



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월24일

(11) 등록번호 10-2677300

(24) 등록일자 2024년06월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/7088 (2006.01)  
A61K 48/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/113 (2013.01)  
A61K 31/7088 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-7011322

(22) 출원일자(국제) 2018년09월20일

심사청구일자 2021년09월17일

(85) 번역문제출일자 2020년04월20일

(65) 공개번호 10-2020-0117975

(43) 공개일자 2020년10월14일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2018/057262

(87) 국제공개번호 WO 2019/058304

국제공개일자 2019년03월28일

(30) 우선권주장

102017000105372 2017년09월20일 이탈리아(IT)

(56) 선행기술조사문헌

WO2012133947 A1

JP2015535430 A

WO2014081507 A1

WO2004038380 A1

(73) 특허권자

폰다치오네 이스티튜토 이탈리아노 디 테크놀로지아

이탈리아 제노바 비아 모레고 30 (우:16163)

스쿠오라 인타나찌오나레 수페리오레 디 스투디아  
아반짜티-에스.아이.에스.에스.에이

이탈리아 34136 트리에스테 비아 보노메아 265

(72) 발명자

구스틴치크, 스테파노

이탈리아 16163 제노바 비아 모레고 30 폰다치오  
네 이스티튜토 이탈리아노 디 테크놀로지아 내

추켈리, 실비아

이탈리아 16163 제노바 비아 모레고 30 폰다치오  
네 이스티튜토 이탈리아노 디 테크놀로지아 내

(74) 대리인

양영준, 이윤기

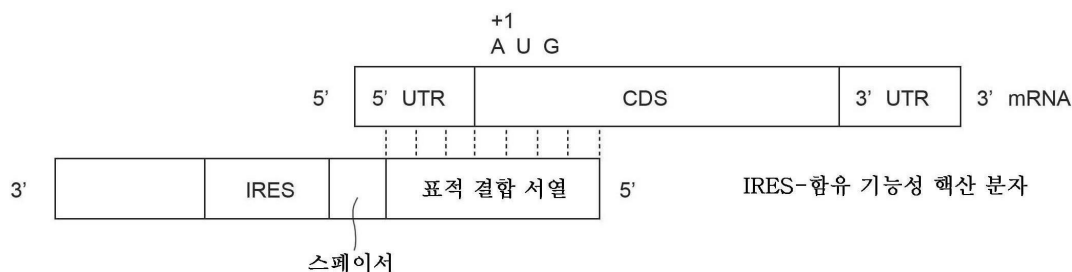
전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 기능성 핵산 분자 및 그의 용도

**(57) 요약**

단백질 번역을 증진시킬 표적 mRNA 서열에 역 상보적인 서열을 포함하는 진핵성 표적 결합 서열, 및 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열 또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열을 포함하고, 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시키는 조절 서열을 포함하며, 여기서 조절 서열은 표적 결합 서열의 3'에 위치하는 것인, 트랜스-작용 기능성 핵산 분자를 개시한다.

**대표도**

(52) CPC특허분류

**A61K 48/00** (2024.01)

C12N 2310/11 (2013.01)

C12N 2310/3519 (2013.01)

C12N 2330/51 (2013.01)

C12N 2840/105 (2013.01)

C12N 2840/203 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- 단백질 번역을 증진시킬 진핵성 표적 mRNA 서열에 역 상보적인 서열을 포함하는 표적 결합 서열; 및
  - 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시키는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 포함하는 조절 서열
- 을 포함하며,
- 여기서 조절 서열은 표적 결합 서열의 3'에 위치하는 것인
- 트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 표적 결합 서열이 3'에서 5' 방향으로 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 1 내지 50개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 1 내지 40개의 뉴클레오타이드에 역 상보적인 서열로 이루어진 것인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 표적 결합 서열이 3'에서 5' 방향으로 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 10 내지 45개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 2 내지 6개의 뉴클레오타이드에 역 상보적인 서열로 이루어진 것인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, IRES 서열이 트랜스-작용 기능성 핵산 분자 중에 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향으로 배향되어 있는 것인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, IRES 서열이 서열식별번호 36 내지 서열식별번호 65로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 트랜스-작용 기능성 핵산 분자가 RNA 분자 또는 변형된 RNA 분자인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 표적 결합 서열과 조절 서열 사이에 스페이서 서열을 추가로 포함하는

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 트랜스-작용 기능성 핵산 분자를 코딩하는 DNA 분자.

#### 청구항 9

제8항에 따른 DNA 분자를 포함하는 발현 벡터.

#### 청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질 번역을 증진시키기 위한

트랜스-작용 기능성 핵산 분자이며,

여기서 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 세포 내로 형질감염되는 것인

트랜스-작용 기능성 핵산 분자.

#### 청구항 11

제8항에 있어서, 단백질 번역을 증진시키기 위한 DNA 분자이며, 여기서 DNA 분자는 세포 내로 형질감염되는 것인 DNA 분자.

#### 청구항 12

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 트랜스-작용 기능성 핵산 분자를 포함하는 조성물.

#### 청구항 13

제8항에 따른 DNA 분자를 포함하는 조성물.

#### 청구항 14

제12항에 있어서, 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시키기 위한 조성물.

#### 청구항 15

제13항에 있어서, 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시키기 위한 조성물.

#### 청구항 16

단백질-코딩 mRNA의 하향 조절에 의해 유발되는 유전성 질환을 치료하는 데, 또는 유전자량 감소가 유해한 유전성 또는 산발성 질환을 치료하는 데 사용하기 위한, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 트랜스-작용 기능성 핵산 분자를 포함하는 조성물.

#### 청구항 17

단백질-코딩 mRNA의 하향 조절에 의해 유발되는 유전성 질환을 치료하는 데, 또는 유전자량 감소가 유해한 유전성 또는 산발성 질환을 치료하는 데 사용하기 위한, 제8항에 따른 DNA 분자를 포함하는 조성물.

#### 청구항 18

삭제

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2017년 9월 20일 출원된 이탈리아 특허 출원 번호 10201700015372로부터 우선권을 주장하고, 상기 특허의 개시내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0003] 본 발명의 기술 분야

[0004] 본 발명은 진핵생물에서의 특이적인 표적 mRNA의 단백질 번역을 증진시키는 기능을 갖고 있는 트랜스-작용 기능성 핵산 분자, 상기 분자를 코딩하는 DNA 분자, 상기 분자의 용도, 및 단백질 번역을 증진시키는 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0005] 진핵생물에서, mRNA는 주로, 개시 인자가 40S 리보솜 서브유닛을 mRNA의 5' 단부에 있는 캡 구조로 동원시키게 하는 캡-의존적 기전을 통해 주로 번역된다. 그러나, 일부 바이러스 및 세포 메시지는 캡 없이 단백질 합성을 개시한다 (Thompson SR, Trends Microbiol 2012; Jackson RJ, Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013). 이러한 경우, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)로 명명되는 구조화된 RNA 요소는 40S 리보솜 서브유닛을 동원한다. IRES는 20여년 전에 피코르나바이러스에서 발견되었다. 세포에서, IRES 서열은 단백질 코딩 mRNA의 서브세트의 캡-비의존적 번역을 촉진시켜 스트레스 조건하에서 발생하는 캡-의존적 번역의 일반적인 억제를 극복한다. IRES 서열은 일반적으로 스트레스-반응 유전자를 코딩하는 세포 mRNA의 5' 비번역 영역에서 발견되며, 따라서,

그의 번역을 *시스(cis)*로 자극시킨다.

- [0006] 최근 고처리량 스크리닝 시스템을 통해 세포 mRNA 내에서의 입증된 IRES 서열 목록이 확대되었다 (Weingarten-Gabbay S, et al., Science, 2016).
- [0007] 유전자 특이적 번역 상향 조절은, 내부 리보솜 진입 (IRES) 서열 또는 번역 인핸서 서열을 함유하는 변형된 5' 서열을 포함하도록 단백질 코딩 mRNA를 변형시킴으로써 달성될 수 있다. 상기 시스템에서, IRES 또는 번역 인핸서 서열은 관심 특이적 유전자를 코딩하는 cDNA의 5'에 *시스*로 배치된다. 이러한 방법은 2개의 시스템을 발현하는 벡터 구축을 위해, 및 과다발현된 유전자의 번역을 증진시키는 데 적용되어 왔다. 그러나, 내인적 발현 mRNA의 번역 상향 조절을 유도하는 것을 목표로 하는 경우에는 번역 증진의 *시스*-조절이 사용될 수 없다. 그러므로, 유전자 특이적 번역 상향 조절을 촉진시키고, 내인성 mRNA에 대해 작용하는 *트랜스*-조절 요소를 확인하는 것이 요구되고 있다. 비의존성 RNA 도메인으로서 작용하는 번역 상향 조절 *트랜스*-조절 요소 또한 요구되고 있다.
- [0008] 핵산 분자를 사용하여 생체내에서 유전자 발현을 조작하는 것은 최근 진료소에서의 잠재적 적용을 위해 큰 관심을 받고 있다. 지금까지의 대부분의 노력들은 siRNA, miRNA 및 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 독성 단백질을 하향 조절할 수 있는 능력에 집중되어져 왔다. 그러나, 다수의 질환들은 유전자량 감소에 의해 유발되며, 따라서, 단백질 생성물의 증가가 요구된다. 다수의 연구들은 전사 수준에서 문제에 접근하였지만, 번역을 증가시키기 위해 기능성 안티센스 RNA 분자 (SINEUP)를 사용하는 단 하나의 예가 존재한다 (Carrieri C., et al., Nature, 2012). SINEUP는 mRNA 수준에는 어떤 영향도 주지 않으면서, 부분적으로 중복되는 단백질-코딩 mRNA의 번역을 촉진시킬 수 있는 안티센스 긴 비-코딩 RNA이다. SINEUP 활성화는 두 기능성 도메인에 의존한다: 중복 영역, 또는 "결합 도메인"은 SINEUP 특이성을 좌우하는 반면, 임베딩된(embedded) 역위 SINEB2 요소는 "이펙터 도메인"으로서 작용하고, mRNA 번역 증진을 제어한다 (Zucchelli S., et al., Front Cell Neurosci 2015; Zucchelli S., et al., RNA Biol, 2015). 그의 모듈식 구조를 이용함으로써, 합성 SINEUP는 실제로 임의의 관심 표적 유전자의 번역을 특이적으로 증진시키도록 디자인될 수 있다 (Zucchelli S., et al., Front Cell Neurosci 2015; Zucchelli S., et al., RNA Biol, 2015; Indrieri A., et al., Scientific Reports, 2016; Gustincich S., et al., Prog Neurobiol, 2016; Zucchelli S., et al., Comput Struct Biotechnol J, 2016).
- [0009] EP2691522에는 SINEUP를 포함하는 기능성 핵산 분자가 개시되어 있다.
- [0010] SINEUP는 그의 잠재능에도 불구하고, 마우스 계놈으로부터 유래되고, 수용자 세포에서 역전위 (한 계놈 위치에서 또 다른 위치로의 이동)가 가능한 잠재능을 갖는 서열인, 임베딩된 SINE 요소의 번역 인핸서 활성화에 의존한다. 이는 불충분한 유전자량의 교정을 위해 번역 상향 조절을 포함하는 임의의 치료적 사용에는 해가 될 수 있을 것이다. 그러므로, 유전자 특이적 번역 상향 조절을 촉진시키고, 마우스 서열로부터 유래되지 않은 내인성 mRNA에 대해 작용하는 *트랜스*-조절 요소가 요구되고 있다. 유전자 특이적 번역 상향 조절을 촉진시키고, 전위 가능 요소로부터 유래되지 않은 *트랜스*-조절 요소 또한 요구되고 있다.
- [0011] EP2691522의 대부분의 기능성 핵산 분자들은 길이가 상당히 긴 편이다. RNA 분자의 수용자 세포로의 전달이 더욱 효율적으로 이루어질 수 있도록 하기 위해서는, 유전자 특이적 번역 상향 조절을 촉진시키고, 내인성 mRNA에 대해 작용하는, 더 짧은 *트랜스*-조절 요소의 확인이 요구되고 있다.
- [0012] EP2691522의 기능성 핵산 분자의 번역 증진 효과는 전형적으로 세포 유형에 따라 1.5-2.0배이다. 이러한 단백질 증가 수준은, 불충분 유전자량의 교정을 위해 인간에서 번역 상향 조절을 유도하고자 하는 것을 목표로 할 경우에는 불충분할 수 있다. 그러므로, 더 높은 수준의 유전자 특이적 번역 상향 조절을 촉진시키고, 내인성 mRNA에 대해 작용하는 *트랜스*-조절 요소를 확인하는 것이 요구되고 있다.
- 발명의 내용**
- [0013] 그러므로, 본 발명의 목적은 상기 언급된 문제들을 해소하고, 가능하게는 또한 증진된 기능을 갖는, 기능성 핵산 분자를 제공하는 것이다.
- [0014] 본 목적은 제1항에서 정의된 바와 같은 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자에 의해 달성된다.
- [0015] 본 발명의 다른 목적은 제10항에서 정의된 바와 같은 DNA 분자, 제11항에서 정의된 바와 같은 발현 벡터, 제12항에서 정의된 바와 같은 단백질 번역을 증진시키는 방법, 제13항에서 정의된 바와 같은 조성물 및 제14항 및 제15항에서 정의된 바와 같은 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자의 용도를 제공하는 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[0016]

도 1은 본 발명에 따른 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 2A는 선행 기술에 따른 기능성 핵산 분자 (SINEUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 2B는 각각 빈 대조군 플라스미드 (-), 전장의 SINEUP-DJ-1 (FL) 및 그의 결실 돌연변이체 ( $\Delta$ ED = 이펙터 도메인이 결실된 돌연변이체,  $\Delta$ BD = 결합 도메인이 결실된 돌연변이체)로 형질감염된 인간 배아 신장 293T/17 세포 (이하, HEK 293T/17 세포로도 지칭된다)의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 2C는 도 2B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 SINEUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 2D는 HEK 293T/17 세포 (N=5)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 전장의 SINEUP-DJ-1,  $\Delta$ ED 및  $\Delta$ BD 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.  $p < 0.05$ .

도 3은 DJ-1 mRNA를 표적화하는, 본 발명에 따른 일반 트랜스-작용 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 4는 IRES-함유 기능성 안티센스 핵산 분자의 번역 상향 조절 활성을 시험하기 위한 실험 절차의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 5A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, HCV IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 5B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (HCV(d)) 및 역배향 (HCV(i))으로 HCV IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 5C는 도 5B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 6A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 폴리오바이러스 IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 6B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (폴리오(d)) 및 역배향 (폴리오(i))으로 폴리오바이러스 IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 6C는 도 6B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 7A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 뇌심근염 바이러스 (EMCV) IRES 및 귀뚜라미 마비 바이러스 (CrPV) IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 7B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (EMCV(d)) 및 역배향 (EMCV(i))으로 EMCV IRES 및 정배향 (CrPV(d)) 및 역배향 (CrPV(i))으로 CrPV IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 7C는 도 7B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 8A 및 8B는 빈 벡터로 형질감염된 293T/17 세포 대비, 본 발명의 HCV(d) 및 HCV(i) IRUP, 폴리오(d) 및 폴리오(i) IRUP 및 EMCV(d), EMCV(i), CrPV(d) 및 CrPV(i) IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포에서의 DJ-1 단백질의 양 증가를 요약한 그래프를 보여주는 것이다.

