及C3'碳间的共价碳-碳键结)已被移除(参见Nuc.Acids Symp.Series,52,133-134(2008)和Fluiter等人,Mol. Biosyst.,2009,10,1039,特此通过引用结合在此)。

[0254] 教授制备以上UNA的代表性美国公开包括但不限于:美国专利号 8,314,227;和美国专利公开号2013/0096289;2013/0011922;以及 2011/0313020,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0255] 对RNA分子的末端的潜在的稳定化修饰可包括N-(乙酰基氨基己酰基)-4-羟基脯氨酸(Hyp-C6-NHAC)、N-(己酰基-4-羟基脯氨酸(Hyp-C6)、N-(乙酰基-4-羟基脯氨酸(Hyp-NHAC)、胸苷-2'-0-脱氧胸苷(醚)、N-(氨基己酰基)-4-羟基脯氨酸(Hyp-C6-氨基)、2-二十二醇基(docosanoyl)-尿苷-3"-磷酸酯、反向dT(idT)及其他。这种修饰的披露可以在PCT公开号W0 2011/005861中找到。

[0256] 本发明iRNA的其他修饰包含5'磷酸酯或5'磷酸酯模拟物,如,在RNAi药剂的反义链上的5'端磷酸酯或磷酸酯模拟物。适合的磷酸酯模拟物披露于,例如美国专利公开号2012/0157511中,特此通过引用将其全部内容结合在此。

[0257] IV. 共轭至配体的iRNA

[0258] 本发明的iRNA的RNA的另一种修饰涉及使RNA化学连接到一种或多种增强iRNA的活性、细胞分布或细胞摄取的配体、部分或共轭物上。这部分包含但不限于脂质部分诸如胆固醇部分(Letsinger等人,(1989)Proc.Natl.Acid.Sci.USA,86:6553-6556),胆酸(Manoharan等人,(1994)Biorg.Med.Chem.Lett.,4:1053-1060),硫醚,如,己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,(1992)Ann.N.Y.Acad.Sci.,660:306-309;Manoharan等人,(1993)Biorg.Med.Chem.Lett.,3:2765-2770),硫代胆固醇(Oberhauser等人,(1992)Nucl.Acids Res.,20:533-538),脂族链,如,十二烷基二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等人,(1991)EMBO J,10:1111-1118;Kabanov等人,(1990)FEBS Lett.,259:327-330;Svinarchuk等人,(1993)Biochimie,75:49-54),磷脂,如,二-十六烷基-外消旋-甘油或三乙基-铵1,2-二-0-十六烷基-外消旋-甘油-3-磷酸酯(Manoharan等人,(1995)Tetrahedron Lett.,36:3651-3654;Shea等人,(1990)Nucl.Acids Res.,18:3777-3783),聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,(1995)Nucleosides&Nucleotides,14:969-973),或金刚烷乙酸(Manoharan等人,(1995)Tetrahedron Lett.,36:3651-3654),十六烷基部分(Mishra等人,(1995)Biochim.Biophys. Acta,1264:229-237),或十八胺或己胺基-羰氧基胆固醇部分(Crooke等人,(1996)J.Pharmacol.Exp.Ther.,277:923-937)。

[0259] 在一个实施例中,配体改变向其中并入该配体的iRNA药剂的分布、靶向或寿命。在优选实施例中,与例如不存在这样一个配体的物种相比,这种配体为选择的靶标(例如分子、细胞或细胞类型、区室(例如细胞或器官区室、组织、器官或身体的区域))提供增强的亲和力。优选的配体将不参与双链体核酸中的双链体配对。

[0260] 配体可包含天然存在的物质,诸如蛋白质(如,人类血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白(LDL)或球蛋白);碳水化合物(如,葡聚糖、普鲁蓝多糖、几丁质、几丁聚糖、菊糖、环糊精、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖或玻尿酸);或脂质。配体还可以是重组或合成的分子,如合成聚合物,例如合成的聚氨基酸。聚氨基酸的实例包括作为一种聚赖氨酸(PLL)、聚

L-天冬氨酸、聚L-谷氨酸、苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚(L-丙交酯-共-乙交酯)共聚物、二乙烯基醚-马来酸酐共聚物、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)、聚氨基甲酸酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-异丙基丙烯酰胺聚合物或聚磷嗪的聚氨基酸。聚胺的实例包括:聚乙烯亚胺、聚赖氨酸(PLL)、精胺、亚精胺、聚胺、假肽-聚胺、肽模拟聚胺、树枝状聚合物聚胺、精氨酸、脘、鱼精蛋白、阳离子脂质、阳离子卟啉、聚胺的季盐、或 α 螺旋肽。

[0261] 配体还可以包括靶向基团,例如与指定的细胞类型如肾细胞结合的细胞或组织靶向剂,例如凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质,例如抗体。靶向基团可以是促甲状腺素、促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性蛋白A、黏液素碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-葡萄糖胺多价甘露糖、多价海藻糖、糖基化聚胺基酸、多价半乳糖、转铁蛋白、双磷酸酯、聚羧胺酸酯、聚天门冬胺酸酯、脂质、胆固醇、类固醇、胆酸、叶酸、维生素B12、维生素A、生物素或RGD肽或RGD肽模拟物。

[0262] 配体的其他实例包括染料、嵌入剂(例如吡啶)、交联剂(例如补骨脂素、丝裂霉素C)、卟啉(TPPC4、德克萨斯卟啉(texaphyrin)、噻啉(Sapphyrin))、多环芳烃(例如吩嗪、二氢吩嗪)、人工核酸内切酶(例如EDTA)、亲脂性分子,例如胆固醇、胆酸、金刚烷乙酸、1-萘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶基氧己基、鲸蜡基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕榈酸、肉豆蔻酸、O3-(油酰)石胆酸、O3-(油酰)胆烯酸、二甲氧基三苯甲基、或吩噻嗪肽共轭物(例如触角足肽、Tat肽)、烷基化剂、磷酸酯、氨基、巯基、PEG(例如PEG-40K)、MPEG、[MPEG]₂、聚氨基、烷基、取代的烷基、放射标记的标记物、酶、半抗原(例如生物素)、转运/吸收促进剂(例如阿司匹林、维生素E、叶酸)、合成性核糖核酸酶(例如咪唑、双咪唑、组胺、咪唑聚类、吡啶-咪唑共轭物、四氮杂大环类的Eu³⁺络合物)、二硝基苯基、HRP或AP。

[0263] 配体可以是蛋白质,例如糖蛋白,或肽,例如对辅助配体具有特异亲和力的分子,或抗体,例如与指定细胞类型如肝细胞结合的抗体。配体还可以包括激素和激素受体。它们也可以包括非肽种类,如脂质、凝集素、糖类、维生素、辅因子、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-葡萄糖胺多价甘露糖或多价岩藻糖。该配体可以是例如脂多糖, p38MAP激酶的活化剂或NF- κ B的活化剂。

[0264] 该配体可以是例如通过破坏细胞的细胞骨架(例如通过破坏细胞微管、微丝和/或中间丝)增加iRNA药剂摄入到细胞中的物质,例如药物。药物可以例如是泰素(taxon)、长春新碱、长春碱、松胞菌素、诺考达唑、促微丝聚合剂(japlakinolide)、红海海绵素A、鬼笔环肽、海洋苔藓素(swinholide)A、茛满诺星(indanocine)或myoservin。

[0265] 在一些实施例中,附接到如在此所描述的iRNA上的一个配体用作药物代谢动力学调节剂(PK调节剂)。PK调节剂包括亲油物质、胆酸、类固醇、磷脂类似物、肽、蛋白质结合剂、PEG、维生素等。示例性PK调节剂包括,但不限于胆固醇、脂肪酸、胆酸、石胆酸、二烷基甘油酯、二酰甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生、布洛芬(ibuprofen)、维生素E、生物素等。包含许多硫代磷酸酯键的寡核苷酸也已知与血清蛋白结合,因此骨架中包含多个硫代磷酸酯键的短寡核苷酸,例如具有约5个碱基、10个碱基、15个碱基或20个碱基的寡核苷酸,也服从于本发明作为配体(例如作为PK调节配体)。此外,结合血清组分(例如血清蛋白)的适配体也适合用作在此所述的这些实施例中的PK调节配体。

[0266] 本发明的配体-共轭寡核苷酸可经由使用具有悬垂反应功能性的寡核苷酸,诸如衍生自连接分子附接在该寡核苷酸(叙述于下),而合成。该反应性寡核苷酸可以直接与可商购的配体,合成的、具有多种保护基中的任一种的配体,或具有连接部分附接于其上的配体发生反应。

[0267] 可方便地及常规地经由众所周知的固相合成技术制造本发明使用在轭合物的寡核苷酸。用于这类合成的设备由多个供应商(包括例如应用生物系统公司(Applied Biosystems)(福斯特市,加利福尼亚州))销售。可另外地或替代地使用本领域中已知的用于这类合成的任何其他装置。使用相似的技术来制备其他寡核苷酸(如硫代磷酸酯和烷基化衍生物)也是已知的。

[0268] 在本发明的配体-共轭的寡核苷酸以及具有序列特异性连接的核苷的配体-分子中,该寡核苷酸以及寡核苷可以利用标准核苷酸或核苷前体,或已经具有连接部分的核苷酸或核苷共轭物前体,已经具有配体分子的配体-核苷酸或核苷共轭物前体,或带有结构基元的非核苷配体,在适合的DNA合成仪上进行组装。

[0269] 当使用已经具有连接部分的核苷酸-共轭物前体时,典型地完成该序列特异性连接的核苷的合成,并且然后该配体分子与该连接部分反应以形成配体共轭的寡核苷酸。在一些实施例中,本发明的寡核苷酸或连接的核苷通过一种自动合成仪合成,除了可商购以及寡核苷酸合成中常规使用的标准亚磷酰胺以及非标准亚磷酰胺之外,该合成还使用衍生自配体-核苷共轭物的亚磷酰胺。

[0270] A. 脂质接合物

[0271] 在一实施例中,配体或轭合物为脂质或脂质基分子。这种脂质或基于脂质的分子优选地结合血清蛋白,例如人血清白蛋白(HSA)。结合HSA的配体允许轭合物分布至一个靶组织,例如身体的非肾靶组织。例如,该靶组织可以是肝脏,包括肝脏的实质细胞。可以结合HSA的其他分子也可以用作配体。例如,可以使用萘普生(neproxin)或阿司匹林。脂质或基于脂质的配体可以(a)增加轭合物对降解的抗性,(b)增加靶向或运输到靶细胞或细胞膜中,和/或(c)可以用来调节与血清蛋白(例如HSA)的结合。

[0272] 基于脂质的配体可以用来抑制(例如控制)轭合物与靶组织的结合。例如,与HSA更强烈结合的脂质或基于脂质的配体将更不可能靶向肾并且因此较不可能从身体清除。可用较不强烈结合HSA的脂质或脂质系配体使轭合物靶向至肾。

[0273] 在一个优选实施例中,基于脂质的配体结合HSA。优选地,它以足够的亲和力结合HSA,以使得该轭合物将优选地分布至非肾组织。然而,优选的是这种亲和力并不是这样强,以使得HSA-配体结合不能逆转。

[0274] 另一个优选的实施例中,脂质系配体微弱或根本不结合HSA,如此使得轭合物将优选分布至肾。作为基于脂质的配体的替代或除它之外,还可以使用靶向肾细胞的其他部分。

[0275] 另一方面,该配体是由靶细胞(例如正在增殖的细胞)摄取的部分,例如维生素。这些特别有用于治疗特征在于不想要的细胞增殖(例如具有恶性或非恶性类型,例如癌细胞)的障碍。示例性维生素包括维生素A、E和K。其他示例性维生素包括是B维生素,例如叶酸、B12、核黄素、生物素、吡哆醛或其他维生素或由靶细胞如肝细胞摄取的养分。还包括HSA和低密度脂蛋白(LDL)。

[0276] B. 细胞渗透剂

[0277] 另一方面,该配体是细胞渗透剂,优选地是螺旋细胞渗透剂。优选地,该药剂是两亲的。一种示例性药剂是肽如tat或触角足蛋白。如果该药剂是肽,则它可以被修饰,包括肽酰基模拟物、反转异构体、非肽键联或假肽键联和D-氨基酸的使用。该螺旋剂优选地是一种 α -螺旋剂,该 α -螺旋剂优选具有一个亲脂性相和一个疏脂性相。

[0278] 该配体可以是肽或肽模拟物。模拟肽(本文中亦称为寡肽模拟物)为能够折叠成与天然肽相似的限定三维结构的分子。肽和肽模拟物与iRNA剂的附接可以影响iRNA的药物代谢动力学分布,如通过增强细胞鉴别与吸收。肽或肽模拟物部分可以是约5-50氨基酸长的,例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸长。

[0279] 肽或肽模拟物可以例如是细胞渗透肽、阳离子肽、两亲肽或疏水肽(例如主要由Tyr、Trp或Phe组成)。肽部分可以是树状肽、约束肽或交联肽。在另一个替代中,该肽部分可以包含疏水性膜转位序列(MTS)。一种包含疏水性MTS的示例性肽是具有氨基酸序列AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO:13)的RFGF。含有疏水性MTS的RFGF类似物(例如,氨基酸序列AALLPVLLAAP(SEQ ID NO:10))也可以是靶向部分。肽部分可以是“递送”肽,该递送肽可转载包含肽、寡核苷酸及蛋白的大极性分子越过细胞膜。例如,已经发现来自HIV Tat蛋白的序列(GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO:11))和果蝇触角足蛋白的序列(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:12))能够作为递送肽发挥作用。肽或肽模拟物可以通过DNA的随机序列来编码,如从噬菌体展示文库或一珠一化合物(OBOC)组合文库中鉴定的肽(拉姆(Lam)等人,自然,354:82-84,1991)。通过为了细胞靶向的目的结合的单体单元栓系至dsRNA药剂的肽或肽模拟物的实例是精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)-肽或RGD模拟物。肽部分的长度可以在从约5个氨基酸至约40个氨基酸的范围内。肽部分可具有结构修饰,诸如使得增加稳定性或引导构形特性。可以利用以下描述的任何结构修饰。

[0280] 用于本发明的这些组合物和方法中的RGD肽可以是线性或环状的,并且可以被修饰,例如糖基化或甲基化以促进靶向一个或多个特定组织。含RGD的肽和肽模拟物可以包括D-氨基酸以及合成的RGD模拟物。除了RGD之外,可使用靶向整合素配体的其他部分。该配体的优选共轭物靶向PECAM-1或VEGF。

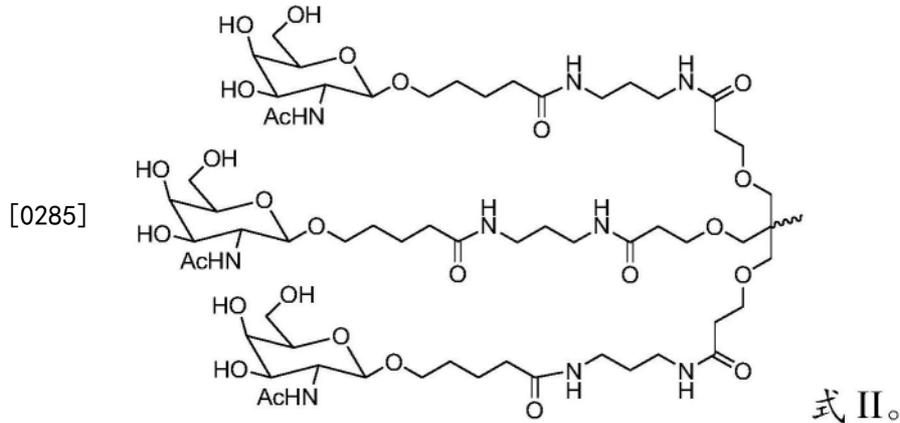
[0281] “细胞渗透肽”能够渗透细胞例如微生物细胞(如细菌或真菌细胞)或哺乳动物细胞(如人细胞)。微生物细胞渗透肽可以是例如 α -螺旋线性肽(例如LL-37或Ceropin P1)、含二硫键的肽(例如 α -防卫素、 β -防卫素或牛抗菌肽)、或只包含一个或两个主导性氨基酸(例如PR-39或吡啶力西丁)的肽。细胞渗透肽还可以包括核定位信号(NLS)。例如,细胞渗透肽可以是二重两性肽,诸如MPG,其衍生自HIV-1gp41的融合肽结构域及SV40大T抗原的NLS(Simeoni等人,Nucl.Acids Res. 31:2717-2724,2003)。

[0282] C. 碳水化合物共轭物

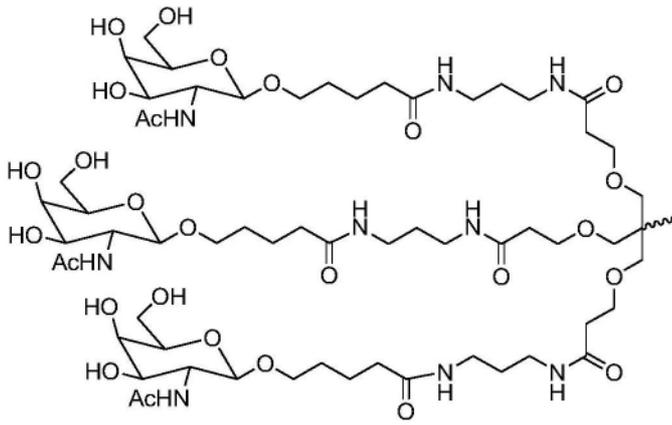
[0283] 在本发明的组合物与方法的一些实施例中,iRNA寡核苷酸进一步包括一种碳水化合物。碳水化合物共轭的iRNA对于核酸的体内递送以及适合于体内治疗用途的组合物而言是有利的,如在此所描述。如在此所使用的,“碳水化合物”指以下这样一种化合物,它是一种本身由具有至少6个碳原子的一个或多个单糖单位构成的碳水化合物(其可以是线性的、支链的或环状的),其中氧、氮或硫原子结合至每一碳原子;或者它是一种具有以下这样的碳水化合物部分作为其一部分的化合物,该碳水化合物由具有至少六个碳原子的一个或多个单糖单位构成(其可以是线性的、支链的或环状的),其中氧、氮或硫原子结合至每一

碳原子。代表性的碳水化合物包括糖(单糖、二糖、三糖以及包含从大约 4、5、6、7、8或9个单糖单位的低聚糖),以及多糖比如淀粉、糖原、纤维素以及多糖胶。具体的单糖包括C5以及以上的(例如,C5、C6、C7或C8)糖;二糖以及三糖包括具有两个或三个单糖单位的糖(例如,C5、C6、C7或C8)。

[0284] 在一实施例中,本发明组合物及方法中使用的碳水化合物轭合物为单糖。在一个实施例中,该单糖是一种N-乙酰半乳糖胺,如

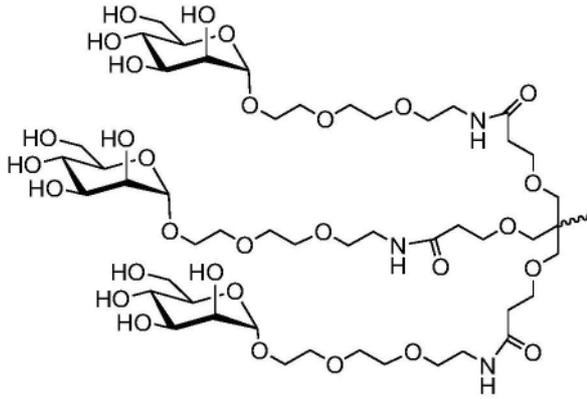


[0286] 在另一个实施例中,用于在本发明的组合物以及方法中使用的碳水化合物共轭物是选自下组,该组由以下各项组成:

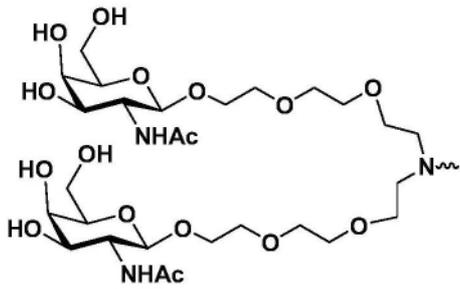


式 II,

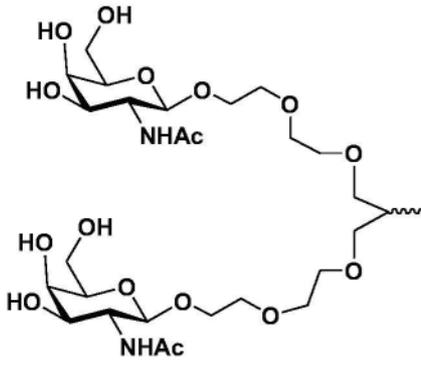
[0287]



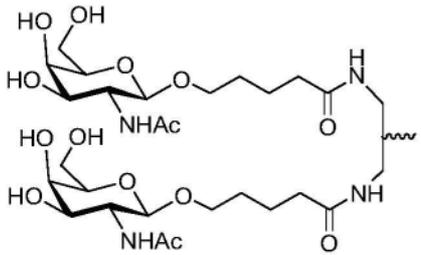
式 III,



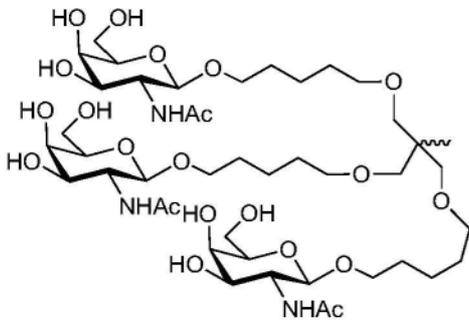
式 IV,



式 V,

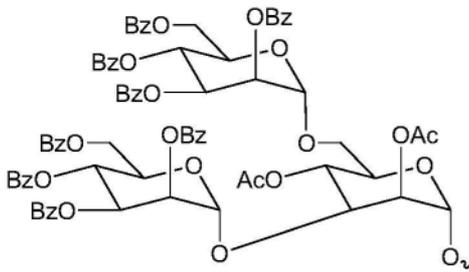


式 VI,

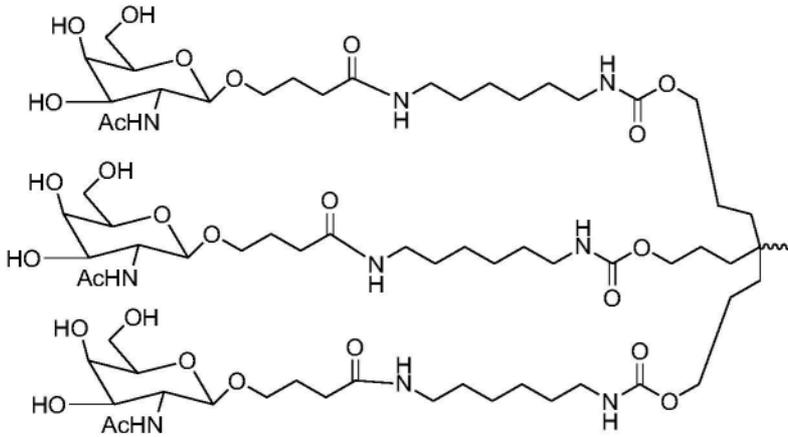


式 VII,

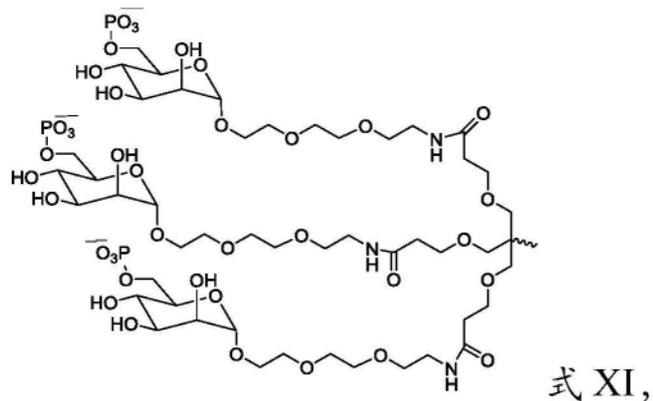
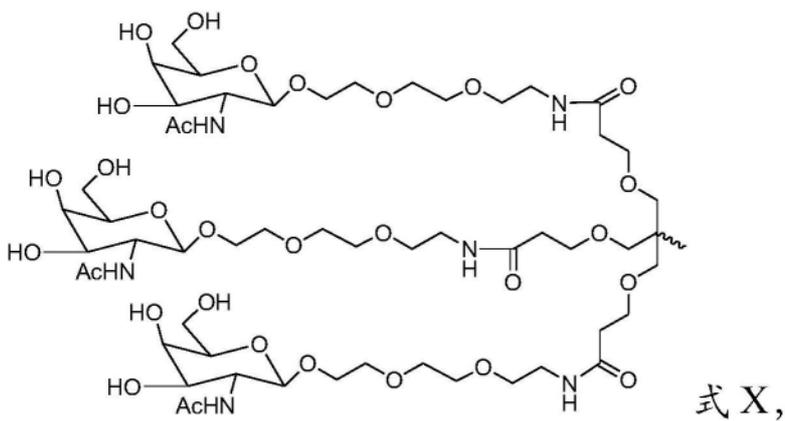
[0288]



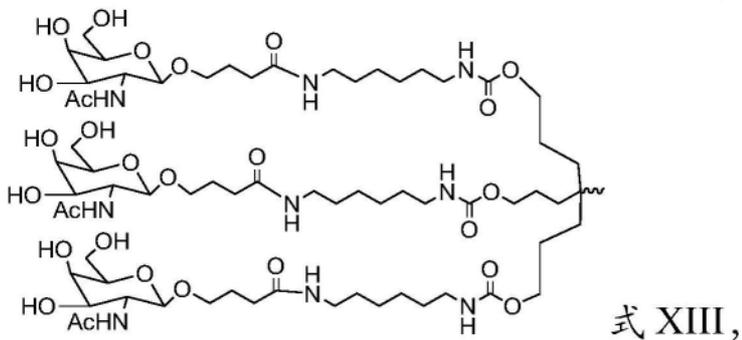
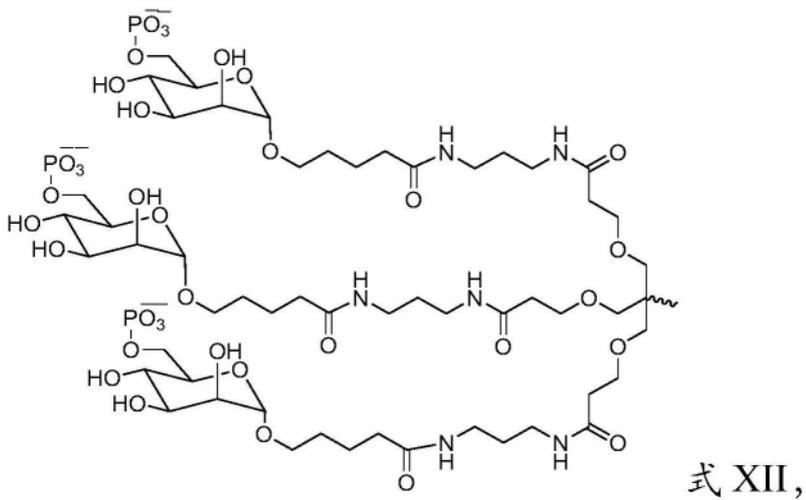
式 VIII,

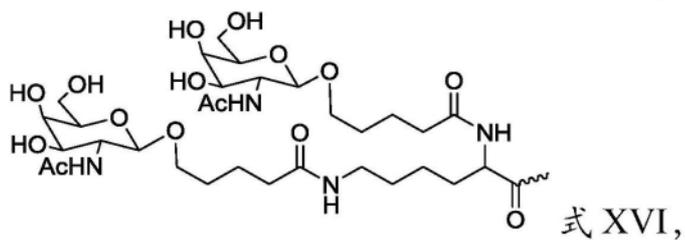
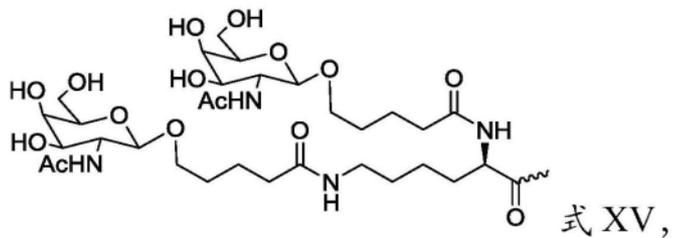
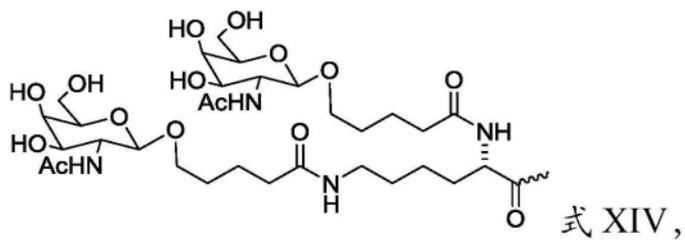


式 IX,

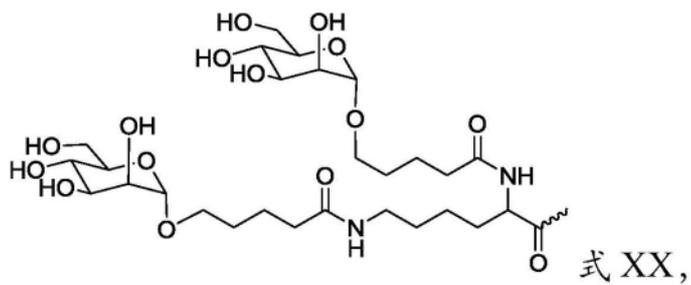
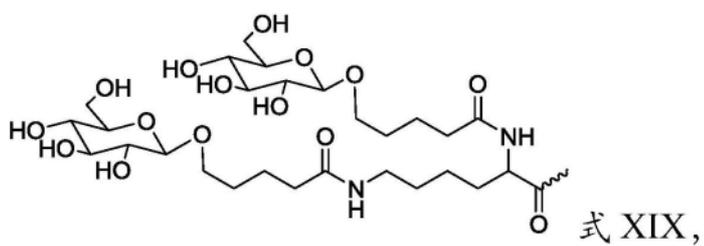
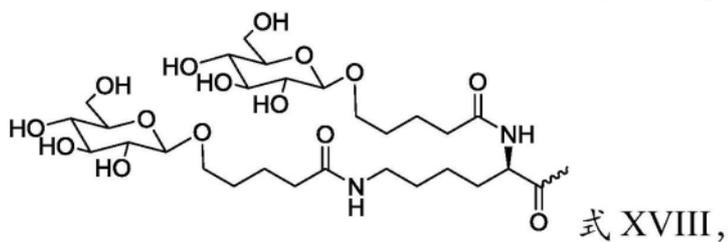
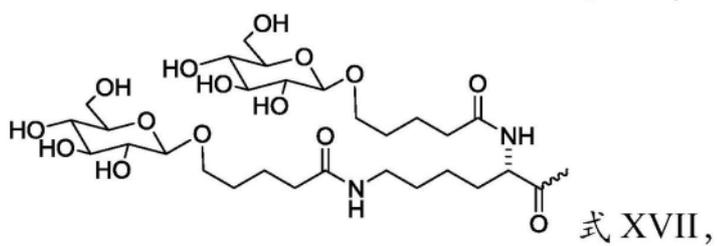


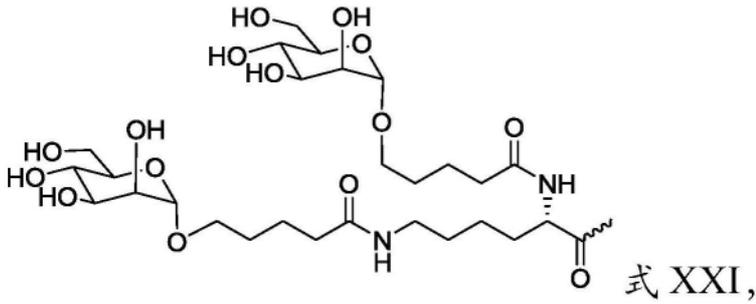
[0289]



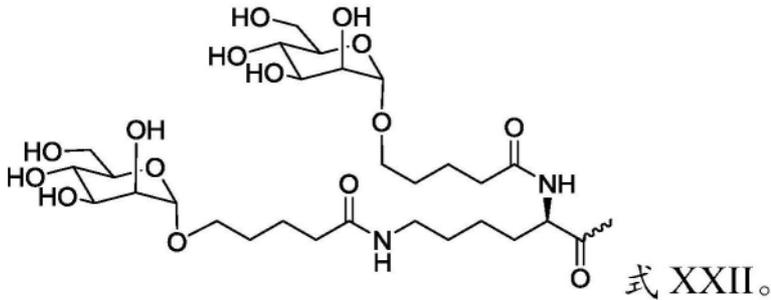


[0290]



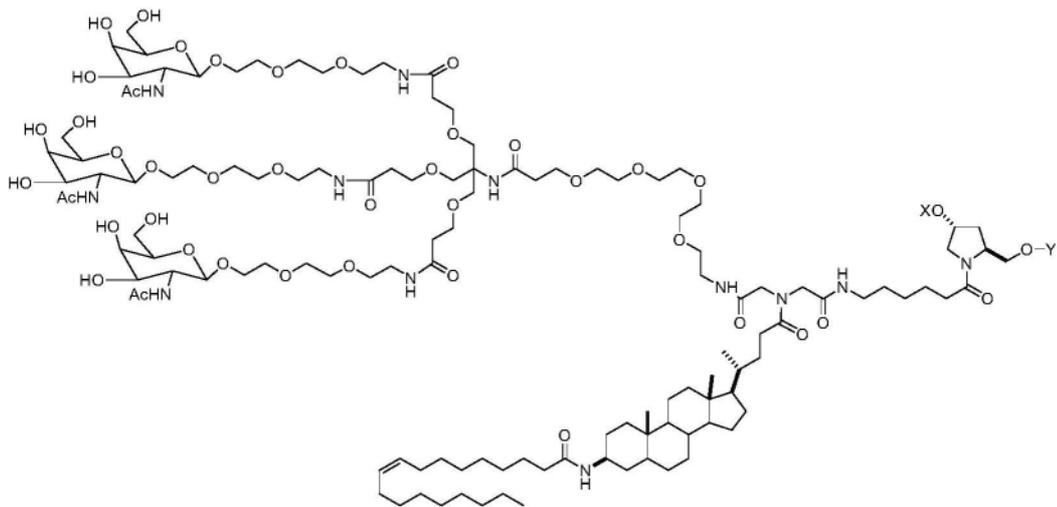


[0291]



[0292] 用于在于此描述的实施例中的另一个代表性碳水化合物共轭物包括但不限于

[0293]



(式 XXIII),

[0294] 当X或Y中的一个为寡核苷酸时,另一个为氢。

[0295] 在某些本发明实施例中,GalNAc或GalNAc衍生物经由单价接头附接至本发明iRNA药剂。在一些实施例中,GalNAc或GalNAc衍生物经由二价接头附接至本发明iRNA药剂。在本发明又其他实施例中,GalNAc或GalNAc衍生物经由三价接头附接至本发明iRNA药剂。

[0296] 在实施例中,本发明的双链RNAi药剂包括一个附接至iRNA药剂的GalNAc或GalNAc衍生物。另一个实施例中,本发明的双链RNAi药剂包括复数个(如,2、3、4、5或6)个GalNAc或GalNAc衍生物,各经由复数个单价接头独立附接至双链RNAi药剂的复数个核苷酸。

[0297] 在一些实施例中,例如,当本发明iRNA药剂的两条链为较大分子的部分且经由一条链的3'端及各自其他链的5'端间的核苷酸不间断链连接而形成包括复数个未配对核苷酸的发夹环时,发夹环内的各未配对核苷酸可独立包括经由单价接头附接的GalNAc或GalNAc衍生物。

[0298] 在一些实施例中,碳水化合物共轭物另外包括一个或多个如上所述的额外配体,

诸如,但不限于,PK调变剂和/或细胞渗透肽。

[0299] 适用于本发明的额外碳水化合物轭合物(及接头)包含PCT公开号 2014/179620及WO 2014/179627中所述者,特此借由引用将各自的全部内容并入本文中。

[0300] D. 接头

[0301] 在一些实施例中,本文所述轭合物或配体可用各种不同接头附接至 iRNA寡核苷酸,而接头可为可切割或不可切割。

[0302] 术语“接头”或“连接基团”意指连接化合物的两个部分,例如共价附接化合物的两个部分的有机部分。接头典型地包括直接的键或原子诸如氧或硫,单位诸如NR₈、C(O)、C(O)NH、SO、SO₂、SO₂NH或原子链,诸如,但不限于,经取代或未经取代烷基、经取代或未经取代烯基、经取代或未经取代炔基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基、杂环基烷基、杂环基烯基、杂环基炔基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基、环烯基、烷基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基炔基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、烯基芳基炔基、炔基芳基烷基、炔基芳基烯基、炔基芳基炔基、烷基杂芳基烷基、烷基杂芳基烯基、烷基杂芳基炔基、烯基杂芳基烷基、烯基杂芳基烯基、烯基杂芳基炔基、炔基杂芳基烷基、炔基杂芳基烯基、炔基杂芳基炔基、烷基杂环基烷基、烷基杂环基烯基、烷基杂环基炔基、烯基杂环基烷基、烯基杂环基烯基、烯基杂环基炔基、炔基杂环基烷基、炔基杂环基烯基、炔基杂环基炔基、烷基芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基杂芳基、烯基杂芳基、炔基杂芳基,其中一个或多个亚甲基可被下列者中断或封端:O、S、S(O)、SO₂、N(R₈)、C(O)、经取代或未经取代芳基、经取代或未经取代杂芳基、经取代或未经取代杂环基;其中R₈为氢、酰基、脂族或经取代脂族。在一个实施例中,该接头是在大约1-24个原子、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、6-18、7-18、8-18个原子,7-17、8-17、6-16、7-17 或8-16个原子之间。

[0303] 一种可切割的连接基团在细胞外是足够稳定的,但它在进入靶标细胞时被切割以释放该接头将其结合在一起的两个部分。在一个优选的实施例中,该可切割的连接基团在靶标细胞中或在一个第一参考条件(其可以例如被选择为模拟或代表细胞内条件)下的切割比在受试者的血液中或在一个第二参考条件下(其可以例如被选择为模拟或代表在该血液或血清中发现的条件)快至少大约10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或更多,或至少大约100倍。

[0304] 可切割的连接基团易于受到切割因子(例如pH、氧化还原电位或降解分子的存在)的影响。一般地,切割因子在细胞内比在血清或血液中更普遍或具有更高水平或活性。此类切割剂的实例包括:氧化还原剂,它们被选择用于具体底物或者无底物特异性,包括例如氧化或还原酶或者在细胞中出现的还原剂比如硫醇(它可以通过还原作用降解一种可氧化还原切割的连接基团);酯酶;内涵体或可以创造酸性环境的因子,比如可以导致pH为5或更低的那些;可以通过作为一种广义酸起作用而水解或降解一种酸可切割的连接基团的酶,肽酶(它可以是底物特异性的),以及磷酸酶。

[0305] 可切割连接基团,诸如二硫键,可对pH敏感。人血清的pH是7.4,而平均的细胞内pH稍低,在约7.1-7.3范围内。核内体具有在5.5-6.0范围内的更酸性的pH,并且溶酶体具有在5.0左右的甚至更酸性的pH。一些接头可具有在优选pH被切割的可切割连接基团,由此将阳离子脂质从配体释放至细胞内,或进入希望的细胞区室中。

[0306] 接头可以包括可被一种具体的酶切割的可切割的连接基团。结合到接头中的可切

割的连接基团的类型可以取决于有待靶向的细胞。例如靶向肝脏的配体可以通过包括酯基团的接头而被连接到阳离子脂质上。肝脏细胞富含酯酶,并且因此该接头将在肝脏细胞中比在不富含酯酶的细胞类型中更有效地切割。富含酯酶的其他细胞类型包括肺、肾皮质以及睾丸的细胞。

[0307] 当靶向富含肽酶的细胞类型(如肝细胞和滑膜细胞)时,可以使用含有肽键的接头。

[0308] 通常,可由测试降解剂(或条件)对切割候选连接基团的能力来评估候选可切割连接基团的适合性。还希望的是也测试该候选的可切割的连接基团在血液中或当与其他非靶组织接触时抵抗切割的能力。因此,可以确定在一种第一条件与一种第二条件之间进行切割的相对敏感性,其中该第一条件被选择成指示在靶细胞中的切割并且该第二条件被选择成指示在其他组织或生物流体(例如血液或血清)中的切割。这些评估可以在无细胞系统中、在细胞中、在细胞培养物中、在器官或组织培养物中或在整个动物中进行。有用的是在无细胞或培养条件下进行初始评估并且通过在整个动物中的进一步评估来进行确证。在优选实施例中,有用的候选化合物在细胞中(或在选择成模拟细胞内条件的体外条件下)的切割比在血液或血清(或在被选择成模拟细胞外条件的体外条件下)中的切割快至少约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90或约100倍。

[0309] i. 氧化还原可切割连接基团

[0310] 在一个实施例中,可切割连接基团为在氧化或还原时被切割的氧化还原可切割连接基团。还原可切割连接基团的实例为二硫键连接基团(-S-S-)。为了确定一种候选的可切割连接基团是否是适合的“可还原切割的连接基团”,或例如是否适合于与一种特定iRNA部分和特定靶向剂一起使用,可以参考在此描述的方法。例如可以通过用二硫苏糖醇(DTT)或本领域中已知的其他使用还原剂的试剂进行孵育来对一种候选物进行评估,这模拟了会在细胞(例如靶细胞)中观察到的切割速率。还可以在被选择成模拟血液或血清条件的条件下对这些候选物进行评估。在具体例中,候选化合物在血液中被切割最多约10%。在其他实施例中,有用的候选化合物在细胞中(或在被选择成模拟细胞内条件的体外条件下)的降解比在血液(或在选择成模拟细胞外条件的体外条件下)中的降解快至少约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90或约100倍。可使用标准酶动力学检测在选择为模拟细胞内介质的条件下并与选择为模拟细胞外介质的条件下比较而测定候选化合物的切割速率。

[0311] ii. 磷酸酯基可切割连接基团

[0312] 另一个实施例中,可切割接头包括磷酸酯基可切割连接基团。降解或水解磷酸酯基团的药剂切割磷酸酯基可切割连接基团。在细胞中切割磷酸酯基团的药剂的实例为酶类诸如细胞中的磷酸酶。磷酸酯基连接基团的实例是-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-。优选的实施例是-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-。一个优选实施例是-O-P(O)(OH)-O-。可以使用类似于以上描述的那些的方法来评估这些候选物。

[0313] iii. 酸可切割连接基团

[0314] 在另一个实施例中,可切割接头包括一种酸可切割的连接基团。酸可切割的连接基团是在酸性条件下被切割的一种连接基团。在优选的实施例中,酸可切割的连接基团在一个具有大约6.5或更低(例如大约6.0、5.75、5.5、5.25、5.0或更低)的pH的酸性环境中被切割,或者被多种药剂(例如可以作为一种广义酸起作用的酶)切割。在细胞中,具体的低pH细胞器(例如核内体或溶酶体)可以提供一个针对酸可切割的连接基团的切割环境。酸可切割的连接基团的实例包括但不限于脞、酯以及氨基酸的酯。酸可切割的基团可以具有通式 $-C(=O)O-$ 或 $-OC(=O)-$ 。一个优选实施例是当附接到酯(烷氧基基团)的氧的碳是芳基基团、取代的烷基基团或叔烷基基团(如二甲基戊基或叔丁基)时。可以使用类似于以上描述的那些的方法来评估这些候选物。

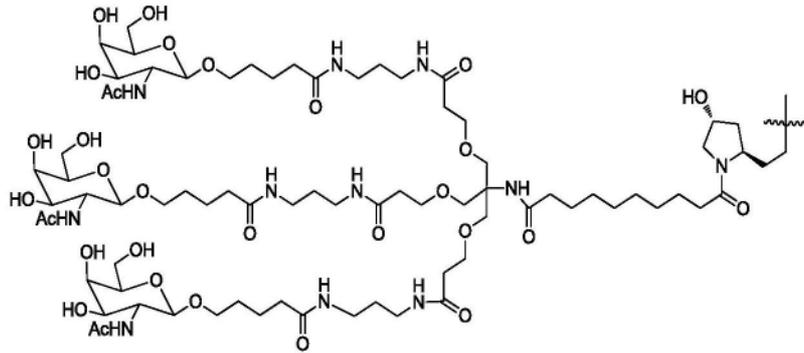
[0315] iv. 酯基可切割连接基团

[0316] 在另一个实施例中,可切割的接头包括一种酯基可切割连接基团。酯基可切割连接基团被细胞中的酶诸如酯酶及酰胺酶切割。酯基可切割连接基团的实例包括但不限于亚烷基、亚烯基以及亚炔基基团的酯。酯可切割的连接基团具有通式 $-C(=O)O-$ 、或 $-OC(=O)-$ 。可以使用类似于以上描述的那些的方法来评估这些候选物。

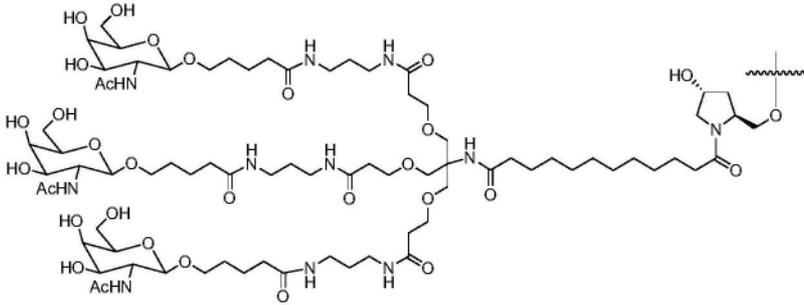
[0317] v. 肽基切割基团

[0318] 在又一个实施例中,可切割接头包括肽基可切割连接基团。肽基可切割连接基团通过酶(例如细胞中的肽酶与蛋白酶)而被切割。肽基可切割连接基团是在氨基酸之间形成肽键以产生寡肽(例如二肽、三肽,等等)以及多肽。肽基可切割的基团不包括酰胺基团($-C(=O)NH-$)。该酰胺基团可以在任何亚烷基、亚烯基或亚炔基之间形成。肽键为在氨基酸之间形成而产生肽及蛋白的特殊类型酰胺键。基于肽的切割基团通常限于在氨基酸之间形成从而得到肽和蛋白质的肽键(即,酰胺键),并且不包括整个酰胺官能团。肽基可切割连接基团具有通式 $-NHCHR^A-C(=O)-NHCHR^B-C(=O)-$,其中 R^A 及 R^B 为两相邻氨基酸的R基团。可使用与上述者类似的方法测评这些候选物。