도 9A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 인간 아폽토시스 웨티다제 활성화 인자 1 (Apaf-1) mRNA IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 9B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (Apaf-1(d)) 및 역배향 (Apaf-1(i))으로 Apaf-1 IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 9C는 도 9B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 10A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 인간 게놈 불안정 수준 증가 1(Enhanced Level of Genomic instability 1: ELG-1) mRNA IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 10B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (ELG-1(d)) 및 역배향 (ELG-1(i))으로 ELG-1 IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 10C는 도 10B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 11A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 인간 V-Myc 조류 골수세포증 바이러스 온코진 호몰로그 (cMYC) mRNA IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 11B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (cMYC(d)) 및 역배향 (cMYC(i))으로 cMYC IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 11C는 도 11B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 12A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 도 11A 내지 11C의 인간 V-Myc 조류 골수세포증 바이러스 온코진 호몰로그 (cMYC) mRNA IRES의 더 짧은 버전을 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 12B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (cMYC(d)) 및 역배향 (cMYC(i))으로 cMYC IRES (짧은 변이체)를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 12C는 도 12B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 13A는 DJ-1 유전자를 표적화하고, 인간 디스트로핀 (DMD) mRNA IRES를 포함하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자 (IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 13B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (DMD(d)) 및 역배향 (DMD(i))으로 DMD IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 13C는 도 13B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 14A 및 14B는 빈 벡터로 형질감염된 293T/17 세포 대비, 본 발명의 Apaf-1(d) 및 Apaf-1(i) IRUP, ELG-1(d) 및 ELG-1(i) IRUP, cMYC(d) 짧은 버전 및 cMYC(i) 짧은 버전 IRUP, DMD(d) 및 DMD(i) IRUP, 및 cMYC(d) 긴 버전 및 cMYC(i) 긴 버전 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포에서의 DJ-1 단백질의 양 증가를 요약한 그래프를 보여주는 것이다.

도 15A-15D는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 HCV IRES 서열, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 폴리오 및 cMYC IRES 서열, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 Apaf-1 및 ELG-1 IRES 서열, 및 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 DMD IRES 서열을 포함하는 IRUP로 형질감염된 인간 간세포 암종 (HepG2) 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 16A 및 16B는 빈 벡터로 형질감염된 HepG2 세포 대비, 본 발명의 HCV(d) 및 HCV(i) IRUP, 폴리오(d) 및 폴리오(i) IRUP, cMYC(d) 짧은 버전 및 cMYC(i) 짧은 버전 IRUP, Apaf-1(d) 및 Apaf-1(i) IRUP, ELG-1(d) 및 ELG-1(i) IRUP, 및 DMD(d) 및 DMD(i) IRUP로 형질감염된 HepG2 세포에서의 DJ-1 단백질의 양 증가를 요약한 그래프를 보여주는 것이다.

도 17A는 DJ-1 유전자를 표적화하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자의 소형 버전 (미니IRUP)의 개략적 다이

어그램을 보여주는 것이다.

도 17B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (HCV(d))으로 HCV IRES, 정배향 (폴리오(d))및 역배향 (폴리오(i))으로 폴리오바이러스 IRES, 및 정배향 (cMYC 짧은 것(d))으로 cMYC 짧은 버전 IRES를 포함하는 미니IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 17C는 도 17B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 17D는 HEK 293T/17 세포 (N=6)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 및 미니-IRUP 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.

도 18A는 DJ-1 유전자를 표적화하는, 본 발명에 따른 기능성 핵산 분자의 소형 버전 (미니IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 도 17A-17D의 미니IRUP와 관련하여, IRES-함유 기능성 핵산 서열은 상이한 프로모터의 제어하에서 클로닝된다.

도 18B는 각각, 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 정배향 (HCV(d))으로 HCV IRES, 정배향 (폴리오(d))및 역배향 (폴리오(i))으로 폴리오바이러스 IRES, 및 정배향으로 cMYC 짧은 버전 IRES를 포함하는 미니IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 18C는 도 18B에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 18D는 HEK 293T/17 세포 (N=6)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 및 미니-IRUP 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.

도 19A는 포유동물 세포에서의 기능성 핵산 분자 및 관심 유전자의 공동 발현을 위한 pDUAL-GFP 플라스미드의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 19B는 각각 도 19A에 제시된 빈 대조군 플라스미드, SINE-함유 (SINE) 또는 IRES-함유 (IRES) 미니-기능성 핵산 분자로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 19C는 도 19A의 구축물로 형질감염된 HEK 293T/17 세포에서의 과다발현된 GFP mRNA의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 19D는 기능성 핵산 SINE 또는 IRES RNA의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 20A는 이펙터 도메인이 SINE 또는 HCV IRES 서열로 제시되어 있는, GFP 표적화 기능성 핵산 분자를 포함하는 pDUAL-GFP 플라스미드의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.

도 20B는 각각 도 20A에 제시된 빈 대조군 플라스미드, SINE-함유 (SINE) 또는 IRES-함유 (IRES) 미니-기능성 핵산 분자로 형질감염된 인간 신경모세포종 Neuro2a 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 21은 HCV IRES RNA 2차 구조를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다.

도 22A는 각각 빈 대조군 플라스미드, SINEUP-DJ-1, 및 WT HCV IRES 및 M2 및 M5 돌연변이화된 HCV IRES를 포함하는 IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯의 결과를 보여주는 것이다.

도 22B는 도 22A에서의 것과 같은 샘플에 대해 수행된 내인성 DJ-1 mRNA (상단 패널) 및 IRUP RNA (하단 패널)의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 22C는 HEK 293T/17 세포 (N=7)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 및 IRUP 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.

도 23A는 IRES 서열의 5' 및 IRES-함유 세포 mRNA 내의 서열이 어떻게 결합 도메인으로서 간주될 수 있는지를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다.

도 23B는 cMYC mRNA 참조 서열 (NM\_002467) 내의 기능성 핵산 서열 요소를 보여주는 것이다. 결합 도메인 (검은색), IRES 서열 (진한 회색), 코딩 서열 또는 CDS (열은 회색) 및 3' 비번역 영역 (흰색)이 제시되어 있다.

도 23C는 부분적으로 중복되는, 안티센스 배향의, 표적 mRNA 단백질-코딩 서열을 확인하기 위해 질의 서열로서

c-MYC mRNA를 이용한 생물정보학 분석 (BLAST)의 결과를 보여주는 것이다.

도 24A는 MYC의 전장의 mRNA (cMYC-FL)를 코딩하는 포유동물 발현 플라스미드를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다.

도 24B는 항-JAG2, 항-DYRK2, 항-LYS, 항-UBE3A, 항-NRF1 항체를 이용한, 포유동물 SAOS 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯을 보여주는 것이다.

도 24C 및 24D는 내인성 JAG2, DYRK2, LIS1, UBE3A, NRF1 및 cMYC mRNA의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

도 24E는 cMyc 전장의 mRNA의 평균 수준을 보여주는 것이다.

도 25A는 MYC의 전장의 mRNA (cMYC-FL), 또는 cMYC DNA 결합 도메인이 결합되고 (델타C), 5'UTR 단독 (5'UTR) 도메인으로 또는 IRES 단독 (IRES) 도메인으로 구성된 변이체를 코딩하는 포유동물 발현 플라스미드를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다.

도 25B는 항-JAG2, 항-DYRK2, 항-LYS, 항-UBE3A, 항-NRF1 항체를 이용한, 포유동물 SAOS 세포의 용해물에 대해 수행된 웨스턴 블롯을 보여주는 것이다.

도 25C는 내인성 JAG2, DYRK2, LIS1, UBE3A, NRF1 및 cMYC mRNA의 발현을 정량화하는 qRT-PCR의 결과를 보여주는 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 정의

[0018] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 비록 본 발명의 실시 또는 시험에서 본원에 기술된 것과 유사 또는 등가인 다수의 방법 및 물질이 사용될 수는 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 하기에 기술된다. 달리 언급되지 않는 한, 본 발명과 함께 사용하기 위한 것으로 본원에 기재된 기술은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 표준 방법이다.

[0019] "내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열"이라는 용어는 예컨대, 그의 기능적 활성, 즉, 번역 증진 활성을 유지시키기 위해, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열과 상동성을 갖는 핵산의 서열인 것으로 의도된다. 특히, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열은 유전자 조작 또는 화학적 변형에 의해, 예컨대, 기능성을 그대로 유지하는 IRES 서열의 특정 서열을 단리시킴으로써, 또는 IRES 서열 중 하나 이상의 뉴클레오타이드를 돌연변이화/결실/도입함으로써, 또는 IRES 서열 중 하나 이상의 뉴클레오타이드를 구조적으로 변형된 뉴클레오타이드 또는 유사체로 대체함으로써 자연적으로 발생된 IRES 서열로부터 수득될 수 있다. 더욱 특히, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열은 비시스트론성 구축물에서 제2 시스트론의 번역을 촉진시킬 수 있는 뉴클레오타이드 서열이라는 것을 관련 기술분야의 통상의 기술자는 알고 있을 것이다. 전형적으로, 이중 루시페라제 (반딧불이 (Firefly) 루시페라제, 레닐라(Renilla) 루시페라제) 코딩 플라스미드가 실험 시험을 위해 사용된다. 최근 인간 게놈으로부터 서열을 IRES로서 작용할 수 있는 그의 능력에 대해 조사하는 데 이중 리포터 또는 비시스트론성 플라스미드 기반의 대규모 스크리닝이 사용되고 있다 (Weingarten-Gabbay S, et al., Science. 2016, 351:6270). 이중 리포터 또는 비시스트론성 검정을 이용하여, 실험에 의해 IRES인 것으로 입증된 뉴클레오타이드 서열에 주석을 달기 위한 것으로 주요 데이터베이스, 즉, IRESite가 존재한다 ([http://iresite.org/IRESite\\_web.php](http://iresite.org/IRESite_web.php)). IRESite 내에서, 관심 질의 서열과, 데이터베이스 내의 주석이 달리고, 실험에 의해 입증된 IRES 서열 전체 사이의, 서열 기반 및 구조 기반 유사성에 대해 검색하는 데 웹-기반 도구가 이용가능하다 ([http://iresite.org/IRESite\\_web.php?page=search](http://iresite.org/IRESite_web.php?page=search)). 상기 프로그램의 출력값은 비시스트론성 구축물을 이용하는 입증 실험에서 IRES로서 작용할 수 있는 임의의 뉴클레오타이드 서열에 대한 확률 점수이다. 추가의 서열 기반 및 구조 기반의 웹 기반 브라우징은 수적 예측 값을 이용하여 임의의 주어진 뉴클레오타이드 서열의 IRES 활성 잠재능을 제안하는 데 이용가능하다 (<http://rna.informatik.uni-freiburg.de/>; <http://regrna.mbc.nctu.edu.tw/index1.php>).

[0020] 본 발명의 상세한 설명

[0021] 도 1을 참조하면, 본 발명의 트랜스-작용 기능성 핵산 분자 (이는 또한 하기에서 "IRUP"로 지칭된다)는 표적 결합 서열 (이는 또한 "결합 도메인"으로 지칭된다) 및 조절 서열 (이는 또한 "이펙터 도메인"으로 지칭된다)을

포함한다.

- [0022] 표적 결합 서열은, 단백질 번역을 증진시킬 진핵성 표적 mRNA 서열에 역 상보적인 서열을 포함한다.
- [0023] 진핵성 표적 mRNA 서열은 바람직하게, 동물 또는 인간 표적 mRNA 서열, 더욱 바람직하게, 인간 표적 mRNA 서열이다.
- [0024] 조절 서열은 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열 또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열을 포함하고, 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시킨다.
- [0025] 조절 서열은 표적 결합 서열의 3'에 위치한다.
- [0026] 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 표적 결합 서열을 통해 표적 mRNA 서열에 하이브리드화하고, IRES 또는 IRES 유래 서열은 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시킨다.
- [0027] 본 발명의 기능성 핵산 분자는 실제로 임의의 세포 내인성 또는 과다발현된 단백질-코딩 mRNA의 번역의 유전자 특이적 증가를 위해 트랜스-조절 요소로서 IRES 서열을 사용할 수 있게 한다.
- [0028] 바람직하게, 표적 결합 서열은 3'에서 5' 방향으로 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 1 내지 50개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 1 내지 40개의 뉴클레오타이드에 역 상보적인 서열로 이루어진다. 구체적인 비제한적 예는
- [0029] - 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 40개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 4개의 뉴클레오타이드 (개시 메티오닌 코돈 또는 내부 프레임내 메티오닌 코돈으로 지칭된다)에 역 상보적인 서열;
- [0030] - 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 40개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 32개의 뉴클레오타이드에 역 상보적인 서열;
- [0031] - 표적 mRNA 서열의, 5' 비번역 영역 (5' UTR)의 14개의 뉴클레오타이드 및 코딩 서열 (CDS)의 4개의 뉴클레오타이드 (개시 메티오닌 코돈으로 지칭된다)에 역 상보적인 서열로 이루어진 표적 결합 서열을 포함한다.
- [0032] 조절 서열은 바람직하게, 인간 바이러스 또는 인간 단백질-코딩 유전자로부터 유래된 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 포함한다. 48 내지 576개의 뉴클레오타이드 범위의 서열을 갖는 수개의 IRES, 예컨대, 인간 C형 간염 바이러스 (HCV) IRES (서열식별번호(SEQ ID NO:) 36 및 서열식별번호 37), 인간 폴리오바이러스 IRES (서열식별번호 38 및 서열식별번호 39), 인간 뇌심근염 (EMCV) 바이러스 (서열식별번호 40 및 서열식별번호 41), 인간 귀뚜라미 마비 (CrPV) 바이러스 (서열식별번호 42 및 서열식별번호 43), 인간 Apaf-1 (서열식별번호 44 및 서열식별번호 45), 인간 ELG-1 (서열식별번호 46 및 서열식별번호 47), 인간 c-MYC (서열식별번호 48, 서열식별번호 49, 서열식별번호 50, 및 서열식별번호 51), 인간 디스트로핀 (DMD) (서열식별번호 52 및 서열식별번호 53)이 성공적으로 시험되었다. 더 상세한 설명은 실시예 섹션에서 살펴볼 수 있다. 번역 증진 활성화에 중요한, IRES의 구조적 요소를 코딩하는 서열을 확인하고, 단리시키고, 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 조절 서열로서 사용하였다.
- [0033] 정의에서 이미 언급된 바와 같이, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 유래 서열은 유전적으로 조작된 또는 화학적으로 변형된 IRES를 포함할 수 있다.
- [0034] 화학적 변형은 하기를 포함하나, 이에 제한되지 않는다:
- [0035] 염기 변형: 슈도우리딘; 5'-브로모-우리딘; 5'-메틸시티딘.
- [0036] 당 변형 (2' 변형): 2'-O-메틸- (2'-O-Me); 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE); 잠금형 핵산 (LNA).
- [0037] 백본 변형 (포스페이트 백본 변형): 포스포로티오에이트 (PS); 포스포트리에스테르.
- [0038] 기타 (세포 유형 특이적인 표적화 도메인): GaINAc 연결 (간세포).
- [0039] 비록 IRES 서열 또는 IRES 유래 서열이 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 또는 역배향으로 - 트랜스-작용 기능성 핵산 분자에서 - 삽입되었는지와는 상관없이 기능성이지만, 정배향으로 배향되어 있는 것이 바람직하다. 다시 말해, "정배향"이란, IRES 서열이 기능성 핵산 분자와 동일한 5'에서 3' 배향으로 임베딩 (삽입)되어 있는 상황인 것으로 의도된다. 대신, "역배향"이란, IRES 서열의 역상보체가 핵산 분자에 삽입되어 있는 (IRES 서열이 기능성 핵산 분자 기준으로 3'에서 5'로 배향되어 있는) 상황인 것으로 의도된다.
- [0040] 바람직하게, IRES 서열 또는 IRES 유래 서열은 서열식별번호 36 내지 서열식별번호 65로 이루어진 군으로부터

선택되는 서열과 75%의 상동성을 갖는 서열, 더욱 바람직하게, 서열식별번호 36 내지 서열식별번호 65로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 90%의 상동성을 갖는 서열, 더욱더 바람직하게, 서열식별번호 36 내지 서열식별번호 65로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열이다.

[0041] 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 바람직하게, RNA 분자 또는 변형된 RNA 분자이다. 변형의 예로는 하기의 것이 있다:

[0042] 염기 변형: 슈도우리딘; 5'-브로모-우리딘; 5'-메틸시티딘.

[0043] 당 변형 (2' 변형): 2'-O-메틸- (2'-O-Me); 2'-O-메톡시에틸 (2'-MOE); 잠금형 핵산 (LNA).

[0044] 백본 변형 (포스페이트 백본 변형): 포스포로티오에이트 (PS); 포스포트리에스테르.

[0045] 기타 (세포 유형 특이적인 표적화 도메인): GalNAc 연결 (간세포).

[0046] 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 바람직하게, 표적 결합 서열과 조절 서열 사이에 스페이서 서열을 추가로 포함한다.

[0047] 추가로, 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 임의적으로, 예컨대, 적절한 플라스미드로 분자를 클로닝하는 데 유용한 제한 부위를 포함하는 비-코딩 3' 테일 서열을 포함한다.

[0048] 본 발명에 따라 수개의 트랜스-작용 기능성 핵산 분자가 생성되었다.

[0049] 상기 분자 중 일부의 특징이 하기에 요약되어 있다 (BD= 결합 도메인; 괄호 안의 넘버링은 AUG 트리플렛, A+1을 기준으로 한 것이다).

#### [0050] 서열식별번호 1

[0051] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자

[0052] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV, 383개의 뉴클레오티드, 정배향

[0053] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)

[0054] ED= IRES HCV (383 ntds) (서열식별번호 36)

[0055] 백본= 델타5'ASUch11

[0056] IRES 배향: 정배향.

#### [0057] 서열식별번호 2

[0058] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자

[0059] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV, 383개의 뉴클레오티드, 역배향

[0060] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)

[0061] ED= IRES HCV (383 ntds) (서열식별번호 37)

[0062] 백본= 델타5'ASUch11

[0063] IRES 배향: 역배향 (역상보체).

#### [0064] 서열식별번호 3

[0065] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자

[0066] IRES: 바이러스 IRES, 인간 폴리오바이러스, 312개의 뉴클레오티드, 정배향

[0067] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)

[0068] ED= IRES 폴리오바이러스 (312 ntds) (서열식별번호 38)

[0069] 백본= 델타5'ASUch11

[0070] IRES 배향: 정배향.

- [0071] **서열식별번호 4**
- [0072] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0073] IRES: 바이러스 IRES, 인간 폴리오바이러스, 312개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0074] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0075] ED= IRES 폴리오바이러스 (312 ntds) (서열식별번호 39)
- [0076] 백본= 델타5'ASUch11
- [0077] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0078] **서열식별번호 5**
- [0079] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0080] IRES: 바이러스 IRES, 인간 뇌심근염 바이러스, EMCV-R, 576개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0081] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0082] ED= IRES EMCV-R (576 ntds) (서열식별번호 40)
- [0083] 백본= 델타5'ASUch11
- [0084] IRES 배향: 정배향.
- [0085] **서열식별번호 6**
- [0086] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0087] IRES: 바이러스 IRES, 인간 뇌심근염 바이러스, EMCV-R, 576개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0088] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0089] ED= IRES EMCV-R (576 ntds) (서열식별번호 41)
- [0090] 백본= 델타5'ASUch11
- [0091] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0092] **서열식별번호 7**
- [0093] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0094] IRES: 바이러스 IRES, 인간 귀뚜라미 마비 바이러스, CrPV, 192개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0095] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0096] ED= IRES CrPV (192 ntds) (서열식별번호 42)
- [0097] 백본= 델타5'ASUch11
- [0098] IRES 배향: 정배향.
- [0099] **서열식별번호 8**
- [0100] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0101] IRES: 바이러스 IRES, 인간 귀뚜라미 마비 바이러스, CrPV, 192개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0102] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0103] ED= IRES CrPV (192 ntds) (서열식별번호 43)
- [0104] 백본= 델타5'ASUch11
- [0105] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0106] **서열식별번호 9**

- [0107] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0108] IRES: 세포 IRES, 인간 Apaf-1, 231개의 뉴클레오타이드, 정배향
- [0109] (Ensembl: ENSG00000120868; MIM:602233)
- [0110] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0111] ED= IRES Apaf-1 (231 ntds) (서열식별번호 44)
- [0112] 백본= 델타5'ASUch11
- [0113] IRES 배향: 정배향.
- [0114] **서열식별번호 10**
- [0115] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0116] IRES: 세포 IRES, 인간 Apaf-1, 231개의 뉴클레오타이드, 역배향
- [0117] (Ensembl: ENSG00000120868; MIM:602233)
- [0118] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0119] ED= IRES Apaf-1 (231 ntds) (서열식별번호 45)
- [0120] 백본= 델타5'ASUch11
- [0121] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0122] **서열식별번호 11**
- [0123] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0124] IRES: 세포 IRES, 인간 ELG-1, 460개의 뉴클레오타이드, 정배향
- [0125] (Ensembl: ENSG00000176208; MIM:609534)
- [0126] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0127] ED= IRES ELG-1 (460 ntds) (서열식별번호 46)
- [0128] 백본= 델타5'ASUch11
- [0129] IRES 배향: 정배향.
- [0130] **서열식별번호 12**
- [0131] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0132] IRES: 세포 IRES, 인간 ELG-1, 460개의 뉴클레오타이드, 역배향
- [0133] (Ensembl: ENSG00000176208; MIM:609534)
- [0134] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0135] ED= IRES ELG-1 (460 ntds) (서열식별번호 47)
- [0136] 백본= 델타5'ASUch11
- [0137] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0138] **서열식별번호 13**
- [0139] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0140] IRES: 세포 IRES, 인간 c-MYC, 395개의 뉴클레오타이드, 정배향
- [0141] (Ensembl: ENSG00000136997; MIM:190080)
- [0142] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)

- [0143] ED= IRES c-MYC 전장의 (395 nts) (서열식별번호 48)
- [0144] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0145] IRES 배향: 정배향
- [0146] 기타: 서열식별번호 15에 포함된 48 nt 최소 서열 (서열식별번호 50) 포함.
- [0147] **서열식별번호 14**
- [0148] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0149] IRES: 세포 IRES, 인간 c-MYC, 395개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0150] (Ensembl: ENSG00000136997; MIM:190080)
- [0151] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0152] ED= IRES c-MYC 전장의 (395 nts) (서열식별번호 49)
- [0153] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0154] IRES 배향: 역배향 (역상보체)
- [0155] 기타: 서열식별번호 16에 포함된 48 nt 최소 서열 (서열식별번호 51) 포함.
- [0156] **서열식별번호 15**
- [0157] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0158] IRES: 세포 IRES, 인간 c-MYC, 48개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0159] (Ensembl: ENSG00000136997; MIM:190080)
- [0160] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0161] ED= IRES c-MYC (48 nts) (서열식별번호 50)
- [0162] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0163] IRES 배향: 정배향.
- [0164] **서열식별번호 16**
- [0165] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0166] IRES: 세포 IRES, 인간 c-MYC, 48개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0167] (Ensembl: ENSG00000136997; MIM:190080)
- [0168] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0169] ED= IRES c-MYC (48 nts) (서열식별번호 51)
- [0170] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0171] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0172] **서열식별번호 17**
- [0173] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0174] IRES: 세포 IRES, 인간 디스트로핀 (DMD), 71개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0175] (Ensembl: ENSG00000198947; MIM:300377)
- [0176] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0177] ED= IRES DMD (71 nts) (서열식별번호 52)
- [0178] 백본= 텔타5'ASUch11

- [0179] IRES 배향: 정배향.
- [0180] **서열식별번호 18**
- [0181] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0182] IRES: 세포 IRES, 인간 디스트로핀 (DMD), 71개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0183] (Ensembl: ENSG00000198947; MIM:300377)
- [0184] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0185] ED= IRES DMD (71 ntds) (서열식별번호 53)
- [0186] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0187] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0188] **서열식별번호 19**
- [0189] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0190] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#1, 303개의 뉴클레오티드, 텔타 II (40-119), 리보솜 단백질과 상호작용
- [0191] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0192] ED= HCV IRES 정배향, 텔타II (서열식별번호 54)
- [0193] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0194] 돌연변이체#1: 텔타 II (40-119), 리보솜 단백질과 상호작용.
- [0195] **서열식별번호 20**
- [0196] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0197] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#2, 367개의 뉴클레오티드, 텔타 IIIa (156-171), eIF3 결합 부위
- [0198] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0199] ED= HCV IRES 정배향, 텔타IIIa (서열식별번호 55)
- [0200] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0201] 돌연변이체#2: 텔타 IIIa (156-171), eIF3 결합 부위.
- [0202] **서열식별번호 21**
- [0203] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0204] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#3, 356개의 뉴클레오티드, 텔타 IIId (253-279), 18S rRNA 결합 영역
- [0205] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0206] ED= HCV IRES 정배향, 텔타IIId (서열식별번호 56)
- [0207] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0208] 돌연변이체#3: 텔타 IIId (253-279), 18S rRNA 결합 영역.
- [0209] **서열식별번호 22**
- [0210] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0211] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#4, 330개의 뉴클레오티드, 텔타 IV (331-383), AUG-함유 말단 서열

- [0212] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0213] ED= HCV IRES 정배향, 델타IV (서열식별번호 57)
- [0214] 백본= 델타5'ASUch11
- [0215] 돌연변이체#4: 델타 IV (331-383), AUG-함유 말단 서열.
- [0216] **서열식별번호 23**
- [0217] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0218] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#5, 383개의 뉴클레오티드, G266→C; 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉
- [0219] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0220] ED= HCV IRES 정배향, G266→C (서열식별번호 58)
- [0221] 백본= 델타5'ASUch11
- [0222] 돌연변이체#5: G266→C; 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉.
- [0223] **서열식별번호 24**
- [0224] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0225] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#6, 383개의 뉴클레오티드, U228→C; HCV IRES의 또 다른 부위에서 단일 점 돌연변이 제어, 전사 개시전 복합체 형성을 파괴하지 않으면서, IRES 활성을 감소시킴
- [0226] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0227] ED= HCV IRES 정배향, U228→C (서열식별번호 59)
- [0228] 백본= 델타5'ASUch11
- [0229] 돌연변이체#6: U228→C; HCV IRES의 또 다른 부위에서 단일 점 돌연변이 제어, 전사 개시전 복합체 형성을 파괴하지 않으면서, IRES 활성을 감소시킴. 돌연변이화된 버전은 eIF3에 대하여 감소된 친화성을 갖는다.
- [0230] **서열식별번호 25**
- [0231] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0232] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#7, 383개의 뉴클레오티드, G267→C; IIId 루프, 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉
- [0233] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0234] ED= HCV IRES 정배향, G267→C (서열식별번호 60)
- [0235] 백본= 델타5'ASUch11
- [0236] 돌연변이체#7: G267→C; IIId 루프, 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉.
- [0237] **서열식별번호 26**
- [0238] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0239] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#8, 383개의 뉴클레오티드, G268→C; IIId 루프, 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉
- [0240] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0241] ED= HCV IRES 정배향, G268→C (서열식별번호 61)
- [0242] 백본= 델타5'ASUch11

- [0243] 돌연변이체#8: G268→C; IIId 루프, 단일 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉.
- [0244] **서열식별번호 27**
- [0245] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0246] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#9, 383 뉴클레오티드,  $G_{266}G_{267}G_{268} \rightarrow C_{266}C_{267}C_{268}$ ; IIId 루프, 삼중 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉
- [0247] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0248] ED= HCV IRES 정배향,  $G_{266}G_{267}G_{268} \rightarrow C_{266}C_{267}C_{268}$  (서열식별번호 62)
- [0249] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0250] 돌연변이체#9:  $G_{266}G_{267}G_{268} \rightarrow C_{266}C_{267}C_{268}$ ; IIId 루프, 삼중 점 돌연변이, 18S rRNA와 접촉.
- [0251] **서열식별번호 28**
- [0252] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0253] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#10, 383개의 뉴클레오티드,  $G_{266} \rightarrow A/G_{268} \rightarrow T$ ; 이중 점 돌연변이체; 감염력이 부족한 HCV 5a 분리주
- [0254] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0255] ED= HCV IRES 정배향,  $G_{266} \rightarrow A/G_{268} \rightarrow T$  (서열식별번호 63)
- [0256] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0257] 돌연변이체#10:  $G_{266} \rightarrow A/G_{268} \rightarrow T$ ; 이중 점 돌연변이체; 감염력이 부족한 HCV 5a 분리주.
- [0258] **서열식별번호 29**
- [0259] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0260] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#11, 383개의 뉴클레오티드,  $IIIa \rightarrow IIIa\text{-comp}$ ; AGTA→TCAT
- [0261] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0262] ED= HCV IRES 정배향,  $IIIa \rightarrow IIIa\text{-comp}$ ; AGTA→TCAT (서열식별번호 64)
- [0263] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0264] 돌연변이체#11: HCV IRES 정배향,  $IIIa \rightarrow IIIa\text{-comp}$ ; AGTA→TCAT).
- [0265] **서열식별번호 30**
- [0266] 정의: IRUP 기능성 핵산 분자
- [0267] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV 돌연변이체#12, 383개의 뉴클레오티드,  $IIe \rightarrow IIIe\text{-comp}$ ; TGATAG→ACTATC
- [0268] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0269] ED= HCV IRES 정배향,  $IIIe \rightarrow IIIe\text{-comp}$ ; TGATAG→ACTATC (서열식별번호 65)
- [0270] 백본= 텔타5'ASUch11
- [0271] 돌연변이체#12: HCV IRES 정배향,  $IIIe \rightarrow IIIe\text{-comp}$ ; TGATAG→ACTATC.
- [0272] **서열식별번호 31**
- [0273] 정의: 미니IRUP 기능성 핵산 분자
- [0274] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV, 383개의 뉴클레오티드, 정배향