[0319] 在一实施例中,本发明iRNA经由接头与碳水化合物轭合。本发明的这些组合和方法的具有接头的iRNA碳水化合物共轭物的非限制性实例包括但不限于,

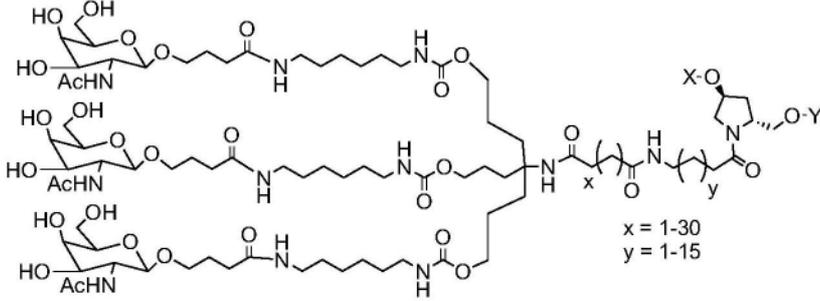


(式 XXIV)、

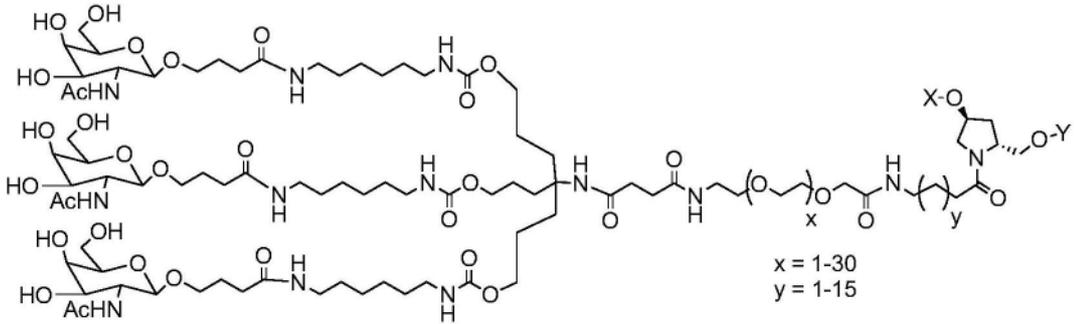


(式 XXV)、

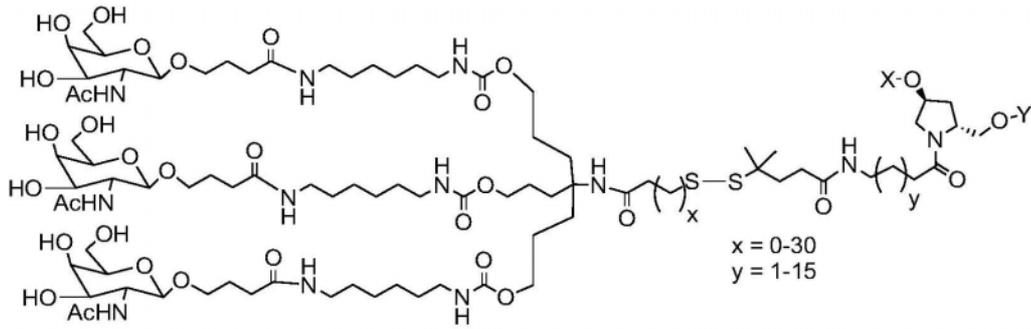
[0320]



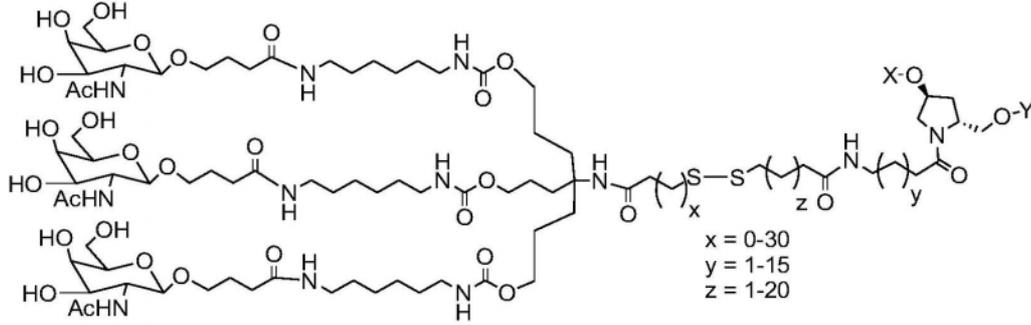
(式 XXVI)、



(式 XXVII)、

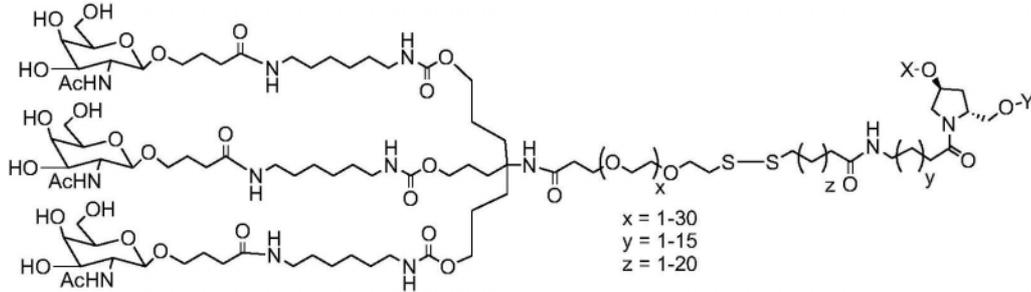


(式 XXVIII)、

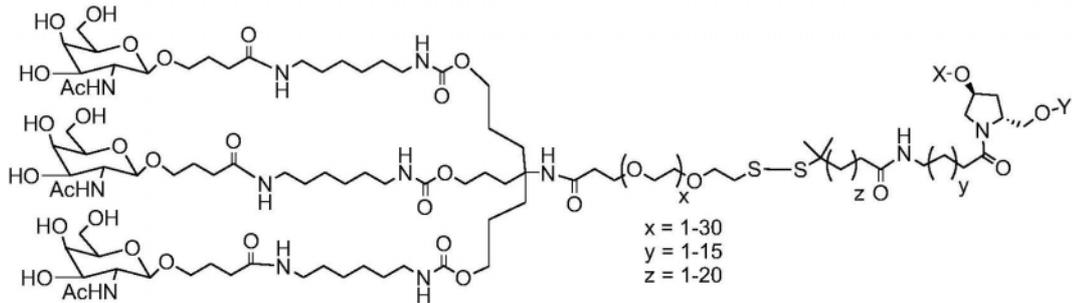


[0321]

(式 XXIX)、



(式 XXX)、以及



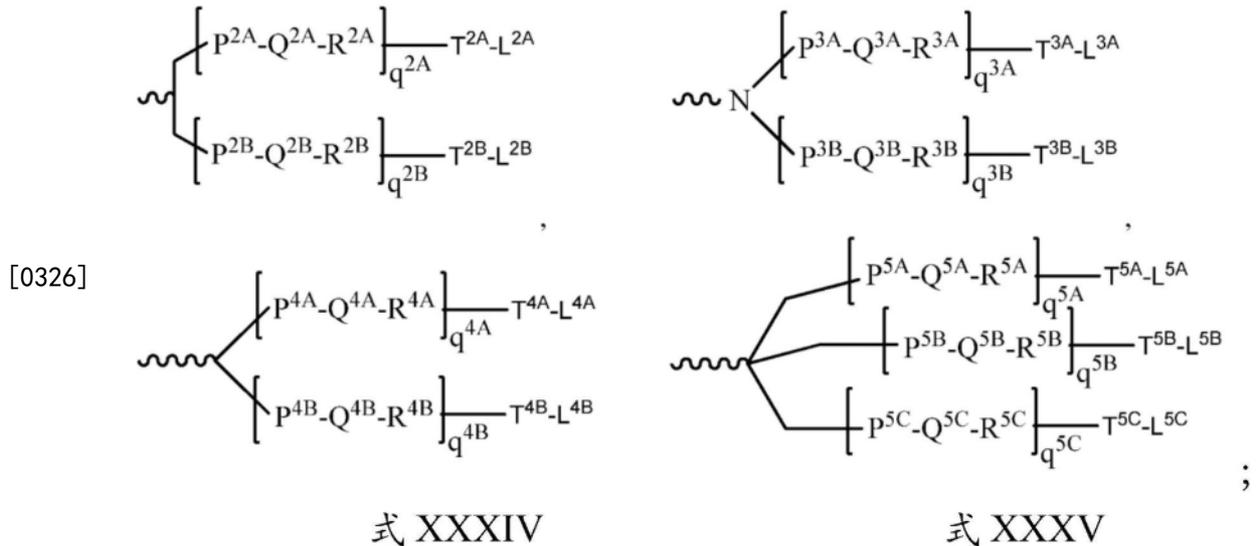
[0322] (式 XXXI), 当X或Y之一为寡核苷酸时, 另一个为氢。

[0323] 本发明组合物及方法的某些实施例中, 配体为经由二价或三价分支接头而附接的一个或多个GalNAc (N-乙酰半乳糖) 衍生物。

[0324] 在一个实施例中, 本发明的dsRNA被共轭到选自下组的一种二价或三价分支接头上, 该组具有以任何式 (XXXII) - (XXXV) 示出的结构:

[0325] 式 XXXII

式 XXXIII



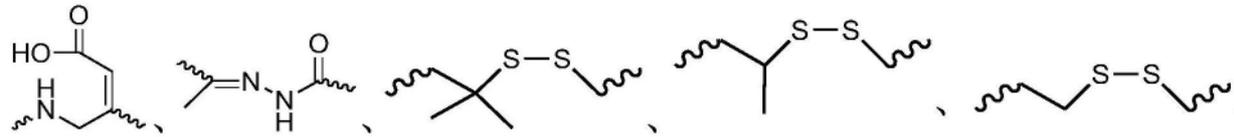
[0327] 其中:

[0328] q^{2A} 、 q^{2B} 、 q^{3A} 、 q^{3B} 、 q^{4A} 、 q^{4B} 、 q^{5A} 、 q^{5B} 以及 q^{5C} 对于每次出现独立地表示0-20并且其中该重复单元可以是相同或不同的;

[0329] P^{2A} 、 P^{2B} 、 P^{3A} 、 P^{3B} 、 P^{4A} 、 P^{4B} 、 P^{5A} 、 P^{5B} 、 P^{5C} 、 T^{2A} 、 T^{2B} 、 T^{3A} 、 T^{3B} 、 T^{4A} 、 T^{4B} 、 T^{4A} 、 T^{5B} 、 T^{5C} 对于每次出现各自独立地是:不存在、CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、 CH_2 、 CH_2NH 或 CH_2O ;

[0330] Q^{2A} 、 Q^{2B} 、 Q^{3A} 、 Q^{3B} 、 Q^{4A} 、 Q^{4B} 、 Q^{5A} 、 Q^{5B} 、 Q^{5C} 对于每次出现独立地是:不存在、亚烷基、取代的亚烷基,其中一个或多个亚甲基可以被以下各项中的一个或多个中断或封端:O、S、S(O)、 SO_2 、 $N(R^N)$ 、 $C(R')=C(R'')$ 、 $C\equiv C$ 或C(O);

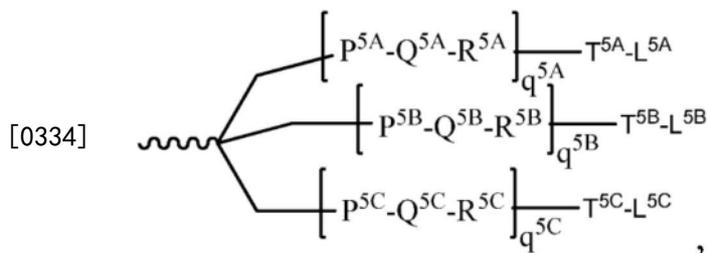
[0331] R^{2A} 、 R^{2B} 、 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 、 R^{4B} 、 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} 对于每次出现各自独立地是:不存在、NH、O、S、 CH_2 、C(O)O、C(O)NH、 $NHCH(R^a)C(O)$ 、 $-C(O)-CH(R^a)-NH-$ 、CO、 $CH=N-O$ 、



或杂环基;

[0332] L^{2A} 、 L^{2B} 、 L^{3A} 、 L^{3B} 、 L^{4A} 、 L^{4B} 、 L^{5A} 、 L^{5B} 以及 L^{5C} 表示配体;即对于每次出现各自独立地表示单糖(如GalNAc)、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖;且 R^a 为H或氨基酸侧链。三价共轭的GalNAc衍生物特别适用于与RNAi药剂一起使用以用于抑制靶基因的表达,如具有式(XXXV)的那些;

[0333] 式XXXII



[0335] 其中 L^{5A} 、 L^{5B} 和 L^{5C} 表示单糖,如GalNAc衍生物。

[0336] 适合的二价或三价分支接头基团辄合GalNAc衍生物的实例包含,但不限于,以上

引用的结构如式II、VII、XI、X及XIII。

[0337] 传授制备RNA共轭物的代表性美国专利包括但不限于：美国专利号4,828,979;4,948,882;5,218,105;5,525,465;5,541,313;5,545,730;5,552,538;5,578,717;5,580,731;5,591,584;5,109,124;5,118,802;5,138,045;5,414,077;5,486,603;5,512,439;5,578,718;5,608,046;4,587,044;4,605,735;4,667,025;4,762,779;4,789,737;4,824,941;4,835,263;4,876,335;4,904,582;4,958,013;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,082,830;5,112,963;5,214,136;5,245,022;5,254,469;5,258,506;5,262,536;5,272,250;5,292,873;5,317,098;5,371,241;5,391,723;5,416,203;5,451,463;5,510,475;5,512,667;5,514,785;5,565,552;5,567,810;5,574,142;5,585,481;5,587,371;5,595,726;5,597,696;5,599,923;5,599,928和5,688,941;6,294,664;6,320,017;6,576,752;6,783,931;6,900,297;7,037,646;8,106,022,前述专利的每个的全部内容特此通过引用结合在此。

[0338] 给定化合物中的全部位置不必要经统一修饰,并且实际上可以在单个化合物中或甚至在iRNA内部的单个核苷处掺入多于一个前述修饰。本发明也包括作为嵌合化合物的iRNA化合物。

[0339] 在本发明的上下文中,“嵌合体的”iRNA化合物或“嵌合体”是以下这样的iRNA化合物,优选是dsRNA,它们包含两个或更多个化学上不同的区域,每者由至少一个单体单元构成,即,在dsRNA化合物的情况下的一种核苷酸。这些iRNA典型地含有至少一个区域,其中该RNA被修饰以便赋予iRNA增加的核酸酶降解抗性、增加的细胞摄取和/或增加的靶核酸结合亲和力。iRNA的额外区域可充当能切割RNA:DNA或RNA:RNA杂合体的酶的基质。举例而言,RNase H是一种切割RNA:DNA双链体的RNA链的细胞内切核酸酶。因此,RNase H的激活导致RNA靶标的切割,从而大大增强iRNA抑制基因表达的效率。因此,与杂交至相同靶区域的硫代磷酸酯脱氧dsRNA相比,可以在使用嵌合dsRNA时,经常用较短的iRNA获得可比较的结果。可以常规地通过凝胶电泳并且如果必要的话联合本领域中已知的核酸杂交技术来检测该RNA靶标的切割。

[0340] 在某些实例中,iRNA的RNA可以通过非配体基团来进行修饰。为了加强iRNA活性、细胞分布或细胞摄取,已使许多非配体分子与iRNA轭合,而进行这种轭合的程序可在科学文献中找到。此类非配体部分已经包括脂质部分例如胆固醇(库博(Kubo,T.)等人,生物化学和生物物理研究通讯(Biochem.Biophys.Res.Comm.),2007,365(1):54-61;乐欣格(Letsinger)等人,美国科学院院刊,1989,86:6553)、胆酸(马诺汗(Manoharan)等人,生物有机化学与医药化学快报(Bioorg.Med.Chem.Lett.),1994,4:1053)、硫醚,例如,己基-S-三苯甲基硫醇(马诺汗等人,纽约科学院年报(Ann.N.Y.Acad.Sci.),1992,660:306;马诺汗等人,生物有机化学与医药化学快报,1993,3:2765)、硫代胆固醇(奥博汗瑟(Oberhauser)等人,核酸研究(Nucl.Acids Res.),1992,20:533)、脂肪链如十二烷基二醇或十一烷基残基(赛森-博和马拉(Saison-Behmoaras)等人,EMBO J.,1991,10:111;卡波诺(Kabanov)等人,FEBS Lett.,1990,259:327;斯伍那区克(Svinarchuk)等人,生物化学(Biochimie),1993,75:49)、磷脂如二-十六烷基-外消旋-甘油或三乙基-铵1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-H-磷酸酯(马诺汗等人,四面体通讯(Tetrahedron Lett.),1995,36:3651;舍阿(Shea)等人,核酸研究,1990,18:3777)、聚胺或聚乙烯乙二醇链(马诺汗等人,核苷 & 核苷

酸(Nucleosides&Nucleotides),1995,14:969),或金刚烷乙酸(马诺汗等人,四面体通讯,1995,36:3651)、棕榈基部分(米莎(Mishra)等人,生物化学与生物物理学学报(Biochim.Biophys.Acta),1995,1264:229),或十八胺或己胺-羧基-羟胆固醇部分(克鲁克(Crooke)等人,药理学与实验治疗学杂志(J.Pharmacol.Exp.Ther.),1996,277:923)。教导制备这种RNA轭合物的代表性美国专利已列于上文。典型的共轭方案涉及在序列的一个或多个位置处合成具有氨基接头的RNA。然后使用适当的偶联剂或活化剂使该氨基基团与被共轭的分子进行反应。可以用仍与固相载体结合或在切割RNA之后处于溶液相中的RNA来进行共轭反应。通过HPLC纯化RNA共轭物典型地提供纯的共轭物。

[0341] IV. 本发明的iRNA的递送

[0342] 可有多种不同方法实现本发明iRNA至细胞的递送,细胞是如,受试者,诸如人类受试者(如,对有需要的受试者,诸如具有脂质代谢障碍的受试者)体内的细胞。例如,可以通过在体外或体内使细胞与本发明的iRNA接触来进行递送。还可以通过向受试者给予包含iRNA(例如dsRNA)的组合物来直接进行体内递送。可替代地,可以通过给予编码并且引导iRNA表达的一种或多种载体来间接进行体内递送。以下进一步讨论这些替代方案。

[0343] 通常,任何递送核酸分子(体外或体内)的方法适用于本发明iRNA的使用(参见如,Akhtar S.和Julian RL.,(1992) Trends Cell.Biol. 2(5):139-144和WO 94/02595,其借由引用全部并入本文中)。对于体内递送,为了递送iRNA分子所考虑的因素包括例如,所递送的分子的生物稳定性、非特异性效应的预防以及所递送的分子在靶组织中的累积。可以通过局部给予,例如通过直接注射或植入到组织中或局部给予制剂来使iRNA的非特异性效应最小化。向治疗部位局部给予使药剂的局部浓度最大化,限制该药剂向全身组织的暴露,该全身组织否则可以受该药剂损害或可以降解该药剂,并且容许给予较低总剂量的iRNA分子。若干研究已经显示在局部给予iRNA时成功敲低基因产物。例如,经由食蟹猴中的水晶体内注射(Tolentino,MJ.等人,(2004) Retina 24:132-138)及小鼠的视网膜下注射(Reich,SJ.等人(2003) Mol.Vis. 9:210-216)而眼内递送VEGF dsRNA,均显示防止年龄相关的黄斑病变的实验模型中的血管新生。此外,小鼠的直接肿瘤内注射dsRNA减小肿瘤体积(Pille,J.等人(2005) Mol.Ther.11:267-274)且可延长荷瘤小鼠的存活(Kim,WJ.等人,(2006) Mol.Ther.14:343-350;Li,S.等人,(2007) Mol.Ther.15:515-523)。还已经由直接注射而成功地局部递送RNA干扰至CNS(Dorn,G.等人,(2004) Nucleic Acids 32:e49;Tan,PH.等人(2005) Gene Ther.12:59-66;Makimura,H.等人(2002) BMC Neurosci.3:18;Shishkina,GT.,等人(2004) Neuroscience 129:521-528;Thakker,ER.,等人(2004) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.101:17270-17275;Akaneya,Y.,等人(2005) J.Neurophysiol.93:594-602)及经由鼻腔给药而成功递送至肺部(Howard,KA.等人,(2006) Mol.Ther.14:476-484;Zhang,X.等人,(2004) J.Biol.Chem.279:10677-10684;Bitko,V.等人,(2005) Nat.Med.11:50-55)。对于全身性给予iRNA用于治疗疾病,可以将RNA修饰或可替代地使用药物递送系统进行递送;两种方法都可以有防止dsRNA被体内核酸内切酶或外切酶快速降解的作用。对RNA或药物载体的修饰还可以容许iRNA组合物靶向靶组织,并且避免不希望的脱靶效应。iRNA分子可以通过化学共轭至亲脂性基团如胆固醇进行修饰以增强细胞摄取和防止降解。例如将与亲脂性胆固醇部分共轭的针对ApoB的iRNA全身注射到小鼠中并且导致肝脏和空肠两者中apoB mRNA的敲低(Soutschek,J.等人(2004)

Nature 432:173-178)。iRNA 与适配体的轭合已经在前列腺癌的小鼠模型中显示抑制肿瘤生长并介导肿瘤消退(McNamara, JO. 等人, (2006) Nat. Biotechnol. 24:1005-1015)。另一个替代实施例中, 可使用药物递送系统诸如奈米颗粒、树状物、聚合物、脂质体或阳离子递送系统来递送 iRNA。带正电荷的阳离子递送系统促进(带负电荷的) iRNA 分子的结合并且也在带负电荷的细胞膜增强相互作用以容许 iRNA 由细胞高效摄取。阳离子脂质、树状物或聚合物可以或者结合到 iRNA 上, 或者诱导形成包住 iRNA 的囊泡或胶束(参见例如, Kim SH. 等人, (2008) Journal of Controlled Release 129(2):107-116)。囊泡或微胞的形成进一步防止全身性给药时的 iRNA 降解。制造及给予阳离子-iRNA 复合体的方法完全在所属领域熟练技术人员的能力范围内(参见如, Sorensen, DR., 等人 (2003) J. Mol. Biol. 327:761-766; Verma, UN. 等人, (2003) Clin. Cancer Res. 9:1291-1300; Arnold, AS 等人, (2007) J. Hypertens. 25:197-205, 其通过引用全部并入本文中)。适用于全身性递送 iRNAs 的一些药物递送系统的非限制性实例包含 DOTAP (Sorensen, DR., 等人 (2003), supra; Verma, UN. 等人, (2003), 见上文)、Oligofectamine, “固体核酸脂质颗粒”(Zimmermann, TS. 等人, (2006) Nature 441:111-114)、心磷脂 (Chien, PY. 等人, (2005) Cancer Gene Ther. 12:321-328; Pal, A. 等人, (2005) Int. J. Oncol. 26:1087-1091)、聚伸乙基亚胺 (Bonnet ME. 等人, (2008) Pharm. Res. Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) J. Biomed. Biotechnol. 7:1659)、Arg-Gly-Asp (RGD) 肽 (Liu, S. (2006) Mol. Pharm. 3:472-487) 及聚酰胺基胺 (Tomalia, DA. 等人, (2007) Biochem. Soc. Trans. 35:61-67; Yoo, H. 等人, (1999) Pharm. Res. 16:1799-1804)。一些实施例中, iRNA 与环糊精形成复合体而用于全身性给药。用于施用 iRNA 和环糊精的药物组合物的方法可以在美国专利号 7,427,605 中找到, 所述专利通过引用方式完整地结合在此。

[0344] A. 编码本发明的 iRNA 的载体

[0345] 靶向 ANGPTL3 基因的 iRNA 可从插入 DNA 或 RNA 载体的转录单位表达(参见, 如, Couture, A. 等人, TIG. (1996), 12:5-10; Skillern, A., 等人, 国际 PCT 公开号 WO 00/22113, Conrad, 国际 PCT 公开号 WO 00/22114, 及 Conrad, 美国专利案号 6,054,299)。表达可以是短暂的(数小时至数星期内)或持续的(数星期至数月或更久), 取决于所使用的特定建构及靶组织或细胞类型。这些转基因可作为线性建构、环状质体或可以是整合或非整合载体的病毒载体而引入。还可建构该转基因以允许它作为染色体外的质体而进行遗传 (Gassmann, 等人, (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:1292)。

[0346] iRNA 的单条链或多条链可以从表达载体上的启动子转录。当两个单独的链有待被表达以产生例如 dsRNA 时, 可以将两个单独的表达载体共引入(例如通过转染或感染)到靶细胞中。可替代地, dsRNA 的每个单独链可以通过均位于相同表达质粒上的启动子来转录。在实施例中, dsRNA 经表达为经由接头多核苷酸序列连结的反向重复多核苷酸而使得该 dsRNA 具有茎及环结构。

[0347] iRNA 表达载体通常是 DNA 质粒或病毒载体。与真核细胞相容的表达载体、优选地与脊椎动物细胞相容的那些, 可以用来产生用于表达如在此所描述的 iRNA 的重组构建体。真核细胞表达载体是本领域中熟知的并且从许多商业来源可获得。典型地, 提供含有用于插入希望的核酸区段的合宜限制性位点的这类载体。iRNA 表达载体的递送可以是全身性, 诸如经静脉或肌肉内给药、经由给药至从患者移植出的靶细胞后再引入患者中, 或经由允

许引入所需靶细胞的任何其他方法。

[0348] 可以随在此所述的方法和组合物一起使用的病毒载体系统包括但不限于：(a) 腺病毒载体；(b) 逆转录病毒载体，包括但不限于慢病毒载体、莫洛尼鼠白血病毒等；(c) 腺伴随病毒载体；(d) 单纯疱疹病毒载体；(e) SV 40载体；(f) 多瘤病毒载体；(g) 乳头瘤病毒载体；(h) 微小核糖核酸病毒载体；(i) 痘病毒载体，如正痘病毒，例如痘苗病毒载体，或禽痘病毒，例如金丝雀痘病毒或鸡痘病毒；以及(j) 辅助病毒依赖性腺病毒或无肠腺病毒。复制缺陷型病毒也可以有利的。不同的载体将并入或将不并入细胞的基因组中。如果需要，构建体可以包含病毒序列以用于转染。可替代地，构建体可以并入能够发生附加体型复制的载体(例如EPV和EBV载体)中。用于重组表达iRNA的构建体通常将需要调节元件，例如启动子、增强子等，以确保iRNA在靶细胞中的表达。针对载体及建构的其他方面考虑为所属领域所已知。

[0349] V. 本发明的药物组合物

[0350] 本发明还包括药物组合物和配制品，它们包括本发明的iRNA。在一个实施例中，在此提供了含有如在此所描述的iRNA和药学上可接受的载体的药物组合物。含有iRNA的药物组合物适用于治疗与ANGPTL3 基因的表达或活性相关的疾病或障碍，如，脂质代谢障碍，如，遗传性障碍，诸如家族性高三酸甘油酯血症、家族性部分脂肪营养不良第1型 (FPLD1) 或诱发性或获得性障碍，诸如因为疾病、障碍或病状(如，肾衰竭)、节食或摄取某些药物(如，因为使用用于治疗，如，AIDS或 HIV的高效抗逆转录病毒疗法的结果)的结果而诱发或获得的障碍。

[0351] 基于递送模式而配制这种药物组合物。实例为配制成经由肠外递送，如，静脉(IV)或皮下递送而用于全身性给药的组合物。另一个实例为配制成直接递送至肝脏的组合物，如，经由输注至肝脏，诸如经由连续泵输注。

[0352] 本发明药物组合物可按足以抑制ANGPTL3基因表达的剂量给予。通常，本发明的iRNA的适合剂量将处于每天约0.001至约200.0毫克/ 受体的千克体重范围内，通常处于每天约1mg至50mg/千克体重范围内。通常，本发明iRNA的适合剂量将在约0.1mg/kg至约5.0mg/kg的范围内，优选约0.3mg/kg及约3.0mg/kg。

[0353] 重复给药方案可包含在常规基础上给药治疗量的iRNA，诸如从每隔1天到1年1次。在某些实施例中，约每月1次至约每季1次(即，约每3个月1次)给药iRNA。

[0354] 在初始治疗方案后，可以基于更低频率给予治疗。

[0355] 熟练技术人员应了解某些因素可影响有效治疗受试者所需的剂量及时间，包括但不限于疾病或障碍的严重性、先前的治疗、受试者的一般健康情形和/或年龄及其他存在的疾病。此外，用治疗有效剂量的组合物治疗受试者可以包括单次治疗或一系列治疗。如在此的其他地方所描述，使用常规方法或基于使用适当动物模型的体内测试，可以评估本发明涵盖的各个iRNA的有效剂量和体内半衰期。

[0356] 小鼠遗传学上的进展已产生多种小鼠模型用于研究各种人类疾病，诸如可从ANGPTL3表达的减低而受益的脂质代谢障碍。此类模型可以用于iRNA的体内测试，以及用于确定治疗有效的剂量。所属领域已知适合的小鼠模型及包含，例如，在肥胖(ob)基因中含有突变的肥胖 (ob/ob) 小鼠(Wiegman等人，(2003) Diabetes, 52:1081-1089)；含有 LDL受体同型结合敲除的小鼠(LDLR^{-/-}小鼠；Ishibashi等人，(1993) J Clin Invest 92(2):883-

893); 饮食诱导的动脉粥样硬化小鼠模型 (Ishida等人, (1991) J.Lipid.Res., 32:559-568); 及异型接合脂蛋白脂肪酶敲除的小鼠模型 (Weistock等人, (1995) J.Clin.Invest. 96 (6):2555-2568)。

[0357] 取决于所需的是局部还是全身治疗及取决于待治疗的区域而按多种方法给予本发明药物组合物。给药可以是局部的 (如, 经皮贴片), 肺的, 如, 经由粉末或喷雾剂的吸入或吹入, 包含经由雾化器; 气管内、鼻腔、表皮的及经皮的、口服或肠外。肠外给药包含静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注; 表皮下, 如, 经由移植装置; 或颅内, 如, 经由脑实质内、鞘内或心室内的给药。

[0358] iRNA可以按这样的方式递送以靶向特定组织, 如肝脏 (例如肝脏的肝细胞)。

[0359] 用于局部给药的药物组合物及配制品可包含经皮贴片、软膏、乳液、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体及粉末。常规的药物载体、水、粉末或油基、增稠剂等可以是必要的或希望的。包衣的安全套、手套等也可以是有用的。适合的局部配制品包括其中在本发明中体现的iRNA与局部用递送剂如脂质、脂质体、脂肪酸、脂肪酸酯、类固醇、螯合剂和表面活性剂混合的那些。合适的脂质与脂质体包括中性的 (例如, 二油酰基磷脂酰基DOPE乙醇胺、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱DMPC、二硬脂酰磷脂酰胆碱)、阴离子的 (例如, 二肉豆蔻酰磷脂酰甘油DMPG) 以及阳离子的 (例如, 二油酰基四甲基氨基丙基DOTAP以及二油酰基磷脂酰乙醇胺DOTMA)。在本发明中体现的iRNA可以被包裹在脂质体内或可以与其形成复合物, 具体地与阳离子脂质体形成复合物。可替代地, iRNA可以与脂质、具体地与阳离子脂质复合。合适的脂肪酸与酯包括但不限于花生四烯酸、油酸、花生酸、月桂酸、羊脂酸、羊蜡酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、甘油单油酸酯、甘油二月桂酸酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二烷基氮杂环庚-2-酮、酰基肉毒碱、酰基胆碱、或C₁₋₂₀烷基酯 (例如异丙基肉豆蔻酸酯IPM)、甘油一酯、甘油二酯或其药学上可接受的盐。局部配制品被详细地描述于美国专利号6,747,014中, 该美国专利通过引用方式结合在此。

[0360] 用于口服给予的组合物和配制品包括粉剂或颗粒剂、微粒剂、纳米颗粒剂、在水或非水性介质中的混悬液或溶液、胶囊、凝胶胶囊、囊剂、片剂或迷你片剂。增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或结合剂可以是希望的。在一些实施例中, 口服配制品是以下那些: 其中在本发明中体现的dsRNA与一种或多种渗透增强剂表面活性剂以及螯合剂结合地给予。合适的表面活性剂包括脂肪酸和/或其酯或盐、胆汁酸和/或其盐。合适的胆酸/盐包括鹅脱氧胆酸(CDCA)以及乌索脱氧胆酸(UDCA)、胆酸、脱氢胆酸、脱氧胆酸、葡糖胆酸、甘油胆酸、甘油脱氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺脱氧胆酸、牛磺-24,25-二氢-梭链孢酸钠以及甘油二氢梭链孢酸钠。合适的脂肪酸包括花生四烯酸、十一烷酸、油酸、月桂酸、羊脂酸、羊蜡酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、甘油单油酸酯、甘油二月桂酸酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二烷基氮杂环庚-2-酮、一种酰基肉毒碱、一种酰基胆碱、或一种甘油一酯、甘油二酯或其药学上可接受的盐 (例如钠盐)。在一些实施例中, 渗透增强剂的组合 (例如脂肪酸/盐) 是与胆汁酸/盐组合使用。一个示例性的组合是月桂酸、羊蜡酸以及UDCA的钠盐。其他渗透促强剂包括聚氧乙烯-9-月桂基醚、聚氧乙烯-20-鲸蜡醚。本发明表征的dsRNA可以口服递送, 以包括喷雾干燥颗粒的颗粒剂的形式递送, 或者复合成微颗粒或纳米颗粒。DsRNA复合剂包含聚胺基酸; 聚亚胺; 聚丙烯酸酯; 聚丙烯酸烷酯; 聚环氧丙烷; 聚氰基丙烯酸烷酯; 阳离子化明胶、白蛋白、淀粉、丙烯酸酯、聚乙二醇类(PEG)及淀粉; 聚氰基

丙烯酸烷酯;DEAE-衍生的聚亚胺、普鲁兰多糖、纤维素及淀粉。合适的复合剂包括壳聚糖、N-三甲基壳聚糖、聚-L-赖氨酸、聚组氨酸、聚鸟氨酸、聚精胺、鱼精蛋白、聚乙烯吡啶、聚硫代二乙基氨基甲基乙烯 P (TDAE)、聚氨基苯乙烯(例如p-氨基)、聚(甲基氰基丙烯酸酯)、聚(乙基氰基丙烯酸酯)、聚(丁基氰基丙烯酸酯)、聚(异丁基氰基丙烯酸酯)、聚(异己基氰基丙烯酸酯)、DEAE-异丁烯酸酯、DEAE-己基丙烯酸酯、DEAE-丙烯酰胺、DEAE-白蛋白与DEAE-葡聚糖、聚甲基丙烯酸酯、聚己基丙烯酸酯、聚(D,L-乳酸)、聚(DL-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)、藻朊酸盐、以及聚乙二醇(PEG)。dsRNA的口服配制品及其制备在美国专利 6,887,906、美国公开号20030027780以及美国专利号6,747,014中详述,这些文献的每一个通过引用结合在此。

[0361] 用于肠胃外、实质内(进入脑)、鞘内、心室内或肝内给药的组合物和配制品可以包括无菌水溶液,其也可以包含缓冲液、稀释剂及其他适当的添加剂,例如但不限于:渗透增强剂、载体化合物及其他药学上可接受的载体或赋形剂。

[0362] 本发明药物组合物包含,但不限于,溶液、乳状剂及含脂质体的配制品。这些组合物可以产生自多种组分,这些组分包括但不限于预成形的液体、自乳化固体以及自乳化半固体。治疗肝脏疾病诸如肝癌时,特别佳的是靶向肝脏的配制品。

[0363] 本发明的药物配制品(可以方便地以单位剂型存在)可以根据医药工业内熟知的常规技术来制备。此类技术包括以下这样的步骤:将这些活性成分与该(这些)药物载体或赋形剂进行联合。总体而言,这些配制品是通过以下步骤来制备:使这些活性成分与液体载体或精细分散的固体载体或它们两者均匀地且精细地联合,并且如果需要,进而将产品成形。

[0364] 本发明的这些组合物可以被配制成为任何许多可能的剂型,如但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆剂、软凝胶、栓剂以及灌肠剂。本发明的这些组合物还可以被配制为在水性、非水性或混合性介质中的混悬液。水性混悬液可以进一步包含增加该混悬液的粘度的物质,这样的物质包括例如羧甲基纤维素钠、山梨醇和/或葡聚糖。该混悬液还可以含有稳定剂。

[0365] A. 另外的配制品

[0366] i. 乳剂

[0367] 可以将本发明的组合物制备和配制为乳剂。乳剂典型地是一种液体以直径通常超过 $0.1\mu\text{m}$ 的液滴形式分散于另一种中的多相体系(参见,例如安赛尔(Ansel)的药物剂型与药物传递系统(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems),艾伦LV.、波波维奇(Popovich) NG.以及安赛尔HC.,2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(Lippincott Williams&Wilkins)(第8版),纽约州纽约;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第199页;洛索夫,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第245页;布洛克,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第2卷,第335页;希古契(Higuchi),雷明顿氏药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences),麦克出版公司(Mack Publishing Co.),伊斯顿(Easton),Pa.,1985,第301页)。乳剂经常是包含密切混合且彼此分散的两个不混溶的液相的双相体系。通常,乳状剂可以是油包水(w/o)或水包油(o/w)种类。当水相作为微小液滴细碎并分散到本体油相中时,所产生的组合物被称为油包

水(w/o)乳剂。可替代地,当油相作为微小液滴细碎并分散到本体水相中时,所产生的组合物被称为水包油(o/w)乳剂。乳状剂除分散相及可以水相、油相或其本身作为独立相的溶液存在的活性药物之外,可含有另外的成分。如果需要,也可以存在药物赋形剂如乳化剂、稳定剂、染料和抗氧化剂。药物乳剂还可以为包括多于两种相的多重乳剂,例如像油包水包油(o/w/o)和水包油包水(w/o/w)乳剂的情况。此类复合配制品通常提供某些简单的二元乳剂所不具有的优势。当多重乳剂中的o/w乳剂的各油滴还包有小水滴时,该多重乳剂形成w/o/w乳剂。同样地,在油连续相中稳定化的水滴中封装油滴的系统,构成o/w/o乳剂。

[0368] 乳剂具有较小或没有热力学稳定性的特征。通常,乳剂的分散相或不连续相很好地分散在外相或连续相中并通过乳化剂或配制品的粘性保持这种形式。在乳状软膏基料及乳膏的情况,乳状剂的相可以是半固体或固体。其他稳定乳液的方式需要使用乳化剂,这些乳化剂可以合并到乳液的任一相中。乳化剂可以被广泛地分成四类:合成表面活性剂、天然存在的乳化剂、吸收基质以及精细分散的固体(参见例如,安塞尔的药物剂型和药物递送系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC, 2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第199页)。

[0369] 合成表面活性剂,也称作表面活性药剂,已经发现在乳剂的配制中广泛应用并且已经在文献中综述(参见,例如安塞尔的药物剂型与药物传递系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC., 2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;列赫尔,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第285页;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),马塞尔德克公司,纽约州纽约,1988,第1卷,第199页);表面活性剂典型地是两亲的,并且包含亲水部分和疏水部分。表面活性剂的亲水和疏水性的比率被称为亲水/亲油平衡值(HLB),并且它是配制品制备中分类和选择表面活性剂的有价值的工具。表面活性剂可以基于亲水基团的性质:非离子、阴离子、阳离子和两亲分成不同类别(参见例如,安塞尔的药物剂型和药物递送系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC, 2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;列赫尔,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第285页)。

[0370] 乳剂配制品中使用的天然存在的乳化剂包括羊毛脂、蜂蜡、磷脂、卵磷脂和阿拉伯胶。吸收基质具有亲水特性,所以它们能够吸收水以形成w/o乳剂并仍然保持它们的半固体稠度,如无水羊毛脂和亲水凡士林。精细分散的固体也已经被用做优良的乳化剂,尤其是与表面活性剂组合和在粘性制剂中使用。这些包括极性无机固体,如重金属氢氧化物、非溶胀粘土如膨润土、凹凸棒土、锂蒙脱石,高岭土、蒙脱土、胶状硅酸铝和胶状镁硅酸铝、颜料和非极性固体如碳或甘油基三硬脂酸酯。

[0371] 乳状剂配制品亦包含多种非乳化材料并且有助于乳状剂的特性。这些包括脂肪、油、蜡、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、湿润剂、亲水胶体、防腐剂和抗氧化剂(布洛克,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著), 1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第335页;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第199页)。

[0372] 亲水胶体或水状胶体包括天然存在的树胶和合成的聚合物如多糖(如阿拉伯树胶、琼脂、藻酸、角叉菜聚糖、瓜耳胶、刺梧桐树胶和皂荚胶),纤维素衍生物(如羧甲基纤维

素和羧丙基纤维素)和合成的聚合物(如卡波姆胶、纤维素醚和羧基乙烯基聚合物)。这些物质在水中分散或溶胀形成胶状溶液,这些胶状溶液通过在分散相液滴的周围形成强的界面膜并通过增强外相的粘度来稳定乳剂。

[0373] 由于乳剂通常包含一些可以容易地支持微生物生长的成份如碳水化合物、蛋白、固醇和磷脂,所以这些配制品通常含有防腐剂。乳剂配制品中通常使用的防腐剂包括甲基对羟基苯甲酸酯、丙基对羟基苯甲酸酯、季铵盐、苯扎氯铵、对羟基苯甲酸酯和硼酸。通常也将抗氧化剂加入到乳剂配制品中,以预防配制品的变质。所用的抗氧化剂可以是自由基清除剂,如生育酚,没食子酸烷基酯、丁化羟基茴香醚、丁化羟基甲苯,或还原剂如抗坏血酸和焦亚硫酸钠,和抗氧化剂增效剂如柠檬酸、酒石酸和卵磷脂。

[0374] 经由皮肤途径、口途径和肠胃外途径使用乳剂配制品和制造它们的方法已经在文献中综述(参见,例如安塞尔的药物剂型与药物传递系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC.,2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第199页)。由于易于配制以及从吸收和生物利用度观点来看的有效性,用于口服递送的乳剂配制品已得到非常广泛地使用(参见,例如安塞尔的药物剂型与药物传递系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC.,2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;洛索夫,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第245页;艾迪升,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第199页)。基于矿物油的缓泻药、油溶性维生素和高脂肪营养制剂属于经常作为o/w乳剂口服给予的物质。

[0375] ii.微乳剂

[0376] 在本发明的一个实施例中,将iRNA和核酸的组合物配制为微乳剂。可以将微乳剂定义为水、油和两亲分子的体系,所述体系是光学各向同性和热动力学稳定的单一液态溶液(参见例如,安塞尔的药物剂型和药物递送系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC.,2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;洛索夫,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第245页)。一般微滴乳状剂为经由下列方法而制备的体系:首先将由分散至水性表面活性剂溶液,然后添加足量的第四成分,通常为中等链长的醇,而形成透明体系。因此,微乳剂也被描述成由表面活性分子的界面膜稳定化的两种不能混合的液体的热力学稳定的各向同性的澄清分散系(朗(Leung)与纱(Shah),在:药物的受控释放:聚合物和聚集体系统(Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems),洛索夫M.编著,1989,VCH出版公司,纽约,第185-215页)。通常微乳剂通过包括油、水、表面活性剂、助表面活性剂和电解质的三至五种组分的组合来制备。微乳剂是为油包水(w/o)还是水包油(o/w)类型取决于所使用的油和表面活性剂的特性以及表面活性剂分子的极性头部和羟基尾的结构和几何包装(斯科特(Schott),雷明顿氏药物科学,麦克出版公司,伊斯顿,Pa.,1985,第271页)。

[0377] 已经广泛研究了利用相图的现象学方法并且该方法已经产生了为本领域普通技术人员所知的如何配制微乳剂的广泛知识(参见例如,安塞尔的药物剂型和药物递送系统,艾伦LV.、波波维奇NG.以及安塞尔HC.,2004,利平科特威廉姆斯&威尔金斯(第8版),纽约州纽约;洛索夫,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽

约,第1卷,第245页;布洛克,药物剂型,利伯曼、列赫尔和班克(编著),1988,马塞尔德克公司,纽约州纽约,第1卷,第335页)。与常规乳剂相比,微乳剂提供的优点是能将非水溶性药物溶解到自发形成的热力学稳定的液滴的配制品中。

[0378] 在微乳剂的制备中使用的表面活性剂包括但不限于单独的或与助表面活性剂组合使用的离子表面活性剂、非离子表面活性剂、Brij96、聚氧乙烯油基醚、聚脂肪酸甘油酯、单月桂酸四甘油酯(ML310)、单油酸四甘油酯(MO310)、单油酸六甘油酯(P0310)、五油酸六甘油酯(P0500)、单癸酸十甘油酯(MCA750)、单油酸十甘油酯(MO750)、一又二分之一油酸十甘油酯(S0750)(decaglycerol sequioleate)、十油酸十甘油酯(DA0750)。该辅助表面活性剂通常是短链醇如乙醇、1-丙醇和1-丁醇,作用是通过渗透到表面活性剂膜中并由此在表面活性剂分子间产生空余空间来产生无序膜从而提高界面流动性。然而,可不使用辅助表面活性剂而制备微滴乳状剂且所属领域已知无醇自乳化微滴乳状剂体系。水相可以典型地是,但不限于水、药物的水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇和乙二醇的衍生物。油相可以包括但不限于如多种材料,例如Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯,中等链(C8-C12)的单、二和三甘油三酯,聚氧乙基化的甘油脂肪酸酯、脂肪醇,聚乙二醇化的甘油酯(polyglycolized glyceride),饱和的聚乙二醇化的C8-C10甘油酯、植物油和硅油。