- [0275] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0276] ED= IRES HCV (383 ntds) (서열식별번호 36)
- [0277] IRES 배향: 정배향.
- [0278] **서열식별번호 32**
- [0279] 정의: 미니IRUP 기능성 핵산 분자
- [0280] IRES: 바이러스 IRES, 인간 폴리오바이러스, 312개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0281] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0282] ED= IRES 폴리오바이러스 (312 ntds) (서열식별번호 38)
- [0283] IRES 배향: 정배향.
- [0284] **서열식별번호 33**
- [0285] 정의: 미니IRUP 기능성 핵산 분자
- [0286] IRES: 바이러스 IRES, 인간 폴리오바이러스, 312개의 뉴클레오티드, 역배향
- [0287] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0288] ED= IRES 폴리오바이러스 (312 ntds) (서열식별번호 39)
- [0289] IRES 배향: 역배향 (역상보체).
- [0290] **서열식별번호 34**
- [0291] 정의: 미니IRUP 기능성 핵산 분자
- [0292] IRES: 세포 IRES, 인간 c-MYC, 48개의 뉴클레오티드, 정배향)(Ensembl: ENSG00000136997; MIM:190080)
- [0293] 특징: BD= DJ-1s (-40/+4)
- [0294] ED= IRES c-MYC (48 ntds) (서열식별번호 50)
- [0295] IRES 배향: 정배향.
- [0296] **서열식별번호 35**
- [0297] 정의: 미니IRUP 기능성 핵산 분자
- [0298] IRES: 바이러스 IRES, 인간 C형 간염 바이러스, HCV, 383개의 뉴클레오티드, 정배향
- [0299] 특징: BD= GFP (-40/+32)
- [0300] ED= IRES HCV (383 ntds) (서열식별번호 36)
- [0301] IRES 배향: 정배향.
- [0302] 본 발명에 따른 DNA 분자는 상기 개시된 트랜스-작용 기능성 핵산 분자 중 임의의 것을 코딩한다.
- [0303] 본 발명에 따른 발현 벡터는 상기 언급된 DNA 분자를 포함한다. 특히, 하기 플라스미드는 기능성 핵산 분자의 효율적인 발현을 위해 사용되었다.
- [0304] **포유동물 발현 플라스미드:**
- [0305] 플라스미드 명칭: pCS2+
- [0306] 발현: CMVie92 프로모터
- [0307] SV40폴리A 종결인자
- [0308] 플라스미드 명칭: pCDN3.1 (-)
- [0309] 발현: CMV 프로모터

- [0310] BGH 종결인자
- [0311] 플라스미드 명칭: **pDUAL-eGFP $\Delta$**  (peGFP-C1로부터 변형)
- [0312] 발현: H1 프로모터; CMV 프로모터
- [0313] BGH 종결인자; SV40 종결인자.
- [0314] **바이러스 벡터:**
- [0315] 벡터 명칭: **pAAV**
- [0316] 바이러스: 아데노 연관 바이러스
- [0317] 발현: CAG 프로모터/CMV 인핸서
- [0318] SV40폴리A 종결인자
- [0319] 벡터 명칭: **pLVX-TetOne-Puro**
- [0320] 바이러스: 렌티바이러스
- [0321] 발현: TRE3G 프로모터 (유도가능한 발현)
- [0322] SV40폴리A 종결인자.
- [0323] 수행된 실험은 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자의 기능이 사용된 플라스미드에 의해 영향을 받지 않는다는 점을 강조하였다는 것에 주의하여야 한다.
- [0324] 본 발명에 따른 단백질 번역을 증진시키는 방법은 상기 개시된 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자 또는 DNA 분자 또는 발현 벡터로 세포를 형질감염시키는 단계를 포함한다.
- [0325] 본 발명에 따른 조성물은 상기 개시된 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자 또는 DNA 분자 또는 발현 벡터를 포함한다. *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자는, 임의적으로는 RNA 안정성을 증가시키기 위해 적합화된 변형을 포함하는 RNA인 네이키드 RNA로서 전달될 수 있다. 대안으로, *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자는 지질 기반 나노입자 어레이에 캡슐화된 시험관내에서 전사된 RNA, 또는 엑소좀 기반 입자에 캡슐화된 시험관내에서 전사된 RNA일 수 있다.
- [0326] 상기 개시된 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자 또는 DNA 분자 또는 발현 벡터는 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시키는 데 사용될 수 있다. 실시예에서는 2개의 상이한 표적 mRNA 서열, PARK7/DJ-1 (이는 또한 DJ-1로도 지칭된다) 및 GFP의 번역의 증진을 보여주지만, mRNA 수준에는 영향을 주지 않으면서, 임의의 다른 mRNA 서열을 성공적으로 표적화할 수 있다.
- [0327] IRUP는 관심 유전자 그 자신의 mRNA 양에는 어떤 영향도 미치지 않으면서, 관심 유전자의 번역을 증진시킬 수 있다는 점에 주의하여야 한다.
- [0328] 그러므로, 상기 개시된 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자 또는 DNA 분자 또는 발현 벡터는 세포에서 유전자 기능을 입증할 뿐만 아니라, 재조합 단백질 제조의 파이프라인을 시행하기 위한 분자 도구로서 성공적으로 사용될 수 있다.
- [0329] 상기 개시된 *트랜스*-작용 기능성 핵산 분자 또는 DNA 분자 또는 발현 벡터는 단백질-코딩 mRNA의 하향 조절에 의해 유발되는 유전성 질환, 또는 특정 단백질-코딩 mRNA의 수준 감소가 유해한 산발성 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 하기의 것은 상기 질환의 예이다. 단배수결손은, 정상 표현형이 두 대립유전자 모두의 단백질 생성물을 필요로 하고, 유전자 기능의 50% 이상 감소가 비정상적인 표현형을 초래할 때에 유발되는 병태이다. 이는 특정 유형의 암, 운동 실조증, 및 발생 프로그램 부전에 기인하는 질환을 비롯한, 매우 다양한 질환의 원인이 된다. 다수의 희귀 질환은 유전자량을 감소시키는 돌연변이 또는 미세결실에 의해 유발된다. 전사 인자, 시냅스 단백질 및 크로마틴 리모델링 효소가 유전자량에 특히 민감한 것으로 보인다. 유전자 발현 감소 또한 노화 동안에 관찰될 수 있다.
- [0330] 실시예
- [0331] 실시예 1

- [0332] 도 2는 안티센스 긴 비-코딩 RNA (lncRNA) 표적화 내인성 인간 DJ-1 mRNA의 번역 상향 조절 기능을 위해서는 임베딩된 이펙터 도메인 (ED)이 요구된다는 것을 보여주는 것이다.
- [0333] 도 2A는 표적 특이적인 mRNA의 번역을 상향 조절하는 기능성 안티센스 lncRNA 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. SINE B2 패밀리의 임베딩된 뮤린 전위가능 요소를 사용하는 원래의 분자가 표시되어 있다 (SINEUP). SINEUP 기능성 도메인은 강조표시되어 있다: SINEUP 결합 도메인 (BD): 센스 단백질-코딩 mRNA에 대해 안티센스 배향으로 중복되는 SINEUP 서열; SINEUP 이펙터 도메인 (ED): 단백질 합성의 활성화를 부여하는, SINEUP의 비-중복부 중의 역위 SINEB2 요소 (SINE). 센스 및 안티센스 RNA 분자는 5'에서 3' 배향으로 제시되어 있다. 표적-특이적 mRNA는 5' 비번역 영역 (5'UTR), 코딩 서열 (CDS) 및 3' 비번역 영역 (3'UTR)을 포함한다. 번역 개시 AUG 코돈 또한 제시되어 있다.
- [0334] 내인성 인간 DJ-1 mRNA를 표적화하도록 합성 SINEUP를 디자인하였다 (SINEUP-DJ-1). 결합 도메인 ( $\Delta$ BD) 또는 이펙터 도메인 ( $\Delta$ ED)이 결여된 SINEUP-DJ-1 돌연변이체를 생성하였다. SINEUP-DJ-1 전장 (FL) 또는 그의 결실 돌연변이체 ( $\Delta$ ED = 이펙터 도메인이 결실된 돌연변이체,  $\Delta$ BD = 결합 도메인이 결실된 돌연변이체)를 코딩하는 플라스미드로 인간 배아 신장 (HEK) 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 빈 대조군 플라스미드 (-)로 대조군 세포를 형질감염시켰다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 2B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다.
- [0335] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 SINEUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 2C). 데이터는 평균  $\pm$  st. dev로 제시되어 있다. 데이터는 N=5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.
- [0336] 도 2D는 HEK 293T/17 세포 (N=5)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 FL,  $\Delta$ BD 및  $\Delta$ ED 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.  $p < 0.05$ .
- [0337] 실시예 2
- [0338] 내인성 인간 DJ-1 mRNA를 표적화하도록 합성 IRUP를 하기와 같이 디자인하였다. 도 3에 제시된 바와 같이, 원래의 SINE B2 서열을, 인간 바이러스로부터 유래된 IRES 서열 또는 IRES 활성을 갖는 인간 mRNA와 스와핑하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.
- [0339] 하기 표 1은 본 발명에 따른 트랜스-작용 기능성 핵산 분자에서 사용된 IRES 서열 중 일부의 목록을 포함한다.
- [0340] IRES 명칭, IRES 기원, 클로닝 배향 및 IRES 길이가 제시되어 있다.

[0341] <표 1>

IRES	기원	배향	길이 (nt)
HCV	인간 바이러스	정배향	383
HCV	인간 바이러스	역배향	383
폴리오	인간 바이러스	정배향	312
폴리오	인간 바이러스	역배향	312
EMCV	인간 바이러스	정배향	576
EMCV	인간 바이러스	역배향	576
CrPV	인간 바이러스	정배향	192
CrPV	인간 바이러스	역배향	192
Apaf-1	인간 mRNA	정배향	231
Apaf-1	인간 mRNA	역배향	231
ELG-1	인간 mRNA	정배향	460
ELG-1	인간 mRNA	역배향	460
cMYC (긴 것)	인간 mRNA	정배향	395
cMYC (긴 것)	인간 mRNA	역배향	395
cMYC (짧은 것)	인간 mRNA	정배향	48
cMYC (짧은 것)	인간 mRNA	역배향	48
DMD	인간 mRNA	정배향	71
DMD	인간 mRNA	역배향	71

[0342]

[0343]

도 4는 IRES-함유 기능성 안티센스 핵산 분자의 번역 상향 조절 활성을 시험하기 위한 실험 절차의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 인간 DJ-1 중복 서열 (결합 도메인) 및 IRES 서열 (이펙터 도메인)을 포함하는, 번역 활성화를 위한 안티센스 기능성 핵산 분자를 생성하였다. 시험관내에서의 배양물 중 포유동물 세포에서의 발현을 위해 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 포유동물 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 내생적 양의 인간 DJ-1 mRNA를 발현하는 세포를 사용하였다. 세포 시딩, 세포 형질감염 및 수확을 위한 타이밍이 제시되어 있다. 세포를 수확하여 (정량적 실시간 PCR, qRT-PCR을 위해) RNA, 및 (웨스턴 블롯, WB를 위해) 단백질을 정제하였다.

[0344]

도 5A는, 이펙터 도메인이 인간 C형 간염 바이러스 (HCV)로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (HCV(d) - 서열식별번호 1) 또는 역배향 (HCV(i) - 서열식별번호 2)으로 클로닝된 HCV IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0345]

제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 HCV IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 5B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높거나, 또는 유사하였다.

[0346]

형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 5C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.

- [0347] 실시예 3
- [0348] 도 6A는, 이펙터 도메인이 인간 폴리오바이러스로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (폴리오(d) - 서열식별번호 3) 또는 역배향 (폴리오(i) - 서열식별번호 4)으로 클로닝된 폴리오 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.
- [0349] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 폴리오 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 6B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높았다.
- [0350] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 6C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.
- [0351] 실시예 4
- [0352] 도 7A는, 이펙터 도메인이 각각 인간 뇌심근염 바이러스 (EMCV)로부터의 IRES 서열, 및 귀뚜라미 마비 바이러스 (CrPV)로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (EMCV(d) - 서열식별번호 5) 또는 역배향 (EMCV(i) - 서열식별번호 6)으로 클로닝된 EMCV IRES 서열, 및 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (CrPV(d) - 서열식별번호 7) 또는 역배향 (CrPV(i) - 서열식별번호 8)으로 클로닝된 CrPV IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.
- [0353] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 EMCV 및 CrPV IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 7B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높았다.
- [0354] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 7C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.
- [0355] 실시예 5
- [0356] 빈 벡터로 형질감염된 HEK 293T/17 세포와 비교하여, 실시예 2의 HCV(d) 및 HCV(i) IRUP, 실시예 3의 폴리오(d) 및 폴리오(i) IRUP, 및 실시예 4의 EMCV(d), EMCV(i), CrPV(d) 및 CrPV(i) IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포에서의 내인성 DJ-1 단백질의 양 증가를 웨스턴 블롯에 의해 측정하였다.
- [0357] 결과는 도 8A 및 8B에 요약되어 있다. IRES-함유 기능성 핵산 분자는 번역을 트랜스로 활성화시키고, SINE-함유 분자보다 더욱 큰 활성을 나타낸다는 것이 명백하다. 데이터는 N>5 생물 반복 실험의 평균 및 stdev를 나타낸다. 단일 별표 표시 (\*)는 빈 대조군 세포 대비 통계학상 유의적인 트랜스로의 번역 증진 활성을 갖는 IRES 서열을 나타내고; 이중 별표 표시 (\*\*)는 SINE-함유 기능성 핵산 분자 대비 통계학상 유의적인 효력 증가를 보이는 IRES 서열을 나타낸다.
- [0358] 실시예 6
- [0359] 도 9A는, 이펙터 도메인이 인간 아포토시스 펩티다제 활성화 인자 1 (Apaf-1) mRNA로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으

로 정배향 (Apaf-1(d) - 서열식별번호 9) 또는 역배향 (Apaf-1(i) - 서열식별번호 10)으로 클로닝된 Apaf-1 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0360] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 Apaf-1 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 9B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높거나, 또는 유사하였다.