[0379] 从药物溶解和增强的药物吸收方面看,微乳剂是特别令人感兴趣的。已提议基于脂质的微乳剂(o/w和w/o二者)增强药物(包括肽)的口服生物利用度(参见例如美国专利号6,191,105;7,063,860;7,070,802;7,157,099;康斯坦丁尼德斯(Constantinides)等人,药学研究(Pharmaceutical Research),1994,11,1385-1390;瑞茨尔(Ritschel),实验与临床药理学方法与成果(Meth.Find.Exp.Clin.Pharmacol.)1993,13,205)。微乳剂提供以下优点:改善药物溶解、保护药物免遭酶水解、可能因表面活性剂引起的膜流动性和通透性改变而增强药物吸收、易于制备、比固体剂型易于口服施用、临床效力改善和毒性减少(见例如美国专利号6,191,105;7,063,860;7,070,802;7,157,099;康斯坦丁尼德斯等人,药学研究,1994,11,1385;霍(Ho)等人,药学科学杂志(J.Pharm.Sci.),1996,85,138-143)。通常在环境温度下当微滴乳状剂的成分混在一起时就可自然形成微滴乳状剂。当配制热不稳定的药物、肽或iRNA时,这可以是特别有利的。在化妆品和药物应用领域,微乳剂在活性组分的经皮递送中也是有效的。预期本发明的微乳剂组合物和配制品将促进iRNA和核酸从胃肠道的全身性吸收增加以及改善iRNA和核酸的局部细胞摄取。

[0380] 本发明的微乳剂还可以含有另外的组分和添加剂,如脱水山梨糖醇单硬脂酸酯(Grill3)、Labrasol、以及改善配制品特性并增强本发明的iRNA和核酸吸收的渗透增强剂。本发明的微乳剂中使用的渗透增强剂可以分成归于五大类中的一种:表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合的非表面活性剂(李(Lee)等人,治疗性药物载体系统锐评(Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems),1991,第92页)。这些类别中的每一个已经在以上进行了讨论。

[0381] iii. 微颗粒

[0382] 本发明的RNAi药剂可并入到一个颗粒,例如一个微颗粒。微颗粒可以通过喷雾干燥来产生,但也可以通过其他方法包括冷冻干燥、蒸发、流化床干燥、真空干燥或这些技术的组合来产生。

[0383] iv. 渗透增强剂

[0384] 在一个实施例中,本发明采用了不同渗透增强剂来实现向动物皮肤高效递送核酸,具体地iRNA。大多数药物以离子化形式和非离子化形式两者存在于溶液中。然而,通常只有脂溶的或亲脂的药物易于穿过细胞膜。已经发现,如果用渗透增强剂处理有待穿过的膜,甚至连非亲脂药物也可以穿过细胞膜。除了帮助非亲脂药物扩散穿过细胞膜以外,渗透增强剂还增强亲脂药物的渗透性。

[0385] 渗透增强剂可以被分成属于五个广泛分类中的一个,即表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合的非表面活性剂(参见例如,马尔姆斯滕(Malmsten)M. 药物递送中的表面活性剂和聚合物(Surfactants and polymers in drug delivery),健康传播杂志(Informa Health Care),纽约州纽约,2002;李等人,治疗性药物载体系统锐评,1991,第92页)。以下更详细地描述了以上提及的渗透增强剂的类别中的每一个。

[0386] 表面活性剂(或“表面活性剂”)为化学实体,当其溶解在水溶液中时,它能减少该溶液的表面张力或者水溶液和另一种液体之间的界面张力,结果是iRNA通过粘膜的吸收得到增强。除了胆汁盐和脂肪酸之外,这些增渗剂还包括例如月桂醇硫酸钠、聚氧乙烯基-9-月桂基醚和聚氧乙烯基-20-鲸蜡基醚(参见,例如,马姆斯顿(Malmsten,M.) 药物递送中的表面活性剂和聚合物(Surfactants and polymers in drug delivery),英富曼卫生保健(Informa Health Care),纽约,纽约州,2002;李(Lee) 等人.,治疗性药物载体系统锐评(Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems),1991,p.92);以及全氟化学乳剂如FC-43(高松(Takahashi)等人,药物药理学杂志(J.Pharm.Pharmacol.),1988,40,252)。

[0387] 充当渗透增强剂的各种脂肪酸及其衍生物包括例如油酸、月桂酸、癸酸(正癸酸)、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、单油精(1-单油酰-外消旋-甘油)、二月桂精、辛酸、花生四烯酸、甘油1-单癸酸酯、1-十二烷基氮杂环庚-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱、其C₁₋₂₀烷基酯(例如,甲基酯、异丙基酯和叔丁基酯)及其单和二甘油酯(即,油酸酯、月桂酸酯、癸酸酯、肉豆蔻酸酯、棕榈酸酯、硬脂酸酯、亚油酸酯等)。(参见例如,图伊杜(Touitou),E.等人,药物递送中的增强(Enhancement in Drug Delivery),CRC出版公司,马萨诸塞州丹佛斯(Danvers,MA),2006;李等人,治疗性药物载体系统锐评,1991,第92页;村西(Muranishi),治疗性药物载体系统锐评,1990,7,1-33;艾尔哈里里(EI Hariri)等人,药学与药理学杂志(J.Pharm.Pharmacol.),1992,44,651-654)。

[0388] 胆汁的生理学作用包括促进脂质和脂溶性维生素的分散和吸收(参见例如,马尔姆斯滕M. 药物递送中的表面活性剂和聚合物,健康传播杂志,纽约州纽约,2002;布鲁顿(Brunton),第38章,引自:古德曼吉尔曼治疗学的药理学基础(Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics),第9版,哈德曼(Hardman)等人编辑,McGraw-Hill 公司,纽约,1996,第934-935页)。不同天然的胆汁盐和它们的合成衍生物用作渗透增强剂。因此术语“胆汁盐”包括胆汁的任何天然存在的组分以及任何它们的合成衍生物。适合的胆汁盐包括,例如,胆酸(或其药学上可接受的钠盐、胆酸钠)、脱氢胆酸(脱氢胆酸钠)、脱氧胆酸(脱氧胆酸钠)、葡糖胆酸(葡糖胆酸钠)、甘氨酸胆酸(甘氨酸胆酸钠)、甘氨酸脱氧胆酸(甘氨酸脱氧胆酸钠)、牛磺胆酸(牛磺胆酸钠)、牛磺脱氧胆酸(牛磺脱氧胆酸钠)、鹅脱氧胆酸(鹅脱氧胆酸钠)、熊脱氧胆酸(UDCA)、牛磺-24,25-二氢褐霉酸钠(STDHF)、糖二氢褐霉酸钠

以及聚氧乙烯-9-月桂基醚(POE) (参见例如,马尔姆斯滕M. 药物递送中的表面活性剂和聚合物,健康传播杂志,纽约州纽约,2002;李等人,治疗性药物载体系统锐评,1991,第92页;斯温雅德(Swinyard),第39章,雷明顿氏药物科学,第18版,真纳罗(Gennaro)编辑,麦克出版公司,伊斯顿,Pa.,1990,第782-783页;村西,治疗性药物载体系统锐评,1990,7,1-33;山本(Yamamoto)等人,药理学与实验治疗学杂志(J.Pharm.Exp.Ther.),1992,263,25;山下(Yamashita)等人,药物科学杂志,1990,79,579-583)。

[0389] 与本发明有关使用的螯合剂可以定义为通过金属离子与其形成复合物将金属离子从溶液中除去的化合物,结果是通过粘膜的iRNA的吸收得到加强。关于它们在本发明中作为增渗剂的应用,因为多数特征化的DNA核酸酶需要二价金属离子用于催化并且因此可以被螯合剂抑制,螯合剂还具有充当DNase抑制剂的附加优势(加热特(Jarrett),层析学杂志(J.Chromatogr.),1993,618,315-339)。合适的螯合剂包括但不限于乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、柠檬酸、水杨酸盐(如水杨酸钠、5-甲氧水杨酸酯和高香草酸酯(homovanilate))、胶原质的N-酰基衍生物、月桂醇聚醚-9和 β -二酮的N-氨基酰基衍生物(烯胺)(参见例如凯特戴尔(Katdare),A.等人,用于制药、生物技术和药物递送的赋形剂的发展(Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery),CRC出版社,丹弗斯(Danvers),MA,2006;李(Lee)等人,治疗性药物载体系统锐评(Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems),1991,第92页;村西(Muranishi),治疗性药物载体系统锐评(Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems),1990,7,1-33;李等人,治疗性药物载体系统锐评,1991,第92页;村西,治疗性药物载体系统锐评,1990,7,1-33;布尔(Buur)等人,控制释放杂志(J.Control Rel.),1990,14,43-51)。

[0390] 如在此所使用,非螯合性非表面活性剂渗透增强化合物可以定义为作为螯合剂或作为表面活性剂展示不明显活性但是反而增强iRNA经消化道粘膜吸收的化合物(见例如村西,治疗性药物载体系统锐评,1990,7,1-33)。这类别的渗透增强剂包括例如不饱和环状脲、1-烷基-和1-烯基氮杂环-烷酮衍生物(李等人,治疗性药物载体系统锐评,1991,第92页);以及非类固醇类的抗炎剂,如双氯芬酸钠、引哚美辛和保泰松(山下(Yamashita)等人,药物科学杂志(J.Pharm.Pharmacol.),1987,39,621-626)。

[0391] 加强iRNA在细胞级别上的细胞摄取之药剂还可添加到本发明医药及其他组合物中。例如阳离子脂质,如脂质体(淳一(Junichi)等人,美国专利号5,705,188)、阳离子甘油衍生物和聚阳离子分子如聚赖氨酸(洛洛(Lollo)等人,PCT申请W0 97/30731)也已知增强dsRNA的细胞摄取。市售转染试剂的实例包含,例如LipofectamineTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、Lipofectamine 2000TM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、293fectinTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、CellfectinTM(Invitrogen; Carlsbad, CA)、DMRIE-CTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、FreeStyleTMMAX (Invitrogen; Carlsbad,CA)、LipofectamineTM2000CD(Invitrogen; Carlsbad,CA)、LipofectamineTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、RNAiMAX (Invitrogen; Carlsbad,CA)、OligofectamineTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、OptifectTM(Invitrogen; Carlsbad,CA)、X-tremeGENE Q2转染试剂(Roche; Grenzacherstrasse, Switzerland)、DOTAP脂质体转染试剂(Grenzacherstrasse, Switzerland)、DOSPER脂质体转染试剂(Grenzacherstrasse, Switzerland)或Fugene (Grenzacherstrasse, Switzerland)、Transfectam[®]试剂(Promega; Madison, WI)、

TransFast™转染试剂(Promega;Madison,WI)、Tfx™-20试剂(Promega;Madison,WI)、Tfx™-50试剂(Promega;Madison,WI)、DreamFect™(OZ Biosciences;Marseille,France)、EcoTransfect(OZ Biosciences;Marseille, France)、TransPass^a D1转染试剂(New England Biolabs;Ipswich,MA, USA)、LyoVec™/LipoGen™(Invitrogen;San Diego,CA, USA)、PerFectin 转染试剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、NeuroPORTER转染试剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、GenePORTER转染试剂(Genlantis; San Diego,CA,USA)、GenePORTER 2转染试剂(Genlantis;San Diego, CA,USA)、Cytfectin转染试剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、BaculoPORTER转染试剂(Genlantis;San Diego,CA, USA)、TrojanPORTER™转染试剂(Genlantis;San Diego,CA,USA)、RiboFect (Bioline; Taunton,MA,USA)、PlasFect (Bioline;Taunton,MA,USA)、UniFECTOR (B-Bridge International;Mountain View,CA,USA)、SureFECTOR (B-Bridge International; Mountain View,CA,USA)或 HiFect™(B-Bridge International,Mountain View,CA,USA)等。

[0392] 可利用于加强核酸给药之渗透性的药剂,包含甘油类诸如乙二醇及丙二醇、吡咯类诸如2-吡咯、月桂氮酮类及萜类诸如苧烯及薄荷酮。

[0393] v.载体

[0394] 本发明的某些组合物还将载体化合物结合在配制品中。如在此所使用,“载体化合物”或“载体”可以指核酸或其类似物,它是惰性的(即本身不具有生物活性),但却在体内过程中被认为是核酸,例如通过降解生物活性的核酸或促进其从循环中的除去而减少具有生物活性的核酸的生物利用度。核酸和载体化合物的共给予(典型地后一种物质过量)可以引起肝脏、肾脏或其他外循环储库中回收的核酸量大幅度减少,假定归因于该载体化合物与该核酸之间对共同受体的竞争。例如与聚肌苷酸、硫酸葡聚糖、聚胞苷酸或4-乙酰胺基-4'异硫氰酸苾-2,2'-二磺酸共施用,肝组织中部分硫代磷酸酯化的dsRNA的回收可以减少(宫尾(Miyao)等人,DsRNA研究与研发(DsRNA Res.Dev.),1995,5,115-121;高仓(Takakura)等人,DsRNA&核酸药物研发(DsRNA&Nucl. Acid Drug Dev.),1996,6,177-183)。

[0395] vi.赋形剂

[0396] 与载体化合物相反,“药物载体”或“赋形剂”是药学上可接受的溶剂、悬浮剂或用于将一种或多种核酸递送至动物的任何其他药理学上惰性的媒介物。该赋形剂可以是液体或固体,并且当与核酸和特定药物组合物的其他组分组合时,参考意欲的给予方式,对赋形剂进行选择以提供希望的容积、稠度等。典型的药物载体包括但不限于结合剂(例如,糯性玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素等);填充剂(例如,乳糖和其他糖、微晶纤维素、果胶、明胶、硫酸钙、乙基纤维素、聚丙烯酸酯或磷酸氢钙等);润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石、二氧化硅、胶态二氧化硅、硬脂酸、金属硬脂酸盐、氢化植物油、玉米淀粉、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠等);崩解剂(例如,淀粉、淀粉乙醇酸钠等);以及润湿剂(例如,月桂基硫酸钠)。

[0397] 适合于非肠胃外给予的、不与核酸发生有毒反应的、药学上可接受的有机或无机赋形剂也可以用来配制本发明的组合物。适当的药学上可接受载体包括但不限于:水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素、聚

乙烯吡咯烷酮等。

[0398] 用于局部给予核酸的配制品可以包括在普通溶剂如醇中的无菌或非无菌的水溶液、非水溶液,或在液体或固体油基质中的核酸溶液。这些溶液还可以包括缓冲液、稀释液和其他合适的添加剂。可以使用适合于非肠胃外给予的、且不与核酸发生有毒反应的、药学上可接受的有机或无机赋形剂。

[0399] 适当的药学上可接受赋形剂包括但不限于:水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。

[0400] vii. 其他组分

[0401] 本发明的这些组合物可以另外地含有其他本领域熟知用量的在药物组合物中常用的辅助组分。因此,例如这些组合物可以包括另外的、可相容的药学上有活性的物质如止痒剂、收敛剂、局部麻醉剂或抗炎剂,或者可以包括对本发明的组合物的各种剂型的物理配制有用的其他物质,如染料、芳香剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、增稠剂和稳定剂。然而,当加入此类物质时,它们不应当过度干扰本发明的组合物的成份的生物活性。可以将这些配制品进行灭菌并且如果希望的话与助剂如润滑剂、防腐剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、盐混合,用于影响渗透压的盐、缓冲液、着色物质、芳香物质和/或芬芳物质等进行混合,这些助剂不与该配制品中的一种或多种核酸发生有害的相互作用。

[0402] 水性混悬液可以包括增加该混悬液的粘度的物质,这样的物质包括例如羧甲基纤维素钠、山梨醇和/或葡聚糖。该混悬液还可以含有稳定剂。

[0403] 在一些实施例中,本文表征的药物组合物包含(a)一种或多种 iRNA化合物及(b)一种或多种功能为非RNAi代谢且适用于治疗脂质代谢障碍的药剂。这些药剂的实例包括但不限于抗炎剂、抗脂肪变性剂、抗病毒和/或抗纤维化剂。另外,其他常用于保护肝脏的物质,如水飞蓟素,也可以与在此描述的iRNA结合使用。其他适用于治疗肝疾病的药剂包含替比夫定(telbivudine)、恩替卡韦(entecavir)及蛋白酶抑制剂诸如替拉瑞韦(telaprevir)及其他,例如,在Tung等人,美国专利公开号2005/0148548、2004/0167116及2003/0144217中;及在Hale等人,美国专利公开号2004/0127488中披露的。

[0404] 此类化合物的毒性与治疗功效可以通过在细胞培养物或实验动物中的标准药学程序来确定,例如以确定LD₅₀(50%群体的致死剂量)以及ED₅₀(在50%群体中治疗有效的剂量)。毒性与疗效之间的剂量比为治疗指数,并且它可以被表示为比率LD₅₀/ED₅₀。优选那些表现出高的治疗指数的化合物。

[0405] 从细胞培养物测定法和动物研究中获得的数据可以在配制人类中使用的剂量范围时使用。在此在本发明中体现的组合物的剂量总体上处在一个循环浓度范围内,该范围包括具有很小或没有毒性的ED₅₀。剂量可取决于采用的剂型及使用的给药途径而在此范围内变化。对于任何在本发明表征的方法中使用的化合物,该治疗上有效的剂量可以从细胞培养测定来进行初始估计。在动物模型中可以将一个剂量配制为达到该化合物的循环血浆浓度范围,或者当适当时,一个靶序列的多肽产物的循环血浆浓度范围(例如,达到该多肽的一个降低的浓度),该范围包括如在细胞培养中确定的IC₅₀(即,测试化合物实现症状的半最大抑制时的浓度)。这类信息可以用来更精确地确定用于人类中的剂量。例如,可用高效液相层析法测量血浆中的水平。

[0406] 除了上述讨论的给药外,本发明表征的iRNA可与其他对治疗 ANGPTL3表达所介导

的病理过程有效的已知药剂组合给药。在任何情况下,给药的医师可基于使用所属领域已知或本文所述的效能标准测量所观察到的结果而调整iRNA给药的量及时间。

[0407] VI. 本发明的方法

[0408] 本发明还提供使用本发明iRNA和/或含有本发明iRNA的组合物来降低和/或抑制细胞中ANGPTL3表达的方法。该方法包含使细胞与 dsRNA接触并维持细胞一段充分时间而得到ANGPTL3基因的mRNA 转录本的降解,因此抑制细胞中ANGPTL3基因表达。可经由所属领域已知的任何方法评估基因表达的降低。例如,可使用下列方法测定 ANGPTL3表达的降低:使用对于一般所属领域熟练技术人员而言常规的方法,如,北方墨点法、qRT-PCR,来测定ANGPTL3之mRNA表达程度;使用对于一般所属领域熟练技术人员而言常规的方法,诸如西方墨点法、免疫技术,来测定ANGPTL3的蛋白值。还可间接测量ANGPTL3 的生物活性的减低,如,血清脂质、三酸甘油酯、胆固醇和/或游离脂肪酸值的减低,而评估ANGPTL3表达的降低。

[0409] 本发明的方法中可在体外或体内与细胞接触,即,细胞可以是在受试者体内。

[0410] 适合于使用本发明的方法治疗的细胞可以是任何表达ANGPTL3基因的细胞。适合于在本发明的方法和用途中使用的细胞可以是哺乳动物细胞,例如灵长类细胞(例如人类细胞或非人类灵长类细胞,例如猴细胞或黑猩猩细胞)、非灵长类细胞(例如母牛细胞、猪细胞、骆驼细胞、美洲驼细胞、马细胞、山羊细胞、兔细胞、绵羊细胞、仓鼠、豚鼠细胞、猫细胞、狗细胞、大鼠细胞、小鼠细胞、狮子细胞、老虎细胞、熊细胞、或水牛细胞)、鸟细胞(例如鸭细胞或鹅细胞)、或鲸细胞。在一个实施例中,该细胞是人类细胞,例如人类肝细胞。

[0411] 在细胞中ANGPTL3表达被抑制至少约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%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、99%或约100%。优选的实施例中,至少抑制20%的ANGPTL3表达。

[0412] 本发明的体内方法可包含将含有iRNA的组合物给予受试者,其中该iRNA包含与有待治疗的哺乳动物ANGPTL3基因的RNA转录本的至少一部分互补的核苷酸序列。当有待治疗的有机体是哺乳动物(例如人类)时,该组合物可以通过本领域内已知的任何手段进行给予,这些手段包括但不限于经口、腹膜内、或肠胃外途径(包括颅内(例如心室内、实质内、和鞘内)、静脉内、肌内、皮下、经皮、气道(气溶剂)、经鼻、直肠以及局部(包括口腔与舌下)给予)。在某些实施例中,通过静脉内输注或注射给予这些组合物。在某些实施例中,经由皮下注射给予组合物。

[0413] 在一些实施例中,经由长效注射而给药。积存注射可以在一个延长的时期以连贯的方式释放该iRNA。因此,积存注射可以减少获得希望的作用所需要的给药频率,该希望的作用例如对ANGPTL3的希望的抑制或治疗性或预防性作用。积存注射还可以提供更连贯的血清浓度。积存注射包括皮下注射或肌内注射。在优选的实施例中,该积存注射是皮下注射。

[0414] 在一些实施例中,该给予是经由一个泵。该泵可以是外部泵或手术植入的泵。在某

些实施例中,该泵是一个皮下植入的渗透泵。在其他实施例中,该泵是一个输注泵。输注泵可以用于静脉内、皮下、动脉或硬膜外输注。优选的实施例中,输注泵为皮下输注泵。在其他实施例中,该泵是将该iRNA递送至肝脏的一个手术植入的泵。

[0415] 给予模式可以基于是否希望局部治疗或全身性治疗并且基于有待治疗的区域来进行选择。给予的途径和部位可以被选择成增强靶向。

[0416] 在一方面,本发明还提供抑制哺乳动物ANGPTL3基因表达的方法。该方法包含给予哺乳动物包括靶向哺乳动物细胞中ANGPTL3基因的 dsRNA的组合物且维持哺乳动物细胞一段充分时间而得到ANGPTL3基因的mRNA转录本的降解,因此抑制细胞中ANGPTL3基因表达。基因表达的减少可以通过本领域中任何已知的方法或通过在此描述的方法(例如qRT-PCR)来评价。蛋白产物的减少可以通过本领域内任何已知的方法或通过在此描述的方法(例如ELISA)来进行评估。在实施例中,穿刺肝脏活检充当组织物质用于监测ANGPTL3基因和/或蛋白质表达的降低。

[0417] 本发明进一步提供治疗的方法给需要的受试者。本发明的治疗方法包含以治疗有效量的靶向ANGPTL3基因的iRNA或包括靶向ANGPTL3基因的iRNA的药物组合物而将本发明iRNA给予受试者,如,可从ANGPTL3表达的降低和/或抑制而受益的受试者。

[0418] 本发明iRNA可以“游离iRNA”而给药。游离iRNA在药物组合物不存在下给药。裸iRNA可在适合的缓冲溶液中。该缓冲溶液可以包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐或磷酸盐或其任何组合。在一个实施例中,该缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。可以将含有该iRNA的缓冲溶液的pH和摩尔渗透压浓度进行调节,这样使得它适合于向受试者给予。

[0419] 替代地,本发明iRNA可作为药物组合物而给予,诸如dsRNA脂质体配制品。

[0420] 可从ANGPTL3基因表达的降低和/或抑制而受益的受试者为具有脂质代谢障碍者,如,遗传性脂质代谢障碍或后天性或脂质代谢障碍。在实施例中,具有脂质代谢障碍的受试者具有高血脂症。另一个实施例中,具有脂质代谢障碍的受试者具有高三酸甘油酯血症。治疗可从ANGPTL3基因表达的降低和/或抑制而受益的受试者包含治疗性处理(如,具有疹黄瘤的受试者)及预防性处理(如,不具疹黄瘤的受试者或可能发展成疹黄瘤风险的受试者)。

[0421] 本发明进一步提供使用iRNA或其药物组合物的方法,如,用于治疗可从ANGPTL3表达的降低和/或抑制而受益的受试者,如,具有脂质代谢障碍的受试者,将此方法与其他药物和/或其他治疗方法,如,已知药物和/或已知治疗方法,诸如,例如,目前采用用于治疗这些疾病的药物和/或治疗方法组合。例如,在某些实施例中,将靶向ANGPTL3的iRNA与,如,适用于治疗脂质代谢障碍的药剂组合而给药,如本文中他处所述。例如,适用于治疗可从ANGPTL3表达的降低而受益的受试者,如,具有脂质代谢障碍的受试者的另外药剂可包含降低一种或多种血清脂质的药剂。此种药剂的非限制性实例包含胆固醇合成的抑制剂,诸如HMG-CoA还原酶抑制剂,如,他汀类。他汀类可包含阿托伐他汀(atrovastatin)(Lipitor)、氟伐地汀(fluvastatin)(Lescol)、洛伐他汀(lovastatin)(Mevacor)、洛伐他汀缓释剂(Altoprev)、匹伐他汀(pitavastatin)(Livalo)、普伐他汀(pravastatin)(Pravachol)、瑞舒伐他汀(rosuvastatin)(Crestor)及辛伐他汀(simvastatin)(Zocor)。其他适用于治疗脂质代谢障碍的药剂可包含胆汁多价螯合剂,诸如考来烯胺及其他树脂;VLDL分泌抑制剂,诸如烟碱酸;亲脂性抗氧化剂,诸如普罗布考(Probucol);酰基辅酶A胆固醇酰基转移酶

抑制剂;类法尼醇X受体拮抗剂;固醇调节结合蛋白切割活化蛋白 (SCAP) 活化剂;微粒体三酸甘油酯转移蛋白 (MTP) 抑制剂;ApoE- 相关肽;及抗 ANGPTL3治疗抗体。另外的治疗药剂还可包含提升高密度脂蛋白 (HDL) 的药剂,诸如胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 抑制剂。此外,另外的治疗药剂还可包含膳食补充剂,如,鱼油。可在相同时间和/或在相同组合中给予iRNA及另外的治疗药剂,如,肠外地,或另外的治疗药剂可作为单独组合物的部分或在单独的时间和/或经由所属领域熟知或本文所述的另一种方法而给予。

[0422] 在一个实施例中,该方法包含给予本文表征的组合物以致减少靶ANGPTL3基因表达持续约,诸如1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24小时、28、32或约36小时。在一个实施例中,降低靶ANGPTL3 基因的表达达一段持续时间,如,至少约两、三、四天或更久,如,约 1星期、2星期、3星期或4星期或更久。

[0423] 优选地,适用于本文表征的方法及组合物的iRNA特异性靶向靶 ANGPTL3基因的RNA (初级的或加工的)。可如本文所述制备及进行使用iRNA而抑制这些基因表达的组合物及方法。

[0424] 根据本发明方法的dsRNA给药可导致有脂质代谢障碍的患者之此类疾病或障碍的严重性、征象、症状和/或标记的降低。在上下文中“减少”意为此水平的统计学上的显著减少。该减少可以是例如至少大约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或约100%。

[0425] 可以例如通过测量疾病进展、疾病缓和、症状严重性、疼痛减少、生活品质、维持治疗作用所要求的药剂的剂量、疾病标志物或适用于被治疗或目标用于预防的给定疾病的任何其他可测量参数的水平来评价疾病治疗或预防的功效。通过测量任何一个此类参数或任何参数组合来监测治疗或预防的功效,这在本领域技术人员的能力范围之内。例如,可经由,例如,周期性监测一种或多种血清脂质值,而评估治疗脂质代谢障碍的效能。稍后数据与初始数据的比较为医师提供了该治疗是否有效的指示。通过测量任何一个此类参数或任何参数组合来监测治疗或预防的功效,这在本领域技术人员的能力范围之内。与给药靶向ANGPTL3 的iRNA或其药物组合物有关,“有效抵抗”脂质代谢障碍指明以临床上适当的方式给药致使对至少统计学上显著部分的患者产生有益效果,诸如改善症状、治愈、减少疾病、延长寿命、改善生活质量或经由熟悉治疗脂质代谢障碍及相关原因的医师通常认可为积极的效果。

[0426] 当在疾病状态的一个或多个参数方面存在统计学上显著的改善的时候,或者通过使得以另外方式可以被预期的症状不再恶化或发展,治疗或预防效果是明显的。作为一个实例,在疾病的可测量参数方面的至少10%,并且优选是至少20%、30%、40%、50%或更多的有利改变,可以指示有效治疗。也可以使用如本领域已知的给定疾病的实验动物模型,判定给定iRNA药物或这种药物的配制品的功效。当使用实验动物模型时,当观察到标志物或症状的统计学上显著的减少时,治疗的功效是明显的。

[0427] 可替代地,可以基于临床上接受的疾病严重性分级量表(仅举一例,肝功能评分 (Child-Pugh score),有时称作肝功能分级评分 (Child-Turcotte-Pugh score)),通过诊断领域技术人员所确定的疾病严重性减小来测量该功效。产生例如使用合适的量表而测量的疾病严重性的减轻的任何积极的改变代表使用如在此描述的iRNA或iRNA配制品的足够的治疗。

[0428] 可给予受试者治疗量的dsRNA,诸如约0.01mg/kg至约50mg/kg。通常,本发明iRNA的适合剂量将在约0.1mg/kg至约5.0mg/kg的范围内,优选约0.3mg/kg及约3.0mg/kg。

[0429] 可在常规基础上,经由静脉输注一段时间来给予iRNA。在某些实施例中,于初始治疗方案后,该治疗可按较低频率的基础而给药。该iRNA的给予可以减少患者的细胞、组织、血液、尿或其他区室的ANGPTL3水平至少大约5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、以及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%、39%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、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%、或至少大约99%或更多。优选的实施例中,给药iRNA可降低ANGPTL3值,如,患者的细胞、组织、血液、尿或其他区室中的ANGPTL3值至少20%。

[0430] 在给药全剂量的iRNA前,可先给予患者较小剂量,诸如5%输注反应,并监测不良作用,诸如过敏反应。在另一个实例中,针对不想要的免疫刺激作用(比如增加的细胞因子(例如,TNF- α 或INF- α)水平)对该患者进行监测。

[0431] 替代地,可皮下地给予iRNA,即,经由皮下注射。可使用一次或多次注射来递送所需每日剂量的iRNA给受试者。可在一段时间内重复注射。可在常规基础上重复给药。在某些实施例中,于初始治疗方案后,该治疗可按较低频率的基础而给药。重复剂量方案可包含在常规基础上给药治疗量的iRNA,诸如每隔一天或1年1次。在某些实施例中,约每月1次至约每季1次(即,约每3个月1次)给药iRNA。

[0432] 除非另有说明,本文使用的所有技术的及科学的术语具有与本发明所属领域一般熟练技术人员所了解的有相同的意义。尽管与在此描述的那些方法和材料相似或等同的方法和材料可以用于实施或测试本发明中体现的iRNA和方法,但以下描述了适合的方法和材料。在此提交的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用以其全文结合。在矛盾的情况下,本发明说明书,包括定义,将占据主导。此外,所述材料、方法和实例仅是说明性的并且不意在是限制性的。

[0433] 实例

[0434] 1.实例1.iRNA的设计、合成、选择及体外评估

[0435] 2.此实例说明设计、合成、选择及体外评估ANGPTL3iRNA药剂的方法(还参见,PCT出版物,WO 2012/177784,其全部内容均借由引用并入本文中)。

[0436] 3.试剂来源

[0437] 当在此没有专门给出试剂来源时,此种试剂可以从分子生物学试剂的任何供应商获得,其品质/纯度标准符合分子生物学应用。

[0438] 使用定制的R及Python方案设计靶向人类ANGPTL3,“类血管生成素3”(人类:NCBI refseqID NM_014995;NCBI GeneID:27329),以及毒理学物种ANGPTL3异种同源物(食蟹猴:XM_005543185;小鼠:NM_013913;大鼠:NM_001025065)的一组siRNA。人类ANGPTL3 REFSEQ mRNA具有2951个碱基长度。用源自来自靶向大量脊椎动物基因的多于20,000种不同的siRNA设计的mRNA敲低的直接测量的一种线性模型来测定用于该组siRNA设计的基本原理

和方法是如下:从位置81至位置2951(编码区和3' UTR)的每种潜在19聚体siRNA的预测功效。以人类、食蟹猴及恒河猴之间的完美或近乎完美的匹配设计 ANGPTL3siRNA的子集。以小鼠及大鼠ANGPTL3异种同源物的完美或近乎完美的匹配设计另一个子集。对于siRNA的每条链,定制 Python脚本用于一种蛮力搜索中来测量该siRNA与靶物种转录组中的所有潜在比对之间的错配的数目和位置。对种子区(在此定义为反义寡核苷酸中的位置2-9)中的错配以及siRNA的切割位点(在此定义为反义寡核苷酸的位置10-11)给出额外权重。这些错配的相对权重是2.8;对于种子错配、切割位点以及直到反义位置19的其他位置是1.2:1。第一位置中的错配被忽略。通过求和每个加权的错配的值来计算每条链的特异性分数。对于在人和食蟹猴中的反义分数 ≥ 3.0 并且预测功效是 ANPTL3转录物的 $\geq 70\%$ 敲低的siRNA给予优先。

[0439] ANGPTL3序列的合成

[0440] ANGPTL3单链及双链体的合成

[0441] 在Mermade 192合成仪上(BioAutomation)使用固体支持物介导的亚磷酰胺化学品以1 μ mol的规模合成ANGPTL3siRNA序列。固体载体是负载有定制GalNAc配体的可控孔度玻璃(500 $^{\circ}$ A)或通用固体载体(AM生物化学公司(AM biochemical))。辅助合成试剂2'-F和2'-O-甲基RNA以及脱氧亚磷酰胺获自赛默飞世尔(Thermo-Fisher)公司(威斯康星州密尔沃基市)和Hongene(中国)。使用相应的亚磷酰胺将2'-F、2'-O-甲基、RNA、DNA、以及其他修饰的核苷引入这些序列中。在一种GalNAc修饰的CPG载体上进行的3' GalNAc共轭的单链合成。定制 CPG通用固体载体用于合成反义单链。用于所有亚磷酰胺的偶联时间(于乙腈中100mM)是5分钟,采用5-乙硫基-1H-四唑(ETT)作为活化剂(于乙腈中0.6M)。使用3-((二甲基氨基-亚甲基)氨基)-3H-1,2,4-二噻唑-3-硫酮(DDTT,获自Chemgenes(美国马萨诸塞州威尔明顿)于无水乙腈/吡啶(1:1v/v)中的50mM溶液来产生硫代磷酸酯键。氧化时间是3分钟。在最终去除DMT基团("DMT去除")的情况下合成所有序列。

[0442] 固相合成一完成时,在密封的96深孔盘中使用200 μ L甲胺水溶液试剂于60 $^{\circ}$ C经20分钟而将单链从固体支持物切割及去保护。对于用叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)基团保护的含有2'核糖残基(2'-OH)的序列,使用TEA.3HF(三乙胺三氢氟化物)试剂进行第二步骤脱保护。在甲胺去保护溶液中添加200 μ L二甲基亚砷(DMSO)及300 μ L TEA.3HF试剂并将该溶液在60 $^{\circ}$ C追加孵育20分钟。在切割和脱保护步骤结束时,使合成板到达室温且通过添加1mL的乙腈:乙醇混合物(9:1)来沉淀。将孔盘在-80 $^{\circ}$ C冷却2hr并借助多通道吸量管而小心地倒出上清液。将寡核苷酸团块再悬浮于20mM NaOAc缓冲液并在装备有A905自动进样器及Frac 950分液收集器的AKTA Purifier System上使用5mL HiTrap 粒径筛析管柱(GE Healthcare)而进行脱盐。将脱盐的样品收集在96孔板中。将来自每一序列的样品通过LC-MS进行分析以确证一致性、用UV(260nm)定量并且选定的样品集通过IEX色谱法确定纯度。

[0443] 在Tecan液体处理自动机器上进行ANGPTL3单链的低温黏合(annealing)。将有义链和反义链的等摩尔混合物组合且在96孔板中退火。在组合互补单链之后,将96孔板紧密密封且在炉中在100 $^{\circ}$ C下加热10分钟,且使其历经2-3小时的时间段缓慢到达室温。各双链体浓度在1X PBS中标准化至10 μ M,然后进行体外筛选检测。

[0444] 表1:核酸序列表示中使用的核苷酸单体的缩写。

[0445] 应当理解在寡核苷酸中存在时这些单体是由5'-3'-磷酸二酯键相互连接。

缩写	核苷酸
A	腺苷-3'-磷酸酯
[0446] Af	2'-氟代腺苷-3'-磷酸酯
Afs	2'-氟代腺苷-3'-硫代磷酸酯
As	腺苷-3'-硫代磷酸酯
缩写	核苷酸
C	胞苷-3'-磷酸酯
Cf	2'-氟代胞苷-3'-磷酸酯
Cfs	2'-氟代胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸酯
G	鸟苷-3'-磷酸酯
Gf	2'-氟代鸟苷-3'-磷酸酯
Gfs	2'-氟代鸟苷-3'-硫代磷酸酯
Gs	鸟苷-3'-硫代磷酸酯
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸酯
Tf	2'-氟代-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
Tfs	2'-氟代-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
U	尿苷-3'-磷酸酯
Uf	2'-氟代尿苷-3'-磷酸酯
[0447] Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯
Us	尿苷-3'-硫代磷酸酯
N	任何核苷酸 (G、A、C、T 或 U)
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸酯
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸酯
cs	2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸酯
g	2'-O-甲基鸟苷-3'-磷酸酯
gs	2'-O-甲基鸟苷-3'-硫代磷酸酯
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸酯
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
s	硫代磷酸酯键
L96	N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基]-4-羟基脯胺醇 Hyp-(GalNAc-烷基) ₃

缩写	核苷酸
dT	2'-脱氧胸苷-3'-磷酸酯
dC	2'-脱氧胞苷-3'-磷酸酯
Y44	反向无碱基 DNA (2-羟基甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯)
(Tgn)	胸苷-二醇核酸 (GNA) S-异构体
P	磷酸酯
VP	乙烯基-磷酸酯
(Aam)	2'-O-(N-甲基乙酰胺)腺苷-3'-磷酸酯
(Aams)	2'-O-(N-甲基乙酰胺)腺苷-3'-硫代磷酸酯
(Cgn)	胞苷-二醇核酸 (GNA)

[0449] 实例2. 导联选择与评估

[0450] 基于各种体外及体内分析的结果(参见,PCT公开案,WO 2012/177784,其全部内容均借由引用并入本文中),而选择AD-52981 母序列(有义序列:ACAUUUUGAUCAGUCUUUUU (SEQ ID NO:20);反义序列:AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG (SEQ ID NO:21)) 进行修饰及进一步的体内评估。

[0451] 因此,使用AD-52981母序列,如上所述而合成AD-57927(有义序列:AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96 (SEQ ID NO:70);反义序列:asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug) (SEQ ID NO: 71)。

[0452] 经由皮下给予C57BL/6雌性小鼠单次30、10或3mg/kg剂量的 AD-52981(有义序列:AfcAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96 (SEQ ID NO:72);反义序列:aAfaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusUfsg) (SEQ ID NO:73)、AD-57927或PBS对照而评估AD-57927的体内效果。给药后72小时,处死动物并测定肝中的ANGPTL3 mRNA水平。意外地,如图1所示,AD-57927(“优化的ANG-GalNAc”)减低ANGPTL3 mRNA 水平超过母iRNA药剂AD-52981(“ANG-GalNAc”)约10倍。

[0453] 还使用多剂量方案评估AD-57927在体内抑止ANGPTL3蛋白表达及减低三酸甘油酯、LDL胆固醇及总胆固醇水平的能力。在第一星期每天皮下给药ob/ob雌性小鼠3mg/kg的AD-57927经5天,随后在第2 至4星期(qd x 5;qw x 6)以3mg/kg剂量每星期两次给药。动物在第 0、4、8、11、15、18、22及25天时采血,并于第29天处死。经由ELISA 测量ANPTL3蛋白质水平。使用Olympus血清分析仪测量三酸甘油酯、LDL胆固醇及总胆固醇。如图2所示,经由AD-57927产生的ANGPTL3 蛋白最大减弱为99%。经由AD-57927而降低的最大三酸甘油酯水平为 98% (图3),经由AD-57927而降低的最大LDL为88% (图4),且经由AD-57927而降低的最大总胆固醇为64% (图5)。图2至5全部展示的是相对于给药前水平的数据。

[0454] 总结来说,证明AD-57927降低ANGPTL3 mRNA水平超过母序列约10倍。还证明AD-57927以剂量反应方式降低ANGPTL3(参见图1),并且AD-57927的效能在多剂量给药时进一步改善而导致在混合高血脂症的ob/ob小鼠模型中降低血清ANPTL3蛋白质大于95%。此外,以3 mg/kg多剂量给药AD-57927,经由ANGPLT3特异性ELISA检测,消除循环的血清ANGPLT3蛋白质,其导致高血脂症的ob/ob小鼠模型中> 95%的TGs降低、>85%的LDL胆固醇降低及>60%的总胆固醇降低。

[0455] 4.实例3.iRNA的设计、合成、选择及体外评估

[0456] 此实例说明另外的ANGPTL3iRNA药剂的设计、合成、选择及体外评估的方法。

[0457] 体外筛选:

[0458] 细胞培养和转染:

[0459] 经由胰蛋白酶消化而从盘中释放前,使Hep3b细胞(ATCC,Manassas, VA)在37°C、5%CO₂的氛围下,在补充10%FBS(ATCC)的Eagle's Minimum Essential Medium(Gibco)中生长至接近融合。转染通过以下进行:向384孔板中的每一个孔中,将每孔4.9μl的Opti-MEM加0.1μl的Lipofectamine RNAiMax(英杰公司,卡尔斯巴德CA.cat#13778-150)添加至5μl的siRNA双链体的每一个中。然后将混合物在室温孵育20分钟。将40μl含5,000Hep3b细胞的完全生长培养基添加至该siRNA混合物中。在RNA纯化前将细胞孵育24hr。单次剂量实验以10nM和0.1nM的最终双链体终浓度进行。

[0460] 使用DYNABEADS mRNA分离试剂盒(英杰公司,部件号:610-12)的总RNA分离:

[0461] 在每孔含有3μL磁珠的75μl溶解/结合缓冲液中溶解细胞并在静电振荡机上混合10分钟。使用磁性盘支持物在Biotek EL406上进行自动洗涤步骤。在缓冲液A中1次、缓冲液B中1次及缓冲液E中2次洗涤磁珠(90μL),其间有抽吸步骤。最终抽吸之后,如以下所述,将完整的10μL RT混合物添加至各孔。

[0462] 使用ABI大容量cDNA反转录试剂盒(应用生物系统公司(Applied Biosystems),福斯特市(FosterCity),加利福尼亚州,目录号4368813)进行cDNA合成:

[0463] 将母混合物(每一反应:1μl 10×缓冲液、0.4μl 25X dNTP、1μl 随机引物、0.5μl 逆转录酶、0.5μl RNase抑制剂以及6.6μl H₂O)添加至每孔中。密封孔盘,在静电振荡机摇动10分钟,然后在37°C孵育2小时。随后,将孔盘在80°C摇动8分钟。

[0464] 实时PCR:

[0465] 在384孔盘(Roche cat#04887301001)的每孔中将2μl cDNA添加至含有0.5μl人类GAPDH TaqMan探针(4326317E)、0.5μl人类AngPTL3(Hs00205581_m1)、2μl无核酸酶的水及5μl Lightcycler 480 探针主混合物(Roche Cat#04887301001)的主混合物中。实时PCR在LightCycler480实时PCR系统(罗氏公司)上使用ΔΔCt(RQ)测定而进行。除非总结表中另有指示,各双链体至少以两次独立转染测试。

[0466] 为了计算相对倍数变化,使用ΔΔCt方法分析实时数据并针对用10 nM非特异性siRN转染的细胞或模拟转染的细胞进行的检测而标准化。

[0467] 测试含有基于有义序列5'-ACAUUUUGAUCAGUCUUUUU-3'(SEQ ID NO:20)及反义序列5'-AAAAAGACUGAUGAUAUGUUG-3'(SEQ ID NO:21)的各种不同化学修饰的一系列ANGPTL3iRNA。表2A及2B显示序列的化学修饰。表3显示检测的结果。

[0468] 如上所述合成靶向ANGPTL3基因的另外iRNA药剂。表4A、4B、7A及7B显示另外的修饰的ANGPTL3有义及反义链序列的详细列表,且表5及7C显示未修饰的ANGPTL3有义及反义链序列的详细列表。

[0469]

表 2A. 修饰的 ANGPTL3 序列

双链体名称	有义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO
AD-57927	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	74	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	170
AD-63131	ascsaauuugaUfcfagucuuuuL96	75	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	171
AD-63132	ascsaauuugadTdCagucuuuuL96	76	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	172
AD-63133	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	77	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	173
AD-63134	ascsaauUfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	78	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	174
AD-63136	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	79	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	175
AD-63137	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	80	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	176
AD-63138	ascsaauuugadTcagucuuuuL96	81	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	177
AD-63139	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	82	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	178
AD-63140	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	83	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	179
AD-63142	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	84	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	180
AD-63143	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	85	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	181
AD-63144	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	86	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	182
AD-63145	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	87	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	183
AD-63146	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	88	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	184
AD-63148	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	89	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	185
AD-63149	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	90	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	186
AD-63150	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	91	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	187
AD-63151	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	92	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	188
AD-63152	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	93	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	189
AD-63153	asusAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	94	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	190
AD-63154	ascsaauUfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	95	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	191
AD-63155	ascsaauUfuUfuGfAfUfcagucfuuuuuL96	96	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	192
AD-63156	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	97	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	193
AD-63157	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	98	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	194

[0470]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-63158	ascsaauUfuuGfadTCfagUfCfuuuuL96	99	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	195
AD-63160	ascsaauUfuGfAfUfcagnCfuuuuuL96	100	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	196
AD-63161	ascsaauUfuugaUfcagucdTuuuuL96	101	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	197
AD-63162	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	102	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuauugusug	198
AD-63163	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	103	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuauugusug	199
AD-63164	ascsaauUfuugaUfcagucuuuL96	104	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	200
AD-63165	ascsaauUfuuGfaUfCfagUfCfuuuuL96	105	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	201
AD-63166	ascsaauUfuugaUfdCagucuuuuL96	106	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	202
AD-63167	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	107	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauGfusug	203
AD-63168	ascsaauUfuugaUfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	108	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	204
AD-63169	ascsaauUfuugaUfcagucdTuuuuL96	109	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	205
AD-63170	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	110	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	206
AD-63171	ascsaauUfuugaUfcagucuuuuL96	111	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	207
AD-63172	ascsaauuugaUfdCagucuuuuL96	112	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	208
AD-63173	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	113	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuauugusug	209
AD-63174	ascsaauUfuGfAfUfcagnCfuuuuuL96	114	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	210
AD-63175	ascsaauUfuugaUfdCagucuuuuL96	115	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	211
AD-63176	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	116	asAfsAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	212
AD-63177	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	117	asAfsa(Aam)AfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	213
AD-63179	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	118	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	214
AD-63180	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	119	as(Aams)AfaGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfusug	215
AD-63181	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	120	asAfsAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	216
AD-63182	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	121	asAfsa(Aam)AfaGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfusug	217
AD-63183	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	122	asasaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	218
AD-63185	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	123	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	219
AD-63186	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	124	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	220

[0471]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-63187	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	125	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	221
AD-63188	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	126	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	222
AD-64744	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	127	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	223
AD-64745	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	128	asAfsaaaGfacuGfaucAfaaauugusug	224
AD-64746	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	129	asdAsaaagacugaucAadAuaugusug	225
AD-64747	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	130	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauugusug	226
AD-64748	ascsaauuugadTcagncdAuuuuL96	131	asdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	227
AD-64749	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	132	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	228
AD-64750	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	133	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	229
AD-64751	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	134	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugusug	230
AD-64752	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	135	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauugusug	231
AD-64753	ascsaauuugadTcagncdAuuuuL96	136	asdAsaaadGacugaucdAaauaugusug	232
AD-64754	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	137	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	233
AD-64755	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	138	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	234
AD-64756	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	139	asAfsaaaagacugaucAfaaauugusug	235
AD-64757	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	140	asAsaaagacudGaucdAaauaugusug	236
AD-64758	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	141	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuauugusug	237
AD-64759	ascsaauuugadTcagncdAuuuuL96	142	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugusug	238
AD-64760	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	143	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	239
AD-64761	ascsaauuugadTcagncdGuuuuL96	144	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	240
AD-64762	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	145	asdAsaaagacugaucdAaauaugusug	241
AD-64763	AfscsAfuAfuUfuGfAfuCfUfGfUfcUfuUfuUfL96	146	asdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	242
AD-64764	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	147	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuauugusug	243
AD-64765	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	148	asdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	244
AD-64766	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	149	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	245
AD-64767	ascsaauuugadTcagncdTuuuuL96	150	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	246

[0472]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-64768	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	151	asasaaagacudGaucdAaauaugusug	247
AD-64769	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	152	asAsaaagacudGaucAaauaugusug	248
AD-64770	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	153	asdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	249
AD-64771	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	154	asdAsaaadGacugaucdAaauaugusug	250
AD-64772	ascsaauuugadTcagucdAuuuuL96	155	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	251
AD-64773	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	156	asasaaadGacugaucdAaauaugusug	252
AD-64774	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	157	asAsaaadGacugaucAaauaugusug	253
AD-64775	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	158	asdAsaaadGacugaucdAaauaugusug	254
AD-64776	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	159	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugusug	255
AD-64777	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	160	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	256
AD-64778	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	161	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuangusug	257
AD-64779	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	162	asdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	258
AD-64780	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	163	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	259
AD-64781	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	164	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugusug	260
AD-64782	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	165	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	261
AD-64783	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	166	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuangusug	262
AD-64784	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	167	asdAsaaadGacugaucdAaauaugusug	263
AD-64785	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	168	PasasaaagacudGaucdAaauaugusug	264
AD-64786	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	169	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugusug	265

[0473]

表 2B. 修饰的 ANGPL3 序列

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-57927	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	74	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	170
AD-63131	ascsauuuugaUfCfagucuuuu	75	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	171
AD-63132	ascsauuuugadTdCagucuuuu	76	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	172
AD-63133	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	77	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	173
AD-63134	ascsauUfuuGfaUfcfagUfcuuuu	78	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	174
AD-63136	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	79	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	175
AD-63137	ascsauuUfuGfAfUfcagucfuudTuu	80	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	176
AD-63138	ascsauuuugadTcagucuuuu	81	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	177
AD-63139	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	82	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	178
AD-63140	ascsauUfuugaUfcagucuuuu	83	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	179
AD-63142	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	84	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	180
AD-63143	ascsauuUfuGfAfUfcagucfuudTuuuu	85	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	181
AD-63144	ascsauuuugadTcaguc(Tgn)uuuu	86	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	182
AD-63145	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	87	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	183
AD-63146	ascsauUfuuGfaUfcfagUfcfuudTuu	88	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	184
AD-63148	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	89	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	185
AD-63149	ascsauuUfuGfAfUfcagucfuuuuu	90	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	186
AD-63150	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	91	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	187
AD-63151	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	92	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	188
AD-63152	ascsauUfuuGfaUfcfagUfcfuudTuuuu	93	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	189
AD-63153	asusAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	94	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfusgsu	190
AD-63154	ascsauUfuugaUfcAfgUfcUfuUfuUf	95	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	191
AD-63155	ascsauUfuugaUfcagucuuudTuu	96	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	192
AD-63156	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	97	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuauugusug	193
AD-63157	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	98	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuauugusug	194

[0474]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-63158	ascsaauUfuuGfadTCfagUfCfuuuuu	99	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	195
AD-63160	ascsaauUfuGfAfUfcaguCfuuuuu	100	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	196
AD-63161	ascsaauUfuugaUfcagucdTuuuu	101	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	197
AD-63162	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	102	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuauugusug	198
AD-63163	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	103	asAfsaaaGfaCUfgaucAfaAfuauugusug	199
AD-63164	ascsaauUfuugaUfcagucudTuuu	104	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	200
AD-63165	ascsaauUfuGfAfUfcagUfCfuuuuu	105	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	201
AD-63166	ascsaauUfuugaUfdCagucuuuuu	106	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	202
AD-63167	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	107	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauGfusug	203
AD-63168	ascsaauUfuugaUfcAfgUfcUfuUfuUf	108	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	204
AD-63169	ascsaauUfuugaUfcagucdTuuuu	109	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	205
AD-63170	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuuuu	110	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfusug	206
AD-63171	ascsaauUfuugaUfcagucuuuuu	111	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	207
AD-63172	ascsaauuugaUfdCagucuuuuu	112	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	208
AD-63173	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	113	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuauugusug	209
AD-63174	ascsaauUfuGfAfUfcagUfCfuuuuu	114	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	210
AD-63175	ascsaauUfuugaUfdCagucuuuuu	115	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuauugusug	211
AD-63176	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuuuu	116	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfusug	212
AD-63177	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	117	asAfsa(Aam)aGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	213
AD-63179	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuuuu	118	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfusug	214
AD-63180	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	119	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfusug	215
AD-63181	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfgUfcUfuuuu	120	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfusug	216
AD-63182	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	121	asAfsa(Aam)aGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfusug	217
AD-63183	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	122	asasaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	218
AD-63185	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	123	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	219
AD-63186	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	124	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusug	220

[0475]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-63187	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	125	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	221
AD-63188	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	126	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	222
AD-64744	ascsauuuugadTcagucdTuuuu	127	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	223
AD-64745	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	128	asAfsaaaGfacuGfaucAfaaauaugusug	224
AD-64746	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	129	asdA saagacugaucdAadAuaugusug	225
AD-64747	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuUfuu	130	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauaugusug	226
AD-64748	ascsauuuugadTcagucdAuuuu	131	asdA saagacudGaucdAaauaugusug	227
AD-64749	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuUfuu	132	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	228
AD-64750	ascsauuuugadTdCagucdTuuuu	133	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	229
AD-64751	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	134	asdA saaadGacudGaucdAaauaugusug	230
AD-64752	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuuuu	135	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauaugusug	231
AD-64753	ascsauuuugadTcagucdAuuuu	136	asdA saaadGacugaucdAaauaugusug	232
AD-64754	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuuuu	137	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	233
AD-64755	ascsauuuugadTdCagucdCuuuu	138	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	234
AD-64756	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	139	asAfsaaaagacugaucAfaaauaugusug	235
AD-64757	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	140	asA saagacudGaucdAaauaugusug	236
AD-64758	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuUfuu	141	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuauaugusug	237
AD-64759	ascsauuuugadTcagucdAuuuu	142	asdA saaadGacudGaucdAaauaugusug	238
AD-64760	ascsauuuuadTcagucuuuuu	143	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	239
AD-64761	ascsauuuugadTcagucdGuuuu	144	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	240
AD-64762	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	145	asdA saagacugaucdAaauaugusug	241
AD-64763	AfscsAfuAfuUfuGfAfuAfgUfcUfuUfuUf	146	asdA saagacudGaucAaauaugusug	242
AD-64764	ascsauuuuGfaUfcagUfcuuuuu	147	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuauaugusug	243
AD-64765	ascsauuuugaUcaguc(Tgn)uuuu	148	asdA saagacudGaucdAaauaugusug	244
AD-64766	ascsauuuugadTcagu(Cgn)uuuuu	149	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	245
AD-64767	ascsauuuugadTcagucdCuuuu	150	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfuisug	246

[0476]

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-64768	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	151	asasaaagacudGaucdAaauaugusug	247
AD-64769	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	152	as.AsaaagacudGauc.Aaauaugusug	248
AD-64770	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	153	asd.AsaaagacudGaucd.Aaauaugusug	249
AD-64771	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	154	asd.AsaaadGacugaucd.Aaauaugusug	250
AD-64772	ascsaauuugadTcagucdAuuuu	155	as.Afsa.Afa.Gfa.Cfu.Gfauc.Afa.Afu.Afu.Gfusug	251
AD-64773	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	156	asasaaadGacugaucdAaauaugusug	252
AD-64774	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	157	as.AsaaadGacugauc.Aaauaugusug	253
AD-64775	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	158	asd.AsaaadGacugaucd.Aaauaugusug	254
AD-64776	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	159	asd.AsaaadGacudGaucd.Aaauaugusug	255
AD-64777	ascsaauuugadTcagucu(Tgn)uuu	160	as.Afsa.Afa.Gfa.Cfu.Gfauc.Afa.Afu.Afu.Gfusug	256
AD-64778	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	161	as.AfsaaaGfacuGfauc.Afa.Afuauugusug	257
AD-64779	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	162	asd.AsaaagacudGaucd.Aaauaugusug	258
AD-64780	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	163	Pasd.AsaaagacudGaucd.Aaauaugusug	259
AD-64781	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	164	asd.AsaaadGacudGaucd.Aaauaugusug	260
AD-64782	ascsaauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	165	as.Afsa.Afa.Gfa.Cfu.Gfauc.Afa.Afu.Afu.Gfusug	261
AD-64783	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	166	as.AfsaaaGfacUfGfauc.Afa.Afuauugusug	262
AD-64784	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	167	asd.AsaaadGacugaucd.Aaauaugusug	263
AD-64785	Afscs.Afu.Afu.Ufu.GfAfuFc.Afg.Ufc.Ufu.Ufu.Uf	168	PasasaaagacudGaucd.Aaauaugusug	264
AD-64786	ascsaauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	169	Pasd.AsaaagacudGaucd.Aaauaugusug	265

[0477] 表3.Hep3B细胞中的AngPTL3单次剂量筛选

[0478] 以相对于AD-1955非靶向对照的信息残余百分比表示数据。

[0479]

双链体名称	10 nM AVG	0.1 nM AVG	10 nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-57927	3.9	4.3	1.9	1.0
AD-63131	14.3	15.6	7.7	6.0
AD-63132	12.5	10.6	2.3	3.0
AD-63133	8.6	7.5	1.4	1.9
AD-63134	17.3	15.9	2.8	1.9
AD-63136	2.7	4.3	0.9	1.4
AD-63137	2.9	3.4	0.9	0.7
AD-63138	13.6	18.8	3.9	3.9
AD-63139	7.5	9.0	2.6	1.7
AD-63140	13.0	15.0	8.6	6.7
AD-63142	3.2	3.9	0.7	0.4
AD-63143	5.3	4.6	2.3	2.2
AD-63144	5.6	6.6	2.9	3.0
AD-63145	7.3	6.6	1.8	0.9
AD-63146	17.5	14.5	2.5	4.6
AD-63148	2.9	3.1	1.4	2.2
AD-63149	6.3	7.2	2.1	1.4
AD-63150	4.8	6.5	1.9	2.5
AD-63151	4.7	4.7	2.3	2.9
AD-63152	10.3	12.2	2.0	1.5
AD-63153	5.1	4.9	1.9	2.4
AD-63154	9.4	7.9	3.7	3.0
AD-63155	13.4	13.2	5.1	4.3
AD-63156	3.3	4.4	1.1	1.4
AD-63157	2.6	4.4	2.1	1.8
AD-63158	16.7	23.9	8.7	7.2
AD-63160	3.5	3.7	1.9	1.2
AD-63161	11.7	12.6	5.7	1.2
AD-63162	3.9	6.2	1.2	1.5
AD-63163	3.7	3.6	2.5	1.7
AD-63164	11.3	13.6	8.2	5.0
AD-63165	12.5	13.3	3.7	5.2
AD-63166	8.8	13.6	5.2	9.4
AD-63167	3.3	2.8	1.2	0.9

[0480]

双链体名称	10 nM AVG	0.1 nM AVG	10 nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-63168	7.3	9.0	6.0	5.0
AD-63169	10.8	12.1	8.7	7.2
AD-63170	3.7	3.8	1.1	0.9
AD-63171	12.5	16.4	6.9	2.6
AD-63172	8.7	10.1	7.2	4.7
AD-63173	3.0	3.6	1.3	2.5
AD-63174	2.8	3.7	1.5	1.6
AD-63175	5.2	3.4	2.8	2.6
AD-63176	3.3	4.2	0.9	0.4
AD-63177	5.3	7.3	2.3	0.6
AD-63179	3.0	4.0	0.9	0.9
AD-63180	66.8	92.2	22.2	13.5
AD-63181	4.8	5.4	1.9	1.0
AD-63182	14.7	23.1	4.7	6.4
AD-63183	11.8	14.3	5.5	4.7
AD-63185	7.9	8.8	0.7	2.8
AD-63186	57.6	72.0	12.1	15.7
AD-63187	9.8	14.1	4.8	2.8
AD-63188	30.9	49.8	20.7	8.3
AD-64744	16.6	57.4	1.4	9.8
AD-64745	12.0	58.3	2.2	17.5
AD-64746	67.3	99.4	6.1	14.5
AD-64747	18.0	65.1	2.5	2.2
AD-64748	69.0	87.2	5.2	5.6
AD-64749	16.4	70.5	5.0	11.2
AD-64750	12.3	44.3	4.6	7.0
AD-64751	57.9	87.5	7.5	7.4
AD-64752	18.7	54.1	4.0	16.1
AD-64753	57.6	81.9	5.1	4.4
AD-64754	21.2	72.3	2.4	6.7
AD-64755	9.0	32.7	2.3	9.1
AD-64756	17.2	53.7	3.9	7.9
AD-64757	89.0	92.0	4.4	5.8
AD-64758	23.5	66.1	10.9	4.9
AD-64759	61.6	80.3	6.9	5.7

[0481]

双链体名称	10 nM AVG	0.1 nM AVG	10 nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-64760	8.7	50.0	3.6	5.7
AD-64761	12.7	36.7	5.7	6.4
AD-64762	107.7	98.0	9.1	10.9
AD-64763	72.8	84.8	6.0	9.7
AD-64764	21.7	57.5	7.8	6.3
AD-64765	67.9	80.2	7.5	3.0
AD-64766	11.3	38.8	5.4	11.3
AD-64767	13.2	39.0	5.8	9.5
AD-64768	74.3	102.3	6.5	9.2
AD-64769	57.1	86.9	5.4	1.1
AD-64770	68.5	78.2	3.2	9.0
AD-64771	45.4	68.5	2.0	8.3
AD-64772	11.8	50.0	2.7	1.7
AD-64773	53.8	98.1	1.3	8.6
AD-64774	43.2	82.4	7.2	8.1
AD-64775	42.9	78.7	1.4	13.8
AD-64776	52.6	70.1	2.9	4.3
AD-64777	19.8	65.8	3.7	6.8
AD-64778	7.9	34.7	2.2	9.6
AD-64779	66.9	86.3	7.3	7.9
AD-64780	78.8	89.0	7.8	5.1
AD-64781	54.6	82.1	12.9	11.2
AD-64782	9.2	56.1	5.0	18.3
AD-64783	8.0	35.7	1.4	8.5
AD-64784	52.6	80.3	4.4	6.1
AD-64785	92.4	93.9	9.8	4.3
AD-64786	83.4	85.4	8.4	7.5

[0482]

表 4A.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	修饰的有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-62865	UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAflL96	266	usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa	278
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaaaucaaaL96	267	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaugugsc	279
AD-66917	uscsaaaUfuAfAfGfcuccuuuuL96	268	asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc	280
AD-66918	gsasgcaaCfuAfAfCfuuaaauuuL96	269	asAfsuaaAfgUfUfaguuuGfuUfgcucsuu	281
AD-66919	usuaaugUfuCfcUfcuaguuuuL96	270	asAfsauaAfcUfAfagaggAfaCfaauaasasa	282
AD-66920	asusaaagCfuCfcUfucuuuuuuL96	271	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaausug	283
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcuaacucaaaL96	272	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacacusa	284
AD-66922	gsasauuGfuCfAfCfuugaacucaaaL96	273	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsuu	285
AD-66923	ascsauuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	274	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuauugusug	286
AD-66924	csasacauAfuUfUfGfaucagucuuL96	275	asAfsagaCfuGfAfucaaaFuAfuugugsag	287
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucaaaL96	276	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuuggagsusa	288
AD-65695	ascsauuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	277	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuauugusug	289

[0483]

表 4B.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	修饰的有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-62865	UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf	266	usUfsgAfgUfuGfaGfiucAfaGfuGfaCfasusa	278
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaaucaaa	267	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	279
AD-66917	uscsaaaUfuAfAfGfcuccuuuuuu	268	asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc	280
AD-66918	gsasgcaaCfuAfAfCfuuaauuuuu	269	asAfsuaaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsuu	281
AD-66919	ususaungUfuCfcUfcuaguuuuuuu	270	asAfsauaAfcUfAfagaggAfaCfaauaasasa	282
AD-66920	asusuaagCfuCfcUfucuuuuuuuu	271	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaausug	283
AD-66921	usgsuacUfuGfAfAfcuaacuaaa	272	usUfsgagUfuGfAfgiucAfaGfugacacusa	284
AD-66922	gsasauuGfuCfAfCfuugaacuaaa	273	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsuu	285
AD-66923	ascsauuUfuGfAfUfcagucuuuuuu	274	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuauugusug	286
AD-66924	csasacauAfuUfUfgfaucagucuuuu	275	asAfsagaCfuGfAfuaaaAfuAfuugusag	287
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaauuaa	276	usUfsagaUfuGfCfiucaCfuAfuaggagsusa	288
AD-65695	ascsauuUfuGfAfUfcagucuuuuuu	277	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuauugusug	289

[0484]

表 5. 另外的未修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	未修饰的有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	未修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	NM_014495.3 中反义链的 5' 位置
AD-62865	UGUCACUUGAACUCAACUCAA	290	UUGAGUUAGUUUCAAGUGACAUA	302	425
AD-66916	AACUAAACUAAACUUAUUCAAA	291	UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUUGC	303	509
AD-66917	UCACAAUUAAGCUCUUCUUU	292	AAAGAAGGAGCUUAUUUGUGAAC	304	83
AD-66918	GAGCAACUAAACUAAACUAAUU	293	AAUUAAGUUAGUUAGUUAGUUGCUCUU	305	505
AD-66919	UUAUUGUUCUUCUAGUUUUU	294	AAUUAACUAGAGGACAAUAAAA	306	104
AD-66920	AUUAAAGCUCUUCUUUUUUUU	295	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	307	88
AD-66921	UGUCACUUGAACUCAACUCAA	296	UUGAGUUAGUUUCAAGUGACAUA	308	424
AD-66922	GAAUUGUCACUUGAACUCAA	297	UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	309	420
AD-66923	ACAUUUUUGAUCAGUCUUUUU	298	AAAAAGACUGAUCAAAUUGUUG	310	305
AD-66924	CAACAUAUUUGAUCAGUCUUU	299	AAAGACUGAUCAAAUUGUUGAG	311	303
AD-66925	CUCCAUAUGAAGCAAUUCUAA	300	UUAGAUUGCUUCACUUAUGGAGUA	312	1041
AD-65695	ACAUUUUUGAUCAGUCUUUUU	301	AAAAAGACUGAUCAAAUUGUUG	313	305

[0485] 实例4. 野生型小鼠的体内ANGPTL3沉默

[0486] 在野生型 (C57BL/6) 小鼠中评估上述另外药剂的子集的体内效能及持续时间。皮

下给予6至8周龄雌性小鼠单次3mg/kg剂量的该药剂并测定给药前、第0天及给药后第4、10、17、27、38及52天的动物血清中的小鼠ANGPTL3水平。这些检测使用每组3只小鼠。使用ELISA检测,R&D系统小鼠类血管生成素3Quantikine ELISA试剂盒(目录号码MANL30)测定ANGPTL3水平。

[0487] 图6A及6B提供这些检测的结果。如图6A所示,所有药剂有效且持久地抑制ANGPTL3表达并在给药后约第4天达到最低点。如图6B所示,在给药后第10天,与其他检测的药剂比较,给予AD-63174及AD-63175的动物的ANGPTL3水平最低。

[0488] 还在野生型(C57BL/6)小鼠中评估上述另外药剂的第二子集。皮下给予6至8周龄雌性小鼠单次1mg/kg剂量或单次3mg/kg剂量的该药剂并测定给药前、第0天及给药后第5、14、21、28及42天的动物血清中的小鼠ANGPTL3水平。(对于给予AD-65695的动物组,由于相较于其他测试药剂的反应,此药剂增加反应的持续时间,还测定给予AD-65695在给药后第55天的动物血清中的小鼠ANGPTL3水平)。这些检测使用每组3只小鼠。如上所述,使用ELISA检测测定ANGPTL3水平。

[0489] 图7A及7B提供这些检测的结果并证明所有药剂有效且持久地抑制ANGPTL3表达并在给药后约第5天达到最低点(图7A),且,相对于其他测试药剂,给予AD-65695的动物在1mg/kg及3mg/kg剂量具有最低ANGPTL3水平(图7B)。

[0490] 实例5.0b/0b小鼠的体内ANGPTL3沉默

[0491] 在ob/ob小鼠中评估上述另外药剂的子集的体内效能及持续时间。皮下给予6至8周龄雌性ob/ob小鼠单次3mg/kg剂量的该药剂并测定给药前、第0天及给药后第5、13、24、及38天的动物血清中的小鼠ANGPTL3水平。这些检测使用每组4只小鼠。如上所述,使用ELISA检测测定ANGPTL3水平。

[0492] 图8A及8B提供这些检测的结果并证明所有药剂有效且持久地抑制ANGPTL3表达并在给药后约第5天达到最低点(图8A),且,相对于其他检测的药剂,给予AD-63175或AD65695的动物在3mg/kg剂量具有最高ANGPTL3水平沉默(图8B)。

[0493] 经由皮下给予动物0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或9mg/kg的单次剂量而检测ob/ob小鼠中AD-65695的剂量反应,并测定给药前及给药后第5及13天的动物血清中的小鼠ANGPTL3水平。如上所述,使用ELISA检测测定ANGPTL3水平,还使用Olympus分析仪测量血清中三酸甘油酯(TGs)、低密度脂蛋白胆固醇(LDLc)、高密度脂蛋白胆固醇(HDLc)及总胆固醇(TC)的水平。

[0494] 图9证明第5天时,在给予0.3mg/kg剂量的AD-65695的动物的血清中有58%的ANGPTL3蛋白质沉默,在给予1mg/kg剂量的AD-65695的动物的血清中有82%的ANGPTL3蛋白质沉默,在给予3mg/kg剂量的AD-65695的动物的血清中有98%的ANGPTL3蛋白质沉默,且在给予9mg/kg剂量的AD-65695的动物的血清中有99%的ANGPTL3蛋白质沉默。

[0495] 图10A显示给药PBS对照或AD-65695之后ob/ob小鼠中的TGs水平;图10B显示给药PBS对照或AD-65695之后ob/ob小鼠中量得的TC水平;图10C显示给药PBS对照或AD-65695之后ob/ob小鼠中的LDLc水平;且图10D显示给药PBS对照或AD-65695之后ob/ob小鼠中HDLc对TC的比率。该数据证明与对照比较,以所有评估的剂量给药AD-65695均降低ob/ob小鼠中的TGs、LDLc及TC(在使用单次剂量3mg/kg的AD_65695上发现降低80%的血清LDLc及TGs)。

[0496] 实例6.AAV-TBG-ANGPTL3小鼠中的体内ANGPTL3沉默

[0497] 为了测定另外药剂的子集的单次剂量降低人类ANGPTL3蛋白水平的持久性,在给药前14天野生型小鼠(C57BL/6)经由静脉给予200 μ l 的 1×10^{11} 腺相关病毒载体8(AAV8)的病毒颗粒而受感染,该载体编码受肝脏特异性甲状腺素结合球蛋白(TBG)启动子驱动的人类ANGPTL3基因(编码区)(AAV8-TBG-ANGPTL3)。第0天时,经皮下给予小鼠单次3mg/kg的药剂并测定给药前及给药后第5、14、28及42天的动物血清中的ANGPTL3水平(参见图11)。如上所述,使用ELISA检测测定血清样本中的小鼠ANGPTL3水平,并经由使用检测人类及食蟹猴ANGPTL3而不与小鼠ANGPTL3交叉反应的抗体的ELISA检测测定血清样本中的人类ANGPTL3水平(R&D系统小鼠类血管生成素3Quantikine ELISA试剂盒)。这些检测使用未试验过的小鼠(未暴露于AAV的小鼠)的血清充作阴性对照。两种给予的药剂,AD-57927及AD-65695,与小鼠、大鼠、食蟹猴及人类(m/r/cy/h)ANGPTL3 mRNA交叉反应。另外两种给予的药剂,AD-62865及AD-62866,只与食蟹猴及人类(cy/h)ANGPTL3 mRNA交叉反应。

[0498] 图12A显示给予该药剂或PBS对照之后的人类ANGPTL3蛋白质水平且图12B显示给予该药剂或PBS对照之后的小鼠ANGPTL3水平,如预期,给予cy/h药剂AD-62865及AD-62866之后,没有小鼠ANGPTL3沉默。结果证明给予该药剂后获得达80%的人类ANGPTL3的敲低而有约60%的ANGPTL3敲低持续至少4星期。数据还证明给予交叉反应的m/r/cy/h药剂AD-65695之后,有>90%的小鼠ANGPTL3敲低,而在单次3mg/kg剂量的AD-65695之后,约75%ANGPTL3的敲低持续至少4星期。此外,数据证明给药m/r/cy/h药剂AD-65695及cy/h药剂AD-62865之后有可比较的ANGPTL3敲低的效能及持续时间。

[0499] 还进行了AD-65695、AD-62865及AD-62866的单次剂量持久性分析。如图13所示,给予受AAV8-TBG-ANGPTL3感染小鼠单次0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg剂量的AD-65695,或给予受AAV8-TBG-ANGPTL3感染小鼠单次1mg/kg或3mg/kg剂量的AD-62865,或给予受AAV8-TBG-ANGPTL3感染小鼠单次0.3mg/kg剂量的AD-62866。在给药前及给药后第11、25及39天收集动物血清,并如上所述,使用ELISA检测测定小鼠及人类的ANGPTL3水平。

[0500] 图14A、14B、15A及15B展现这些分析的数据。图14A及14B分别提供给予该药剂后第11天的人类及小鼠ANGPTL3值。图15A及15B分别提供给予单次0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg剂量的AD-65695的给药前及给药后第11、25及39天的人类及小鼠ANGPTL3水平。数据证明AD-65695(m/r/cy/h药剂)具有对80%动物有效的剂量(ED_{80})为3mg/kg及对人类ANGPTL3的 ED_{40} 为1mg/kg。数据还证明AD-65695具有对小鼠ANGPTL3的 ED_{90} 为3mg/kg、 ED_{70} 为1mg/kg且 ED_{50} 为0.3mg/kg。此外,数据证明AD-62865(cy/h药剂)具有对人类ANGPTL3的 ED_{80} 为3mg/kg。

[0501] 经由给予受AAV8-TBG-ANGPTL3感染小鼠单次1mg/kg剂量的另外药剂而检测该药剂的效能,而该另外药剂相较于其衍生自其的母序列具有较少2'-氟修饰的核苷酸(说明于以上表4A及4B中)。在给药前及给药后第9天收集动物血清,如上所述,使用ELISA检测测定小鼠及人类ANGPTL3水平。以下表6提供这些检测的结果,且图16证明相较于母序列具有较少2'-氟修饰核苷酸的3种药剂,AD-66920、AD-66921及AD-66922,较cy/h特异性药剂AD-62865具有改善的人类ANGPTL3敲低的持续时间。

[0502] 表6.AAV-TBG-ANGPTL3小鼠中的体内ANGPTL3沉默

[0503]

				第 9 天, 相对于给药前					
组	n#	双链体名称	剂量 (mg/kg)	人类 Angptl3		小鼠 Angptl3		小鼠交叉反应	NM_014495.3 中反义链的 5'靶位置
				平均值	SD	平均值	SD		
1	2	PBS		0.8	0.3	1.4	0.08		
2	3	AD-62865	1	0.44	0.14	1.0	0.16		
3	3	AD-66916	1	0.44	0.11	1.3	0.25		482
4	3	AD-66917	1	0.58	0.22	1.2	0.17		56
5	3	AD-66918	1	1.39	0.68	0.9	0.42		478
6	3	AD-66919	1	0.88	0.25	1.1	0.16		77
7	3	AD-66920	1	0.41	0.05	1.0	0.14		61
8	3	AD-66921	1	0.39	0.14	1.1	0.40		398
9	3	AD-66922	1	0.27	0.08	1.2	0.38		393
10	3	AD-66923	1	0.67	0.21	0.3	0.07	yes	278
11	3	AD-66924	1	0.62	0.20	0.5	0.07	yes	276
12	3	AD-66925	1	0.70	0.22	0.9	0.11		1014
	3	AD-65695	1	0.60	0.14	0.3	0.08	yes	278

[0504]

表 7A.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	修饰的有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaal96	314	usdTsgaguucaagdTgdAcauaucsuu	335
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaal96	315	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauaucsuu	336
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaacuaal96	316	usdTsgaguucaagdTgdAcauaucsuu	337
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaal96	317	usUfsagUfuCfAfagugAfcAfuuaucsuu	338
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacuaal96	318	usUfsagUfuCfAfagugAfcAfuuaucsuu	339
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	319	asdAsuaaaaaagaadGgdAgcuaaauusug	340
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	320	asAfsuaaAfaagaggAfgCfuuaauusug	341
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuuL96	321	asdAsuaaaaaagaadGgdAgcuaaauusug	342
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuuL96	322	asAfsuaaAfaAfgfaaggAfgCfuuaauusug	343
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	323	asdAsaaagacugadTcdAaauaugusug	344
AD-67013	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaal96	324	usdTsgaguugagudTcdAagugacasua	345
AD-67014	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaal96	325	us(Ufms)gaguugagudTcdAagugacasua	346
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcuaacuaal96	326	usUfsagUfuGfAfguucAfaGfugacasua	347
AD-66974	asascuaacuuaau(Tgn)caaal96	327	usdTsgaauuaagdTudAguuaugusug	348
AD-66973	asascudAacumaaau(Tgn)caaal96	328	usdTsgaauuaagdTudAguuaugusug	349
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaucuaal96	329	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguuusug	350
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaucuaal96	330	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuaggasua	351
AD-67042	csusccadTagdAgaagcaa(Tgn)cuuaal96	331	usdTsgaauugcuudCadCuuaugaggsua	352
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuL96	332	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuuaugusug	353
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuL96	333	asdAsaaagacugadTcdAaauaugusug	354
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	334	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuuaugusug	355

[0505]

表 7B.另外的修饰的 ANGPL3 RNAi 药剂

双链体名称	修饰的有序列 5'至 3'	SEQ ID NO	修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	314	usdTsgaguucaagdTgdAcauaucsuu	335
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	315	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauaucsuu	336
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfmuugaacuaa	316	usdTsgaguucaagdTgdAcauaucsuu	337
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	317	usUfsgagUfuCfAfafagugAfcAfuaucsuu	338
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfmuugaacuaa	318	usUfsgagUfuCfAfafagugAfcAfuaucsuu	339
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uuuu	319	asdAsuaaaaaagaadGgdA gcuuaausug	340
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uuuu	320	as.Afsuaa.AfaagaaggAfgCfuaaauusug	341
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuuu	321	asd.AsuaaaaagaadGgdA gcuuaauusug	342
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuuu	322	as.Afsuaa.Afa.AfGfaaggAfgCfuaaauusug	343
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	323	asd.AsaaagacugadTcd.Aaauaugusug	344
AD-67013	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaa	324	usdTsgaguugagudTcd.Aagugacasua	345
AD-67014	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaa	325	us(Ufms)gaguugagudTcd.Aagugacasua	346
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcuaacuaa	326	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasua	347
AD-66974	asascuaacuuaauuu(Tgn)caaa	327	usdTsgaauuaagdTud.Aguuaugusgsc	348
AD-66973	asascudAacuuaauuu(Tgn)caaa	328	usdTsgaauuaagdTud.Aguuaugusgsc	349
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuaaaucaaa	329	usUfsgagUfuUfAfafaguU.AfgUfuaugusgsc	350
AD-66925	csusccau.AfgUfGfAfagaaucuaa	330	usUfsgagUfuGfCfuaaCfu.Afuggaggsua	351
AD-67042	csusccadTagdAgaagaa(Tgn)cuua	331	usdTsgaauugcuudCadCuauuggaggsua	352
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	332	as.AfsaaaGfaCfUfgauc.Afa.Afuaugusug	353
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	333	asd.AsaaagacugadTcd.Aaauaugusug	354
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	334	as.AfsaaaGfaguc.Afa.Afuaugusug	355

[0506]

表 7C.另外的未修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	未修饰的有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	未修饰的反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-67021	GAAUATGUGACUUGAACUCA	356	UTGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	377
AD-67022	GAAUATGUGACUUGAACUCA	357	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	378
AD-67173	GAAUAUGUCACUUGAACUCA	358	UTGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	379
AD-67174	GAAUATGUGACUUGAACUCA	359	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	380
AD-66922	GAAUAUGUCACUUGAACUCA	360	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	381
AD-67008	AUUAAGCUGCUUCUUUUAUU	361	AAUAAAAGAAGGAGGCUUAAUUG	382
AD-67007	AUUAAGCUGCUUCUUUUAUU	362	AAUAAAAGAAGGAGGCUUAAUUG	383
AD-67006	AUUAAGCUCUUCUUUUAUU	363	AAUAAAAGAAGGAGGCUUAAUUG	384
AD-66920	AUUAAGCUCUUCUUUUAUU	364	AAUAAAAGAAGGAGGCUUAAUUG	385
AD-67028	ACAUATUUCaucaguctuuu	365	AAAAGACUGATCAAUAUGUUG	386
AD-67013	UGUCACUUCaACUCAACUCA	366	UTGAGUUGAGUTCAAGUGACAUA	387
AD-67014	UGUCACUUCaACUCAACUCA	367	UUGAGUUGAGUTCAAGUGACAUA	388
AD-66921	UGUCACUUGAACUCAACUCA	368	UUGAGUUGAGUUCaAGUGACAUA	389
AD-66974	AACUAACUUAACUUAAUTCAA	369	UTUGAAUUAAGTUAGUUAAGUUGC	390
AD-66973	AACUAACUUAACUUAAUTCAA	370	UTUGAAUUAAGTUAGUUAAGUUGC	391
AD-66916	AACUAACUUAACUUAUUAUUA	371	UUUGAAUUAAGUUAAGUUAAGUUGC	392
AD-66925	CUCCAUAGUGAAGCAUUCUAA	372	UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA	393
AD-67042	CUCCATAGAGAAGCAATCUAA	373	UTAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA	394
AD-66923	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	374	AAAAGACUGAUCAAUAUUGUUG	395
AD-67026	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	375	AAAAGACUGATCAAUAUUGUUG	396
AD-67027	ACAUATUUCaucaguctuuu	376	AAAAGACUGAUCAAUAUUGUUG	397

[0507] 实例7. AAV-TBG-ANGPTL3小鼠中的体内ANGPTL3沉默

[0508] 在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠中检测列于表7A、7B及7C 中的另外药物的第

二子集。表8A及8B提供这些序列的有义及反义链的修饰的核苷酸序列。简要地,及如上所述,在给药前第14天,经由静脉给予 1×10^{11} 个病毒颗粒而感染野生型小鼠(C57BL/6)。于第0天,给予小鼠单次1mg/kg或3mg/kg剂量的该药剂。在给药前及给药后第14及28天收集动物血清,并如上所述,使用ELISA检测测定小鼠及人类ANGPTL3水平。

[0509] 以下表9及图17A及17B提供这些检测的结果。该结果证明药剂AD-67173、AD-67174、AD-66922、AD-67007及AD-66920具有人类ANGPTL3敲低的改善的持续时间。

[0510] 表8A.

双链体 ID	有义序列 5'至3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至3'	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	398	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	408
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	399	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	409
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaaucuaaL96	400	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	410
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	401	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	411
[0511] AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaaucuaaL96	402	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	412
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	403	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuauusug	413
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	404	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaausug	414
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuauuL96	405	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuauusug	415
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuauuL96	406	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaausug	416
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	407	asdAsaaagacugadTcdAauaugusug	417

[0512] 表8B.

双链体 ID	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	398	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	408
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	399	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	409
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaa cucaa	400	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	410
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	401	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	411
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaa cucaa	402	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	412
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	403	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuauusug	413
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	404	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaausug	414
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuu uuauu	405	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuauusug	415
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuu uuauu	406	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaausug	416
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	407	asdAsaaagacugadTcdAauaugusug	417

[0514] 表9.

		第 14 天, 相对于给药前 人类 Angptl3	
双链体	剂量 (mg/kg)	平均值	SD
PBS	0	0.74	0.27
AD-67021	3	0.48	0.22
AD-67022	3	0.52	0.17
AD-67173	3	0.25	0.03
AD-67174	3	0.22	0.05

[0515]

[0516]	AD-66922	1	0.26	0.06
	AD-67008	3	0.50	0.18
	AD-67007	3	0.21	0.02
	AD-67006	3	0.50	0.18
	AD-66920	1	0.25	0.05
	AD-65695	1	0.49	0.15
	AD-67028	3	0.47	0.04

[0517] 另一个实验中,在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠中检测列于表7A、7B及7C中的另外药剂的另一子集。表10A及10B提供这些序列的有义及反义链的修饰的核苷酸序列。简要地,及如上所述,在给药前第14天,经由静脉给予 1×10^{11} 个病毒颗粒而感染野生型小鼠(C57BL/6)。于第0天,给予小鼠单次1mg/kg或3mg/kg剂量的该药剂。在给药前及给药后第14及28天收集动物血清,并如上所述,使用 ELISA检测测定小鼠及人类ANGPTL3水平。

[0518] 以下表11及图18A提供这些给药后第14天的检测结果,且以下表 12及图18B提供这些给药后第28天的检测结果。该结果证明药剂 AD-66921、AD-66916及AD-67042具有人类ANGPTL3敲低的改善的持续时间。

[0519] 表10A.

双链 体 ID	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-6 7013	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	418	usdTsgaguugagudTcdAagugac asusa	430
AD-6 7014	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	419	us(Ufms)gaguugagudTcdAagu gacasusa	431
[0520] AD-6 6921	usgsucacUfuGfAfAfcuca acucaaL96	420	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfu gacasusa	432
AD-6 6974	asascuaacuuaau(Tgn) caaaL96	421	usdTsgaauuaagdTudAguuagu usgsc	433
AD-6 6973	asascudAacuuaau(Tg n)caaaL96	422	usdTsgaauuaagdTudAguuagu usgsc	434
AD-6 6916	asascuaaCfuAfAfCfuuaau ucaaaL96	423	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfu aguusgsc	435

[0521]	AD-6 6925	csusccauAfgUfGfAfgca aucuaaL96	424	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfu ggagsusa	436
	AD-6 7042	csusccadTagdAgaagcaa(T gn)cuaaL96	425	usdTsgauugcuudCadCuaugga gsusa	437
	AD-6 6923	ascsauauUfuGfAfUfcagu cuuuuuL96	426	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfu ugususg	438
	AD-6 7026	ascsauauUfuGfAfUfcagu cuuuuuL96	427	asdAsaaagacugadTcdAaauaugu susg	439
	AD-6 7027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	428	asAfsaaaGfacugaucAfaAfu usug	440
	AD-6 7028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	429	asdAsaaagacugadTcdAaauaugu susg	441

[0522] 表10B.

双链 体 ID	有义序列 5'至 3'	SE Q ID NO	反义序列 5'至 3'	SE Q ID NO
AD-6 7013	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaa	418	usdTsgaguugagudTcdAagugaca susa	430
AD-6 7014	usgsucadCuudCaacuaa(Cgn)ucaa	419	us(Ufms)gaguugagudTcdAagu gacasusa	431
AD-6 6921	usgsucacUfuGfAfAfcuca acucaa	420	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfu gacasusa	432
AD-6 6974	asascuaacuuaau(Tgn) caaa	421	usdTsgaauuaagdTudAguuagu usgsc	433
AD-6 6973	asascudAacuuaau(Tg n)caaa	422	usdTsgaauuaagdTudAguuagu usgsc	434
AD-6 6916	asascuaaCfuAfAfCfuuaau ucaa	423	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfu aguusgsc	435
AD-6 6925	csusccauAfgUfGfAfgca aucuaa	424	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfu gagsusa	436
AD-6 7042	csusccadTagdAgaagcaa(T gn)cuaa	425	usdTsgauugcuudCadCuaugga gsusa	437
AD-6 6923	ascsauauUfuGfAfUfcagu cuuuuu	426	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfu ugususg	438
AD-6 7026	ascsauauUfuGfAfUfcagu cuuuuu	427	asdAsaaagacugadTcdAaauaugu susg	439

[0524]	AD-6 7027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	428	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuauug ususg	440
	AD-6 7028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu		429	

[0525] 表11.

		第 14 天, 相对于 PBS	
		人类 Angptl3	
siRNA	剂量 (mg/kg)	平均值	SD
PBS	0	1.00	0.12
AD-67013	3	0.86	0.06
AD-67014	3	0.67	0.15
AD-66921	1	0.44	0.18
AD-66974	3	0.75	0.03
AD-66973	3	0.76	0.05
AD-66916	1	0.41	0.05
AD-66925	1	0.65	0.13
AD-67042	3		
AD-65695	1	0.59	0.19
AD-66923	1	0.64	0.25
AD-67026	3	0.56	0.03
AD-67027	3	0.66	0.23
AD-67028	3	0.65	0.21

[0527] 表12.