[0361] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 9C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.

[0362] 실시예 7

[0363] 도 10A는, 이펙터 도메인이 인간 게놈 불안정 수준 증가 1 (ELG-1) mRNA로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (ELG-1(d) - 서열식별번호 11) 또는 역배향 (ELG-1(i) - 서열식별번호 12)으로 클로닝된 ELG-1 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0364] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 ELG-1 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 10B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높았다.

[0365] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 10C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev.로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.

[0366] 실시예 8

[0367] 도 11A는, 이펙터 도메인이 인간 V-Myc 조류 골수세포증 바이러스 온코진 호몰로그 (cMYC) mRNA로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (cMYC 전장(d) - 서열식별번호 13) 또는 역배향 (cMYC 전장(i) - 서열식별번호 14)으로 클로닝된 cMYC IRES 서열 (긴 변이체)을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0368] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 cMYC IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 11B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높거나, 또는 그와 유사하였다.

[0369] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 11C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev.로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.

[0370] 실시예 9

- [0371] 도 12A는, 이펙터 도메인이 실시예 8의 인간 V-Myc 조류 골수세포종 바이러스 온코진 호몰로그 (cMYC) mRNA로부터의 IRES 서열의 더 짧은 버전인 것인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (cMYC 짧은 변이체(d) - 서열식별번호 15) 또는 역배향 (cMYC 짧은 변이체(i) - 서열식별번호 16)으로 클로닝된 cMYC IRES 서열 (짧은 변이체)을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.
- [0372] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 cMYC IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 11B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높거나, 또는 그와 유사하였다.
- [0373] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 12C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev.로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.
- [0374] 실시예 10
- [0375] 도 13A는, 이펙터 도메인이 인간 디스트로핀 (DMD) mRNA로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 기능성 핵산 분자의 5'에서 3' 배향 기준으로 정배향 (DMD (d) - 서열식별번호 17) 또는 역배향 (DMD (i) - 서열식별번호 18)으로 클로닝된 DMD IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.
- [0376] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 DMD IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 13B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높았다.
- [0377] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 13C). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev.로 제시되어 있다. 데이터는 N>5 독립 반복 실험의 것을 나타낸다.
- [0378] 실시예 11
- [0379] 빈 벡터로 형질감염된 HEK 293T/17 세포와 비교하여, 실시예 6의 Apaf-1(d) 및 Apaf-1(i) IRUP, 실시예 7의 ELG-1(d) 및 ELG-1(i) IRUP, 실시예 8의 cMYC 전장(d) 및 cMYC 전장(i) IRUP, 실시예 9의 cMYC 짧은 변이체(d) 및 cMYC 짧은 변이체(i) IRUP, 및 실시예 10의 DMD(d) 및 DMD(i) IRUP로 형질감염된 HEK 293T/17 세포에서의 내인성 DJ-1 단백질의 양 증가를 웨스턴 블롯에 의해 측정하였다.
- [0380] 결과는 도 14A 및 14B에 요약되어 있다. IRES-함유 기능성 핵산 분자는 번역을 트랜스로 활성화시키고, SINE-함유 분자보다 더욱 큰 활성을 나타낸다는 것을 명백하다. 데이터는 N>5 생물 반복 실험의 평균 및 stdev를 나타낸다. 단일 별표 표시 (\*)는 빈 대조군 세포 대비 통계학상 유의적인 트랜스로의 번역 증진 활성을 갖는 IRES 서열을 나타내고; 이중 별표 표시 (\*\*)는 SINE-함유 기능성 핵산 분자 대비 통계학상 유의적인 효력 증가를 보이는 IRES 서열을 나타낸다.
- [0381] 실시예 12
- [0382] 제시된 바와 같이, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 (서열식별번호 1 또는 서열식별번호 2) HCV (도 15A) IRES 서열을 포함하고, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 (서열식별번호 3, 서열식별번호 4, 서열식별번호 13 또는 서열식별번호 14) 폴리오 및 cMYC (도 15B) IRES 서열을 포함하고, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 (서열식별번호

호 9, 서열식별번호 10, 서열식별번호 11 또는 서열식별번호 12) Apaf-1 및 ELG-1 (도 15C) IRES 서열을 포함하고, 정배향 (d) 또는 역배향 (i)으로 (서열식별번호 17 또는 서열식별번호 18) DMD (도 15D) IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 인간 간세포 암종 (HepG2) 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다.  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 거의 항상 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높았다.

[0383] 실시예 13

[0384] 빈 벡터로 형질감염된 HepG2 세포와 비교하여, HCV(d) 및 HCV(i) IRUP, 폴리오(d) 및 폴리오(i) IRUP 및 cMYC 짧은 변이체(d) 및 cMYC 짧은 변이체(i) IRUP, Apaf-1(d) 및 Apaf-1(i) IRUP, ELG-1(d) 및 ELG-1(i) IRUP, DMD(d) 및 DMD(i) IRUP로 HepG2 세포에서의 내인성 DJ-1 단백질의 양 증가를 웨스턴 블롯에 의해 측정하였다.

[0385] 결과는 도 16A-16B에 요약되어 있다. IRES-함유 기능성 핵산 분자는 번역을 트랜스로 활성화시키고, SINE-함유 분자보다 더욱 큰 활성을 나타낸다. 데이터는 N>2 생물 반복 실험의 평균 및 stdev를 나타낸다.

[0386] 실시예 14

[0387] 도 17A는, 이펙터 도메인이 HCV, 폴리오바이러스 또는 cMYC 짧은 버전으로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 소형 버전 (미니IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 포유동물 세포에서 RNA 폴리머라제 II에 의한 발현을 위해 SV40 기반 프로모터의 제어하에서, 정배향 (HCV(d) - 서열식별번호 31)으로 클로닝된 HCV IRES 서열을 포함하고, 정배향 (폴리오(d) - 서열식별번호 32) 및 역배향 (폴리오(i) - 서열식별번호 33)으로 클로닝된 폴리오 IRES 서열을 포함하고, 정배향 (cMYC 짧은 변이체(d) - 서열식별번호 34)으로 클로닝된 cMYC 짧은 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0388] 제시된 바와 같이, 상기 언급된 미니 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 17B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. 미니 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높았다.

[0389] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 미니-IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 17C).

[0390] 도 17D는 HEK 293T/17 세포 (N=6)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 및 미니-IRUP 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.

[0391] 실시예 15

[0392] 도 18A는, 이펙터 도메인이 HCV, 폴리오바이러스 또는 cMYC 짧은 버전으로부터의 IRES 서열인 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 소형 버전 (미니IRUP)의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. 포유동물 세포에서 RNA 폴리머라제 III에 의한 발현을 위해 H1 기반 프로모터의 제어하에서, 정배향 (HCV(d) - 서열식별번호 31)으로 클로닝된 HCV IRES 서열을 포함하고, 정배향 (폴리오(d) - 서열식별번호 32) 및 역배향 (폴리오(i) - 서열식별번호 32)으로 클로닝된 폴리오 IRES 서열을 포함하고, 정배향 (cMYC 짧은 변이체(d) - 서열식별번호 34)으로 클로닝된 cMYC 짧은 IRES 서열을 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 생성하였다.

[0393] 제시된 바와 같이, 상기 언급된 미니 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 18B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. 미니 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더

높았다 (한 경우에는서는 유사하였다).

- [0394] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 미니-IRUP RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 18C).
- [0395] 도 18D는 HEK 293T/17 세포 (N=6)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINEUP-DJ-1 및 미니-IRUP 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다.
- [0396] 실시예 16
- [0397] 도 19A는 포유동물 세포에서의 두 관심 유전자의 공동 발현을 위한 pDUAL-GFP 플라스미드의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다. pDUAL-GFP 플라스미드는 RNA 폴리머라제 II에 의한 GFP mRNA의 발현을 위한 CMV 프로모터 요소, 및 GFP 번역 증진을 위해 기능성 핵산 분자의 GFP-표적화 소형 버전의 발현을 위한 (반대 배향으로의) H1 프로모터를 함유한다. 번역 인핸서 기능성 핵산 분자가 결합되고, 기초 수준의 GFP 단백질을 발현하는 대조군 플라스미드를 제조한다. 명시된 바와 같이, 이펙터 도메인이 SINE B2 서열로, 또는 HCV IRES로 제시된 pDUAL-GFP/미니GFP 플라스미드를 생성하였다.
- [0398] GFP 단독, 또는 SINE-함유 (SINE) 또는 IRES-함유 (IRES) 미니-기능성 핵산 분자와 함께 조합된 GFP를 코딩하는 pDUAL 플라스미드로 HEK 293T/17 세포를 형질감염시켰다. pDUAL-GFP 단독인 것으로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-GFP 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 19B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.
- [0399] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 과다발현된 GFP mRNA (도 19C) 및 기능성 핵산 SINE 또는 IRES RNA (도 19D)의 발현을 모니터링하였다.
- [0400] 본 결과는 GFP가 HEK 293T/17 세포에서 과다발현될 때, GFP mRNA에 대한 결합 도메인 안티센스를 보유하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자가 GFP mRNA의 번역을 증진시킨다는 것을 보여준다.
- [0401] 실시예 17
- [0402] 도 20A는, 이펙터 도메인이 SINE 또는 HCV IRES 서열로 제시되어 있는, GFP 표적화 기능성 핵산 분자를 포함하는 pDUAL-GFP 플라스미드의 개략적 다이어그램을 보여주는 것이다.
- [0403] 도 20A에 제시된 pDUAL-GFP 플라스미드로 인간 신경모세포종 Neuro2a 세포를 형질감염시켰다. 형질감염 후 48 시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질 양을 위해 프로세싱하였다. 항-GFP 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 20B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. 미니 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 SINE-함유 기능성 핵산 분자보다 더 높았다.
- [0404] 실시예 18
- [0405] DJ-1 표적화 결합 도메인, 및 시스로 HCV IRES 활성화에 중요한 특정 돌연변이를 구조 영역 중에 포함하는 HCV IRES 이펙터 도메인을 함유하는 기능성 핵산 분자를 디자인하였다.
- [0406] 도 21은 HCV IRES RNA 2차 구조를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다. HCV IRES 구조 도메인 (IIa, IIb, IIIa, IIIb, IIIc, IIId, IIIe 및 IIIf)은 다른 사각형에 제시되어 있다. 리보솜 RNA 및/또는 리보솜 단백질에의 접촉부와 함께, 서열의 내부 리보솜 진입 활성을 위한 각 구조 도메인의 기능 또한 제시되어 있다. 이펙터 도메인이 HCV로부터 유래되고, DJ-1 표적화 결합 도메인을 함유하는 IRES 서열로 제시되는 기능성 핵산 분자를 돌연변이유발을 위한 주형으로서 사용하였다. 진행성 번역 개시 인자 eIF3 및 리보솜 단백질 eS27과의 접촉에 관여하는 IIIa 줄기 루프의 결실에 의해 M2 돌연변이체를 제조하였다 (HCV IRES 서열의 아미노산 156-171 - IRES = 서열식별번호 55; IRUP = 서열식별번호 20). 18S rRNA에의 염기쌍 형성 및 시스로 HCV IRES 활성화에 기본이 되는 뉴클레오타이드 G266의 부위 지정 뉴클레오타이드 치환에 의해 M5 돌연변이체를 제조하였다 (G266→C - IRES = 서열식별번호 58; IRUP = 서열식별번호 23).
- [0407] 실시예 19
- [0408] 제시된 바와 같이, 정배향 (WT)으로 HCV IRES 서열을 포함하거나, 또는 HCV IRES DIIIa (M2) 또는 G266→C (M5) 돌연변이체를 포함하는 IRES-함유 기능성 핵산 분자를 코딩하는 포유동물 발현 플라스미드로 HEK 293T/17

세포를 형질감염시켰다. 대조군 세포는 빈 대조군 플라스미드 (-)로 형질감염시켰다. SINEUP-DJ-1로 형질감염된 세포를 IRES-함유 분자의 효력을 시험하기 위한 참조로서 사용하였다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 항-DJ-1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 22A).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. SINE-함유 기능성 핵산 분자와 비교하여 WT 및 돌연변이화된 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력이 더 높거나, 또는 그와 유사하였다.

[0409] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 DJ-1 mRNA 및 기능성 핵산 RNA의 발현을 모니터링하였다 (도 22B). SINE-함유 기능성 핵산 분자 및 IRES-함유 기능성 핵산 분자 간의 RNA 양을 비교하기 위해, 이펙터 도메인의 3' 단부에 프라이머를 배치하였다. 데이터는 평균  $\pm$  st. dev.로 제시되어 있다.

[0410] 도 22C는 HEK 293T/17 세포 (N=7)에서의 내인성 DJ-1 mRNA에 대한 SINE- 또는 HCV IRES-임베딩된 서열을 포함하는 기능성 핵산 분자의 번역 증진 활성을 나타낸 그래프를 보여주는 것이다. 이중 별표 표시 (\*\*)는 WT HCV IRES-함유 기능성 핵산 분자 대비 통계학상 유의적인 번역 증진 감소를 보이는 돌연변이체 IRES 서열을 나타낸다.

[0411] 본 실시예는 시스로 HCV IRES 활성을 위해 요구되는 구조 요소가 DJ-1 표적화 결합 도메인을 함유하는 기능성 핵산 분자에서 임베딩된 이펙터 도메인 (ED)으로서 트랜스로 HCV IRES의 번역 증진 활성 증가에 기여한다는 것을 보여준다.

[0412] 실시예 20

[0413] 본 실시예는 표적 mRNA 중의 임의의 핵산 서열이 IRES-유래 서열 함유 기능성 핵산 분자의 결합 도메인에 의해 인식될 수 있다는 것을 보여준다.

[0414] 도 23A는 IRES 서열의 5' 및 IRES-함유 세포 mRNA 내의 서열이 어떻게 결합 도메인으로서 간주될 수 있는지를 나타낸 개략도를 보여주는 것이고, 도 23B는 cMYC mRNA 참조 서열 (NM\_002467) 내의 기능성 핵산 서열 요소를 보여주는 것이다.