		第 28 天, 相对于 PBS	
		人类 Angptl3	
siRNA	剂量 (mg/kg)	平均值	SD
PBS	0	1.00	0.12
AD-67013	3	1.50	1.28
AD-67014	3	0.90	0.23

[0528]

	AD-66921	1	0.44	0.11
	AD-66974	3	0.96	0.10
	AD-66973	3	1.00	0.34
	AD-66916	1	0.57	0.06
	AD-66925	1	1.01	0.28
[0529]	<i>AD-67042</i>	3		
	AD-65695	1	0.85	0.17
	AD-66923	1	0.85	0.25
	AD-67026	3	0.64	0.06
	AD-67027	3	0.58	0.11
	AD-67028	3	1.32	1.01

[0530] 实例8.非人类灵长类中的体内ANGPTL3沉默

[0531] 在第1天,皮下给予雄性食蟹猴(n=3/组)单次1mg/kg剂量的AD-65695或AD-66920,或单次3mg/kg剂量的AD-66920。给药后第4、8、11、15及22天收集禁食血清并测量Angptl3的蛋白质水平及血清脂质水平。

[0532] 图19A及19B提供这些检测的结果并证明单次3mg/kg剂量的AD-66920(h/cy)给药后有达80%的血清ANGPTL3蛋白质的敲低及约50%的血清中三酸甘油酯水平的降低。单次1mg/kg剂量的AD-66920对血清中三酸甘油酯水平具有适中的效果。意外地,虽然给药单次1mg/kg剂量的AD-65695将ANGPTL3蛋白质水平降低到与单次1mg/kg剂量的AD-66920相似的水平,但是单次1mg/kg剂量的AD-65695在AAV8-TBG-ANGPTL3小鼠模型中的效果比单次1mg/kg剂量的AD-66920差3倍且对血清中三酸甘油酯没有效用。

[0533] 实例9.AAV-TBG-ANGPTL3小鼠中的体内ANGPTL3沉默

[0534] 在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠中检测一组靶向ANGPTL3的另外药物的体内效能。表13A及13B提供这些序列的有义及反义链的修饰的核苷酸序列。简要地,且如上所述,在给药前第21天,经由静脉给予 1×10^{11} 个病毒颗粒而感染野生型小鼠(C57BL/6;n=3)。于第0天,给予小鼠单次1mg/kg剂量的该药剂。在给药前及给药后第28天收集动物血清,并如上所述,使用ELISA检测测定人类ANGPTL3水平。

[0535] 图20提供这些检测的结果且证明这些药剂有效地敲低人类ANGPTL3蛋白质的水平。

[0536] 在受AAV8-TBG-ANGPTL3感染的小鼠中检测另一组列于表13A及13B中的靶向ANGPTL3药物的体内效能。如上所述,在给药前第21天,经由静脉给予 1×10^{11} 个病毒颗粒而感染野生型小鼠(C57BL/6;n=3)。于第0天,给予小鼠单次1mg/kg剂量的该药剂。在给药前及给药后第28天收集动物血清,并如上所述,经由ELISA检测测定人类及小鼠ANGPTL3水平。

[0537] 图21A及21B提供这些检测的结果且证明这些药剂有效地敲低小鼠及人类ANGPTL3蛋白质的水平。

[0538] 实例10.AAV-TBG-ANGPTL3小鼠中的体外ANGPTL3沉默

[0539] 如上所述,合成靶向ANGPTL3基因的进一步iRNA药剂。表14显示另外的未修饰的ANGPTL3有义及反义链序列的详细列表且表13A、13B、15A及15B显示这些另外的药剂的修

饰的有义及反义链序列的详细列表。

[0540] 经由药剂以10nM及0.1nM最终双链体浓度的单次剂量转染而在 Hep3b及初代食蟹猴肝细胞的体内检测中评估这些另外的药剂。(参见表16)。

[0541] 如上所述培养及转染Hep3b细胞。与ANGPTL3药剂一起培养24 小时之后,评估初代食蟹猴肝细胞中的自由摄取沉默。除了用5μL完全生长培养基取代含有Lipofectamine RNAiMax及Optimem的5μL外,该方法与上述者相似。这些检测的结果(表16所提供)说明许多双链体有效地抑制ANGPTL3 mRNA表达。

[0542]

表 13A.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-66920	asusuaagCfuCfcUfucuuuuuuL96	442	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuaaauusg	454
AD-72868	asusuaagCfuCfcUfucuuuuuuL96	443	VP(Tams)AfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuaaauusg	455
AD-72869	asusuaagcuCfcUfucuuuuuuL96	444	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	456
AD-72870	asusuaagcuCfcUfucuuuuuuL96	445	asAfsuaaaaaaaGgAfgcuuaaauusg	457
AD-72871	asusuaagcuCfcUfucuuuu(Tgn)uuuuL96	446	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	458
AD-72872	asusuaagcuCfcUfucuaauuuuuL96	447	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	459
AD-65695	ascsauuuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	448	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuuaugusg	460
AD-72873	ascsauuuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	449	VP(Tams)AfsaaaGfacugaucAfaAfuuaugusg	461
AD-72874	ascsauuuuuGfaUfcagucuuuuL96	450	asAfsaaaagacugaUfcAfaaauugusg	462
AD-72875	ascsauuuuuGfaUfcagucuuuuL96	451	asAfsaaaagacugadTcAfaaauugusg	463
AD-72876	ascsauuuuuGfaUfcaguc(Tgn)uuuuL96	452	asAfsaaaagacugaUfcAfaaauugusg	464
AD-72877	ascsauuuuuGfaUfcagacuuuuL96	453	asAfsaaaagacugaUfcAfaaauugusg	465

表 13B.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO
AD-66920	asusuaagCfuCfcUfucuuuuuuL96	442	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuaaauusg	454
AD-72868	asusuaagCfuCfcUfucuuuuuuL96	443	VP(Tams)AfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuaaauusg	455
AD-72869	asusuaagcuCfcUfucuuuuuuL96	444	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	456
AD-72870	asusuaagcuCfcUfucuuuuuuL96	445	asAfsuaaaaaaaGgAfgcuuaaauusg	457
AD-72871	asusuaagcuCfcUfucuuuu(Tgn)uuuuL96	446	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	458
AD-72872	asusuaagcuCfcUfucuaauuuuuL96	447	asAfsuaaaaaaaGfgAfgcuuaaauusg	459
AD-65695	ascsauuuUfuGfAfUfcagucuuuuL96	448	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuuaugusg	460

[0543]

AD-72873	ascsauuUfuGfAfUfcagucuuuu	449	VP(Tams)AfsaaaGfacugaucAfaAfaauaugusug	461
AD-72874	ascsauuuuGfaUfcagucuuuu	450	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugusug	462
AD-72875	ascsauuuuGfaUfcagucuuuu	451	asAfsaaagacugadTcAfaauaugusug	463
AD-72876	ascsauuuuGfaUfcaguc(Tgn)uuuu	452	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugusug	464
AD-72877	ascsauuuuGfaUfcagacuuuu	453	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugusug	465

表 14.另外的未修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	有义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	反义序列 5'至 3'	SEQ ID NO	在 NM_014495.3 中的反义靶位置
AD-66916	AACUAACUAACUUAUUUCAAA	466	UUUGAAUUUAAGUUAGUUAGUUGC	507	480-502
AD-66922	GAAUAGUCACUUGAACUCA	467	UUAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	508	391-413
AD-74755	AAACUCUAAACUUGACUAAAU	468	AUUUAGUCAAGUUUAGAGUUUUA	509	1853-1874
AD-74756	AACUAACUUAUUCAAAAUCA	469	UGAUUUUGAAUUAAAGUUAGUUG	510	515-536
AD-74757	CCAGAAGUAAACUUCACUAAA	470	UUUAAAGUGAAGUUACUUCUGGU	511	555-576
AD-74758	GAAUCUAAACUCAAACUUGAA	471	UUCAAAGUUUUGAGUUAGUUCAA	512	435-456
AD-74759	CAACUCAAAACUUGAAAGCCU	472	AGGCUUUCAGUUUUGAGUUAG	513	440-461
AD-74760	UUCCACGUUGCUUGAAAUUGA	473	UCAUUUCAAGCAACGUGGAACU	514	46-67
AD-74761	GUUGCUUGAAAUUGAAAUUCA	474	UGAUUUUCAAUUUCAGCAACGU	515	52-73
AD-74762	GAUCACAAACUUCAAUUGAAA	475	UUUCAUUGAAGUUUUGUAUCCA	516	952-973
AD-74763	UCAAGAUAUUGCUAUGUAGAA	476	UUUUAACAUAAGCAAAUUCUUGAUU	517	183-204 C21A
AD-74764	CAAAAUCAAGAUUUGCUAUGU	477	ACAUAGCAAUUCUUGAUUUUGGC	518	178-199
AD-74765	GAACUACUCCUUUCUUCAGU	478	ACUGAAGAAAGGGAGUAUUUCUU	519	751-772
AD-74766	AGAAAUUUCUUAUCUUCCAA	479	UUGGAAGAUAGAGAAAUUUCUGU	520	716-737
AD-74767	UGAACUGAGGCAAAUUUAAAA	480	UUUUAAAUUUGCCUCAGUUCAUU	521	1461-1482
AD-74768	CAUCCAACAGAUUCAGAAAGA	481	UCUUUCUGAAUUCUUGGAUGGA	522	1434-1455 C21A
AD-74769	AAAAUCAAGAUUUGCUAUGUU	482	AACAUAAGCAAUUCUUGAUUUUGG	523	179-200
AD-74770	AGAGCAAAAUUCUAAAGCCAGAA	483	UUUCUGGCUUAGAUUUUUGCUUCUUG	524	1341-1362 G21A
AD-74771	AUCAUAUGAGCUAAUAUUCACA	484	UGUGAUUAUUAGCUCUAUUGAUGC	525	1798-1819

[0544]

AD-74772	AAUAAACCUCGUAAACAAGUUA	485	U AACUUGUUACGAGGUUUAUUUC	526	2339-2360
AD-74773	CAACAGCAUAGUCAAAUAAA	486	UUUUUUUUGACUAUGCUGUUGGU	527	651-672
AD-74774	AAAACAACCUAAUUGGUAUU	487	AUUUACCAUUUAGGUUUGUUUCU	528	1309-1330
AD-74775	CACUUAAAACUUUUUGUAGAAA	488	UUUCUACAAAAGUUUUUAAAGUGAA	529	568-589
AD-74776	AUUAAAUAAGUUCGUCUCU	489	AGACAGCGAACUUUUAUUUAAUAC	530	2070-2091
AD-74777	CAAAACUUCAAUUGAAACGUGA	490	UCACGUUUCAUUGAAGUUUUUGUG	531	957-978 G21A
AD-74778	AGAUGGAUCACAAAACUUCAA	491	UUGAAGUUUUGUGAUCCAUUCU	532	947-968
AD-74779	CACUUAUACUAUGAAACAA	492	UUGUUUUCAUAGUAUUUAAAGUGUU	533	2194-2215
AD-74780	ACUAAAGUCACAUUGACUUUA	493	UUAAAGUCAUUGUGACUUAAGUAG	534	2111-2132
AD-74781	UAUUAAAUAACUUUUUCUAAA	494	AUUUAGAAAAGUUUAUUUAAUAAAG	535	1746-1767
AD-74782	ACACUUAAUACUAUGAAAACA	495	UGUUUUCAUAGUAUUUAAAGUGUUA	536	2193-2214
AD-74783	UUUAUGAAACCUAAUUGAAGCA	496	UGCUUCAUUAAGGUUUUCAUAAAUA	537	2035-2056
AD-74784	CAACAUUAUUAUUUGAAUUA	497	UAAUUAUCAAUAUAAUGUUUGUU	538	1103-1124 C21A
AD-74785	AAACCAGUGAAAUCAAAGAAA	498	UUUCUUUGAUUUUCACUGUUUUGC	539	343-364 G21A
AD-74786	GAGUUAAAAGUUUAUUUCCCA	499	UGGAAAUAUAAAACUUUAACUCGA	540	2271-2292 C21A
AD-74787	CCAUAUAACAACAAUUAACCA	500	UGGUUUAUUUGUUUAUUAUUUGGUC	541	632-653
AD-74788	GUGGAGAAAACAACCUAAAUA	501	UAUUUAGGUUUGUUUUUCUCCACAC	542	1303-1324 G21A
AD-74789	AACUCAACUCAAAAACUUGAAA	502	UUUCAAGUUUUGAGUUGAGUUCA	543	436-457
AD-74790	AAUGUUCACAAUUUAAAGCUCCU	503	AGGAGCUUAUUUGUGAACAUUUU	544	80-101
AD-74791	GCAGAAUUAAAUAUCUGUAUUA	504	UAAUACAGUAUUUAAUUUCUGCUU	545	2053-2074
AD-74792	UGAAUGAAAUAAGAAAUGUAA	505	UUACAUUUCUUUAUUUCAUUCACAC	546	772-793
AD-74793	UACAUUAACAACUACAAGUCA	506	UUGACUUUGUAGUUUAUUAUGUAGU	547	386-407

[0545]

表 15A. 另外的修饰的 ANGPL3 RNAi 药剂

双链体名称	SEQ ID NO:	有义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	NM_ 014495.3 中的 mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-66916	548	asascuaaCfuAfAfCfuuaaucaaaL96	548	usUfsugaAfuUfAfagumAfgUfuaugmsgc	589	GCAACUAAACUAAACUUAUUCAAA	630
AD-66922	549	gsasauuGfuCfAfCfuugaacucaL96	549	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuuaucsuu	590	AAGAAUUGUCACUUGAACUCA	631
AD-74755	550	asasacucUfaAfAfCfuugaauaaL96	550	asUfsumuGfuCfAfagumUfaGfagumusua	591	UAAAACUCUAAAACUUGACUAAA	632
AD-74756	551	asascuaaCfuUfAfAfuaaaucaL96	551	usGfsaunUfuGfAfaunaAfgUfuaugmsasg	592	CUAACUAAACUUAUUCAAAUCA	633
AD-74757	552	cscagaaGfuAfAfCfuuaaamaaL96	552	usUfsuaaGfuGfAfagumAfcUfucuggsgsu	593	ACCCAGAAAGUAACUUCACUAAA	634
AD-74758	553	gsasacucAfaCfUfCfaaaauugaL96	553	usUfscaaGfuUfUfugagUfuGfagumcsasa	594	UUGAACUCAACUCAAAAACUUGAA	635
AD-74759	554	csasacucAfaAfAfCfuugaagccuL96	554	asGfsgcuUfuCfAfagumUfuGfagumgsasg	595	CUCAACUCAAAAACUUGAAAAGCCU	636
AD-74760	555	ususccacGfuUfGfCfuugaauugaL96	555	usCfsaunUfuCfAfageaAfcGfuggaascsu	596	AGUUCACGUUGCUUGAAAUUGA	637
AD-74761	556	gsusugcuUfgAfAfAfuugaaucaL96	556	usGfsaunUfuCfAfauumCfaAfgcaacsu	597	ACGUUGCUUGAAAACUUGAAAUCA	638
AD-74762	557	gsasucacAfaAfAfCfuuaaauaaaL96	557	usUfsucaUfuGfAfagumUfuGfugaucscsa	598	UGGAUCACAAAACUUCUAAAUGAAA	639
AD-74763	558	uscsagaUfuUfGfCfuuauguaaaL96	558	usUfscuaAfcAfUfageaAfaUfcuugasusu	599	AAUCAAGAUUUGCUAUGUAGAC	640
AD-74764	559	csasaaauCfaAfGfAfuugaauuL96	559	asCfsaunUfuCfAfauucUfgAfuuumgsgc	600	GCCAAAUAUCAAGAUAUUGCUAUGU	641
AD-74765	560	gsasacuaCfuCfCfuuuucuaL96	560	asCfsugaAfgAfAfagggAfgUfagumcsusu	601	AAGAACUACUCCUUCUUCAGU	642
AD-74766	561	asgsaaauUfuCfUfCfuuaucuaaaL96	561	usUfsggaAfgAfUfagagAfaAfuuaucsgsu	602	ACAGAAAUAUUCUUAUCUCCAA	643
AD-74767	562	usgsaacuGfaGfGfCfaaauuaaaaL96	562	usUfsumuAfaUfUfugccUfcAfguucasu	603	AAUGAACUGAGGCAAAUUA AAA	644
AD-74768	563	csasucaaAfcAfGfAfuugaaagaL96	563	usCfsuunUfuGfAfauucUfgUfggaugsgsa	604	UCCAUAACAAGAUUUGCUAUGU	645
AD-74769	564	asasaucAfaGfAfUfuugaauuL96	564	asAfscauAfgCfAfaucUfuGfauuumgsg	605	CCAAAUAUCAAGAUAUUGCUAUGU	646
AD-74770	565	asgsagcaAfaUfUfCfuuaagccagaL96	565	usUfscugGfcUfUfagauUfuUfgcucunsg	606	CAAGAGCAAAAUCUAAAGCCAGAG	647
AD-74771	566	asuscauaUfgAfGfCfuuaaucaL96	566	usGfsugaUfaUfUfagcuCfaUfaugaugsc	607	GCAUCAUAUGAGCUAAUAUCA	648
AD-74772	567	asasuaaaCfcUfCfGfuuaaauuL96	567	usAfsaunUfgUfUfagcaGfgUfuuaunusc	608	GAAAUA AACCUUCGUAAACAAGUUA	649
AD-74773	568	csasacagCfaUfAfGfuuaaauaaaL96	568	usUfsumuUfuUfGfauaUfgCfugaugsgsu	609	ACCAAACAGCAUAUGUCAAAA UAAAA	650
AD-74774	569	asasaacaAfcCfUfAfauguaaaL96	569	asUfsumuAfcAfUfuaugGfuUfguunusc	610	AGAAAACAACCUAAAUGGUA AAAU	651
AD-74775	570	csasucuaAfaAfcUfuugaauaL96	570	usUfscuaAfcAfaaaguUfuUfaagugsasa	611	UUCACUUA AAAACUUAUUGUAGAAA	652
AD-74776	571	asusuaaaAfuAfAfGfuucgucuaL96	571	asGfsacaGfcGfAfaucUfuUfuaunusc	612	GUAUUA AAAAUAAAGUUCGUCUCU	653
AD-74777	572	csasaacUfuCfAfAfuugaacugaL96	572	usCfsaagUfuUfCfaugAfaGfuuumgsgsu	613	CACAAAACUUCUCAAUGAAACGUGG	654

[0546]

AD-74778	asgsaugAfuCfAfCfaaaacuucaal96	573	usUfsaaaGfuUfUfugugAfuCfcaucusasu	614	AUAGAUGGAUCACAAAAACUUCAA	655
AD-74779	csasenuaAfuAfcUfauagaacaal96	574	usUfsgumUfuCfAfuaguAfuUfagugususu	615	AACACUUAUUACUUAUGAAAACAA	656
AD-74780	ascsuaagUfcAfcAfuugacuuuaal96	575	usUfsaaaGfuCfAfauguGfAcfuuaugusag	616	CUACUAAGUCACAUUGACUUUAA	657
AD-74781	usasuaaAfuAfcFfuuuuuaaalu96	576	asUfsumaGfaAfaaguuAfuUfuaaasag	617	CUUAUAAAUAACUUUUUCUAAAU	658
AD-74782	ascsacuuAfaUfAfcfuuaaacaal96	577	usGfsuumUfcAfuUfaguaUfuAfaugususa	618	UAACACUUAUUACUUAUGAAAACA	659
AD-74783	ususuauGfaAfcFfuuaagaacaal96	578	usGfscuuCfaUfUfaguuUfuCfauaasusa	619	UAUUUAUGAAAACCUAAUUGAAGCA	660
AD-74784	csasaacaUfuAfuAfcfuuaaauuaal96	579	usAfsauaUfuCfAfauaaUfaUfguuugsusu	620	AACAACAUAUAUUUGAAUAUUUC	661
AD-74785	asasaccaGfuGfAfcfaucuaaagaal96	580	usUfsucuuUfuGfAfuuuAfcUfguuuugsc	621	GCAAACCAGUGAAAUCAAAAGAG	662
AD-74786	gsasguaaAfaGfuUfuaauuuccaal96	581	usGfsgaaAfuAfuUfaaacUfuUfaaacsgsa	622	UCGAGUUAAGUUUUUAUUUUCCC	663
AD-74787	csesaauaUfaAfaCfaauiuaacaal96	582	usGfsgumUfaAfuUfuguuUfaUfauuuggsusc	623	GACCAAUUAACAACAAUUUAAAACCA	664
AD-74788	gsusggagAfaAfcfaacuaaauaL96	583	usAfsuumAfgGfUfuguuUfuCfuccacsasc	624	GUGUGGAGAAAACAACCUAAAUG	665
AD-74789	asascucaAfcUfcfaaaacuuagaal96	584	usUfsucaAfgUfUfuugaGfuUfgaguuscsa	625	UGAAACUCAACUCAAAAACUUGAAA	666
AD-74790	asasuguuCfaCfaAfcfuuaaguccuL96	585	asGfsgagCfuUfAfaaugUfgAfaacuuusu	626	AAAAUGUUCACAAUUUAAAGCUCCU	667
AD-74791	gsesagaaUfuAfaAfcfuuaaauuaal96	586	usAfsauaCfaGfUfauuuAfaUfucugesusu	627	AAGCAGAAUUUAAAUAACUGUAUUUA	668
AD-74792	usgsaaugAfaAfuAfcfaagaauuaal96	587	usUfsacaUfuUfCfuuaaUfuCfaucacasasc	628	GUUGAAUGAAAUAAGAAAUGUAAA	669
AD-74793	usascuaaUfaAfaCfuacaagaacaal96	588	usUfsgacUfuGfUfaguuUfaUfauugaugscsu	629	ACUACAUAUAAAACUACAAGUCAA	670

表 15B.另外的修饰的 ANGPTL3 RNAi 药剂

双链体名称	有义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反义序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:
AD-66916	asascuaaCfuAfaCfuuaauucaaa	548	usUfsgaaAfuUfAfaaguAfgUfuaugugsc	589	GCAACUAACUAACUUUAAUUCAAA
AD-66922	gsasauauGfuCfAfcfuuaacucuaa	549	usUfsgagUfuCfAfaagUfcAfuuaucsuu	590	AAGAAUAUGUCACUUUGAACUCAA
AD-74755	asasacucUfaAfaCfuuaacuaaa	550	asUfsumaGfuCfAfaaguUfaGfaguususa	591	UAAAACUCUAAAACUUUGACUAAA
AD-74756	asascuaaCfuUfAfaCfuuaaauca	551	usGfsaumUfuGfAfauaaAfgUfuaugusag	592	CUAACUAACUUAAAUCAAAUAUCA
AD-74757	csesagaaGfuAfaCfuuaacuuuaa	552	usUfsuaaGfuGfAfaaguAfcUfucuggsgsu	593	ACCCAGAAGUAACUUUCACUUAAA
AD-74758	gsasacucAfaCfuCfaaacungaa	553	usUfscacGfuUfUfugagUfuGfaguusasa	594	UUGAACUCAAACUCAAAACUUGAA
AD-74759	csasacucAfaAfaCfuuaaagccu	554	asGfsgcuUfuCfAfaaguUfuGfaguusag	595	CUCAACUAAAACUUGAAAAGCCU
AD-74760	ususcacGfuUfGfCfuuaaauuga	555	usCfsaaUfuCfAfaagaAfcGfugaacscu	596	AGUCCACGUUGCUUGAAAUAUGA

[0547]

AD-74761	gsusugcuUfgAfAfAfungaaaauca	556	usGfsaumUfuCfAfaunmCfaAfgcaacsusu	597	ACGUUGCUGAAAAUUGAAAAUCA	638
AD-74762	gsasucacAfaAfAfCfhucaaugaaa	557	usUfsucaUfuGfAfafagumUfuGfugaucscsa	598	UGGAUCACAAAAACUUCUAUGAAA	639
AD-74763	uscsaagaUfuUfgCfuaugmagaa	558	usUfscuaAfcAfUfagcaAfaUfcmugasusu	599	AAUCAAGAUAUUGCUAUGUUAAGAC	640
AD-74764	csasaaauCfaAfGfAfmungcuauugu	559	asCfsauaGfcAfAfaucUfGfAfmungsgsc	600	GCCAAAAUCAAGAUAUUGCUAUGU	641
AD-74765	gsasacuaCfuCfcfhuucuuacagu	560	asCfsugaAfgAfAfaagggAfgUfaguucsuu	601	AAGAACUAUCUCCCUUUCUUCAGU	642
AD-74766	asgsaaauUfuCfUfhuacuucaaa	561	usUfsggaAfgAfUfagagAfaAfmuciusgsu	602	ACAGAAAUAUCUCUAUCUUCCAA	643
AD-74767	usgsaacuGfaGfGfCfaaunuaaaa	562	usUfsuuaAfaUfUfugccUfcAfgnuacasusu	603	AAUGAACUGAGGGCAAAUUA AAA	644
AD-74768	csasuccaAfcAfGfAfmucagaaga	563	usCfsuunCfuGfAfaucUfUfGgaugsgsa	604	UCCAUCCAACAGAUUCAGAAAGC	645
AD-74769	asasaauCfaGfAfUfhuugcuauugu	564	asAfscauAfgCfAfaucUfuGfaunungsg	605	CCAAAAUCAAGAUAUUGCUAUGUU	646
AD-74770	asgsagcaAfaAfUfCfuaagccagaa	565	usUfscugGfcUfUfagauUfuUfgcucusug	606	CAAAGAGCAAAAUCUAAGCCAGAG	647
AD-74771	astiscauaUfgAfGfCfuaaauacaca	566	usGfsugaUfaUfUfagcuCfaUfauaugsgc	607	GCAUCAUAUGAGCUAAUAUCACA	648
AD-74772	asasuuaaCfcUfCfhuacaaaguuu	567	usAfsacuUfgUfUfagcaGfgUfhuauususc	608	GAAUA AAAACCCUCGUAACAAGUUA	649
AD-74773	csasacagCfaUfAfGfhucaaaauaaa	568	usUfsuuaUfuUfGfcauaUfgCfhuungsgsu	609	ACC AACAGCAUAGUCAAAUAAA	650
AD-74774	asasaacaAfcCfUfAfaaugguuaau	569	asUfsuuaCfcAfUfuuagGfuUfgnuuuscnu	610	AGAAAAACAACCUAAAUGGUA AAU	651
AD-74775	csascuuaAfaAfCfUfhuugcuagaaa	570	usUfsucuAfcAfAfaaguUfuUfauuggsasa	611	UUCACUUA AAAACUUAUUGUA GAAA	652
AD-74776	astusuuaaAfuAfAfGfhuucgcuugu	571	asGfsacaGfcGfAfaucUfuUfhuauasasc	612	GUUAUAAAUAAGAUUCGCGUGUCU	653
AD-74777	csasaaacUfuCfAfAfugaaacguga	572	usCfsacgUfuUfCfaunigAfaGfmungsgsu	613	CACAAAACUUCAAUUGAAACGUGG	654
AD-74778	asgsauugAfuCfAfCfaaaactuucaa	573	usUfsgaaGfuUfUfugugAfuCfcaucuasasu	614	AUAGAUUGGAUCACAAAACUUCAA	655
AD-74779	csascuuaAfuAfCfUfauagaaucaaa	574	usUfsgumUfuCfAfuaguAfuUfauuggsusu	615	AACACUUAUAUCUAUGAAAAACAA	656
AD-74780	ascsuuagUfcAfCfAfmugacuuaaa	575	usUfsaaaGfuCfAfaugUfGfAfmugusag	616	CUACUUAAGUCACAUUGACUUA	657
AD-74781	usasuuaaAfuAfAfCfhuuuuuaaaa	576	asUfsuuaGfaAfAfaugUfUfhuauasasg	617	CUUAUAAAUAACUUAUUCUAAA	658
AD-74782	ascscuuaAfaUfAfCfhuagaaucaaa	577	usGfsuunUfcAfUfaguaUfuAfaugususa	618	UAACACUUAUAUCUAUGAAAAACA	659
AD-74783	ustusuauGfaAfCfhuauagaagca	578	usGfscuuCfaUfUfagguUfuCfauaauasasa	619	UAUUAUGAAAAACCUAAUUGAAAGCA	660
AD-74784	csasaacaUfuAfUfAfmugaauuaa	579	usAfsauaUfuCfAfauaUfaUfhuunggsusu	620	AACAAAACUUAUAUUGAAUAUUC	661
AD-74785	asasaccaGfuGfAfAfaucagaagaaa	580	usUfsucuUfuGfAfmucAfcUfGnuungsgc	621	GCAAAACAGUGAAAAUCAAGAAAG	662
AD-74786	gsasgmuuaAfaGfUfUfuaauuuicca	581	usGfsgaaAfuAfUfuaacUfuUfhuacucgsa	622	UCGAGUUAAGUUUAUUAUUUCCCC	663
AD-74787	csascauaUfaAfAfCfaaunuaaacca	582	usGfsgumUfaAfUfugumUfaUfauuggsusc	623	GACCAUAUA AAACAAUUA AAAACCA	664
AD-74788	gsusggagAfaAfAfCfaaccuaaaua	583	usAfsuunAfgGfUfugumUfuCfhuaccasasc	624	GUGUGGAGAAAAACACACCUAAAUG	665

[0548]

AD-74789	asascucaAfcUfcAfaaactmgaaa	584	usUfsucaAfgUfUfuuugaGfuUfgaguuscsa	625	UGAACUCAACUCUAAAAACUUGAAA	666
AD-74790	asasuguuCfaCfaAfauiuaaguccu	585	asGfsgagCfuUfaAfaaugUfgAfacamuususu	626	AAAUGUUUCACAAAUUAAGCUCCU	667
AD-74791	gscsagaaUfuAfaAfauiuaaguccu	586	usAfsauaCfaGfUfauiuaAfaUfucugcsusu	627	AAGCAGAAUUAUUAAAUCUGUAUUA	668
AD-74792	usgsaaugAfaAfaUfafaaauguaa	587	usUfsacaUfuUfcfuuauUfuCfaumcasasc	628	GUUGAAUGAAAUAAGAAAUGUAAA	669
AD-74793	usascauaUfaAfaCfuacaagucaa	588	usUfsgacUfuGfUfaguuUfaUfauguasgsu	629	ACUACAUUAUAAAACUACAAGUCAAA	670

表 16.在 Hep3B 细胞及原代食蟹猴肝细胞中的 AngPTL3 单次剂量筛选

以相对于 AD-1955 非靶向对照的信息残余百分比表示数据。

双链体 ID	食蟹猴肝细胞											
	Hep3b						食蟹猴肝细胞					
	10mM_AV G	10mM_STDE V	0.1mM_AV G	0.1mM_STDE V	10mM_AV G	10mM_STDE V	0.1mM_AV G	0.1mM_STDE V	10mM_AV G	10mM_STDE V	0.1mM_AV G	0.1mM_STDE V
AD-66916	5.2	2.1	17.9	4.1	5.2	0.4	40.5	5.4	40.5	0.4	40.5	5.4
AD-66922	12.5	2.1	41.5	17.0	4.6	0.6	43.5	8.2	43.5	0.6	43.5	8.2
AD-74755	18.2	5.9	44.3	3.5	68.7	7.8	79.2	11.5	79.2	7.8	79.2	11.5
AD-74756	10.4	4.1	56.9	12.5	9.9	2.4	50.7	7.4	50.7	2.4	50.7	7.4
AD-74757	10.7	6.5	38.3	12.4	5.6	0.8	34.5	4.0	34.5	0.8	34.5	4.0
AD-74758	19.3	3.1	120.4	19.5	24.1	6.9	78.4	17.7	78.4	6.9	78.4	17.7
AD-74759	20.4	3.9	132.1	34.5	26.7	4.0	80.4	8.3	80.4	4.0	80.4	8.3
AD-74760	21.6	4.7	140.1	16.8	12.8	1.5	72.5	6.4	72.5	1.5	72.5	6.4
AD-74761	19.9	2.4	107.8	30.0	12.6	1.1	71.9	12.3	71.9	1.1	71.9	12.3
AD-74762	11.0	5.0	55.0	11.0	6.4	1.2	78.5	17.1	78.5	1.2	78.5	17.1
AD-74763	13.5	4.1	67.5	13.6	21.2	5.2	76.8	13.4	76.8	5.2	76.8	13.4
AD-74764	10.4	3.0	70.7	21.4	15.8	1.4	63.1	4.8	63.1	1.4	63.1	4.8
AD-74765	16.5	3.6	83.1	16.4	22.0	2.5	82.2	10.4	82.2	2.5	82.2	10.4
AD-74766	11.3	6.2	56.0	25.3	7.8	0.4	51.3	2.1	51.3	0.4	51.3	2.1
AD-74767	8.6	3.2	70.9	19.7	14.8	5.8	61.5	4.7	61.5	5.8	61.5	4.7
AD-74768	28.8	10.1	120.3	24.3	37.6	5.3	81.1	9.6	81.1	5.3	81.1	9.6

[0549]

AD-74769	14.5	5.5	65.4	28.5	10.3	1.6	63.5	8.9
AD-74770	42.4	13.0	95.0	23.6	59.8	8.1	104.6	14.8
AD-74771	30.0	12.2	79.7	15.3	73.7	10.0	87.6	17.1
AD-74772	22.9	3.8	60.4	10.9	80.9	9.1	83.8	8.0
AD-74773	11.2	3.3	47.4	14.1	9.7	1.8	56.3	1.8
AD-74774	57.3	4.8	99.3	8.1	65.0	4.2	81.3	9.3
AD-74775	13.8	3.6	83.1	21.8	54.2	4.0	92.0	5.5
AD-74776	50.6	11.5	114.3	39.7	80.2	11.0	97.3	9.4
AD-74777	14.8	3.8	76.7	27.0	39.4	12.1	92.1	4.2
AD-74778	22.0	13.0	62.8	24.6	15.6	3.0	70.4	7.4
AD-74779	45.5	9.0	64.7	4.7	82.8	15.1	87.0	9.0
AD-74780	38.3	13.9	81.0	22.9	77.4	7.4	82.0	4.3
AD-74781	44.5	10.1	78.5	15.9	79.5	3.3	88.7	7.9
AD-74782	59.1	18.5	137.3	65.4	79.1	3.6	88.5	4.3
AD-74783	115.4	42.4	109.6	32.6	91.8	5.6	95.3	9.2
AD-74784	11.5	4.6	47.8	18.3	8.6	2.8	56.7	10.7
AD-74785	15.0	13.9	43.9	7.4	12.1	2.6	72.4	14.0
AD-74786	32.1	10.3	61.0	14.6	85.5	7.2	93.3	22.2
AD-74787	60.9	12.4	86.4	26.2	88.1	11.9	96.6	21.4
AD-74788	17.8	7.7	69.9	23.8	19.3	1.2	79.2	15.3
AD-74789	30.6	3.6	64.0	6.9	24.6	1.3	76.0	9.5
AD-74790	15.4	3.5	56.9	10.5	9.2	0.6	58.7	12.4
AD-74791	30.7	6.3	49.3	6.9	81.3	8.3	87.3	3.8
AD-74792	10.5	2.4	30.1	6.4	10.5	1.2	54.7	7.3
AD-74793	12.1	4.9	30.9	16.2	13.2	2.1	83.2	12.7

SEQUENCE LISTING

<110> 阿尼拉制药公司 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.)

<120> 类血管生成素 3 (ANGPTL3) iRNA 组合物及其使用方法

<130> 121301-03320

<140>

<141>

<150> 62/146, 604

<151> 2015-04-13

<150> 62/261, 361

<151> 2015-12-01

<160> 670

<170> PatentIn 3.5 版

[0001]

<210> 1

<211> 2951

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

```

atatatagag ttaagaagtc taggtctgct tccagaagaa aacagttcca cgttgcttga      60
aatgaaaat caagataaaa atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag      120
ttatttcttc cagaattgat caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa      180
aatcaagatt tgctaigtta gacgatgtaa aaatitttagc caatggcctc cttcagttgg      240
gacatggtct taaagacttt gtccataaga cgaagggccca aattaatgac atatttcaaa      300
aactcaacat atttgatcag tctttttatg atctatcgct gcaaaccagt gaaatcaaag      360
aagaagaaaa ggaactgaga agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa      420
agaatatgtc acttgaactc aactcaaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac      480
ttcaacaaaa agtgaaatat ttagaagagc aactaactaa ctttaattcaa aatcaacctg      540

```

	aaactccaga acaccagaa gtaacttcac ttaaaacttt tgtagaaaa caagataata	600
	gcatcaaaga ctttctccag accgtggaag accaatataa acaattaaac caacagcata	660
	gtcaaataaa agaaatagaa aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa	720
	tttctctatc ttccaagcca agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa	780
	taagaaatgt aaaacatgat ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagaggtg	840
	aacatacaag tggcatgtat gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact	900
	gtgatgttat atcaggtagt ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa	960
	acttcaatga aacgtgggag aactacaaat atggttttgg gaggcttgat ggagaatttt	1020
	ggttgggcct agagaagata tactccatag tgaagcaatc taattatggt ttacgaattg	1080
	agttggaaga ctggaagac aacaaacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaatc	1140
	acgaaaccaa ctatacgcta catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc	1200
[0002]	cggaaaacaa agatttggtg ttttctactt gggatcacia agcaaaaagga cacttcaact	1260
	gtccagaggg ttattcagga ggctgggtgt ggcattgatga gtgtggagaa aacaacctaa	1320
	atggtaaata taacaaacca agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt	1380
	ggaagtctca aatggaagg ttatactcta taaaatcaac caaatgttg atccatccaa	1440
	cagattcaga aagctttgaa tgaactgagg caaatttaaa aggcaataat ttaaacatta	1500
	acctcattcc aagttaatgt ggtctaataa tctggtatta aatccttaag agaaagcttg	1560
	agaaatagat tttttttatc ttaaagtcac tgtctattta agattaaaca tacaatcaca	1620
	taaccttaaa gaataccgtt tacatttctc aatcaaaatt cttataatac tatttgtttt	1680
	aaatttgtg atgtgggaat caattttaga tggtcacaat ctagattata atcaataggt	1740
	gaacttatta aataactttt ctaaataaaa aatttagaga cttttatfff aaaagcctc	1800
	ataigagcta atatcacac tttccagtt taaaaaacta gtactcttgt taaaactcta	1860

	aacttgacta aatacagagg actggtaatt gtacagttct taaatgttgt agtattaatt	1920
	tcaaaactaa aaatcgtcag cacagagtat gtgtaaaaat ctgtaataca aatttttaaa	1980
	ctgatgcttc attttgctac aaaataatth ggagtaaatg tttgatatga tttatthtatg	2040
	aaacctaattg aagcagaatt aaatactgta ttaaaataag ttcgctgtct ttaacaaaat	2100
	ggagatgact actaagtcac attgactthta acatgaggta tcactatacc ttatthgtta	2160
	aaatatatac tgtatacatt ttatatatth taacactthaa tactatgaaa acaaataatt	2220
	gtaaaggaat ctthgtcagat tacagthaaga atgaacatat thgtggcath gagthaaagt	2280
	ttataththcc cctaaatath ctthgtattht aatacathcg thtaggthth caagthagaaa	2340
	taaacctcgt aacaagthac tgaacgthta aacagcctga caagcatgta tatathgtthta	2400
	aaathcaata aacaaagacc cagthccctaa athatagaaa ththaaathat ththgcatgt	2460
	ththcgacat cacaacagat ccctaaathc cthaaathcc thagathaga thcaaththth	2520
[0003]	ththcacagth athcathgtc agaaththath ththaaathg aththththaa actgcccagth	2580
	agaaaththta aaththaaccc aththgtthaa ggatathathg cccaagthth atggthgacct	2640
	accathgtca athaththgca ththaththth caaathththc aathathathg thathathath	2700
	thththathgt cacathathata aaagathathg athgathathg thgaathcctaa gthaaaththth	2760
	thththccagaa aagthacaaaa thththaaaggt aaaaathathc ththathththc aggaccacag	2820
	acthaagctgt cgaaaththaac gctgaththth thtagggccag aathacaaaa thgctcctct	2880
	ctthccccaa aaththgacaa ththcaathgc aaaaathathc athathththth atathgaththg	2940
	ctthctctat t	2951
	<210> 2	
	<211> 2149	
	<212> DNA	
	<213> 恒河猴	

<400> 2	
atatatagag ttaagaagtc taggtctget tccagaagaa cacagttcca cgttgcttga	60
aattgaaaat caggataaaa atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag	120
ttatttcctc cagaattgac caagacaatt catcatttga ttctgtatct ccagagccaa	180
aatcaagatt tgctatgtta gacgatgtaa aaattttagc caatggcctc cttcagttgg	240
gacatggctc taaagacttt gtccataaga ctaagggcc aattaatgac atatttcaaa	300
aactcaacat atttgatcag tctttttatg atctatcact gcaaaccagt gaaatcaaag	360
aagaagaaaa ggaactgaga agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa	420
agaatatgtc acttgaactc aactcaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac	480
ttcaacaaaa agtgaatat ttagaagagc aactaactaa ctttaattcaa aatcaacctg	540
aaactccaga acatccagaa gtaacttcac ttaaaagttt tgtagaaaa caagataata	600
[0004] gcatcaaaga cttctccag actgtggaag aacaatataa gcaattaac caacagcaca	660
gtcaaataaa agaaatagaa aatcagctca gaatgactaa tattcaagaa cccacagaaa	720
tttctctatc ttccaagcca agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ctgaatgaaa	780
taagaaatgt aaaacatgat ggcattcctg ctgattgtac caccatttac aatagaggtg	840
aacatataag tggeatgtat gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact	900
gtgatgttgt atcaggtaaa acctgtctaa ggagaataga tggatcacia aacttcaatg	960
aaacgtggga gaactacaaa tatggtttcg ggaggettga tggagaattc tggttgggcc	1020
tagagaagat atactccata gtgaagcaat ctaattacgt tttacgaatt gaggttggaag	1080
actggaaaga caacaacat tatattgaat attcttttta cttgggaaat cacgaaacca	1140
actatacgtc acatgtagtt aagattactg gcaatgtccc caatgcaatc ccgaaaaca	1200
aagatttggg tttttctact tgggatcaca aagcaaaagg aacttcagc tgtccagaga	1260

	gttattcagg aggctgggtgg tggcatgatg agtgtggaga aaacaaccta aatggtaa	1320
	ataacaaacc aagaacaaaa tctaagccag agcggagaag aggattatcc tggaagtctc	1380
	aaaatggaag gttatactct ataaaatcaa ccaaatggt gatccatcca acagattcag	1440
	aaagctttga atgaactgag gcaaatttaa aaggcaataa attaacatt aaactcattc	1500
	caagttaatg tggtttaata atctggtatt aaatccttaa gagaaggctt gagaaataga	1560
	ttttttatc ttaaagtcac tgtcaattta agattaaaca tacaatcaca taacctaaa	1620
	gaataccatt tacatttctc aatcaaaatt cctacaacac tatttgtttt atattttgtg	1680
	atgigggaat caattttaga tggtcgcaat ctaaattata atcaacaggt gaacttacta	1740
	aataactttt ctaaataaaa aacttagaga ctttaatttt aaaagtcac atagagcta	1800
	atatcacaat tttcccagtt taaaaacta gttttcttgt taaaactcta aacttgacta	1860
	aataaagagg actgataatt atacagttct taaatttgtt gtaatattaa tttcaaaact	1920
[0005]	aaaaattgtc agcacagagt atgtgtaaaa atctgtaata taaattttta aactgatgcc	1980
	tcattttgct acaaaataat ctggagtaaa tttttgatag gatttattta tgaaacctaa	2040
	tgaagcagga ttaaatactg tattaaaata gtttcgctgt cttttaaaca aatggagatg	2100
	atgattacta agtcacattg actttaatat gaggtatcac tatacctta	2149
	<210> 3	
	<211> 1598	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 3	
	caggagggag aagttccaaa ttgcttaaaa ttgaataatt gagacaaaa atgcacacaa	60
	ttaaattatt cctttttgtt gttcctttag taattgcac cagagtggat ccagaccttt	120
	catcatttga ttctgcacct tcagagccaa aatcaagatt tgctatgttg gatgatgtca	180
	aaattttagc gaatggcctc ctgcagctgg gtcatggact taaagatttt gtccataaga	240

	ctaaggaca aattaacgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tctttttatg	300
	acctatcact tcgaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaactacat	360
	ctacactaca agttaaaaaac gaggagggtga agaacatgtc agtagaactg aactcaaagc	420
	ttgagagtct gctggaagag aagacagccc ttcaacacaa ggtcagggtct ttggaggagc	480
	agctaacca ctttaattcta agcccagctg gggtcagga gcaccagaa gtaacatcac	540
	tcaaaagttt tgtagaacag caagacaaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag	600
	aacagtataa acaattaagt caacagcaca tgcagataaa agaaatagaa aagcagctca	660
	gaaagactgg tattcaagaa cctcagaaa attctcttctc ttctaaatca agagcaccaa	720
	gaactactcc ccctcttcaa ctgaacgaaa cagaaaatac agaacaagat gaccttctctg	780
	ccgactgctc tgccgtttat aacagaggcg aacatacaag tggcgtgtac actattaaac	840
	caagaaactc ccaagggttt aatgtctact gtgatacca atcaggcagt ccatggacat	900
[0006]	taattcaaca ccgaaagat ggctcacagg acttcaacga aacatgggaa aactacgaaa	960
	agggtcttgg gaggtctgat ggagaatctt ggttgggctc agagaagatc tatgctatag	1020
	tccaacagtc taactacatt ttacgactcg agctacaaga ctggaaagac agcaagcact	1080
	acgttgaata ctctttcac ctgggcagtc acgaaacca ctacacgcta catgtggctg	1140
	agattgctgg caatatecct ggggcccctc cagagcacac agacctgatg ttttctacat	1200
	ggaatcacag agcaaaggga cagctctact gtccagaaag ttactcaggt ggctggtggt	1260
	ggaatgacat atgtggagaa aacaacctaa atggaaaata caacaaacc agaaccacaa	1320
	ccagaccaga gagaagaaga gggatctact ggagacctca gagcagaaag ctctatgcta	1380
	tcaaatcadc caaaatgatg ctccagccca ccacctaga agcttcaact gaactgagac	1440
	aaaataaaag atcaataaat taaatattaa agtctctccg atcactgtag taatctggta	1500
	ttaaaatctt aatggaaagc ttgagaattg aatttcaatt aggtttaaac tcattgttaa	1560

gatcagatat caccgaatca acgtaaacia aatttatac	1598
<210> 4	
<211> 1785	
<212> DNA	
<213> 褐家鼠	
<400> 4	
gacgttccaa attgcttgaa attgaataat tgaacacaaa atgcacacaa ttaagctgct	60
cctttttggt gttcctctag taatttcgtc cagagttgat ccagacctt cgccatttga	120
ttctgtaccg tcagagccaa aatcaagatt tgctatgttg gatgatgtca aaattttagc	180
caatggcctc ctgcagctgg gtcattgtct taaagatttt gtccataaga caaagggaca	240
aattaatgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tgtttttatg acctatcact	300
tcaaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaaccacat ctaaaactaca	360
[0007] agttaaaaac gaagaggtga agaatatgtc acttgaactg aactcaaagc ttgaaagtct	420
actggaggag aagatggcgc tccaacacag agtcagggtc ttggaggaac agctgaccag	480
cttggttcag aaccgcctg gggctcggga gcaccagag gtaacgtcac ttaaaagttt	540
tgtagaacag caagataaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag aacaatataa	600
acaactaagt caacagcaca ttcagataaa agaaatagaa aatcagctca gaaagactgg	660
cattcaagaa cccactgaaa attctcttta ttctaaacca agagcaccaa gaactactcc	720
ccctcttcat ctgaaggaag caaaaaatat agaacaagat gatctgcctg ctgactgctc	780
tgccatttat aacagaggtg aacatacaag tggcgtgtat actattagac caagcagctc	840
tcaagtgttt aatgtctact gtgacacca atcaggcact ccacggacat taattcaaca	900
ccgaaaagat ggctctcaaa acttcaacca aacgtgggaa aactacgaaa agggttttgg	960
gaggettgat ggtaaagtga tttccttgca tcaactcaatt atctgttgat ttaatagtat	1020

	tagttgggtg tgttgacaca ggcctgagac catagcgctt ttgggcaagg ggggaggagg	1080
	agcagcaggt gaattgaaag ttcaagacca gtctgggcca cacattgata ctccttctcg	1140
	acattaagaa ttataaatta agcagcaatt ataaaatggg ctgtggaaat gtaacaataa	1200
	gcaaaagcag accccagtct tcataaaact gattggtaaa tattatccat gatagcaact	1260
	gcaatgatct cattgtactt atcactactg catgcctgca gtatgcttgt tgaaacttaa	1320
	ttctatagtt catggttatac ataagtctta ttaaggaaca tagtatacgc cattggctct	1380
	agtgaggggc catgctacaa atgagctgca aagatagcag tatagagctc tttcagtgat	1440
	atcctaagca caacgtaaca caggtgaaat gggctggagg cacagttgtg gtggaacacg	1500
	cggccagcag gacactggga ctgatcccca gcagcacaaa gaaagtgata ggaacacaga	1560
	gcgagagtta gaaggacag ggtcacccgc agagatacgg tgtctaactc ctgcaaccct	1620
	acctgtaatt attccatatt ataaacatat actatataac tgtgggtctc tgcattgtct	1680
[0008]	agaatatgaa ttctatttga ttgtaaaaca aaactataaa aataagtaaa aaaataaaaa	1740
	ataaacagat acttaaaatc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa	1785
	<210> 5	
	<211> 2951	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 5	
	aatagaggaa gcaactcata tattaataaa tgaattatth tgcatthgaa attgtccaat	60
	tttgggggaa gagaggagcc atthttggtat tctggcccta aaaaaatcag cgthtaatttc	120
	gacagcttag tctgtggtcc tgaaaattat agattatthtt tacctthatt atthttgtact	180
	thttctggaac aaaatattta cttaggatth acatagatca tacatatctt thatatatgt	240
	gacatataaa aatatatatg acatgtatat tggataatth gaaatacata atgctaagta	300
	ttgacaaagg taggtcacca tataactthg gcactatath ctthtaacaaa tgggtthaat	360

	ttaaaatttc ttactggcag ttttaaaaaa tcatatntaa aaataaattc tgacaagtga	420
	tactgtggta aaaaatttgt atctaacttt tagggattta gggatttagg gatctgttgt	480
	gatgtcgata aacatgcaag aataatntaa atttctataa tttagggact ggtctttgt	540
	ttattgaatt ttaaaccatat atacatgctt gtcaggctgt ttaaacttcc agtaacttgt	600
	tacgaggttt atttctactt gaaaacctac acgaatgtat tagaatcaca gcatatntag	660
	gggaaatata aactttaact cgatgccaca aatatgttca ttcttactgt aatctgacaa	720
	gattccntta caattatttg ttttcatagt attaagtgtt aaaatatata aaatgtatac	780
	agtatatatt ttaacaaata aggtatagtg atacctcatg ttaaagtcaa tgtgacttag	840
	tagtcatctc catttntta aagacagcga acttattnta atacagtatt taattctget	900
	tcattaggtt tcataaataa atcatatcaa acatttactc caaattattt tntagcaaaa	960
	tgaagcatca gtttaaaaat ttgtattaca gattntnta catactctgt gctgacgatt	1020
[0009]	tttagnttg aaattaatac tacaacattt aagaactgta caattaccag tcctctgtat	1080
	ttagtcaagt ttagagnttt aacaagagta ctagntntt aaactgggaa agtttgtata	1140
	ttagctcata tgatgccttt taaaataaaa gtctctaaat tntntntta gaaaagttat	1200
	ttaataagtt cacctattga ttataatcta gattgtgacc atctaaaatt gattcccaca	1260
	tcacaaaatt taaaacaaat agtattataa gaattntgat tgagaaatgt aaacggtatt	1320
	ctntaaggtt atgtgattgt atgtntaatc ttaaataagac agtgactnta agataaaaaa	1380
	aatctatttc tcaagcttcc tcttaaggat ttaataccag attattagac cacattaact	1440
	tggaatgagg ttaatgtnta aattattgcc tntntaattt gcctcagttc attcaaaget	1500
	ttctgaatct gttggatgga tcaacatttt ggttgatttt atagagtata accttccatt	1560
	ttgagacttc caagataatc ctcttctctc ctctggctta gattntgctc ttggtntgtt	1620
	atattacca ttaggtntgt tntctccaca ctcatcatgc caccaccage ctctgaata	1680

	accctctgga cagttgaagt gtccttttgc tttgtgatcc caagtagaaa acaccaaate	1740
	tttgttttcc gggattgcat tggggacatt gccagtaate gcaactagat gtagcgtata	1800
	gttggtttcc tgatttccca agtaaaaaga atattcaata taatgtttgt tgcctttcca	1860
	gtcttccaac tcaattcgta aaacataatt agattgcttc actatggagt atatcttctc	1920
	taggccaac caaaattctc catcaagcct cccaaaacca tattttagt tctcccagc	1980
	ttcattgaag ttttgtgac catctattcg atgttgaatt aatgtccatg gactacctga	2040
	tataacatca cagtagacat gaaaaacttg agagttgctg ggtctgatgg catacatgcc	2100
	acttgatgt tcacctctgt tataaatggt ggtacattca gcaggaatgc catcatgttt	2160
	tacatttctt atttcattca actgaagaaa gggagtagtt cttggtgctc ttggcttgg	2220
	agatagagaa atttctgtgg gttcttgaat actagtcctt ctgagctgat tttctatttc	2280
	ttttatttga ctatgctgtt ggtttaattg tttatattgg tcttccacgg tctggagaag	2340
[0010]	gtctttgatg ctattatctt gttttctac aaaagttta agtgaagta cttctgggtg	2400
	ttctggagtt tcagttgat tttgaattaa gtagtttagt tgctcttcta aatatttcac	2460
	ttttgttga agtagaattt tttctctag gaggcttca agttttgagt tgagttcaag	2520
	tgacatattc tttacctctt ctttttgac ttgtagttta tatgtagttc ttctcagttc	2580
	ctttcttct tctttgattt cactggtttg cagcgataga tcataaaaag actgatcaaa	2640
	tatgttgagt ttttgaata tgtcattaat ttggcccttc gtcttatgga caaagtcttt	2700
	aagaccatgt cccaactgaa ggaggccatt ggctaaaatt tttacatcgt ctaacatagc	2760
	aaatcttgat ttggctctg gagatagaga atcaaatgat gaattgtctt gatcaattct	2820
	ggaggaaata actagaggaa caataaaaag aaggagctta attgtgaaca tttttatctt	2880
	gattttcaat ttcaagcaac gtggaactgt tttcttctgg aagcagacct agacttctta	2940
	actctatata t	2951

	<210> 6	
	<211> 2149	
	<212> DNA	
	<213> 恒河猴	
	<400> 6	
	taaggatatag tgataacctca tattaaagtc aatgtgactt agtaatcadc atctccattt	60
	gtttaaaaga cagcgaacct attttaatac agtatttaac cctgcttcat taggtttcat	120
	aaataaatcc tatcaaaaat ttactccaga ttattttgta gcaaaatgag gcatcagttt	180
	aaaaatttat attacagatt tttacacata ctctgtgctg acaattttta gttttgaaat	240
	taatattaca acaaatttaa gaactgtata attatcagtc ctctttattt agtcaagttt	300
	agagttttaa caagaaaact agttttttaa actgggaaaa ttgtgatatt agctcatatg	360
	atgactttta aaattaaagt ctctaagttt tttatttaga aaagtattt agtaagttca	420
[0011]	cctgttgatt ataatttaga ttgcgacat ctaaaattga ttcccacadc acaaaatata	480
	aaacaaatag tgtttagga attttgattg agaaatgtaa atggtattct ttaaggttat	540
	gtgattgtat gtttaatctt aaattgacag tgactttaag ataaaaaat ctatttctca	600
	agccttctct taaggattta ataccagatt attaaaccac attaacttgg aatgagttta	660
	atgtttaatt tattgccttt taaatttggc tcagttcatt caaagcttcc tgaatctgtt	720
	ggatggatca acattttggt tgattttata gagtataacc ttccattttg agacttccag	780
	gataatcctc ttctccgctc tggcttagat tttgttcttg gtttgttata tttaccattt	840
	aggttgtttt ctccacactc atcatgccac caccagcctc ctgaataact ctctggacag	900
	ctgaagtgtc cttttgcttt gtgateccaa gtagaaaaca ccaaatcttt gttttccggg	960
	attgcattgg ggacattgcc agtaatctta actacatgta gcgtatagtt ggtttcgtga	1020
	tttccaagt aaaagaata ttcaatataa tgtttgttgt ctttccagtc ttccaactca	1080

attcgtaaaa cgtaattaga ttgcttcact atggagtata tcttctctag gccaaccag	1140
aattctccat caagcctccc gaaaccatat ttgtagttct cccacgttc attgaagttt	1200
tgtgatccat ctattctect tagacaggtt ttacctgata caacatcaca gtagacatga	1260
aaaacttgag agttgctggg tctgatggca tacatgccac ttatatgttc acctctattg	1320
taaatggtgg tacaatcagc aggaatgcc tcatgtttta catttcttat ttcattcagc	1380
tgaagaaagg gagtagttct tgggtgctct ggcttggaag atagagaaat ttctgtgggt	1440
tcttgaatat tagtcattct gagctgattt tctatctct ttatttgact gtgctgttgg	1500
tttaattgct tatattgttc ttccacagtc tggagaagg ctttgatgct attatcttgt	1560
tttctacaa aacttttaag tgaagttact tctggatggt ctggagtcc aggttgattt	1620
tgaattaagt tagttagtgc ctcttctaaa tatttcactt tttgttgaag tagaattttt	1680
tcttctagga ggctttcaag ttttgagtgc agttcaagtc acatattctt tacctctca	1740
[0012] ttttggactt gtagtttata ttagttctct ctcagttct tttctcttc tttgatttca	1800
ctggtttgca gtgatagatc ataaaaagac tgatcaaata tgttgagttt ttgaaatag	1860
tcattaattt ggcccttagt cttatggaca aagcttttaa gaccatgtcc caactgaagg	1920
aggccattgg ctaaaatttt tacatcgtct aacatagcaa atcttgattt tggctctgga	1980
gatacagaat caaatgatga attgtcttgg tcaattctgg aggaaataac tagaggaaca	2040
ataaaaagaa ggagcttaat tgtgaacatt tttatcctga ttttcaattt caagcaacgt	2100
ggaactgtgt tcttctggaa gcagacctag acttctaac tctatatat	2149
<210> 7	
<211> 1598	
<212> DNA	
<213> 小家鼠	
<400> 7	
caggaggag aagttccaaa ttgcttaaaa ttgaataatt gagacaaaa atgcacacaa	60

	ttaaattatt cctttttggt gttccttttag taattgcac cagagtggat ccagaccttt	120
	catcatttga ttctgcacct tcagagccaa aatcaagatt tgctatggtg gatgatgtca	180
	aaattttagc gaatggcctc ctgcagctgg gtcacggact taaagatttt gtccataaga	240
	ctaagggaca aattaacgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tctttttatg	300
	acctatcact tcgaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaactacat	360
	ctacactaca agttaaaaaac gaggaggtga agaacatgtc agtagaactg aactcaaagc	420
	ttgagagtct gctggaagag aagacagccc ttcaacacaa ggtcagggtt ttggaggagc	480
	agctaaccaa ctttaattcta agcccagctg gggctcagga gcaccagaa gtaacatcac	540
	tcaaaaagttt tgtagaacag caagacaaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag	600
	aacagtataa acaattaagt caacagcaca tgcagataaa agaaatagaa aagcagctca	660
	gaaagactgg tattcaagaa cctcagaaa attctctttc ttctaaatca agagcaccaa	720
[0013]	gaactactcc ccctcttcaa ctgaacgaaa cagaaaatac agaacaagat gaccttctg	780
	ccgactgctc tgccgtttat aacagaggcg aacatacaag tggcgtgtac actattaaac	840
	caagaaactc ccaagggttt aatgtctact gtgataccca atcaggcagt ccatggacat	900
	taattcaaca ccggaagat ggctcacagg acttcaacga aacatgggaa aactacgaaa	960
	agggttttgg gaggctcgat ggagaatttt ggttgggcct agagaagatc tatgctatag	1020
	tccaacagtc taactacatt ttacgactcg agctacaaga ctggaagac agcaagcact	1080
	acgttgaata ctctttcac ctgggcagtc acgaaaccaa ctacacgcta catgtggctg	1140
	agattgctgg caatatecct ggggccctcc cagagcacac agacctgatg ttttctacat	1200
	ggaatcacag agcaaaggga cagctctact gtccagaaag ttactcaggt ggctggtggt	1260
	ggaatgacat atgtggagaa aacaacctaa atggaaaata caacaaacc agaaccaaat	1320
	ccagaccaga gagaagaaga gggatctact ggagacctca gagcagaaag ctctatgcta	1380

tcaaatcadc caaaatgatg ctccagccca ccacctaaga agcttcaact gaactgagac	1440
aaaataaaag atcaataaat taaatattaa agtcctcccg atcactgtag taatctggta	1500
ttaaaatfff aatggaaagc ttgagaattg aatttcaatt aggtttaaac tcattgttaa	1560
gatcagatat caccgaatca acgtaaacaa aatttadc	1598
<210> 8	
<211> 1785	
<212> DNA	
<213> 褐家鼠	
<400> 8	
tttttttttt tttttttttt tttttgattt taagtatctg tttatftttt atfttttttac	60
ttatftttat agftttgttt tacaatcaaa tagaattcat attctagaac atgcagagac	120
ccacagttat atagtatatg tttataatat ggaataatta caggtagggt tgcaggagtt	180
[0014] agacaccgta tctctgacgg tgaccctgtc ccttctaact ctcgctctgt gttcctatca	240
ctttctttgt gctgctgggg atcagtccca gtgtcctgct ggccgctgt tccaccacaa	300
ctgtgcctcc agcccatttc acctgtgtta cgttgtgctt aggatcac tgaagagct	360
ctatactgct atctttgcag ctcatfttga gcatggcccc tcactagagc caatggcgta	420
tactatgttc cttataaga cttatgataa ccatgaacta tagaattaag tttcaacaag	480
catactgcag gcatgcagta gtgataagta caatgagatc attgcagttg ctatcatgga	540
taatatttac caatcagttt tatgaagact ggggtctgct tttgcttatt gttacatttc	600
cacagcccat tttataattg ctgcttaatt tataattctt aatgtcgaga aggagtatca	660
atgtgtggcc cagactggtc ttgaacttfc aattcacctg ctgctcctcc tcccccttg	720
cccaaaagcg ctatggtctc aggcctgtgt caacacacce aactaatact attaaatcaa	780
cagataagtg agtgatgcaa ggaaatcact ttaccatcaa gcttcccaaa accctfttgc	840

tagttttccc acgtttgggt gaagttttga gagccatctt tccggtgttg aattaatgtc	900
cgtggagtgc ctgattgggt gtcacagtag acattaaaca cttgagagct gcttggctca	960
atagtataca cgccacttgt atgttcacct ctgttataaa tggcagagca gtcagcaggc	1020
agatcatctt gttctatatt ttttgcttcc ttcagatgaa gagggggagt agttcttggg	1080
gctcttgggt tagaataaag agaattttca gtgggttctt gaatgccagt ctttctgagc	1140
tgattttcta tttcttttat ctgaatgtgc tgttgactta gttgittata ttgttcttcc	1200
acactctgga ggagtctctt tatgctgtta tcttctgtt ctacaaaact ttaagtgac	1260
gttacctctg ggtgctcccg agccccaggc gggttctgaa ccaagctggg cagctgttcc	1320
tccaaagccc tgactctgtg ttggagcgcc atcttctctt ccagtagact ttcaagcttt	1380
gagttcagtt caagtgacat attcttcacc tcttcgtttt taactttag tagatgtg	1440
gttcttctta gctccttttc ctcttctttg atttcattgg tttgaagtga taggtcataa	1500
[0015] aaacactgat caaatatggt gagcttctga aatatgtcat taatttgtcc ctttgtctta	1560
tggacaaaat ctttaagacc atgaccagc tgcaggagc cattggctaa aattttgaca	1620
tcatccaaca tagcaaatct tgattttggc tctgacggta cagaatcaaa tggcgaagg	1680
tctggatcaa ctctggacga aattactaga ggaacaacaa aaaggagcag cttaattgtg	1740
tgcatttttg tttcaattat tcaatttcaa gcaatttga acgtc	1785
<210> 9	
<211> 2201	
<212> DNA	
<213> 食蟹猴	
<400> 9	
gggtagtata tagagttaag aagtctaggt ctgcttccag aagaacacag ttccacgctg	60
cttgaattg aaaatcagga taaaaatggt cacaattaag ctcttcttt ttattgttcc	120
tctagttatt tectccagaa ttgaccaaga caattcatca tttgattctg tatctccaga	180

	gccaaaatca agatttgcta tgtttagacga tgtaaaaatt ttagccaatg gcctccttca	240
	gttgggacat ggtcttaaag actttgtcca taagactaag ggccaaatta atgacatatt	300
	tcaaaaactc aacatatttg atcagtcctt ttatgatcta tcaactgcaa ccagtgaat	360
	caaagaagaa gaaaaggaac tgagaagaac tacatataaa ctacaagtca aaaatgaaga	420
	ggtaaagaat atgtcacttg aactcaactc aaaacttgaa agcctcctag aagaaaaaat	480
	tctacttcaa caaaaagtga aatattttaga agagcaacta actaacttaa ttcaaatca	540
	acctgcaact ccagaacatc cagaagtaac ttcacttaaa agttttgtag aaaaacaaga	600
	taatagcadc aaagacctc tccagactgt ggaagaacaa tataagcaat taaaccaaca	660
	gcatagtcaa ataaaagaaa tagaaaatca gctcagaatg actaatattc aagaaccac	720
	agaaatttct ctatcttcca agccaagagc accaagaact actcccttc ttcagctgaa	780
	tgaaataaga aatgtaaac atgatggcat tctgtctgat tgtaccacca tttacaatag	840
[0016]	aggtgaacat ataagtggca cgtatgccat cagaccagc aactctcaag tttttcatgt	900
	ctactgtgat gttgtatcag gtagtccatg gacattaatt caacatcgaa tagatggatc	960
	acaaaacttc aatgaaacgt gggagaacta caaatatggt ttcgggaggc ttgatggaga	1020
	attctggttg gcctagaga agatatactc catagtgaag caatctaatt acgttttacg	1080
	aattgagttg gaagactgga aagacaacaa acattatatt gaatattctt tttacttggg	1140
	aatcacgaa accaactata cgctacatgt agttaagatt actggcaatg tcccaatgc	1200
	aatcccggaa aacaaagatt tgggttttc tacttgggat cacaaagcaa aaggacactt	1260
	cagctgtcca gagagttatt caggaggctg gtggtggcat gatgagtgtg gagaaaacaa	1320
	cctaaatggt aatatataca aaccaagaac aaaatctaag ccagagcgga gaagaggatt	1380
	atcctggaag tctcaaatg gaaggttata ctctataaaa tcaacaaaaa tgttgatcca	1440
	tccaacagat tcagaaagct ttgaatgaac tgaggcaaat ttaaaaggca ataaattaa	1500

	cattaaactc attccaagtt aatgtggttt aataatctgg tattaaatcc ttaagagaag	1560
	gcttgagaaa tagatTTTTT tatcttaaag tcaactgtcaa tttagatta aacatacaat	1620
	cacataacct taaagaatac catttacatt tctcaatcaa aattcttaca acactatttg	1680
	TTTTatattt tgtgatgtgg gaatcaattt tagatggctg caatctaaat tataatcaac	1740
	aggTgaactt actaaataac TTTTctaaat aaaaaactta gagacttta ttttaaaagt	1800
	catcatatga gctaatgtca caattttccc agtttaaaaa actagttttc ttgttaaac	1860
	tctaaacttg actaaataaa gaggactgat aattatacag ttcttaaatt tgttgaata	1920
	ttaatttcaa aactaaaaat tgtcagcaca gagtatgtgt aaaaatctgt aatataaatt	1980
	tttaaactga tgcctcattt tgctacaaaa taatctggag taaatttttg ataggattta	2040
	tttatgaaac ctaatgaagc aggattaaat actgtattaa aataggttcg ctgtctttta	2100
	aacaaatgga gatgatgatt actaagtcac attgacttta atatgaggta tcactatacc	2160
[0017]	ttaacatatt ttttaaacg tatactgtat acattttgtg t	2201

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<221> 来源

<223> /注="未知的说明:
RFGF 类似序列"

<400> 10

Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> 人类免疫缺陷病毒

<400> 11

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 果蝇属

<400> 12

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

[0018]

<220>

<221> 来源

<223> /注="未知的说明：
RFGF 序列"

<400> 13

Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

<210> 14

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列的说明：合成
寡核苷酸"

<400> 14

gaauauguca cuugaacuca a

21

	<210> 15	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 15	
	utgaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 16	
	<211> 21	
[0019]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 16	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 17	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 17	
	uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
	<210> 18	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
[0020]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 18	
	auuaagcugc uucuuutuau u	21
	<210> 19	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 19	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 20	

	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 20	
	acauuuuga ucagucuuu u	21
	<210> 21	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0021]	<400> 21	
	aaaaagacug aucaauaug uug	23
	<210> 22	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 22	
	ugucacuuga acucauca a	21
	<210> 23	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 23	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 24	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0022]	<400> 24	
	aacuaacuaa cuuaauuca a	21
	<210> 25	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 25	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 26	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 26
 ucacaauuaa gcuccuucuu u 21

<210> 27
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 27
 aaagaaggag cuuaauugug aac 23

[0023]

<210> 28
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 28
 gagcaacuaa cuaacuuaau u 21

<210> 29
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 29	
	aaauaaguua guuaguugcu cuu	23
	<210> 30	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 30	
	uuauuguucc ucuaguuaau u	21
[0024]	<210> 31	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 31	
	aaauaacuag aggaacaaua aaa	23
	<210> 32	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 32	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
	<210> 33	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 33	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 34	
	<211> 21	
	<212> RNA	
[0025]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 34	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 35	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 35	

	uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
	<210> 36	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 36	
	caacauauuu gaucagucuu u	21
	<210> 37	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0026]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 37	
	aaagacugau caaauauguu gag	23
	<210> 38	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 38	
	cuccauagug aagcaucua a	21

	<210> 39	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 39	
	uuagauugcu ucacuaugga gua	23
	<210> 40	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0027]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 40	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 41	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 41	
	aaaaagacug aucaauaug uug	23
	<210> 42	

	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 42	
	ugucacuuga acucaacuca a	21
	<210> 43	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0028]	<400> 43	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 44	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 44	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 45	
	<211> 23	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 45	
	utgaguucaa gtgacauauu cuu	23
	<210> 46	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0029]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 46	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 47	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

<p><400> 47 uugaguucaaa gugacauauu cuu</p>	23
<p><210> 48 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 48 aauaagcugc uucuuutuau u</p>	21
<p>[0030]</p>	
<p><210> 49 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 49 aauaaaaaga aggagcuuaa uug</p>	23
<p><210> 50 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220></p>	

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 50	
acauauuuga ucagucuuuu u	21
<210> 51	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 51	
aaaaagacug aucaauaug uug	23
[0031]	
<210> 52	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 52	
ugucacuuga acucaacuca a	21
<210> 53	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 53	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 54	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 54	
	aacuaacuaa cuuaauuca a	21
[0032]	<210> 55	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 55	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 56	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 56 ucacaauuaa gcuccuucuu u	21
	<210> 57 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 57 aaagaaggag cuuaauugug aac	23
	<210> 58 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0033]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 58 gagcaacuaa cuaacuuaau u	21
	<210> 59 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 59 aauuaaguua guuaguugcu cuu	23

	<210> 60	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 60	
	uuauuguucc ucuaguuuuu u	21
	<210> 61	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0034]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 61	
	aaauaacuag aggaacaaua aaa	23
	<210> 62	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 62	
	auuaagcucc uucuuuuuuau u	21

	<210> 63	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 63	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 64	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0035]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 64	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 65	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 65	
	uugaguucaa gugacauauu cuu	23
	<210> 66	
	<211> 21	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 66	
	caacauuuu gaucagucuu u	21
	<210> 67	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0036]	<400> 67	
	aaagacugau caaauauguu gag	23
	<210> 68	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 68	
	cuccauagug aagcaaucua a	21
	<210> 69	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 69		
uuagauugcu ucacuaugga gua		23
<210> 70		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 70		
acauuuuga ucagucuuuu u		21
[0037]		
<210> 71		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 71		
aaaaagacug aucaaaauug uug		23
<210> 72		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 72	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 73	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 73	
	aaaaagacug aucauuuug uug	23
[0038]	<210> 74	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 74	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 75	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 75	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 76	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
[0039]	<400> 76	
	acauauuuga tcagucuuuu u	21
	<210> 77	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 77	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 78	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 78	
	acauauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 79	
	<211> 22	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0040]	<220>	
	<221> 修饰的碱基	
	<222> (1).. (1)	
	<223> 反向无碱基 DNA (2-羟基甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯)	
	<400> 79	
	nacauauuug aucagucuuu uu	22
	<210> 80	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	

<400> 80
 acauauuuga ucagucuutu u 21

<210> 81
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

<400> 81
 acauauuuga tcagucuuuu u 21

[0041]

<210> 82
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<400> 82
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 83
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 83	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 84	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 84	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0042]	<210> 85	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 85	
	acauauuuga ucaguctuuu u	21
	<210> 86	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 86
 acauauuuga tcaguctuuu u 21
- <210> 87
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- [0043] <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 87
 acauauuuga ucagucuuuu u 21
- <210> 88
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

	<400> 88 acauauuuga ucagucuutu u	21
	<210> 89 <211> 22 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 修饰的碱基 <222> (1).. (1) <223> 反向无碱基 DNA (2-羟基甲基-四氢呋喃-5-磷酸酯)	
[0044]	<400> 89 nacauauuug aucagucuuu uu	22
	<210> 90 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 90 acauauuuga tcagucuuuu u	21

	<210> 91	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 91	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 92	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0045]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 92	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 93	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 93	

acauuuuga ucaguctuuu u	21
<210> 94	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 94	
auuuugauc agucuuuuu	19
<210> 95	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
[0046]	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 95	
acauuuuga ucagucuuuu u	21
<210> 96	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成"	

寡核苷酸”

	<400> 96	
	acauauuuga ucagucuutu u	21
	<210> 97	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 97	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0047]	<210> 98	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 98	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 99	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"

<400> 99
 acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 100
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"

<400> 100
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

[0048]

<210> 101
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"

<400> 101
 acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 102
 <211> 21

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 102	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 103	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0049]	<400> 103	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 104	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 104	
	acauuuuga ucaguuuu u	21

	<210> 105	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 105	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 106	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0050]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 106	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 107	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 107 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 108 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 108 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 109 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
[0051]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 109 acauauuuga ucaguctuuu u	21
	<210> 110 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源	

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 110 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 111 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 111 acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0052]	<210> 112 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 112 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 113 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	

<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400>	113	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
<210>	114	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400>	114	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
[0053]		
<210>	115	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<220>		
<221>	来源	
<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
<400>	115	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
<210>	116	

	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 116	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 117	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0054]	<400> 117	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 118	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 118	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 119	
	<211> 21	
	<212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 119	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 120	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0055]	<400> 120	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 121	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 121	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 122	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 122
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 123
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 123
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

[0056]

<210> 124
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 124
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 125
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 125	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 126	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 126	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0057]	<210> 127	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 127	
	acauauuuga tcaguctuuu u	21
	<210> 128	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 128		
acauauuuga ucagucuuuu u		21
<210> 129		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 129		
acauauuuga ucagucuuuu u		21
[0058]		
<210> 130		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 130		
acauauuuga ucagucuuuu u		21
<210> 131		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 131	
	acauauuuga tcagucuuu u	21
	<210> 132	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0059]	<400> 132	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 133	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 133	
	acauauuuga tcaguctuuu u	21

	<210> 134	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 134	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 135	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0060]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 135	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 136	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 136 acauauuuga tcagucuuu u	21
	<210> 137 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 137 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 138 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
[0061]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 138 acauauuuga tcaguccuuu u	21
	<210> 139 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220>	

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 139	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 140	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 140	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0062]	<210> 141	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 141	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 142	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 142	
	acauauuuuga tcagucuuu u	21
	<210> 143	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
[0063]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 143	
	acauauuuua tcagucuuu u	21
	<210> 144	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 144	
	acauauuuga tcagucguuu u	21
	<210> 145	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 145	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 146	
	<211> 21	
	<212> RNA	
[0064]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 146	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 147	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 147	

	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 148	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 148	
	acauuuuga ucaguctuuu u	21
[0065]	<210> 149	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 149	
	acauuuuga tcagucuuuu u	21
	<210> 150	
	<211> 21	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 150	
	acauuuuga tcaguccuuu u	21
	<210> 151	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0066]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 151	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 152	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 152	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21

- <210> 153
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"
- <400> 153
 acauauuuga tcaguctuuu u 21
- [0067]
- <210> 154
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"
- <400> 154
 acauauuuga ucaguctuuu u 21
- <210> 155
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 155	
	acauuuuga tcagucuuu u	21
	<210> 156	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0068]	<400> 156	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 157	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 157	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 158	
	<211> 21	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 158	
	acauuuuga tcaguctuuu u	21
	<210> 159	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0069]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 159	
	acauuuuga ucaguctuuu u	21
	<210> 160	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 160		
acauauuuga tcagucutuu u		21
<210> 161		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 161		
acauauuuga ucagucuuuu u		21
[0070]		
<210> 162		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 162		
acauauuuga ucagucuuuu u		21
<210> 163		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 163	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 164	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
[0071]	<400> 164	
	acauauuuga tcaguctuuu u	21
	<210> 165	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 165	
	acauauuuga ucaguctuuu u	21

	<210> 166	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 166	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 167	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0072]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 167	
	acauuuuga ucaguuuu u	21
	<210> 168	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 168	
	acauuuuga ucaguuuu u	21

	<210> 169	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 169	
	acauuuuga tcaguctuuu u	21
	<210> 170	
	<211> 23	
[0073]	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 170	
	aaaaagacug aucaauaug uug	23
	<210> 171	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 171	

	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 172	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 172	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 173	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0074]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 173	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 174	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 174	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23

	<210> 175	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 175	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 176	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0075]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 176	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 177	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 177	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 178	

	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 178	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 179	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0076]	<400> 179	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 180	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 180	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 181	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 181	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 182	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0077]	<400> 182	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 183	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 183	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 184	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 184
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 185
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 185
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

[0078]

<210> 186
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 186
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 187
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 187	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 188	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 188	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
[0079]	<210> 189	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 189	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 190	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 190 aaaaagacug aucaaaauaug u	21
	<210> 191 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 191 aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 192 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0080]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 192 aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 193 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 193	

	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 194	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 194	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 195	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0081]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 195	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 196	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 196	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23

	<210> 197	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 197	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 198	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0082]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 198	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 199	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 199	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 200	

	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 200	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 201	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0083]	<400> 201	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 202	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 202	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 203	
	<211> 23	
	<212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 203	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 204	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0084]	<400> 204	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 205	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 205	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 206	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 206
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 207
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 207
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

[0085]

<210> 208
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 208
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 209
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 209	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 210	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 210	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
[0086]	<210> 211	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 211	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 212	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 212	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 213	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 213	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 214	
	<211> 23	
	<212> RNA	
[0087]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 214	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 215	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 215	

	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 216	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 216	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 217	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0088]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 217	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 218	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 218	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23

	<210> 219	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 219	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 220	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0089]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 220	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 221	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 221	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 222	

	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 222	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 223	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0090]	<400> 223	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 224	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 224	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 225	
	<211> 23	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 225	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 226	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0091]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 226	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 227	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 227	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 228	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 228	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 229	
	<211> 23	
	<212> RNA	
[0092]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 229	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 230	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	

- <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 230
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23
- <210> 231
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 231
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23
- [0093]
- <210> 232
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 232
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23
- <210> 233
 <211> 23
 <212> RNA

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 233	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 234	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0094]	<400> 234	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 235	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 235	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 236	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"		
	<400> 236		
	aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
	<210> 237		
	<211> 23		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
[0095]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
	<400> 237		
	aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
	<210> 238		
	<211> 23		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"		
	<400> 238		

aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
<210> 239	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 239	
aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
<210> 240	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
[0096] <220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 240	
aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
<210> 241	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成"	

寡核苷酸”

	<400> 241	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 242	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
[0097]	<400> 242	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 243	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 243	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 244	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 244	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 245	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0098]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 245	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 246	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 246	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 247	
	<211> 23	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

<400> 247

aaaaagacug aucaaaauaug uug

23

<210> 248

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

[0099]

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<220>

<221> 来源

<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

<400> 248

aaaaagacug aucaaaauaug uug

23

<210> 249

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”

<400> 249

aaaaagacug aucaaaauaug uug

23

<210> 250

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”

[0100]

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”

<400> 250

aaaaagacug aucaaaauaug uug

23

<210> 251

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”

<400> 251

aaaaagacug aucaaaauaug uug

23

	<210> 252	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 252	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 253	
	<211> 23	
	<212> DNA	
[0101]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 253	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 254	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 254	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 255	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0102]		
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 255	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 256	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 256	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23

	<210> 257	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 257	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 258	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0103]	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 258	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 259	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 259		
	aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
	<210> 260		
	<211> 23		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
	<220>		
	<221> 来源		
[0104]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 260		
	aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
	<210> 261		
	<211> 23		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 261		
	aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
	<210> 262		

<211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<400> 262
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 263
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

[0105]

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

<400> 263
 aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 264
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 264	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 265	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
[0106]	<400> 265	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 266	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 266	
	ugucacuuga acucaacuca a	21
	<210> 267	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 267		
aacuaacuaa cuuaauuca a		21
<210> 268		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 268		
ucacaauuaa gcuccuucu u		21
[0107]		
<210> 269		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 269		
gagcaacuaa cuaacuua u		21
<210> 270		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 270	
uuauuguucc ucuaguuauu u	21
<210> 271	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 271	
auuaagcucc uucuuuuuuau u	21
[0108]	
<210> 272	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 272	
ugucacuuga acucaacuca a	21
<210> 273	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 273	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 274	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 274	
	acauuuuga ucagucuuu u	21
[0109]	<210> 275	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 275	
	caacauuuu gaucagucuu u	21
	<210> 276	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 276 cuccauagug aagcaaucua a	21
	<210> 277 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 277 acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 278 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0110]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 278 uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 279 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 279 uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23

	<210> 280	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 280	
	aaagaaggag cuuauugug aac	23
	<210> 281	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0111]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 281	
	aaauaaguua guuaguugcu cuu	23
	<210> 282	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 282	
	aaauaacuag aggaacaaua aaa	23

	<210> 283	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 283	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 284	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0112]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 284	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 285	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 285	
	uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
	<210> 286	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 286	
	aaaaagacug aucaauaug uug	23
	<210> 287	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0113]	<400> 287	
	aaagacugau caauauguu gag	23
	<210> 288	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 288	
	uuagauugcu ucacuaugga gua	23
	<210> 289	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 289		
aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
<210> 290		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 290		
ugucacuuga acucaacuca a		21
[0114]		
<210> 291		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 291		
aacuaacuaa cuuaauuca a		21
<210> 292		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 292	
ucacaauuaa gcuccuucuu u	21
<210> 293	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 293	
gagcaacuaa cuaacuuaau u	21
[0115]	
<210> 294	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 294	
uuauuguucc ucuaguuaau u	21
<210> 295	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 295	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
	<210> 296	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 296	
	ugucacuuga acucaacuca a	21
[0116]	<210> 297	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 297	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 298	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 298 acauuuuga ucagucuuu u	21
	<210> 299 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 299 caacauuuu gaucagucuu u	21
	<210> 300 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0117]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 300 cuccauagug aagcaucua a	21
	<210> 301 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 301 acauuuuga ucagucuuu u	21

	<210> 302	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 302	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 303	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0118]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 303	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 304	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 304	
	aaagaaggag cuuaauugug aac	23

	<210> 305	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 305	
	aaauaaguua guuaguugcu cuu	23
	<210> 306	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0119]	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 306	
	aaauaacuag aggaacaaua aaa	23
	<210> 307	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 307	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 308	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 308	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 309	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
[0120]	<400> 309	
	uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
	<210> 310	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 310	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 311	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 311		
aaagacugau caaauauguu gag		23
<210> 312		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 312		
uuagauugcu ucacuaugga gua		23
[0121]		
<210> 313		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 313		
aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
<210> 314		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 314	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 315	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0122]		
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 315	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 316	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 316	
	gaauauguca cuugaacuca a	21

	<210> 317	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 317	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 318	
[0123]	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 318	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 319	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 319		
	auuaagcugc uucuuutuau u		21
	<210> 320		
	<211> 21		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
[0124]	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 320		
	auuaagcugc uucuuutuau u		21
	<210> 321		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 321		
	auuaagcucc uucuuuuuau u		21
	<210> 322		

	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 322	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
	<210> 323	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0125]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 323	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
	<210> 324	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	

	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 324	
	ugucacuuca acucaacuca a	21
	<210> 325	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
[0126]	<400> 325	
	ugucacuuca acucaacuca a	21
	<210> 326	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 326	
	ugucacuuga acucaacuca a	21
	<210> 327	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400>	327	
		aacuaacuua cuuaautcaa a	21
	<210>	328	
	<211>	21	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0127]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400>	328	
		aacuaacuua cuuaautcaa a	21
	<210>	329	
	<211>	21	
	<212>	RNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<400> 329 aacuaacuaa cuuaauuca a	21
	<210> 330 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 330 cuccauagug aagcaaucua a	21
	<210> 331 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
[0128]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 331 cuccatagag aagcaatcua a	21
	<210> 332 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源	

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 332	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 333	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 333	
	acauauuuga ucagucuuuu u	21
[0129]	<210> 334	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 334	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
	<210> 335	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400>	335	
		utgaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210>	336	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
[0130]	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400>	336	
		uugaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210>	337	
	<211>	23	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	来源	
	<223>	/注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 337		
utgaguuca gtagacauauu cuu		23
<210> 338		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 338		
uugaguuca gtagacauauu cuu		23
[0131]		
<210> 339		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 339		
uugaguuca gtagacauauu cuu		23
<210> 340		
<211> 23		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 340	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 341	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0132]	<400> 341	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 342	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 342	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23

	<210> 343	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 343	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 344	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0133]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 344	
	aaaaagacug atcaauaug uug	23
	<210> 345	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 345	
	utgaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 346	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
[0134]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 346	
	uugaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 347	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 347	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 348	
	<211> 23	

- <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"
- <400> 348
 utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23
- <210> 349
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- [0135]
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"
- <400> 349
 utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23
- <210> 350
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成

寡核苷酸”

	<400> 350	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 351	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 351	
	uuagauugcu ucacuaugga gua	23
[0136]	<210> 352	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 352	
	utagauugcu ucacuaugga gua	23
	<210> 353	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 353	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 354	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
[0137]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 354	
	aaaaagacug atcaaaauaug uug	23
	<210> 355	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 355	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 356	
	<211> 21	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 356	
gaauatguga cuugaacuca a	21
<210> 357	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
[0138]	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 357	
gaauatguga cuugaacuca a	21
<210> 358	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成"	

寡核苷酸”

- <400> 358
gaauauguca cuugaacuca a 21
- <210> 359
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<221> 来源
<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”
- <220>
<221> 来源
<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”
- [0139] <400> 359
gaauatguga cuugaacuca a 21
- <210> 360
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列
- <220>
<221> 来源
<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”
- <400> 360
gaauauguca cuugaacuca a 21
- <210> 361
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 361	
	aauaaagcugc uucuuutuau u	21
	<210> 362	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0140]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 362	
	aauaaagcugc uucuuutuau u	21
	<210> 363	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 363	

auuaagcucc uucuuuuuau u	21
<210> 364	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 364	
auuaagcucc uucuuuuuau u	21
<210> 365	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 365	
acauatuuca ucaguctuuu u	21
<210> 366	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

[0141]

寡核苷酸”

	<400> 366	
	ugucacuuca acucaacuca a	21
	<210> 367	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 367	
	ugucacuuca acucaacuca a	21
[0142]	<210> 368	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 368	
	ugucacuuga acucaacuca a	21
	<210> 369	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 369		
	aacuaacuua cuuaautcaa a		21
	<210> 370		
	<211> 21		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
	<220>		
	<221> 来源		
[0143]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 370		
	aacuaacuua cuuaautcaa a		21
	<210> 371		
	<211> 21		
	<212> RNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
	<400> 371		
	aacuaacuaa cuuaauuca a		21
	<210> 372		
	<211> 21		

<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 372	
cuccauagug aagcaucua a	21
<210> 373	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
[0144]	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 373	
cuccatagag aagcaatcua a	21
<210> 374	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 374	
acauauuuga ucagucuuuu u	21

	<210> 375	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 375	
	acauauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 376	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0145]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 376	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
	<210> 377	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 377	
	utgaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 378	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
[0146]	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 378	
	uugaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 379	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 379	

	utgaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 380	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 380	
	uugaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 381	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0147]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 381	
	uugaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 382	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 382	
	aauaaaaaga agtagcuuaa uug	23

	<210> 383	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 383	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 384	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0148]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 384	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 385	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 385	
	aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 386	

	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 386	
	aaaaagacug atcaaaauaug uug	23
	<210> 387	
	<211> 23	
	<212> DNA	
[0149]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 387	
	utgaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 388	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 388	
	uugaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 389	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0150]	<400> 389	
	uugaguugag uucaagugac aua	23
	<210> 390	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 390	
	utugaaauaa gtuguuagu ugc	23

	<210> 391	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 391	
	utugaauuaa gtuaguuagu ugc	23
	<210> 392	
	<211> 23	
[0151]	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 392	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 393	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

<400> 393
uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 394
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<220>
<221> 来源
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

<400> 394
utagauugcu ucacuaugga gua 23

[0152]

<210> 395
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

<400> 395
aaaaagacug aucaaaauaug uug 23

<210> 396
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 396	
	aaaaagacug atcaaaauaug uug	23
	<210> 397	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0153]	<400> 397	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 398	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 398	
	gaauatguga cuugaacuca a	21

	<210> 399	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 399	
	gaauatguga cuugaacuca a	21
	<210> 400	
	<211> 21	
[0154]	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 400	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 401	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"

 <400> 401
 gaauatguga cuugaacuca a 21

 <210> 402
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"

 <400> 402
 gaauauguca cuugaacuca a 21

 [0155]

 <210> 403
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"

 <400> 403
 auuaagcugc uucuuutuau u 21

 <210> 404
 <211> 21

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 404	
	auuaagcugc uucuuutuau u	21
	<210> 405	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0156]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 405	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
	<210> 406	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 406	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21

	<210> 407	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 407	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
	<210> 408	
	<211> 23	
[0157]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 408	
	utgaguuca gtagacauuu cuu	23
	<210> 409	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 409	
	uugaguucaaa gtgacauauu cuu	23
	<210> 410	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0158]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 410	
	utgaguucaaa gtgacauauu cuu	23
	<210> 411	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 411	

uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
<210> 412 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 412 uugaguucaaa gugacauauu cuu	23
<210> 413 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列	
[0159]	
<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 413 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
<210> 414 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明: 合成	

寡核苷酸”

	<400> 414 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 415 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”	
[0160]	<400> 415 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 416 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 416 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 417 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 417	
	aaaaagacug atcaaaauaug uug	23
	<210> 418	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0161]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 418	
	ugucacuuca acucaacuca a	21
	<210> 419	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	

<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 419	
ugucacuuca acucaacuca a	21
<210> 420	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 420	
ugucacuuga acucaacuca a	21
[0162]	
<210> 421	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
<400> 421	
aacuaacuua cuuaautcaa a	21
<210> 422	
<211> 21	
<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 422	
	aacuaacuua cuuautcaa a	21
	<210> 423	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0163]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 423	
	aacuaacuaa cuuauuca a	21
	<210> 424	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 424	
	cuccauagug aagcaauca a	21

	<210> 425	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 425	
	cuccatagag aagcaatcua a	21
	<210> 426	
	<211> 21	
	<212> RNA	
[0164]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 426	
	acauuuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 427	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 427	

	acauauuuga ucagucuuuu u	21
	<210> 428	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 428	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
[0165]	<210> 429	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 429	
	acauatuuca ucaguctuuu u	21
	<210> 430	
	<211> 23	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 430	
	utgaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 431	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0166]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 431	
	uugaguugag utcaagugac aua	23
	<210> 432	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

<p><400> 432 uugaguugag uucaagugac aua</p>	23
<p><210> 433 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 433 utugaauuaa gtuaguuagu ugc</p>	23
[0167]	
<p><210> 434 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 434 utugaauuaa gtuaguuagu ugc</p>	23
<p><210> 435</p>	

	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 435	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 436	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
[0168]	<400> 436	
	uuagauugcu ucacuaugga gua	23
	<210> 437	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 437	
	utagauugcu ucacuaugga gua	23

	<210> 438	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 438	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 439	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0169]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 439	
	aaaaagacug atcaaaauaug uug	23
	<210> 440	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

<p><400> 440 aaaaagacug aucaaaauaug uug</p>	<p>23</p>
<p><210> 441 <211> 23 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 441 aaaaagacug atcaaaauaug uug</p>	<p>23</p>
<p>[0170]</p>	
<p><210> 442 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 442 auuaagcucc uucuuuuuuau u</p>	<p>21</p>
<p><210> 443 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220></p>	