[0415] 도 23C는 부분적으로 중복되는, 안티센스 배향의, 표적 mRNA 단백질-코딩 서열을 확인하기 위해 질의 서열로서 c-MYC mRNA를 이용한 생물정보학 분석 (BLAST)의 결과를 보여주는 것이다. 표에는 주석이 달린 유전자 ENSEMBL 명명법, 유전자 명칭 및 유전자 쌍형성 영역이 제시되어 있다. IRES 유래 결합 도메인은 안티센스 배향으로 5' UTR, 제1 엑손, 내부 엑손 중의 표적 mRNA에 중복될 수 있고, 상이한 쌍형성 길이는 18 내지 198 범위이다.

[0416] MYC의 전장의 mRNA (cMYC-FL)를 코딩하는 포유동물 발현 플라스미드로 포유동물 SAOS 세포를 형질감염시켰다 (도 24A). 대조군 세포를 빈 벡터 플라스미드 (대조군)로 형질감염시켰다. 형질감염 후 48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 양을 위해 프로세싱하였다. 명시된 바와 같이, 항-JAG2, 항-DYRK2, 항-LYS, 항-UBE3A, 항-NRF1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 24B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다. 형질감염 후 cMYC 단백질의 발현을 확인하기 위한 추가 대조군으로서 항-cMYC 항체를 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다 (c). cMYC IRES-함유 기능성 핵산 분자의 효력은 시험된 모든 표적 mRNA에 대해 뚜렷이 나타났고, 결합 도메인의 길이는 144 (JAG2) 내지 20 (UBE3A, NRF1) 뉴클레오타이드 범위이다.

[0417] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 JAG2, DYRK2, LIS1, UBE3A, NRF1 및 cMYC mRNA의 발현을 모니터링하였다 (도 24C 및 도 24D).

[0418] 본 실시예는 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 결합 도메인과 표적 단백질-코딩 mRNA 사이의 쌍형성 영역은 그의 완전한 번역 증진 활성은 유지하면서, 위치 및 길이에 있어 달라질 수 있다는 것을 보여준다.

[0419] 실시예 21

[0420] 본 실시예는 단백질-코딩 CDS 부분 및 cMYC의 DNA-결합 도메인이 부분적으로 중복되는 단백질-코딩 mRNA의 번역을 증가시키기 위한 IRES-함유 기능성 핵산 분자에는 요구되지 않음을 보여준다.

[0421] MYC의 전장의 mRNA (cMYC-FL), 또는 cMYC DNA 결합 도메인 (텔타C)이 결여되고, 5'UTR 단독 (5'UTR) 도메인으로, 또는 IRES 단독 (IRES) 도메인으로 구성된 변이체 코딩하는 포유동물 발현 플라스미드로 포유동물 SAOS 세포를 형질감염시켰다 (도 25A). 대조군 세포를 빈 벡터 플라스미드 (대조군)로 형질감염시켰다. 형질감염 후

48시간 경과시, 세포를 용해시키고, 단백질을 위해 프로세싱하였다. 명시된 바와 같이, 항-JAG2, 항-DYRK2, 항-LYS, 항-UBE3A, 항-NRF1 항체를 이용하여 웨스턴 블롯을 수행하였다 (도 25B).  $\beta$ -액틴을 로딩 대조군으로서 사용하였다. 형질감염 후 cMYC 단백질의 발현을 확인하기 위한 추가 대조군으로서 항-cMYC 항체를 사용하였다.  $\beta$ -액틴으로 정규화된 웨스턴 블롯 영상 상에서 및 빈 대조군 샘플 대비로 유도 배수를 계산하였다. 대조군 세포 대비 단백질 양의 변화 배수는 웨스턴 블롯 영상 하단에 제시되어 있다.

[0422] 형질감염된 세포로부터 RNA를 정제하였다. 특이적 프라이머를 이용하여 qRT-PCR에 의해 내인성 JAG2, DYRK2, LIS1, UBE3A, NRF1 및 cMYC mRNA의 발현을 모니터링하였고 (도 25C), 이를 통해 IRES-함유 기능성 핵산 분자의 전사 후 기전이 입증되었다.

[0423] 이점

[0424] 본 발명의 트랜스-작용 기능성 핵산 분자를 통해 표적 mRNA 수준에는 영향을 주지 않으면서, 실제로 임의의 표적 mRNA 서열의 번역을 증진시킬 수 있다.

[0425] EP 2691522에 개시된 기능성 핵산 분자와 비교하였을 때, 본 발명의 기능성 핵산 분자는 마우스 SINE 서열에 기인하는 역전위의 위험을 회피할 수 있고, 실시예 2 내지 11에서는 HEK 293T/17에서 및 실시예 12에서는 HepG2에서 나타난 바와 같이, 더 높은 수준의 단백질 번역 증진을 촉진시킬 수 있다. 특히, 더욱 강력한 IRES 서열의 예는 HEK 세포에서의 것으로 도 5 (HCV IRES, 정배향), 도 6 (폴리오 IRES, 정배향 및 역배향), 도 7 (ECMV IRES, 정배향 및 역배향; CrPV IRES, 정배향 및 역배향), 도 9 (Apaf1 IRES, 정배향), 도 10 (ELG-1 IRES, 정배향 및 역배향), 도 11 (cMYC IRES, 정배향), 도 12 (짧은 cMYC IRES, 정배향), 도 12 (DMD IRES, 정배향 및 역배향)에 제시되어 있다. 추가로 더욱 강력한 IRES 서열의 예는 또한 HepG2 세포에서의 것으로 제시되어 있다 (도 15).

[0426] 일부 IRES 서열은 40 내지 50개의 뉴클레오타이드 정도로 짧다. 이를 통해 매우 짧은 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 조작이 가능하다.

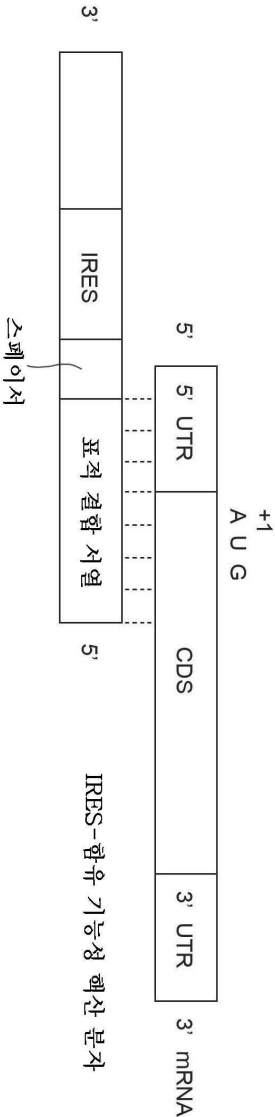
[0427] 추가로, 본 발명의 트랜스-작용 기능성 핵산 분자는 특히, EP2691522에 개시된 기능성 핵산 분자와 비교하여 특히 짧은 표적 결합 서열을 포함할 수 있다.

[0428] 제한된 길이의 조절 서열 및 표적 결합 서열, 둘 모두, 최적의 표적화 및 단백질 합성 증진을 허용하면서, 분자 길이를 짧게 유지시키는 데 기여한다. 짧은 분자를 갖는 것의 주된 이점 중 하나는 100개 뉴클레오타이드보다 긴 RNA를 합성하는 데 있어 나타나는 어려움을 극복할 수 있다는 점이다.

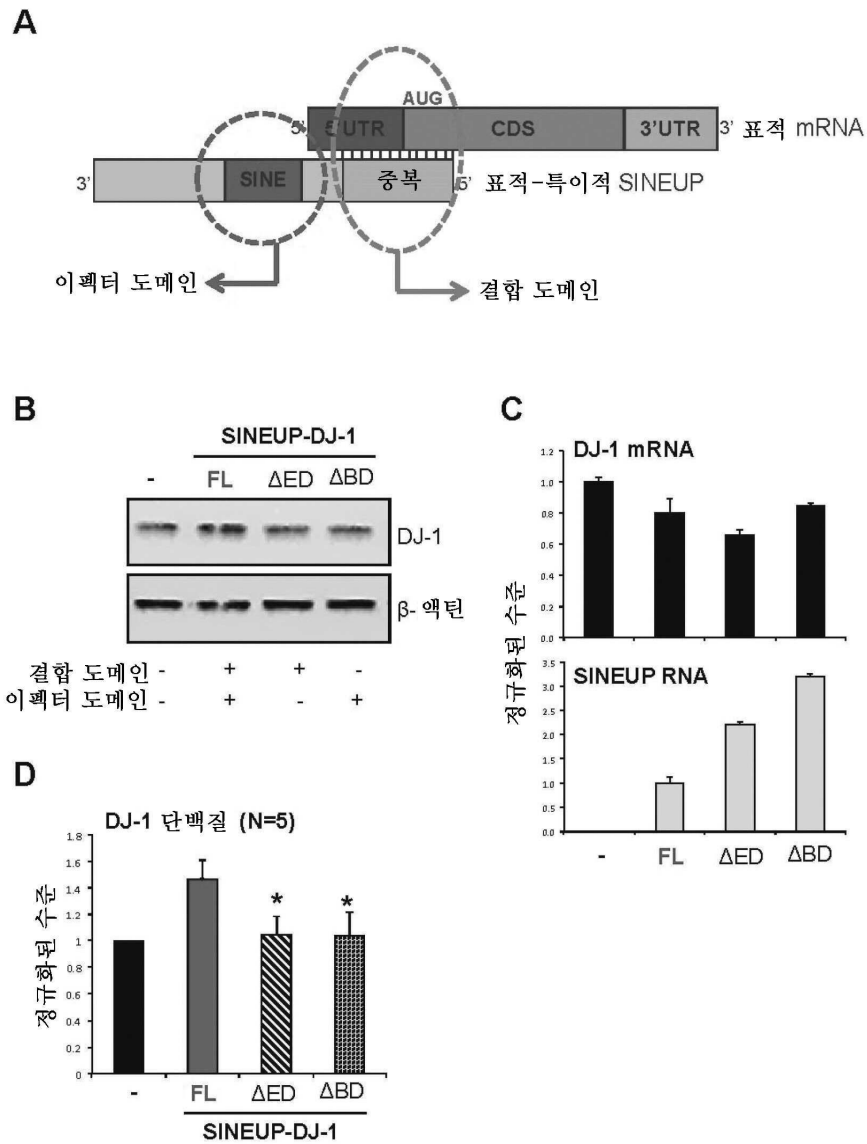
[0429] 본 발명의 트랜스-작용 기능성 핵산 분자의 또 다른 이점은 그가 모듈식 구조를 갖는다는 점, 즉, 비의존적 표적 결합 도메인 및 비의존적 이펙터 도메인을 갖는다는 점이다.