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 443	
	auuaagcucc uucuuuuuau a	21
	<210> 444	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 444	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
[0171]	<210> 445	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 445	
	auuaagcucc uucuuuuuau u	21
	<210> 446	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

<220>

<221> 来源

<223> /注=“组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸”

<400> 446

auuaagcucc uucuuutuau u

21

<210> 447

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”

[0172] <400> 447

auuaagcucc uucuaauauu u

21

<210> 448

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”

<400> 448

acauauuuga ucagucuuuu u

21

<210> 449

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 449
 acauauuuga ucagucuuuu a 21

<210> 450
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 450
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

[0173]

<210> 451
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 451
 acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 452
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 452	
	acauuuuga ucaguctuuu u	21
	<210> 453	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0174]	<400> 453	
	acauuuuga ucagacuuu u	21
	<210> 454	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 454	
	aauuuuuga aggagcuuaa uug	23
	<210> 455	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 455
 tauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

 <210> 456
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 [0175] <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 456
 aaaaaaaga aggagcuuaa uug 23

 <210> 457
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明：合成寡核苷酸"

	<400> 457 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 458 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 458 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 459 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0176]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 459 aauaaaaaga aggagcuuaa uug	23
	<210> 460 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 460 aaaaagacug aucaaaauaug uug	23

	<210> 461	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 461	
	taaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 462	
	<211> 23	
[0177]	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 462	
	aaaaagacug aucaaaauaug uug	23
	<210> 463	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="组合的 DNA/RNA 分子的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 463		
aaaaagacug atcaaaauaug uug		23
<210> 464		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 464		
aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
[0178]		
<210> 465		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"		
<400> 465		
aaaaagacug aucaaaauaug uug		23
<210> 466		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 466	
	aacuaacuaa cuuaauuca a	21
	<210> 467	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 467	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
[0179]	<210> 468	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 468	
	aaacucuaaa cuugacuaaa u	21
	<210> 469	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 469	
	aacuaacuua auucaaaauc a	21
	<210> 470	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 470	
	ccagaaguaa cuucacuuaa a	21
[0180]	<210> 471	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 471	
	gaacucaacu caaaacuuga a	21
	<210> 472	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 472 caacucaaaa cuugaaagcc u	21
	<210> 473 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 473 uuccacguug cuugaaaauug a	21
	<210> 474 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0181]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 474 guugcuugaa auugaaaauuc a	21
	<210> 475 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 475 gaucacaaaa cuucaaugaa a	21

	<210> 476	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 476	
	ucaagauuug cuauguuaga a	21
	<210> 477	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0182]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 477	
	caaaaUCAAG auuugcuaug u	21
	<210> 478	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 478	
	gaacuacucc cuuucuucag u	21

	<210> 479	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 479	
	agaaaauucu cuaucuucca a	21
	<210> 480	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0183]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 480	
	ugaacugagg caaaauuaaa a	21
	<210> 481	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 481	
	cauccaacag auucagaaag a	21
	<210> 482	
	<211> 21	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 482	
	aaaaucaaga uuugcuaugu u	21
	<210> 483	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0184]	<400> 483	
	agagcaaaau cuaagccaga a	21
	<210> 484	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 484	
	aucauaugag cuaauaucac a	21
	<210> 485	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 485		
aauaaaccuc guaacaaguu a		21
<210> 486		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 486		
caacagcaua gucaaaauaaa a		21
[0185]		
<210> 487		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 487		
aaaacaaccu aaaugguaaa u		21
<210> 488		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 488	
	cacuuaaaac uuuuguagaa a	21
	<210> 489	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 489	
	auuaaaauaa guucgcuguc u	21
[0186]	<210> 490	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 490	
	caaaacuuca augaaacgug a	21
	<210> 491	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 491	
	agauggauca caaaacuuca a	21
	<210> 492	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 492	
	cacuuauac uaugaaaaca a	21
[0187]	<210> 493	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 493	
	acuaagucac auugacuuua a	21
	<210> 494	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 494 uauuaaaauaa cuuuucuaaa u	21
	<210> 495 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 495 acacuuaaua cuaugaaaac a	21
	<210> 496 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0188]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 496 uuuaugaaac cuaaugaagc a	21
	<210> 497 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 497 caaacauuau auugaauuu a	21

	<210> 498	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 498	
	aaaccaguga aaucaaagaa a	21
	<210> 499	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0189]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 499	
	gaguuaaagu uuauuuucc a	21
	<210> 500	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 500	
	ccaauuaaaa caauuaacc a	21

	<210> 501	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 501	
	guggagaaaa caaccuaaa u a	21
	<210> 502	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0190]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 502	
	aacucaacuc aaaacuugaa a	21
	<210> 503	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 503	
	aauguucaca auuaagcucc u	21
	<210> 504	
	<211> 21	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 504	
	gcagaauuaa auacuguauu a	21
	<210> 505	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0191]	<400> 505	
	ugaauaauu aagaaugua a	21
	<210> 506	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 506	
	uacauauaaa cuacaaguca a	21
	<210> 507	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 507		
uuugaauuaa guuaguuagu ugc		23
<210> 508		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 508		
uugaguucac gagacauuu cuu		23
[0192]		
<210> 509		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 509		
auuuagucac guuuagaguu uua		23
<210> 510		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 510	
ugauuuugaa uuaaguuagu uag	23
<210> 511	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 511	
uuuaagugaa guuacuucug ggu	23
[0193]	
<210> 512	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 512	
uucaaguuuu gaguugaguu caa	23
<210> 513	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 513	
	aggcuuucaa guuuugaguu gag	23
	<210> 514	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 514	
	ucaauuucaa gcaacgugga acu	23
[0194]	<210> 515	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 515	
	ugauuuucaa uuucaagcaa cgu	23
	<210> 516	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 516 uuucauugaa guuuugugau cca	23
	<210> 517 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 517 uucuaacaua gcaaaucuug auu	23
	<210> 518 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0195]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 518 acauagcaaa ucuugauuuu ggc	23
	<210> 519 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 519 acugaagaaa gggaguaguu cuu	23

	<210> 520	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 520	
	uuggaagaua gagaaauuuc ugu	23
	<210> 521	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0196]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 521	
	uuuuuuuuuu gccucaguuc auu	23
	<210> 522	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 522	
	ucuuucugaa ucuguuggau gga	23

	<210> 523	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 523	
	aacauagcaa aucuugauuu ugg	23
	<210> 524	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0197]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 524	
	uucuggcuua gauuuugcuc uug	23
	<210> 525	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 525	
	ugugauauua gcucuauga ugc	23
	<210> 526	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 526	
	uaacuuguua cgagguuuau uuc	23
	<210> 527	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0198]	<400> 527	
	uuuuuuuuga cuaugcuguu ggu	23
	<210> 528	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 528	
	auuuaccuu uagguuuuu ucu	23
	<210> 529	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 529	
uuucuacaaa aguuuuuagu gaa	23
<210> 530	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 530	
agacagcgaa cuuauuuuaa uac	23
[0199]	
<210> 531	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 531	
ucacguuuca uugaaguuuu gug	23
<210> 532	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 532	
uugaaguuuu gugaucac uau	23
<210> 533	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 533	
uuguuuucau aguauaagu guu	23
[0200]	
<210> 534	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 534	
uuaaagucac ugugacuuag uag	23
<210> 535	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 535	
	auuuagaaaa guuuuuuau aag	23
	<210> 536	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 536	
	uguuuucaua guauuaagug uua	23
[0201]	<210> 537	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 537	
	ugcuucauaa gguucauaa aua	23
	<210> 538	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 538 uaauauucaaa uauaauguuu guu	23
	<210> 539 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 539 uuucuuugau uucacugguu ugc	23
	<210> 540 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0202]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 540 uggaaauaia aacuuuaacu cga	23
	<210> 541 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 541 ugguuuaauu guuuauauug guc	23

	<210> 542	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 542	
	uaauuagguu guuuucucca cac	23
	<210> 543	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0203]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 543	
	uuucaaguuu ugaguugagu uca	23
	<210> 544	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 544	
	aggagcuuaa uuugaacau uuu	23

	<210> 545	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 545	
	uaauacagua uuuaauucug cuu	23
	<210> 546	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0204]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 546	
	uuacauuucu uauuucuuuc aac	23
	<210> 547	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 547	
	uugacuugua guuuauaugu agu	23
	<210> 548	
	<211> 21	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 548	
	aacuaacuaa cuuaauuca a	21
	<210> 549	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0205]	<400> 549	
	gaauauguca cuugaacuca a	21
	<210> 550	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 550	
	aaacucuaaa cuugacuaaa u	21
	<210> 551	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 551		
aacuaacuua auucaaaauc a		21
<210> 552		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 552		
ccagaaguaa cuucacuuaa a		21
[0206]		
<210> 553		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 553		
gaacucaacu caaaacuuga a		21
<210> 554		
<211> 21		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 554	
	caacucaaaa cuugaaagcc u	21
	<210> 555	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 555	
	uuccacguug cuugaaaug a	21
[0207]	<210> 556	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 556	
	guugcuugaa auugaaauc a	21
	<210> 557	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 557 gaucacaaaa cuucaaugaa a	21
	<210> 558 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 558 ucaagauuug cuauguuaga a	21
[0208]	<210> 559 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 559 caaaaucaag auuugcuau u	21
	<210> 560 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 560 gaacuacucc cuuucuucag u	21
	<210> 561 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 561 agaaauuucu cuaucuucca a	21
	<210> 562 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0209]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 562 ugaacugagg caaauuuaaa a	21
	<210> 563 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 563 cauccaacag auucagaaag a	21

	<210> 564	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 564	
	aaaaucaaga uuugcuaugu u	21
	<210> 565	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0210]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 565	
	agagcaaaau cuaagccaga a	21
	<210> 566	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 566	
	aucauaugag cuaauaucac a	21

	<210> 567	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 567	
	aauaaaccuc guaacaaguu a	21
	<210> 568	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0211]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 568	
	caacagcaua gucaaauaaa a	21
	<210> 569	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 569	
	aaaacaaccu aaaugguaaa u	21
	<210> 570	
	<211> 21	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 570	
	cacuuaaaac uuuuguagaa a	21
	<210> 571	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0212]	<400> 571	
	auuuuuuuuu guucgcuguc u	21
	<210> 572	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 572	
	caaaacuuca augaaacgug a	21
	<210> 573	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 573 agauggauca caaaacuuca a</p>	21
<p><210> 574 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 574 cacuuauac uaugaaaaca a</p>	21
[0213]	
<p><210> 575 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 575 acuaagucac auugacuuua a</p>	21
<p><210> 576 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220></p>	

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 576	
uauuaaaauaa cuuuucuaaa u	21
<210> 577	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 577	
acacuuaua cuaugaaaac a	21
[0214]	
<210> 578	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 578	
uuuauaaaac cuaauaagc a	21
<210> 579	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 579 caaacauuau auugaauuu a	21
	<210> 580 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 580 aaaccaguga aaucaaagaa a	21
[0215]	<210> 581 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 581 gaguuaaagu uuauuuucc a	21
	<210> 582 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 582 ccaauauaaa cauuuaaacc a	21
	<210> 583 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 583 guggagaaaa caaccuaaa u a	21
	<210> 584 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
[0216]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 584 aacucaacuc aaaacuugaa a	21
	<210> 585 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 585 aanguucaca auuaagcucc u	21

	<210> 586	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 586	
	gcagaauuaa auacuguauu a	21
	<210> 587	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0217]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 587	
	ugaaugaaau aagaaaugua a	21
	<210> 588	
	<211> 21	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 588	
	uacauauaaa cuacaaguca a	21

	<210> 589	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 589	
	uuugaauuaa guuaguuagu ugc	23
	<210> 590	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0218]	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 590	
	uugaguucaaa gugacauuu cuu	23
	<210> 591	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 591	
	auuuagucaa guuuagaguu uua	23
	<210> 592	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 592	
	ugauuuugaa uuaaguuagu uag	23
	<210> 593	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0219]	<400> 593	
	uuuaagugaa guuacuucug ggu	23
	<210> 594	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 594	
	uucaaguuuu gaguugaguu caa	23
	<210> 595	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 595		
aggcuuucaa guuuugaguu gag		23
<210> 596		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 596		
ucaauuucaa gcaacgugga acu		23
[0220]		
<210> 597		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 597		
ugauuuucaa uuucaagcaa cgu		23
<210> 598		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 598	
uuucauugaa guuuugugau cca	23
<210> 599	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 599	
uucuaacaua gcaaaucuug auu	23
[0221]	
<210> 600	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 600	
acauagcaaa ucuugauuuu ggc	23
<210> 601	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 601	
	acugaagaaa gggaguaguu cuu	23
	<210> 602	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 602	
	uuggaagaua gagaaauuuc ugu	23
[0222]	<210> 603	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 603	
	uuuuuuuuuu gccucaguuc auu	23
	<210> 604	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 604 ucuuucugaa ucuguuggau gga	23
	<210> 605 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 605 aacauagcaa aucuugauuu ugg	23
	<210> 606 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0223]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 606 uucuggcuua gauuuugcuc uug	23
	<210> 607 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 607 ugugauauua gcucuauga ugc	23

	<210> 608	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 608	
	uaacuuguua cgagguuuau uuc	23
	<210> 609	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0224]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 609	
	uuuuuuuga cuaugcuguu ggu	23
	<210> 610	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 610	
	auuuaccuu uagguuuuu ucu	23

	<210> 611	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 611	
	uuucuacaaa aguuuuuagu gaa	23
	<210> 612	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0225]	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 612	
	agacagcgaa cuuauuuuuaa uac	23
	<210> 613	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 613	
	ucacguuuca uugaaguuuu gug	23
	<210> 614	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 614	
	uugaaguuuu gugaucac uau	23
	<210> 615	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
[0226]	<400> 615	
	uuguuuucau aguauuaagu guu	23
	<210> 616	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 616	
	uuaaaguc aa ugugacuuag uag	23
	<210> 617	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 617 auuuagaaaa guuuuuuuuu aag</p>	23
<p><210> 618 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 618 uuuuuucaua guuuuuuuuu uua</p>	23
[0227]	
<p><210> 619 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"</p>	
<p><400> 619 ugcuucauuu gguuuucauuu aua</p>	23
<p><210> 620 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
<p><220></p>	

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 620	
uaauauucaaa uauaauguuu guu	23
<210> 621	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 621	
uuucuuugau uucacugguu ugc	23
[0228]	
<210> 622	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 622	
uggaaaaua aacuuuaacu cga	23
<210> 623	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

寡核苷酸”

	<400> 623	
	ugguuuaauu guuuauauug guc	23
	<210> 624	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 624	
	uaauuagguu guuuucucca cac	23
[0229]	<210> 625	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 625	
	uuucaaguuu ugaguugagu uca	23
	<210> 626	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 626 aggagcuuaa uugugaacau uuu	23
	<210> 627 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 627 uaauacagua uuuaauucug cuu	23
	<210> 628 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0230]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 628 uuacauuucu uauuucuuuc aac	23
	<210> 629 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 629 uugacuugua guuuauaugu agu	23

	<210> 630	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 630	
	gcaacuaacu aacuuaauuc aaa	23
	<210> 631	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0231]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 631	
	aagaauaugu cacuugaacu caa	23
	<210> 632	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 632	
	uaaaacucua aacuugacua aau	23

	<210> 633	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 633	
	cuaacuaacu uaaaucaaaa uca	23
	<210> 634	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0232]	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 634	
	accagaagu aacuucacuu aaa	23
	<210> 635	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 635	
	uugaacucuaa cucaaaacuu gaa	23
	<210> 636	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 636	
	cucaacucuaa aacuugaaag ccu	23
	<210> 637	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0233]	<400> 637	
	aguuccacgu ugcuugaaau uga	23
	<210> 638	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 638	
	acguugcuug aaaaugaaaa uca	23
	<210> 639	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 639		
uggaucacaa aacuucaaug aaa		23
<210> 640		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 640		
aaucaagauu ugcuauuuu gac		23
[0234]		
<210> 641		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 641		
gccaaaauca agauuugcua ugu		23
<210> 642		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

- <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 642
 aagaacuacu cccuuucuuc agu 23
- <210> 643
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 643
 acagaaauuu cucuaucuuc caa 23
- [0235]
 <210> 644
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"

 <400> 644
 aaugaacuga ggcaauuuu aaa 23
- <210> 645
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <221> 来源
 <223> /注="人工序列的说明：合成

寡核苷酸”

	<400> 645	
	uccauccaac agauucagaa agc	23
	<210> 646	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 646	
	ccaaaaucuaa gauuugcuau guu	23
[0236]	<210> 647	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 647	
	caagagcaaa aucuaagcca gag	23
	<210> 648	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	

	<400> 648 gcaucauaug agcuaauauc aca	23
	<210> 649 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 649 gaaauaaacc ucguaacaag uua	23
	<210> 650 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
[0237]	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 650 accaacagca uagucaaaua aaa	23
	<210> 651 <211> 23 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 651 agaaaacaac cuaaauggua aaU	23

	<210> 652	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 652	
	uucacuuaaa acuuuuguag aaa	23
	<210> 653	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0238]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 653	
	guauuaaaau aaguucgcug ucu	23
	<210> 654	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 654	
	cacaaaacuu caugaaacg ugg	23

	<210> 655	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 655	
	auagauggau cacaaaacuu caa	23
	<210> 656	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0239]	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 656	
	aacacuaau acuaugaaaa caa	23
	<210> 657	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明: 合成寡核苷酸"	
	<400> 657	
	cuacuaaguc acauugacuu uaa	23
	<210> 658	
	<211> 23	

	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 658	
	cuuauuaaaau aacuuuuucua aau	23
	<210> 659	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
[0240]	<400> 659	
	uaacacuuaa uacuaugaaa aca	23
	<210> 660	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
	<400> 660	
	uauuuuugaa accuaaugaa gca	23
	<210> 661	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 661		
aacaacauu auauugaaua uuc		23
<210> 662		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 662		
gcaaaccagu gaaaucaaag aag		23
[0241]		
<210> 663		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"		
<400> 663		
ucgaguuaaa guuuauuuu ccc		23
<210> 664		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		

<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 664	
gaccaauaua aacaauuaaa cca	23
<210> 665	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 665	
guguggagaa aacaaccuaa aug	23
[0242]	
<210> 666	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	
<400> 666	
ugaacucaac ucaaaacuug aaa	23
<210> 667	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注="人工序列的说明：合成寡核苷酸"	

	寡核苷酸”	
	<400> 667	
	aaaauguuca caauuaagcu ccu	23
	<210> 668	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 668	
	aagcagaauu aaauacugua uua	23
[0243]	<210> 669	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
	<400> 669	
	guugaaugaa auaagaaaug uaa	23
	<210> 670	
	<211> 23	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注=“人工序列的说明：合成寡核苷酸”	
[0244]	<400> 670	
	acuacauua aacuacaagu caa	23