도면

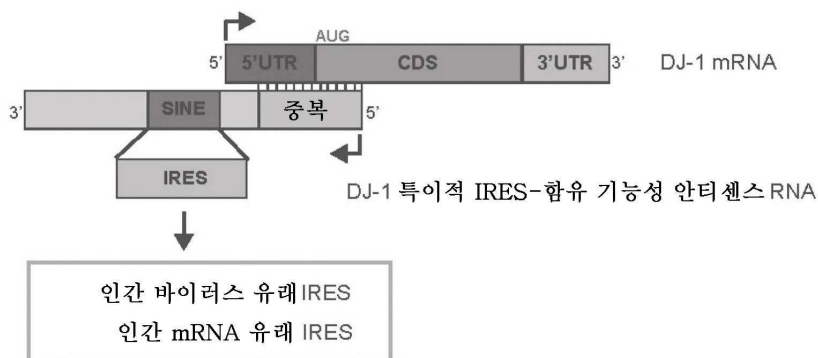
도면1



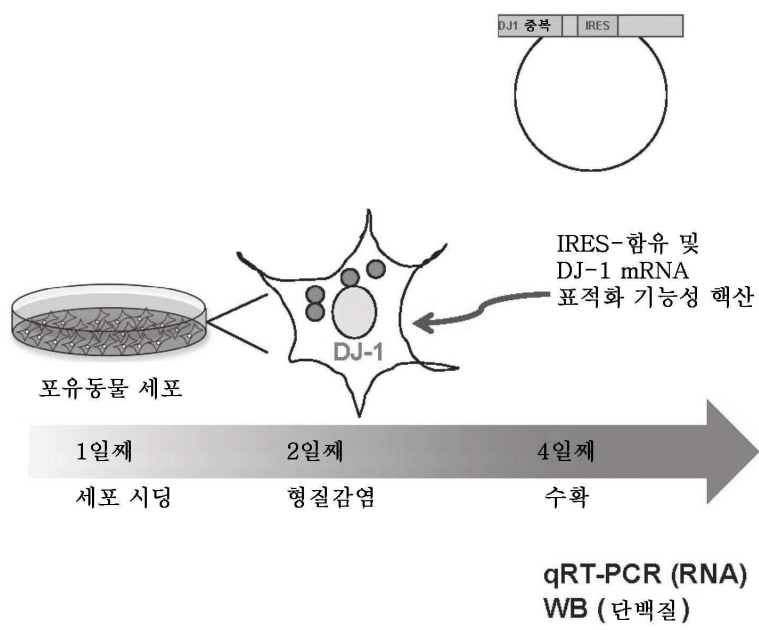
도면2



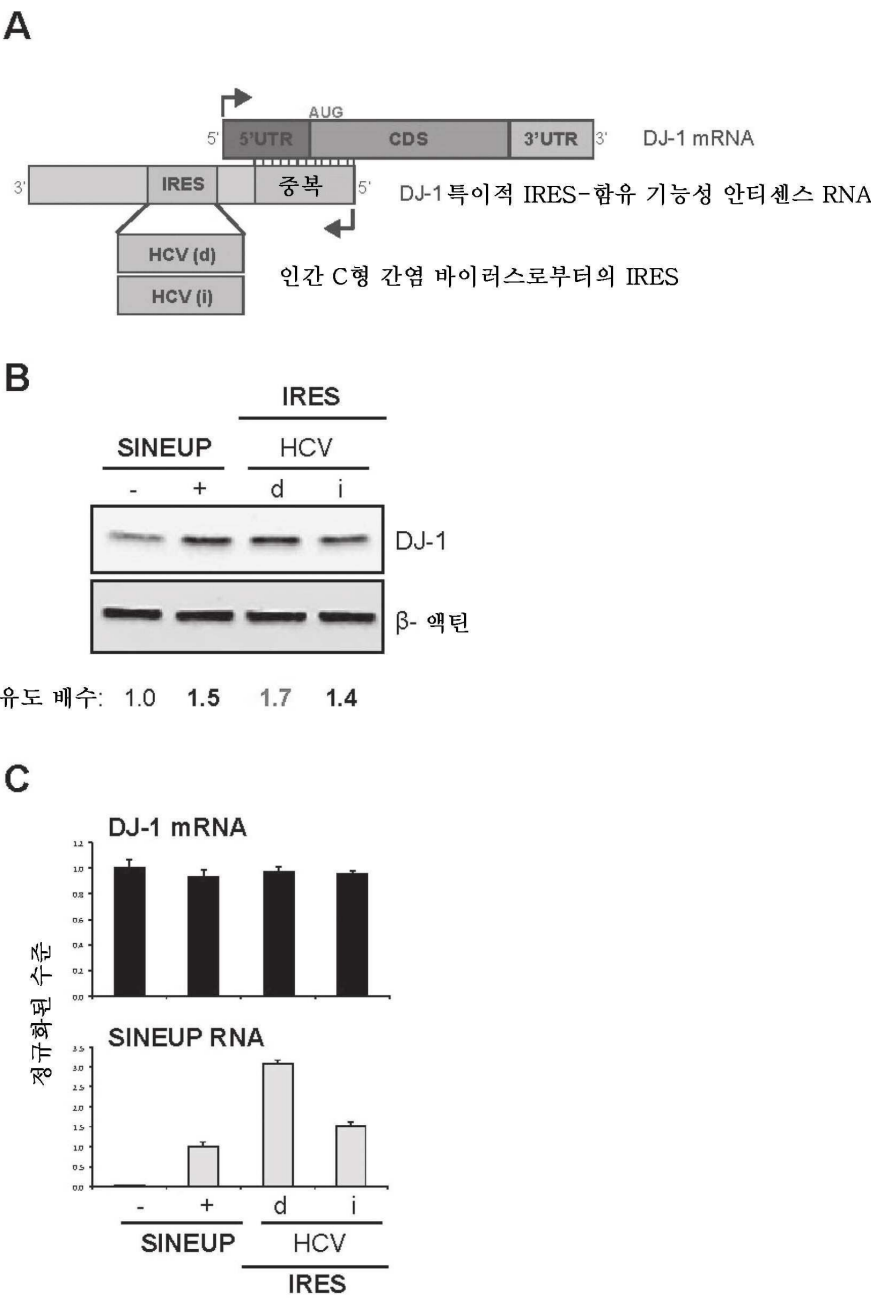
도면3



도면4

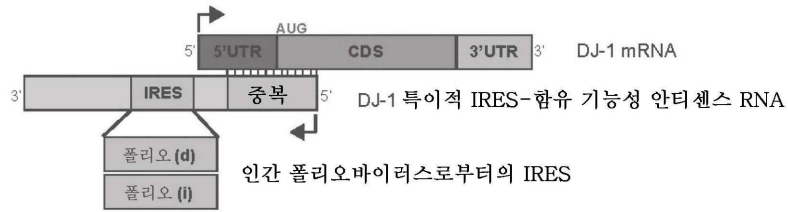


도면5

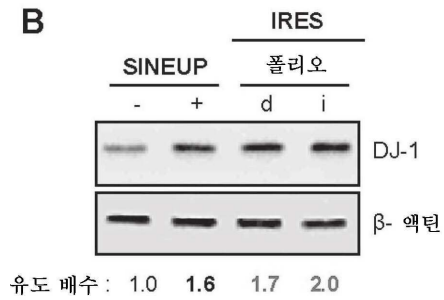


도면6

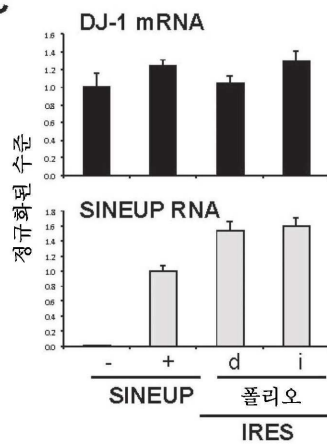
A



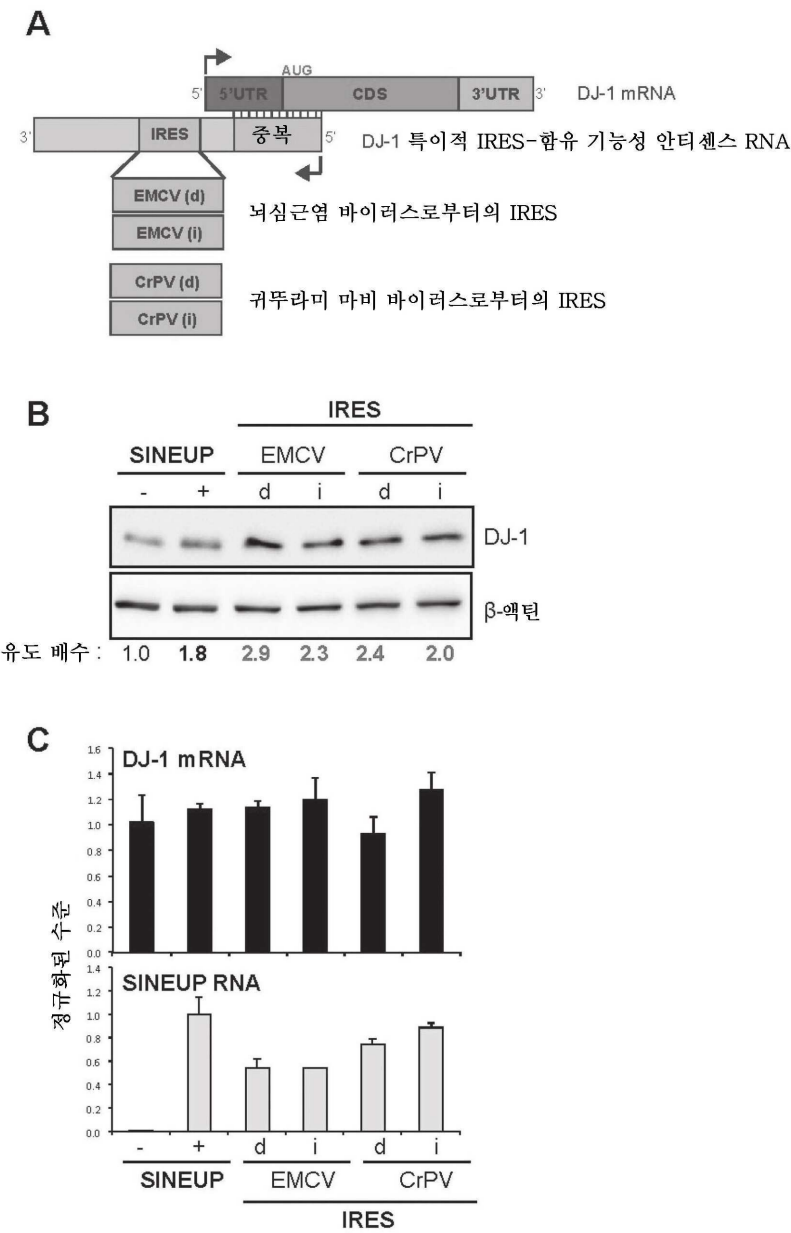
B



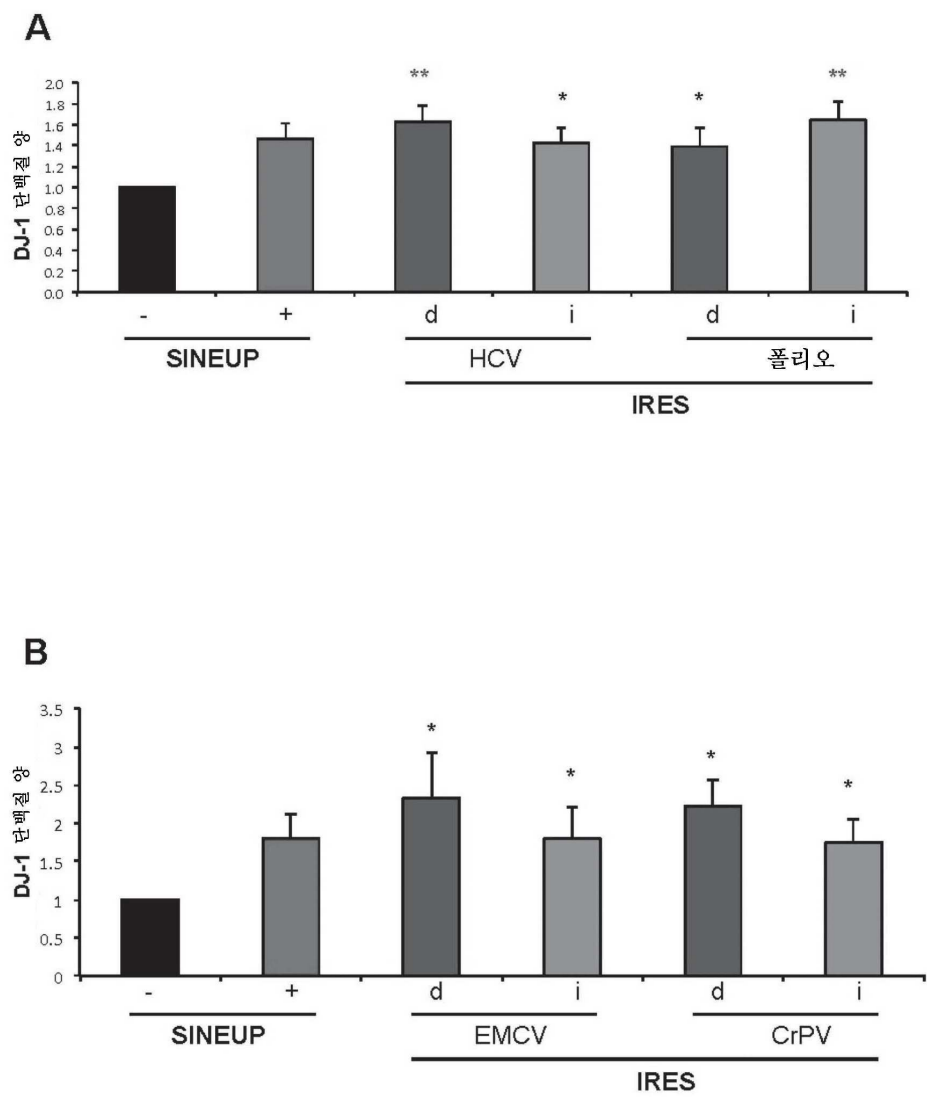
C



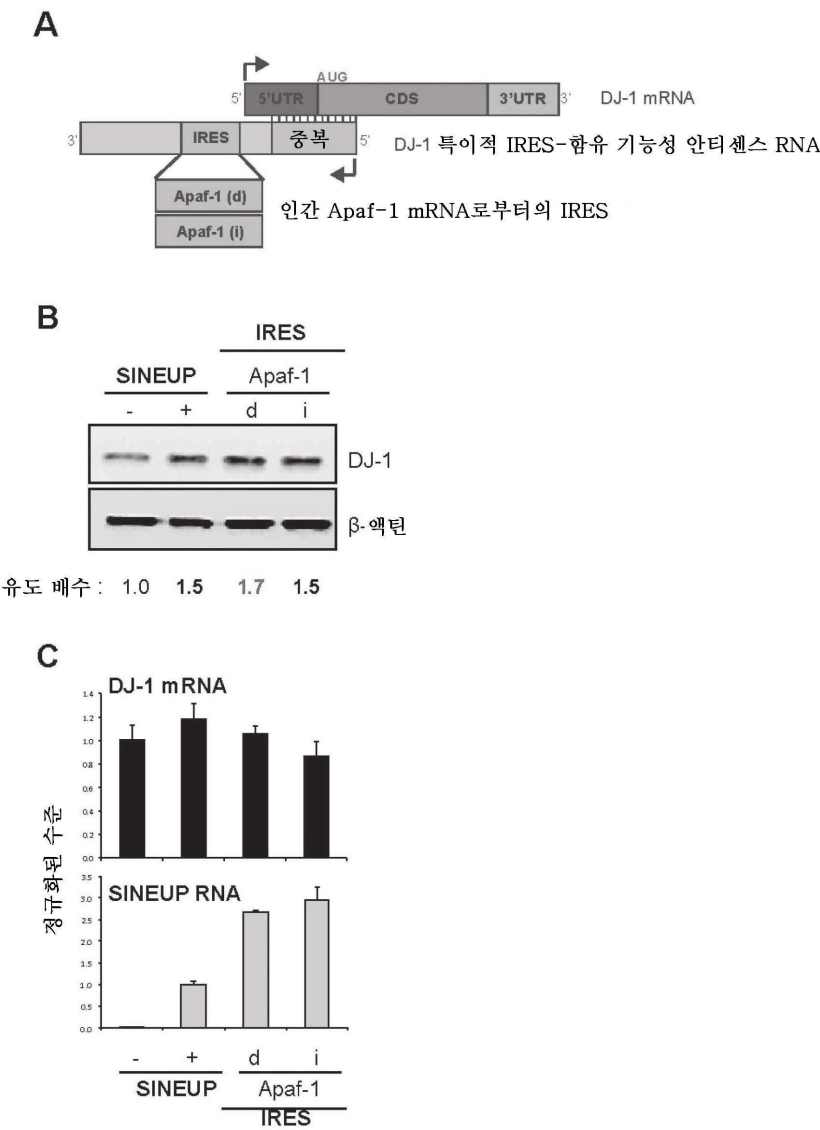