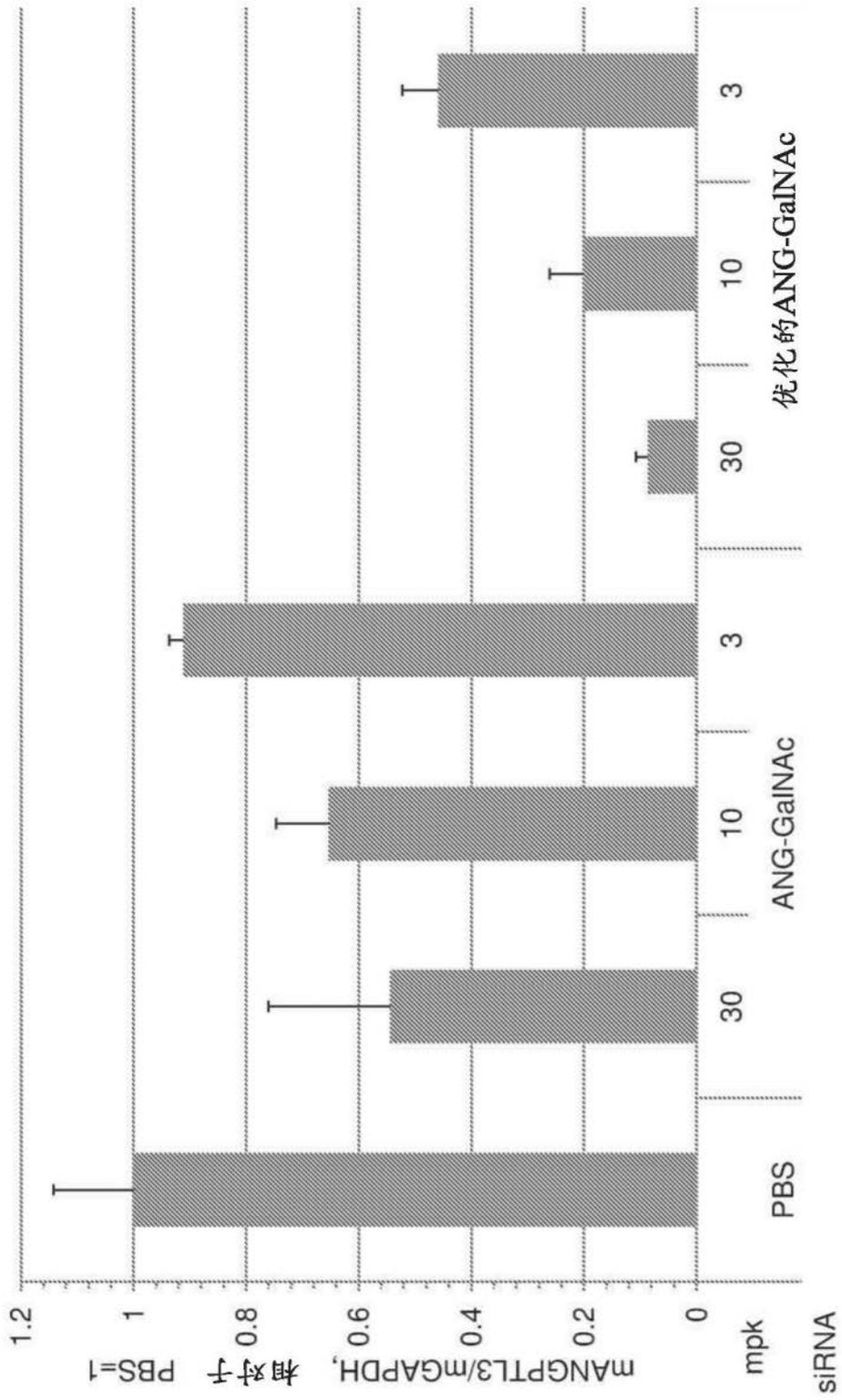


图1

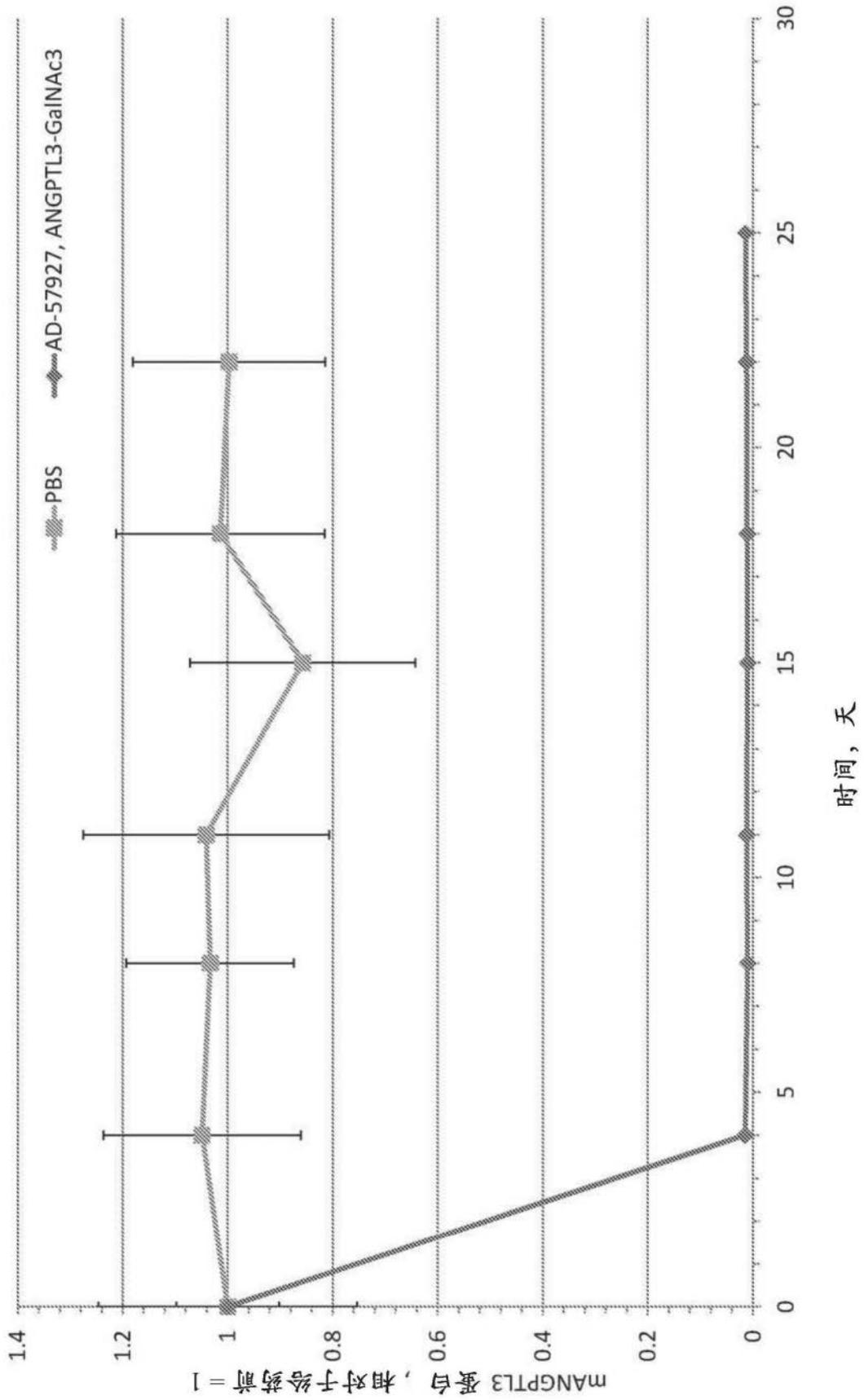


图2

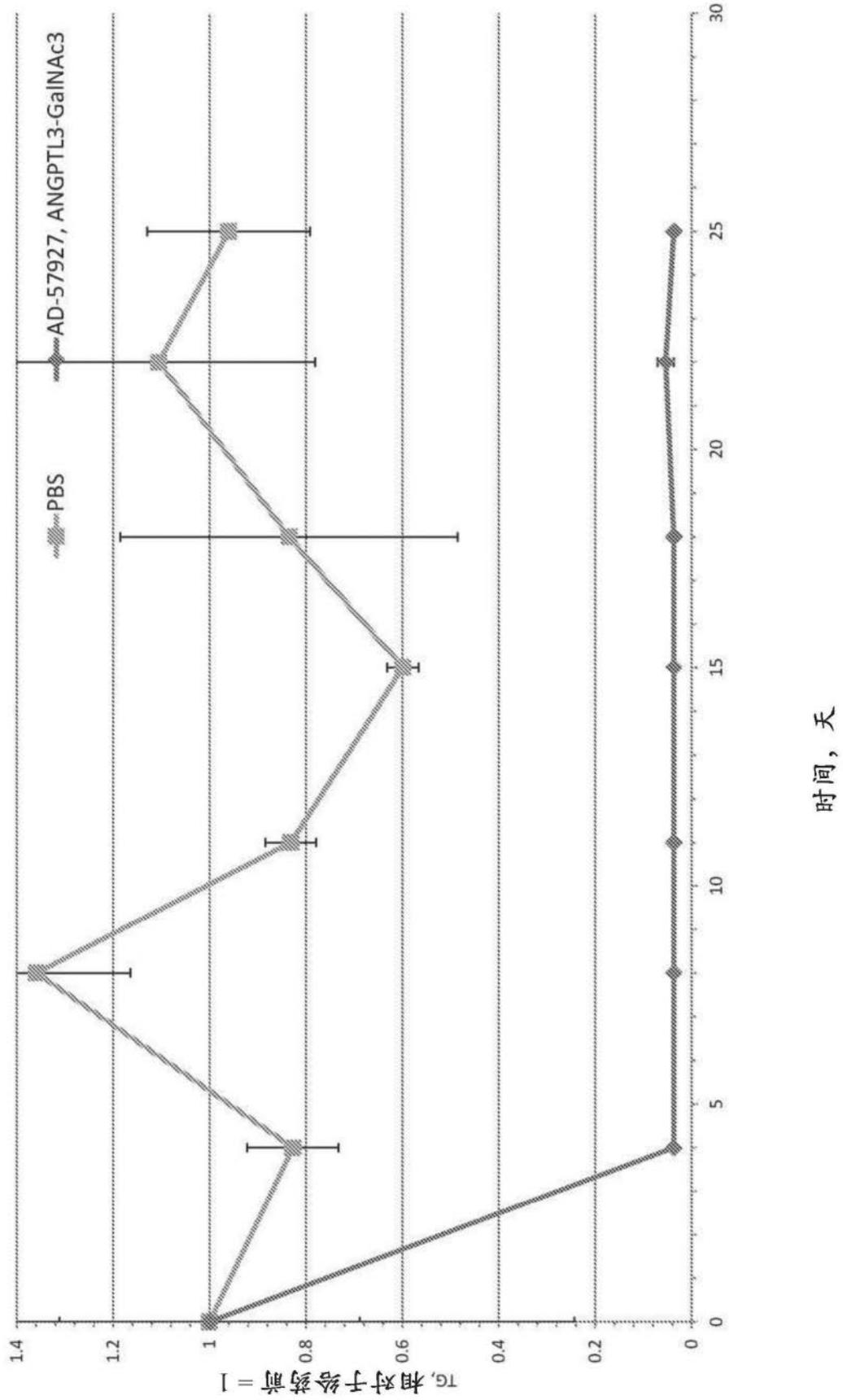


图3

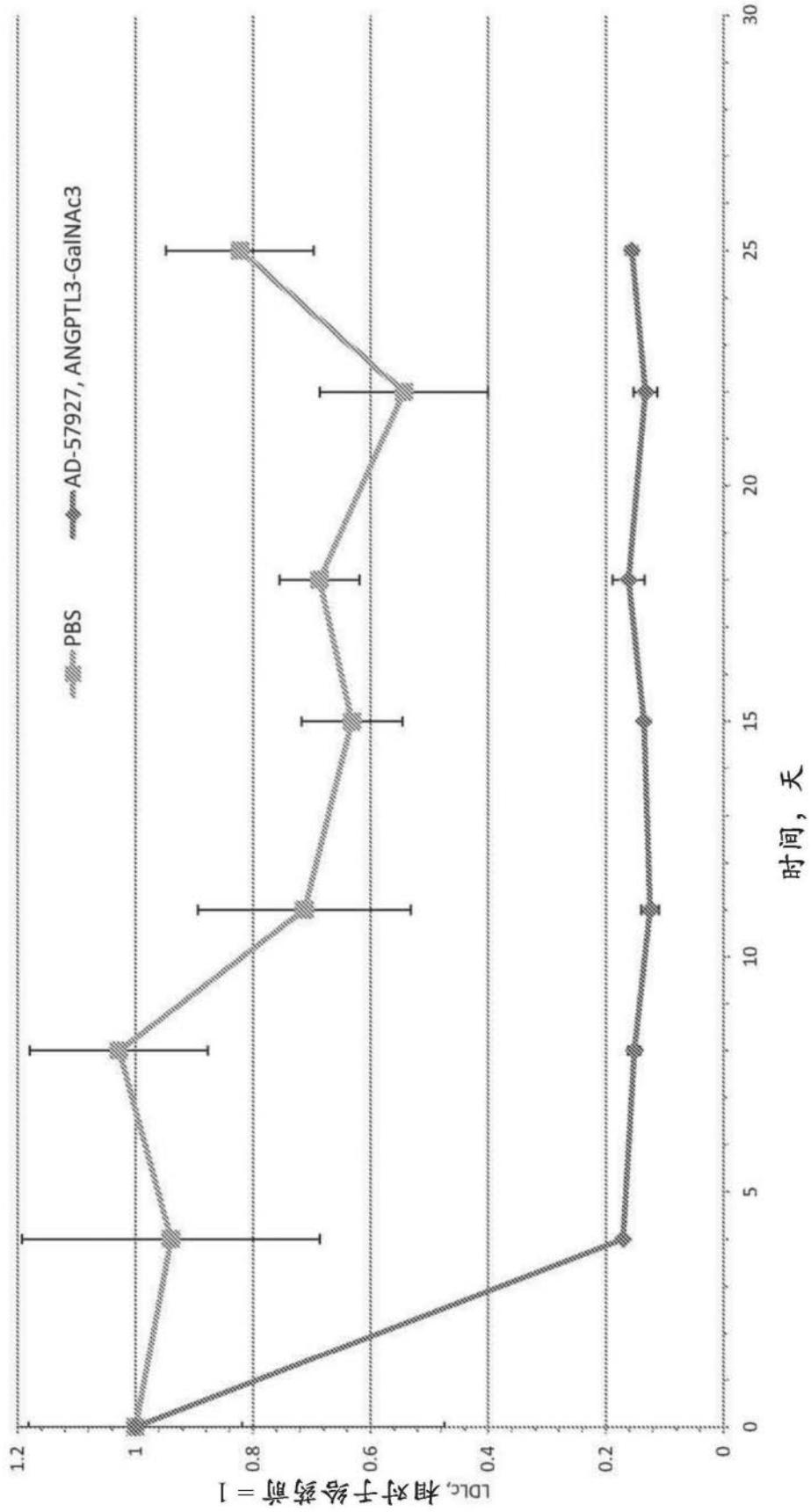


图4

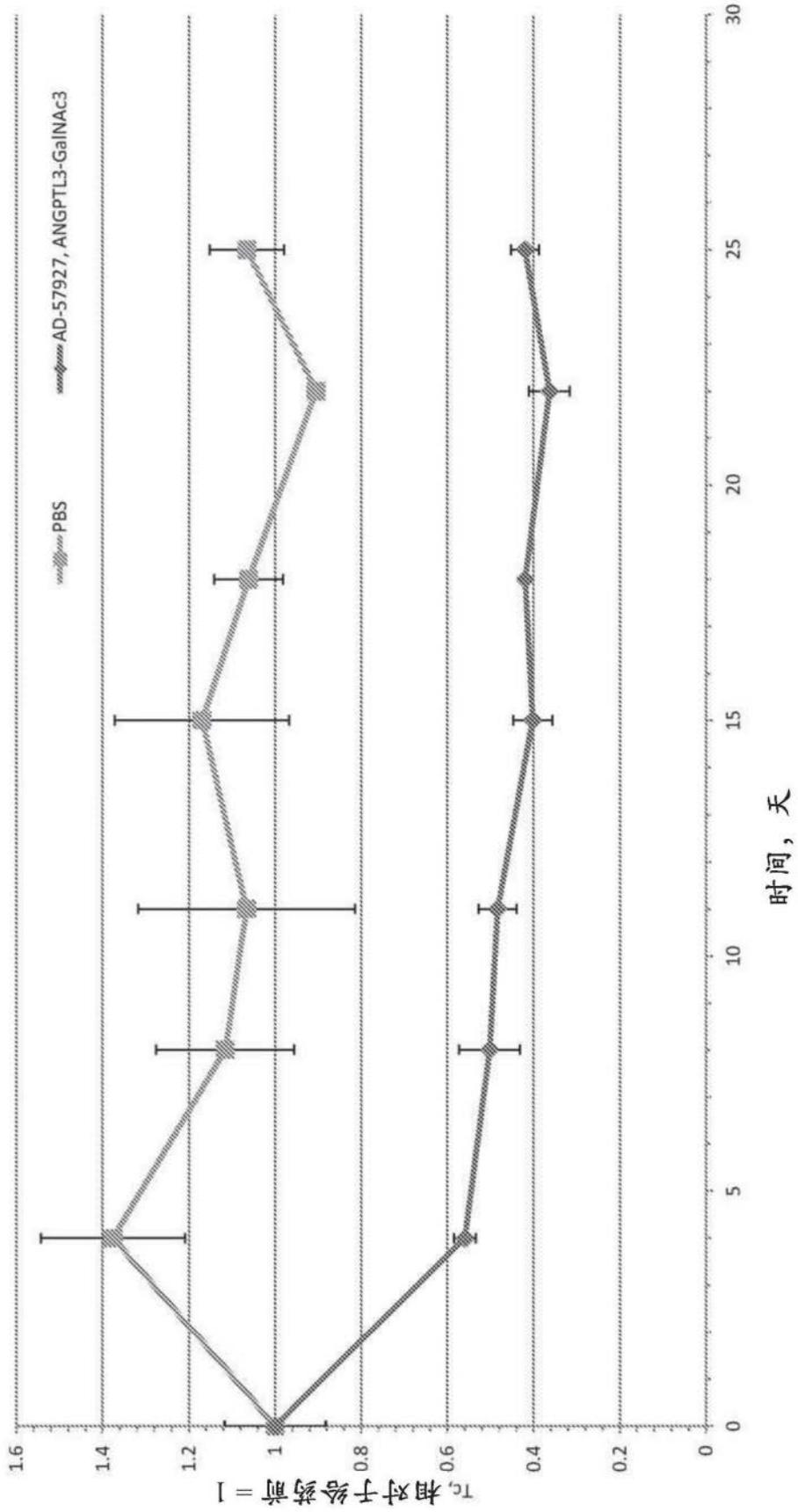


图5

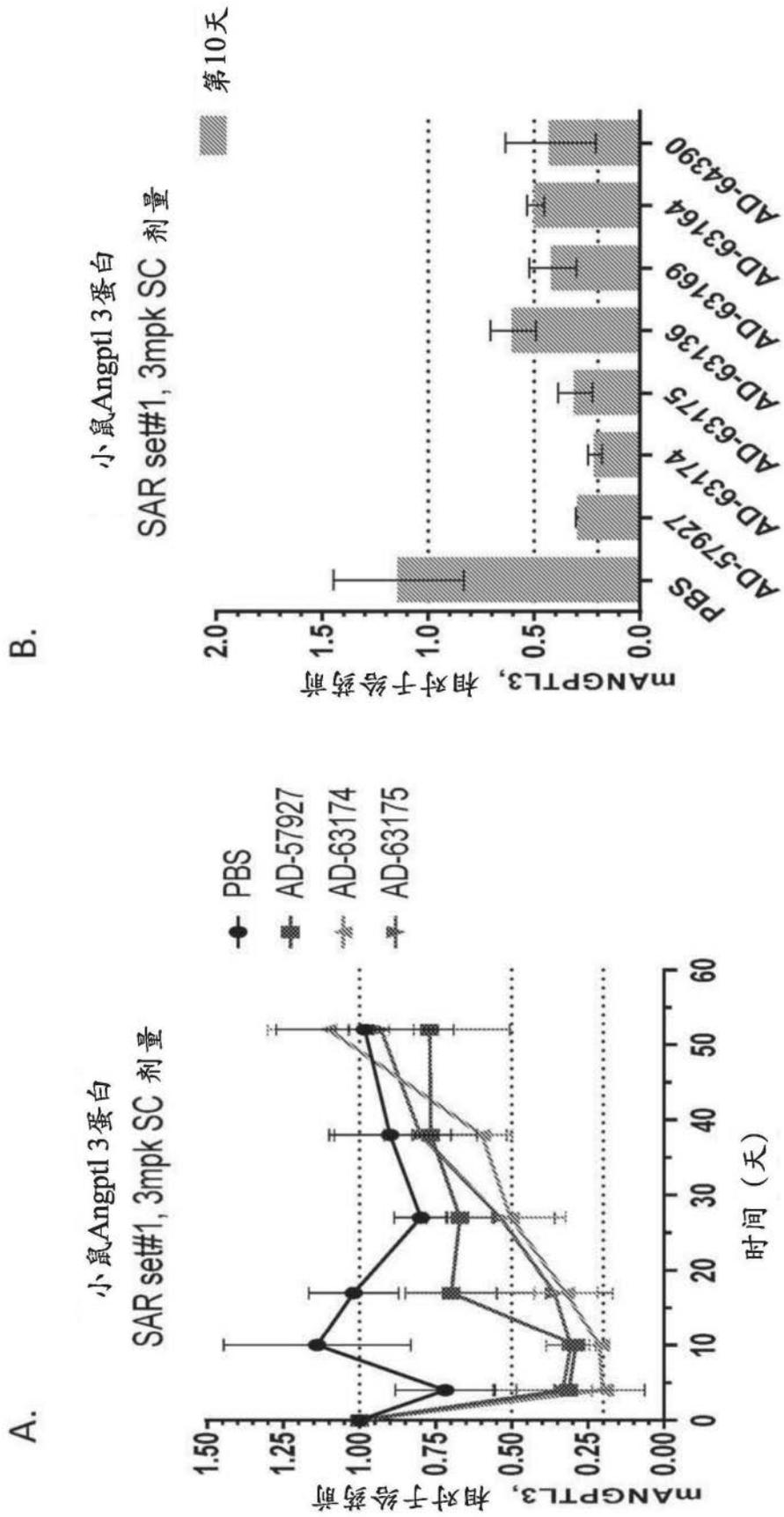


图6

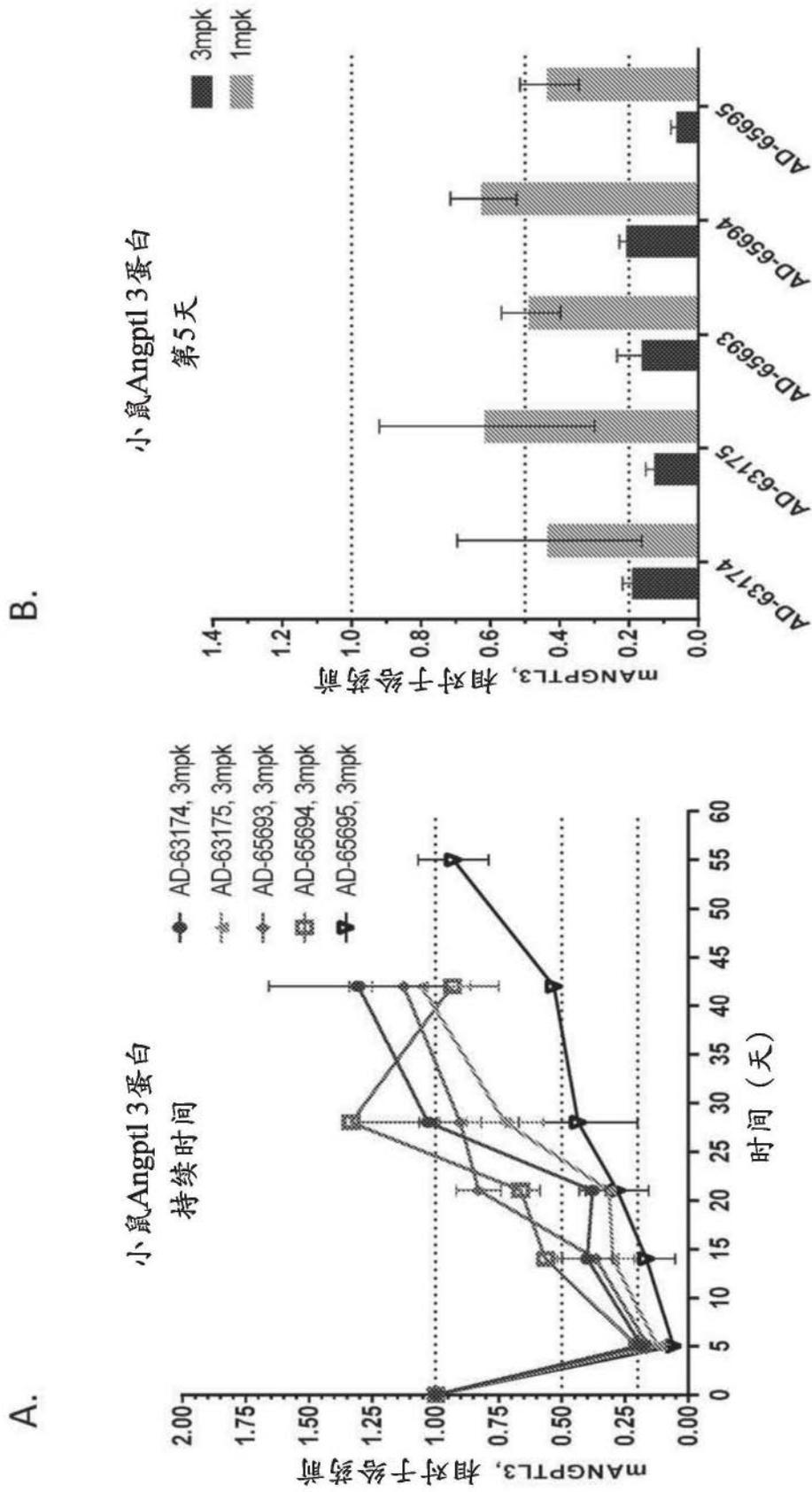


图7

在ob/ob小鼠中，在3 mpk，领先化学品对比亲代的小鼠Angptl3 SAR

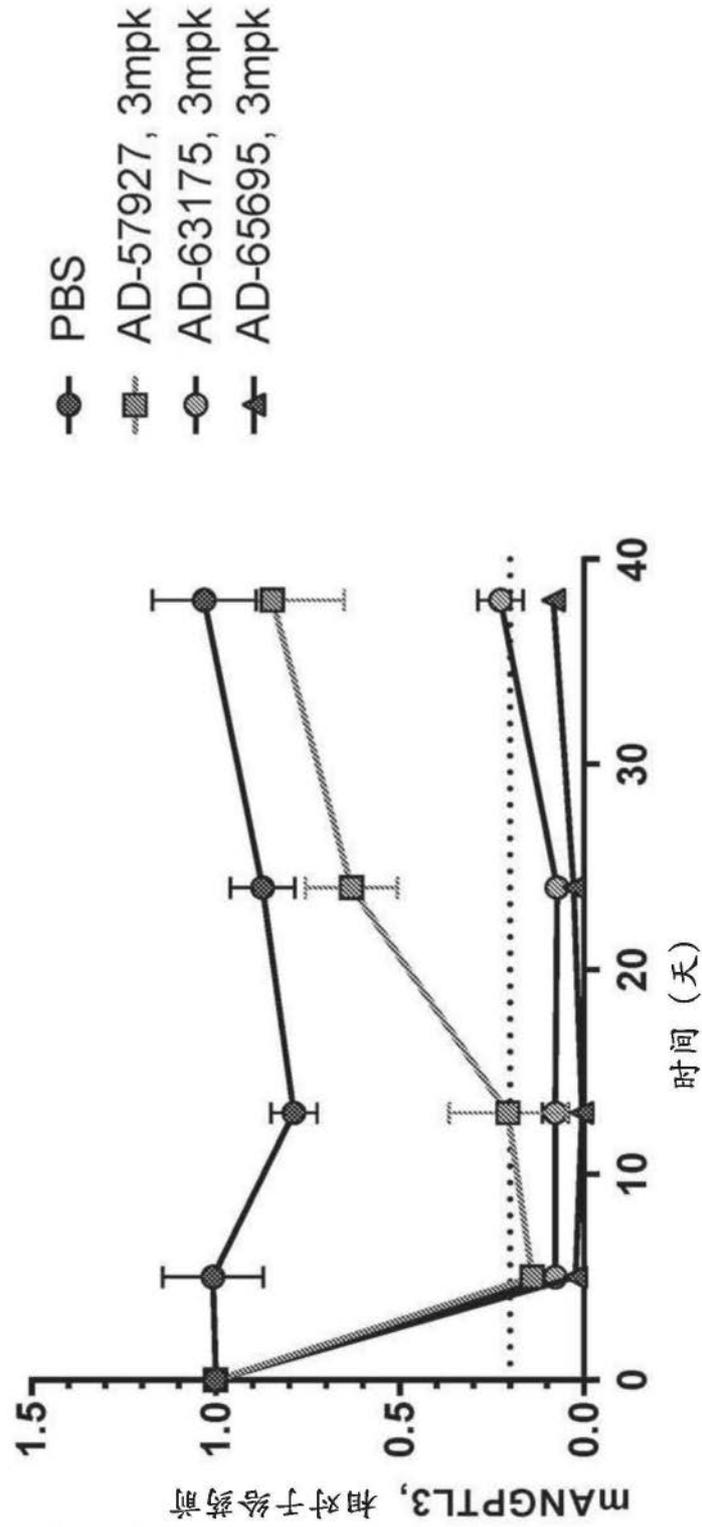


图8A

在ob/ob小鼠中，在3 mpk，领先化学品对比亲代的小鼠Angptl 3 SAR

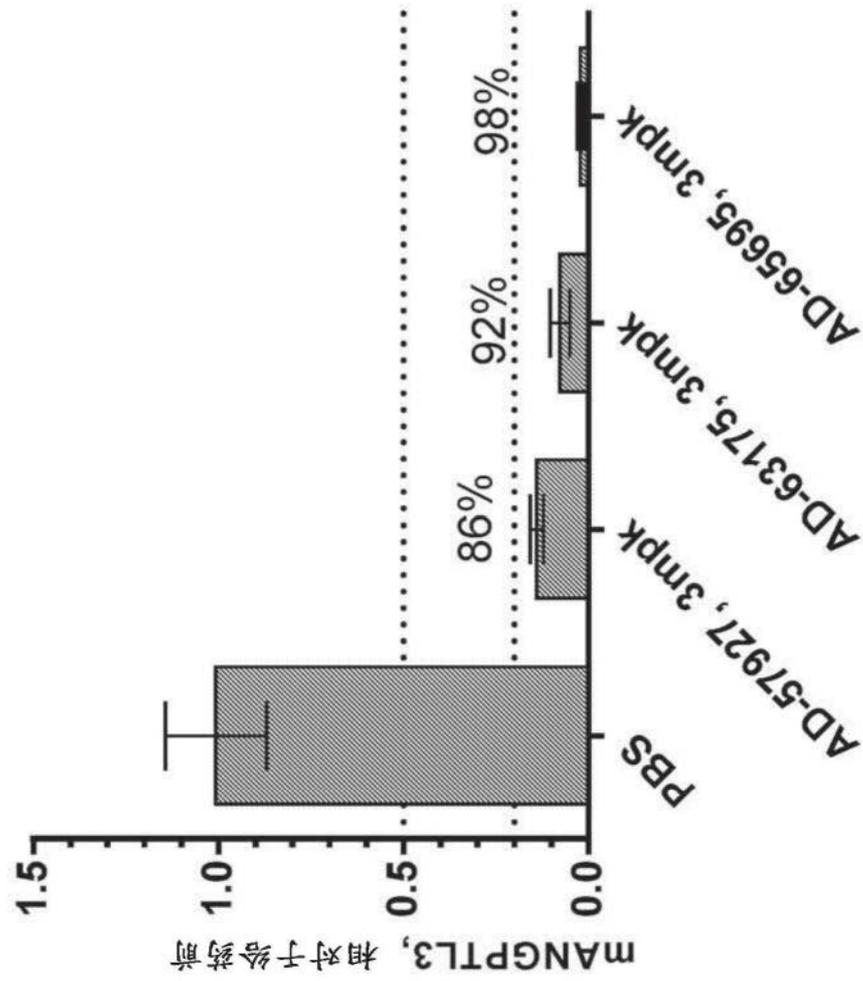


图8B

在ob/ob小鼠中，Angptl 3-GalNAc剂量反应

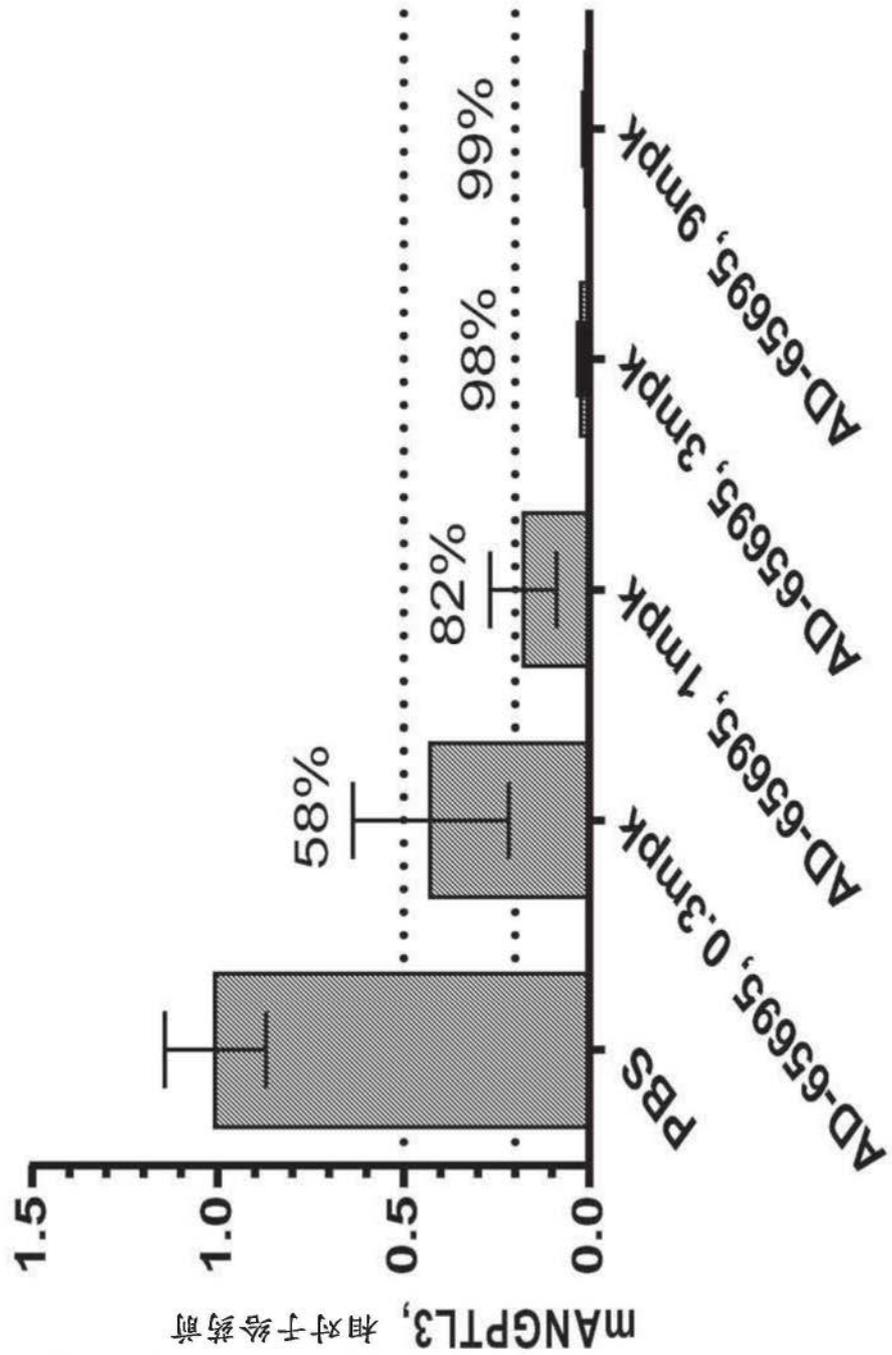


图9

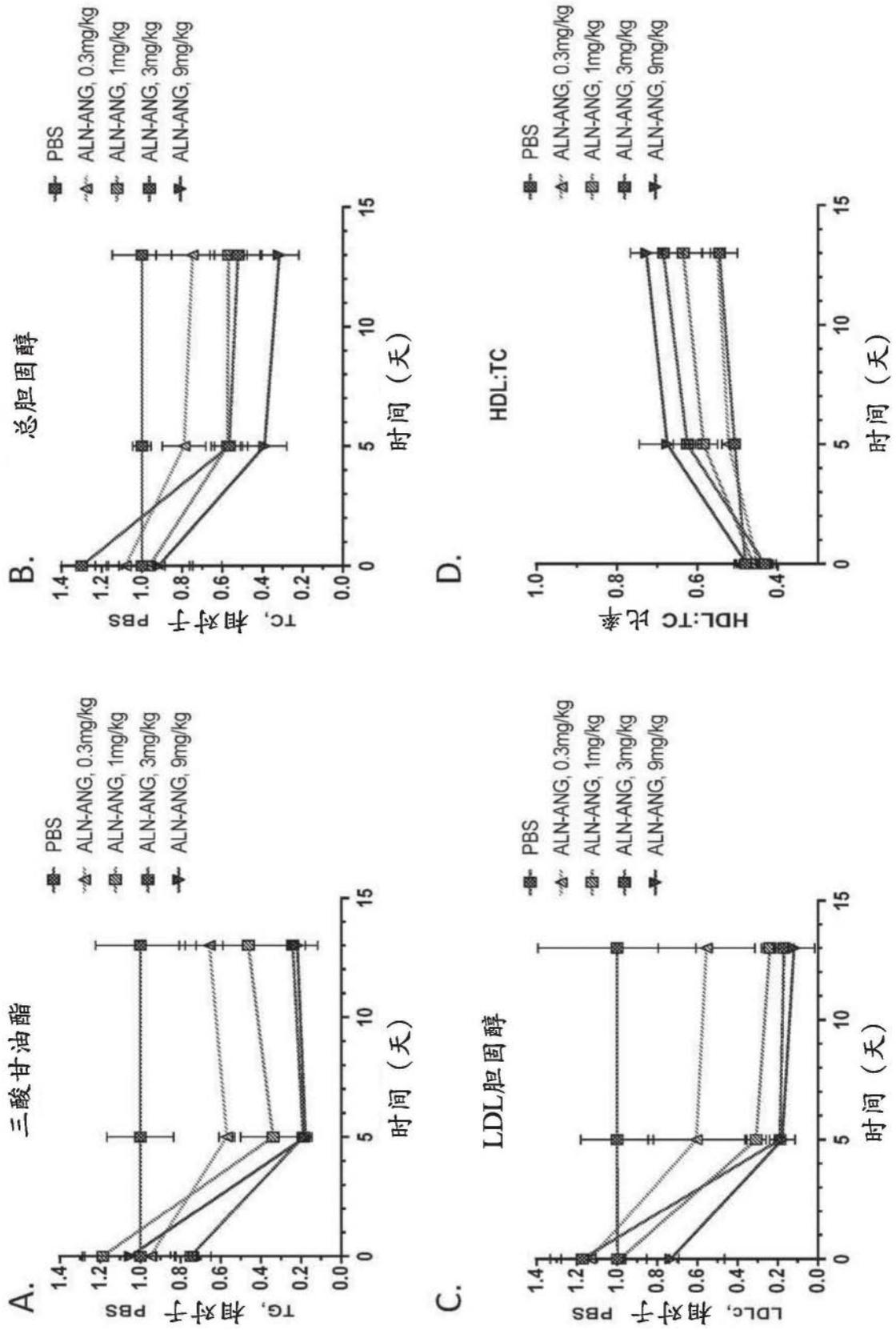
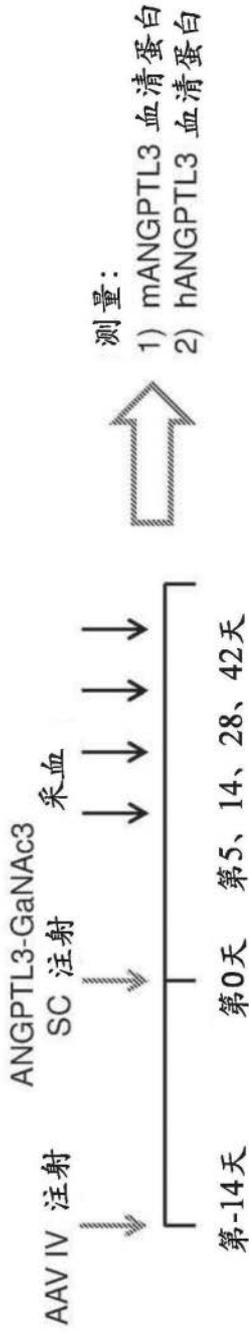


图10



载体	载体剂量 (GC/小鼠)	交叉反应*	Angptl3-GalNAc3	siRNA 剂量 (mg/kg)	N#
AAV8-TBG-ANGPTL3	1.00E+11	-	PBS	0	4
		m/r/cy/h	AD-57927, 6PS toffee	3	4
		m/r/cy/h	AD-65695, 6PS (AD-57927的低FI版本)	3	4
		cy/h	AD-62865, 6PS toffee	3	4
		cy/h	AD-62866, 6PS toffee	3	4

*m = 小鼠
r = 大鼠
cy = 食蟹猴
h = 人类

图11

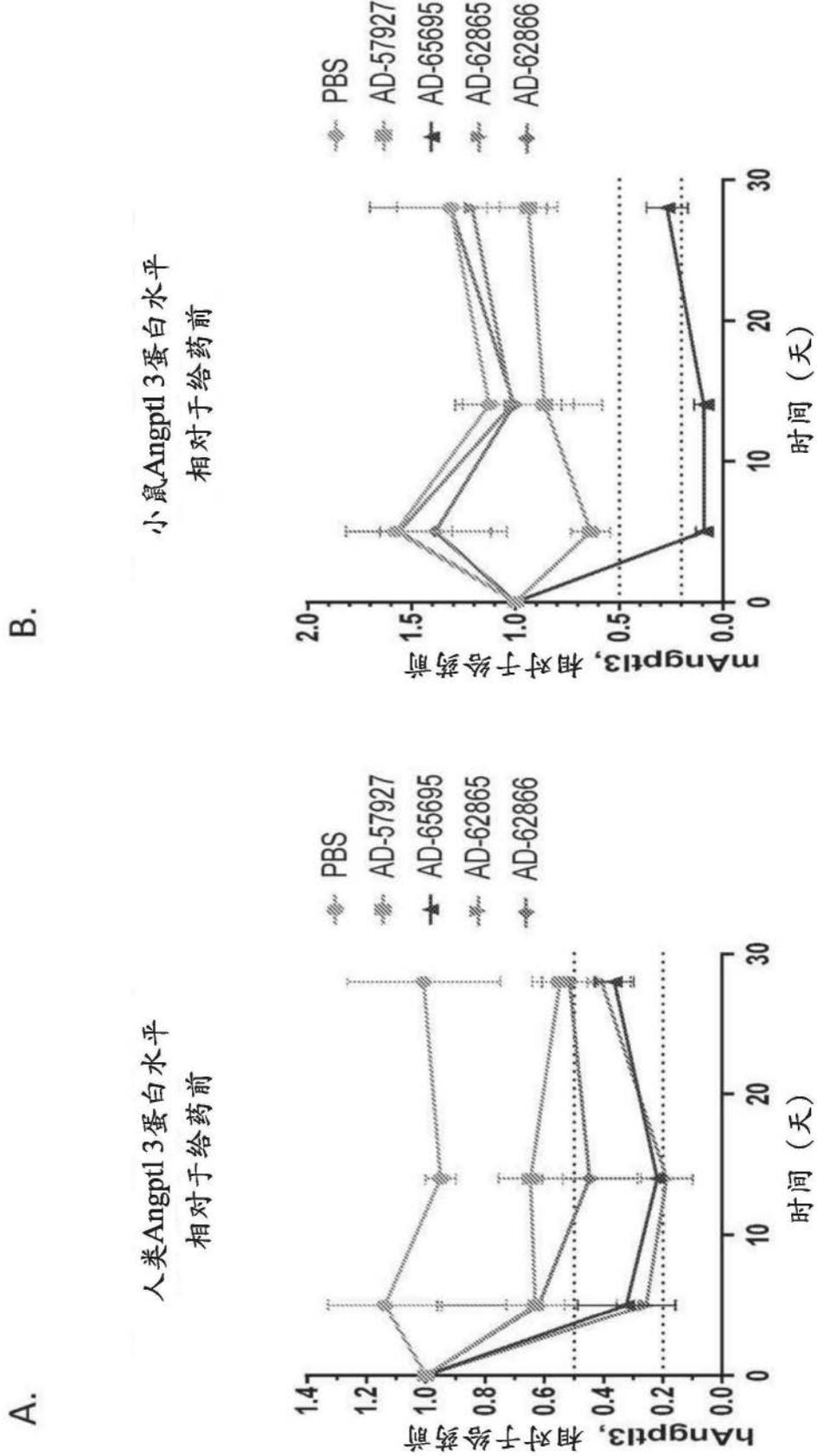
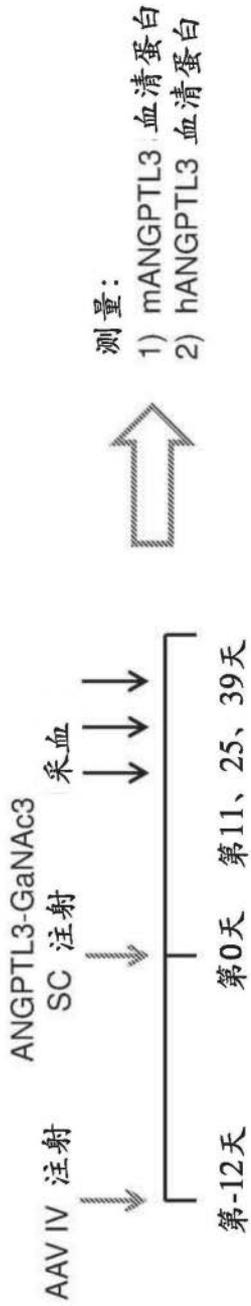


图12



载体	载体剂量 (GC/小鼠)	交叉反应	Angptl3-GalNAc3	siRNA 剂量 (mg/kg)	N=#
AAV8-TBG-ANGPTL3	1.00E+11	-	PBS	0	3
		m/r/cy/h	AD-65695, 6PS低FI 领先	3	3
		m/r/cy/h	AD-65695, 6PS低FI 领先	1	3
		m/r/cy/h	AD-65695, 6PS低FI 领先	0.3	3
		cy/h	AD-62865, 6PS toffee	3	3
		cy/h	AD-62865, 6PS toffee	1	3
		cy/h	AD-62866, 6PS toffee	0.3	3

图13

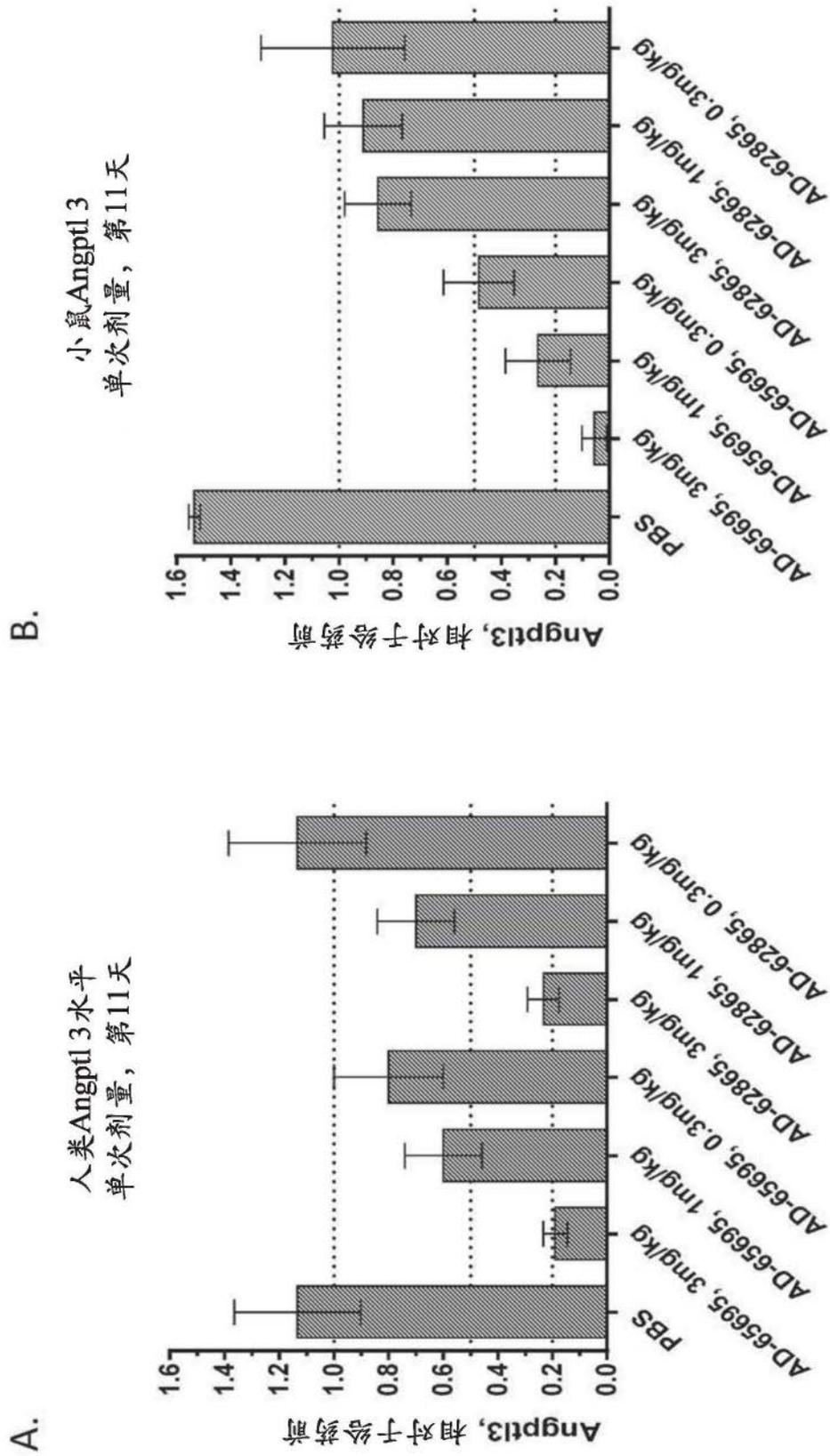


图14

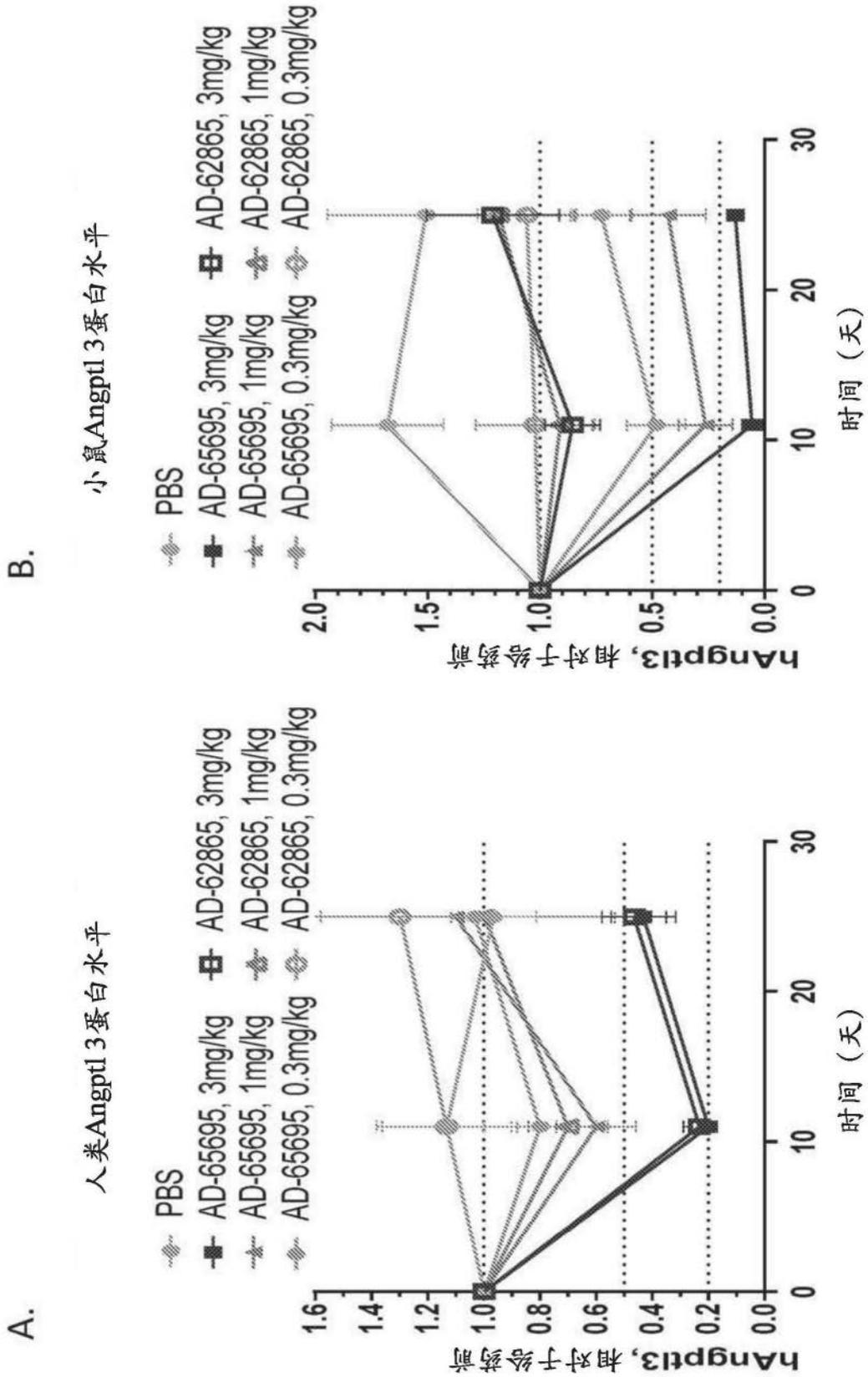


图15

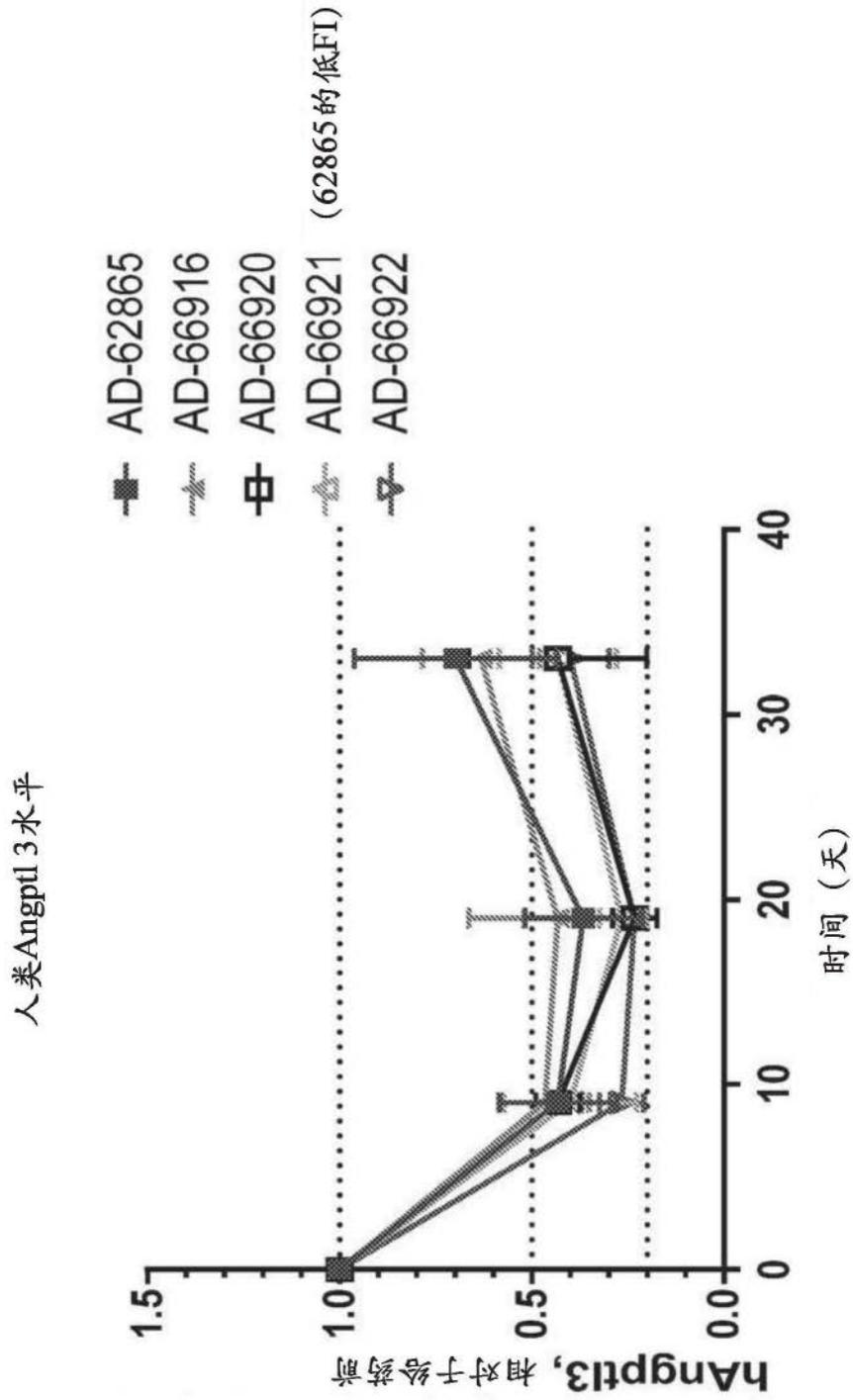


图16

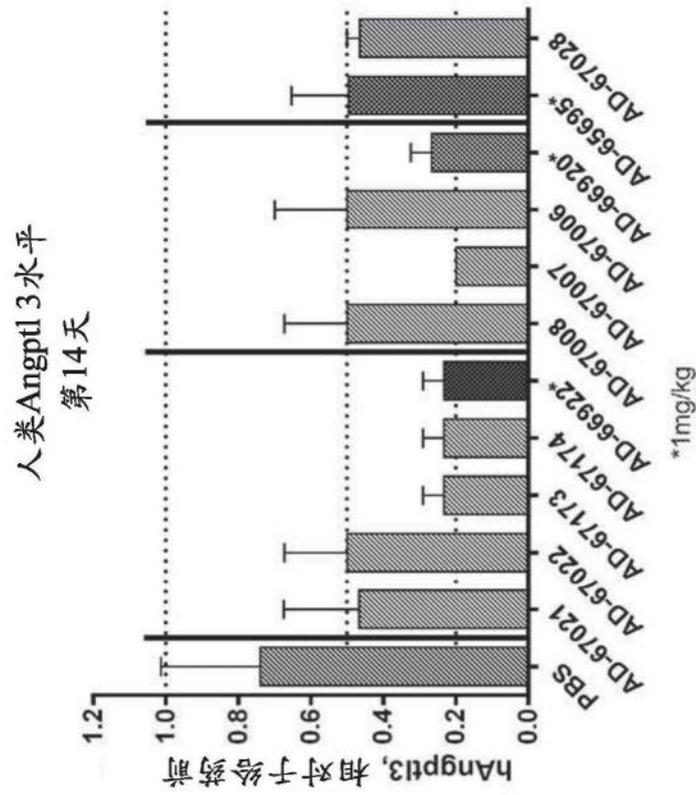


图17A

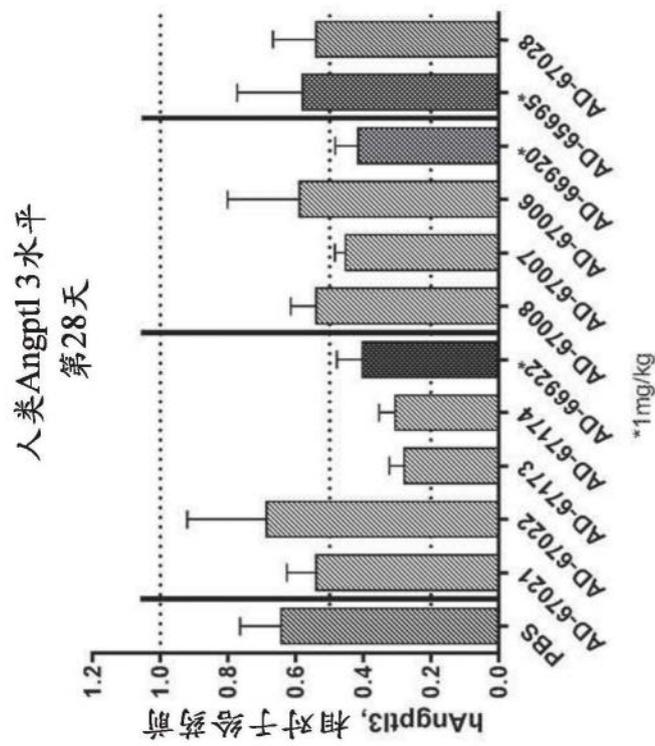


图17B

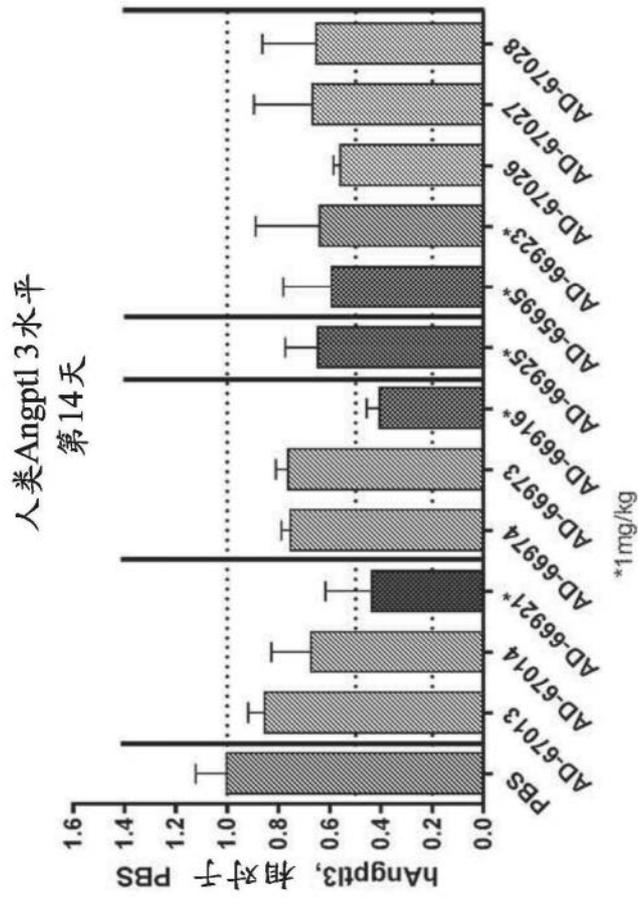


图18A

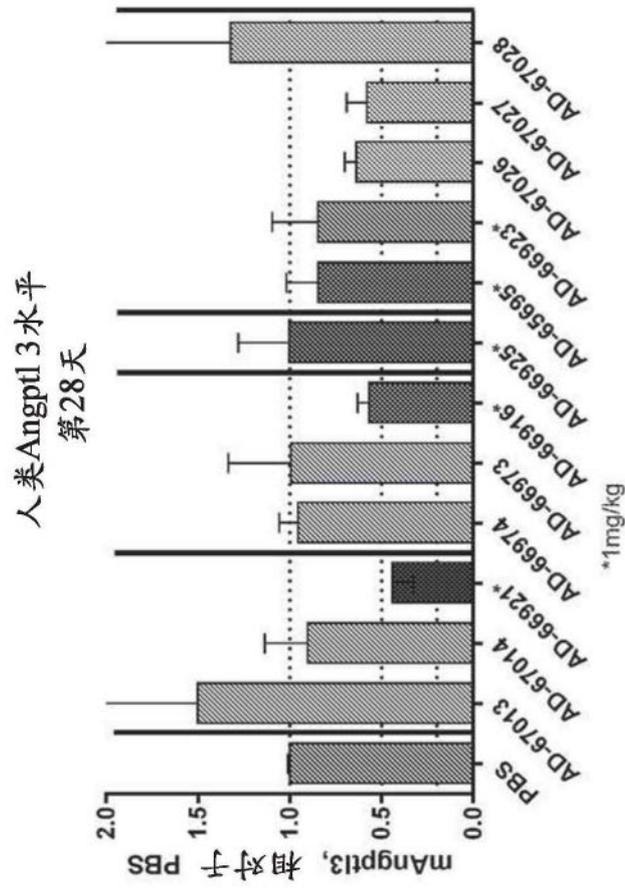


图18B

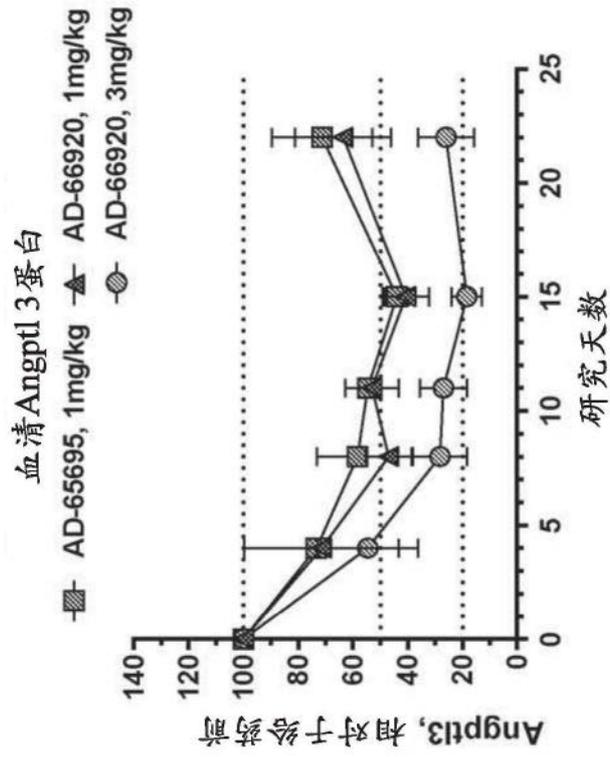


图19A

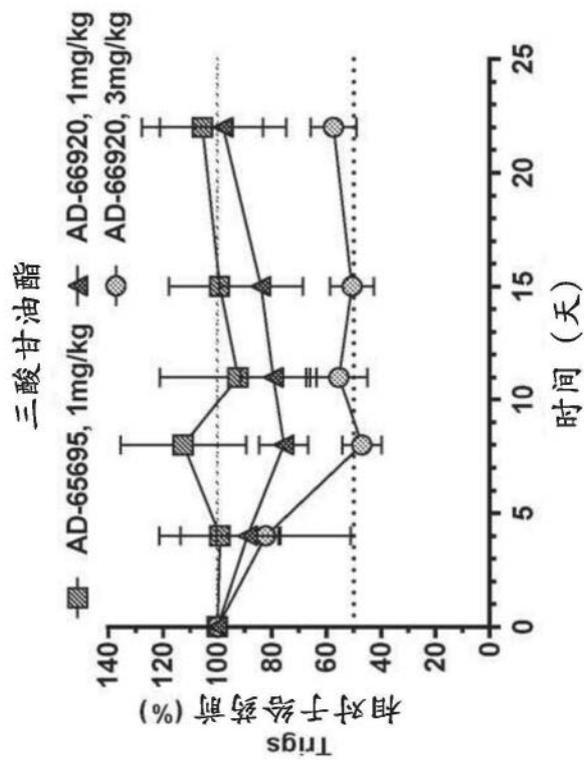


图19B

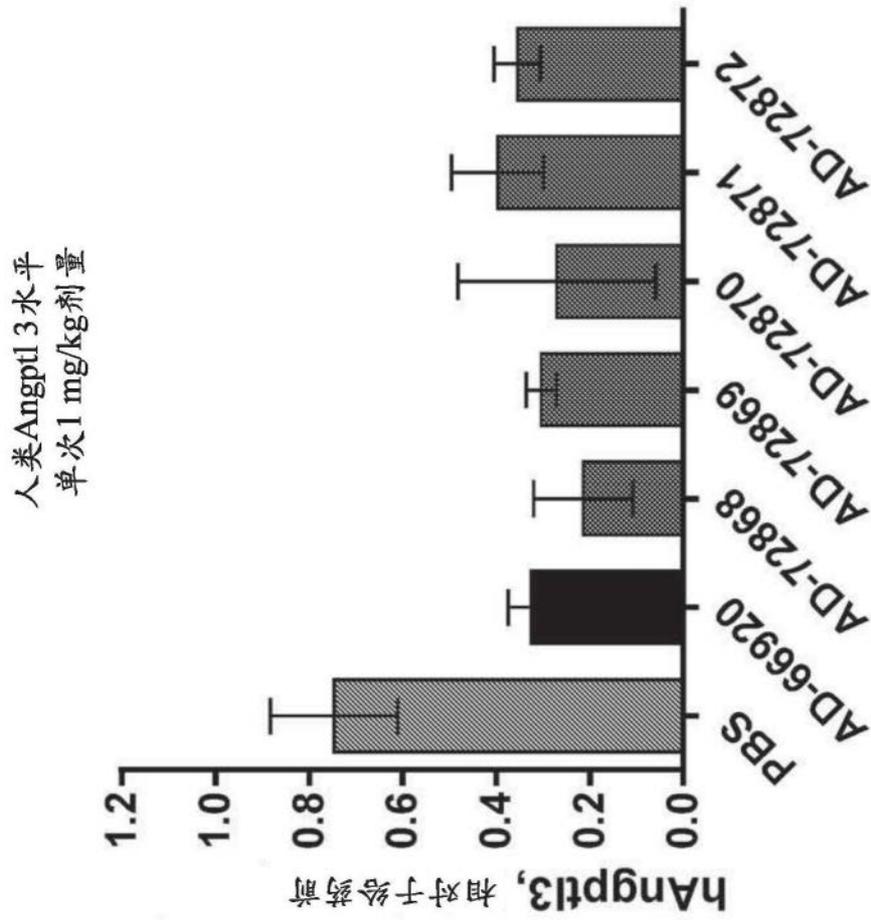


图20

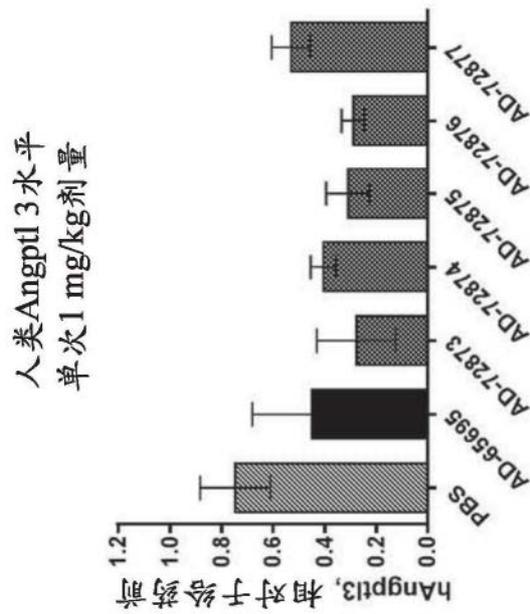


图21A

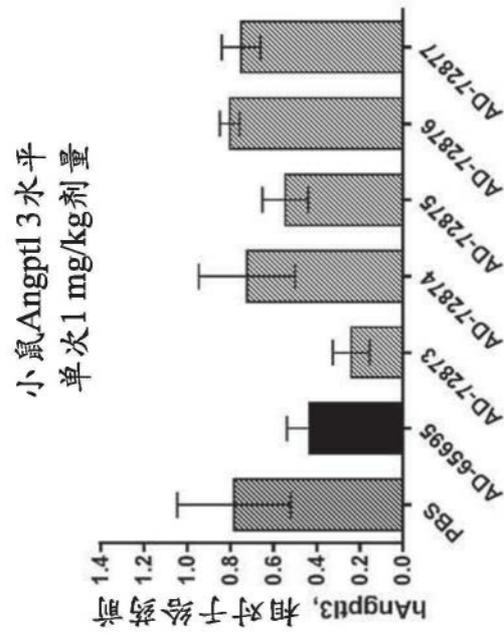


图21B