도면7



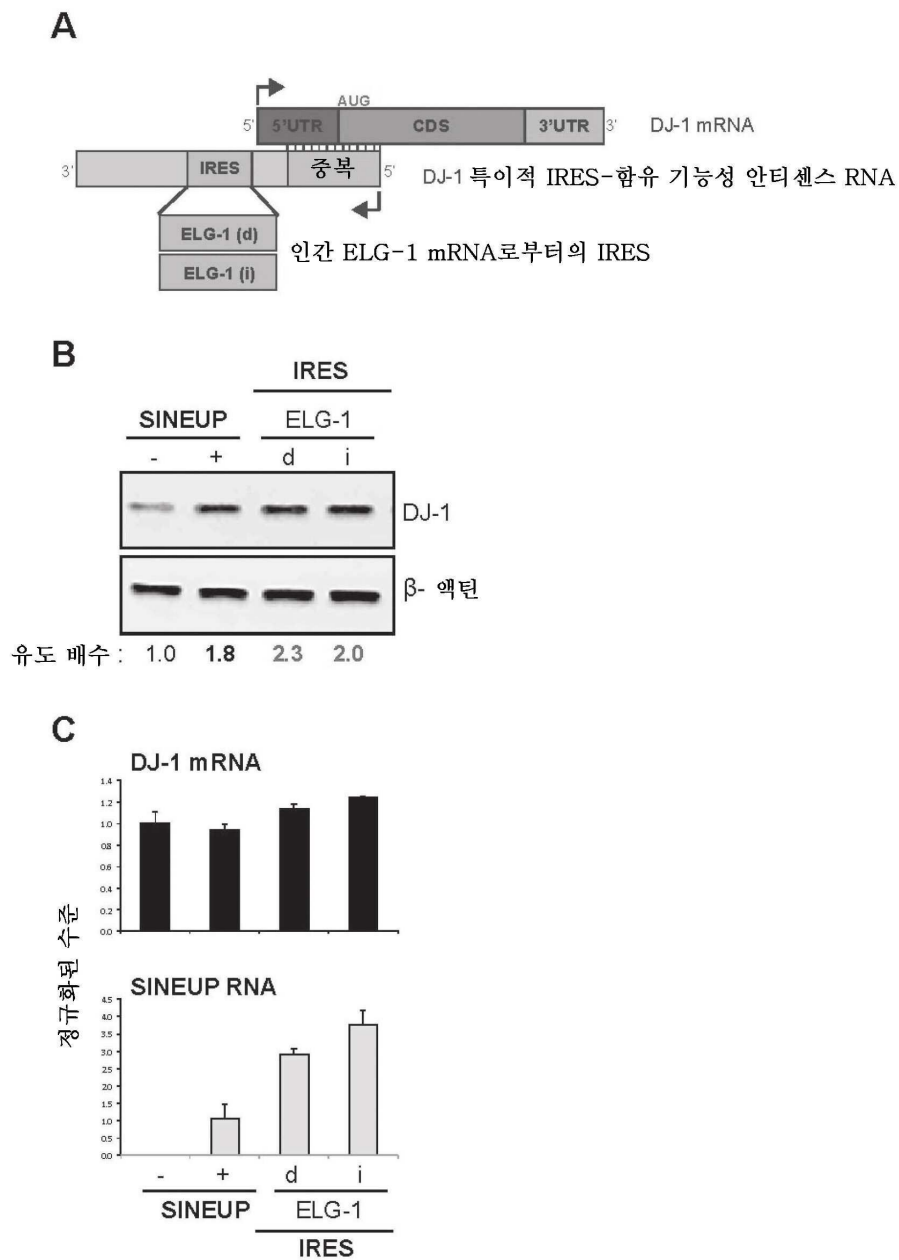
도면8



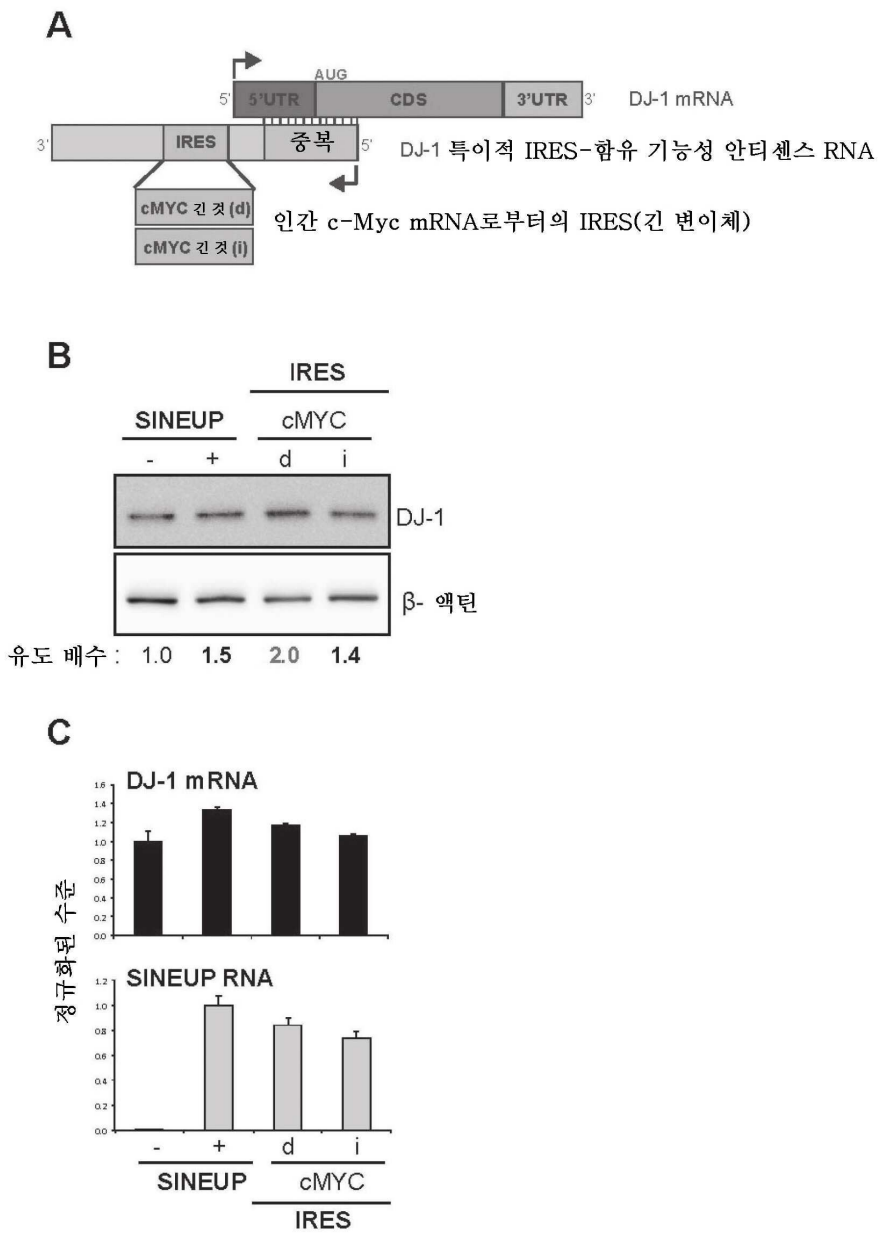
도면9



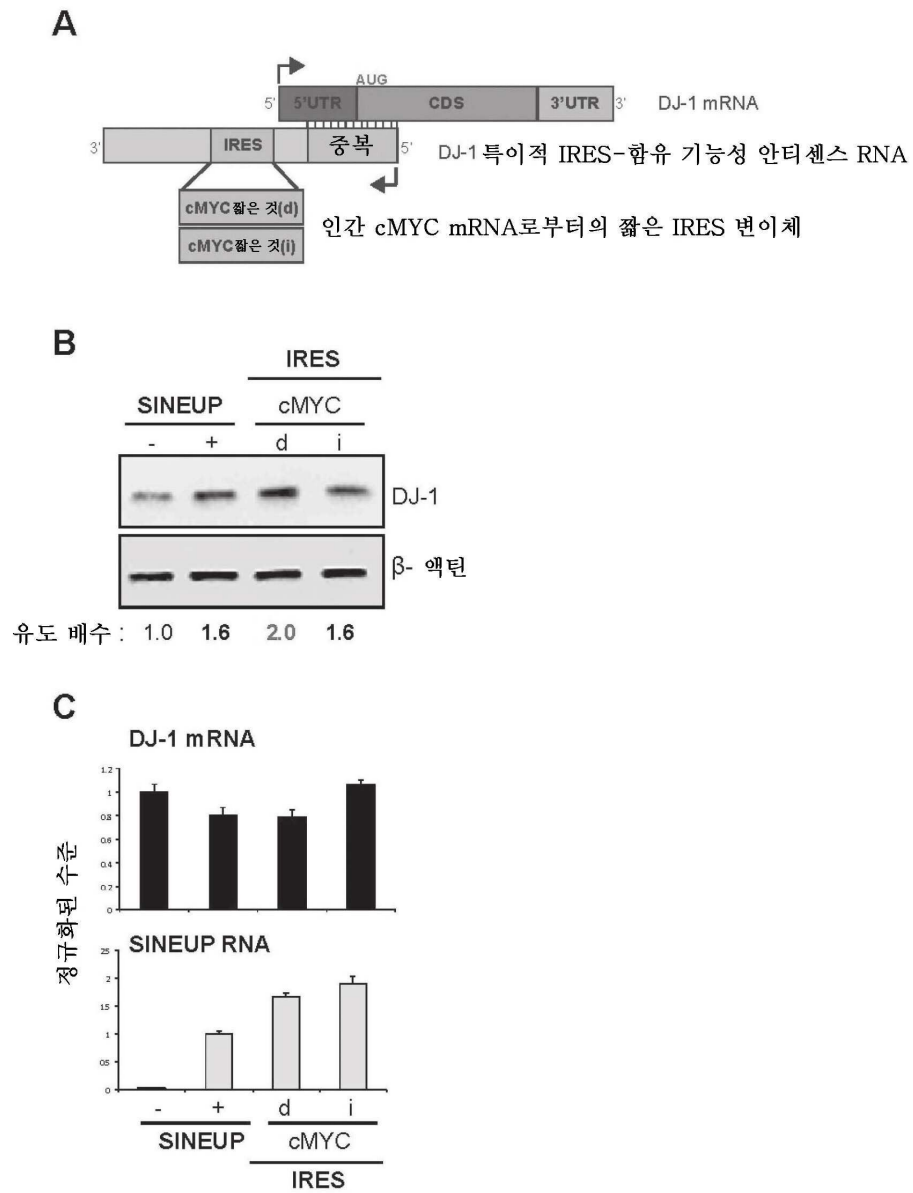
도면10



도면11

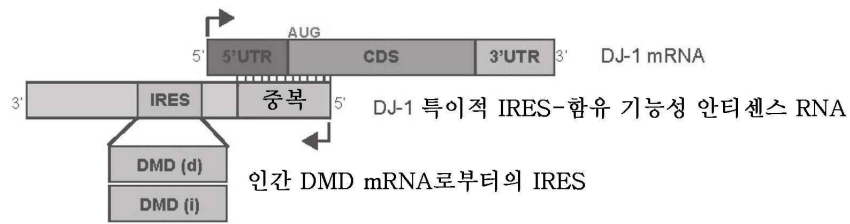


도면12

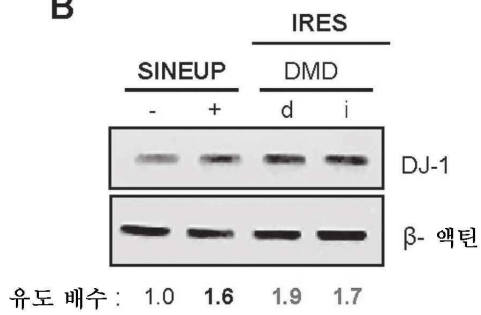


도면13

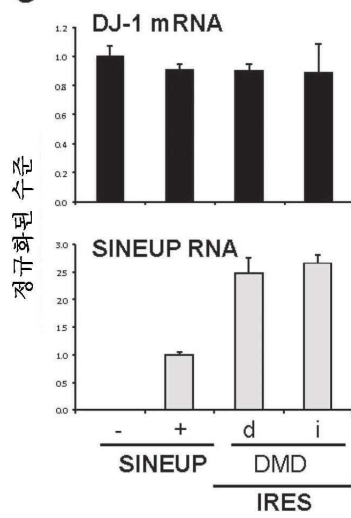
A



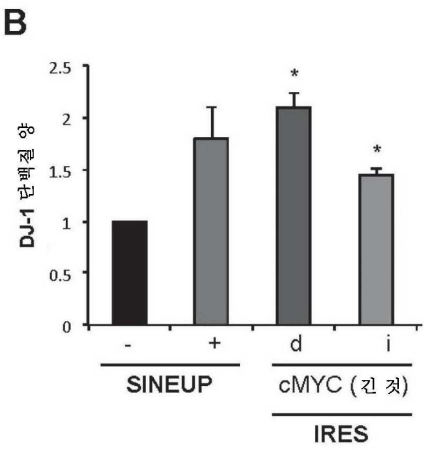
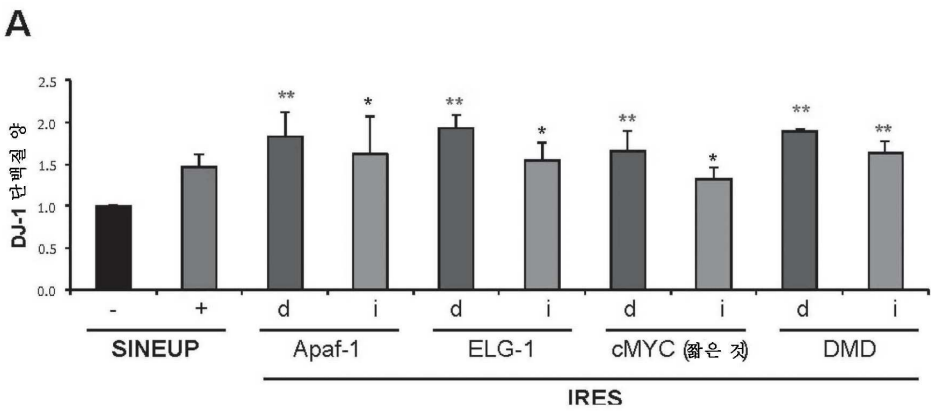
B



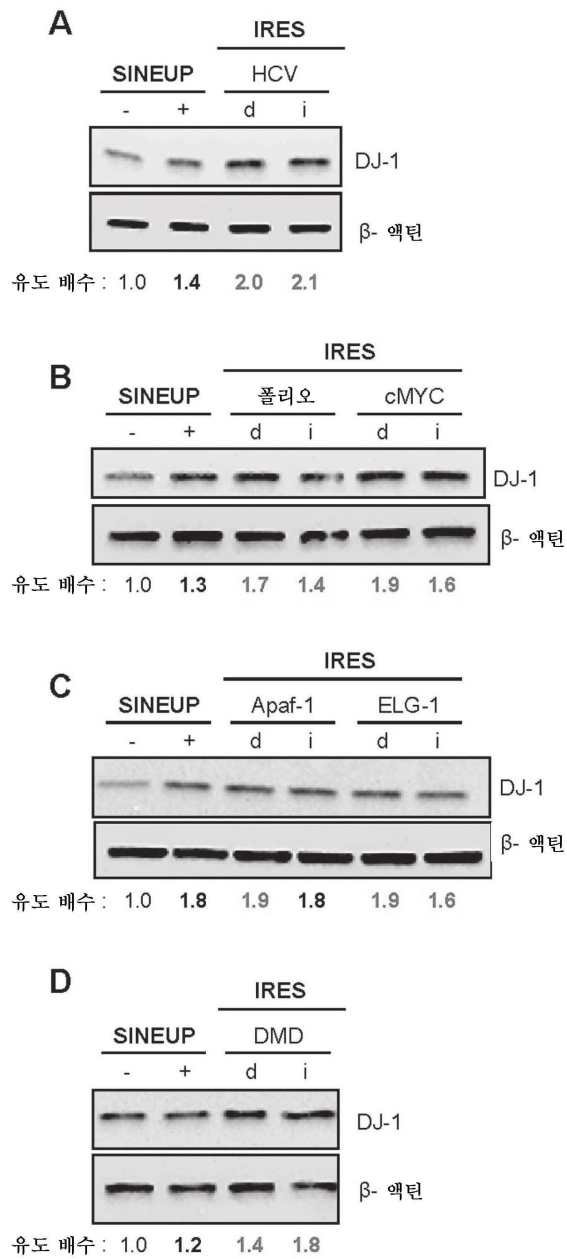
C



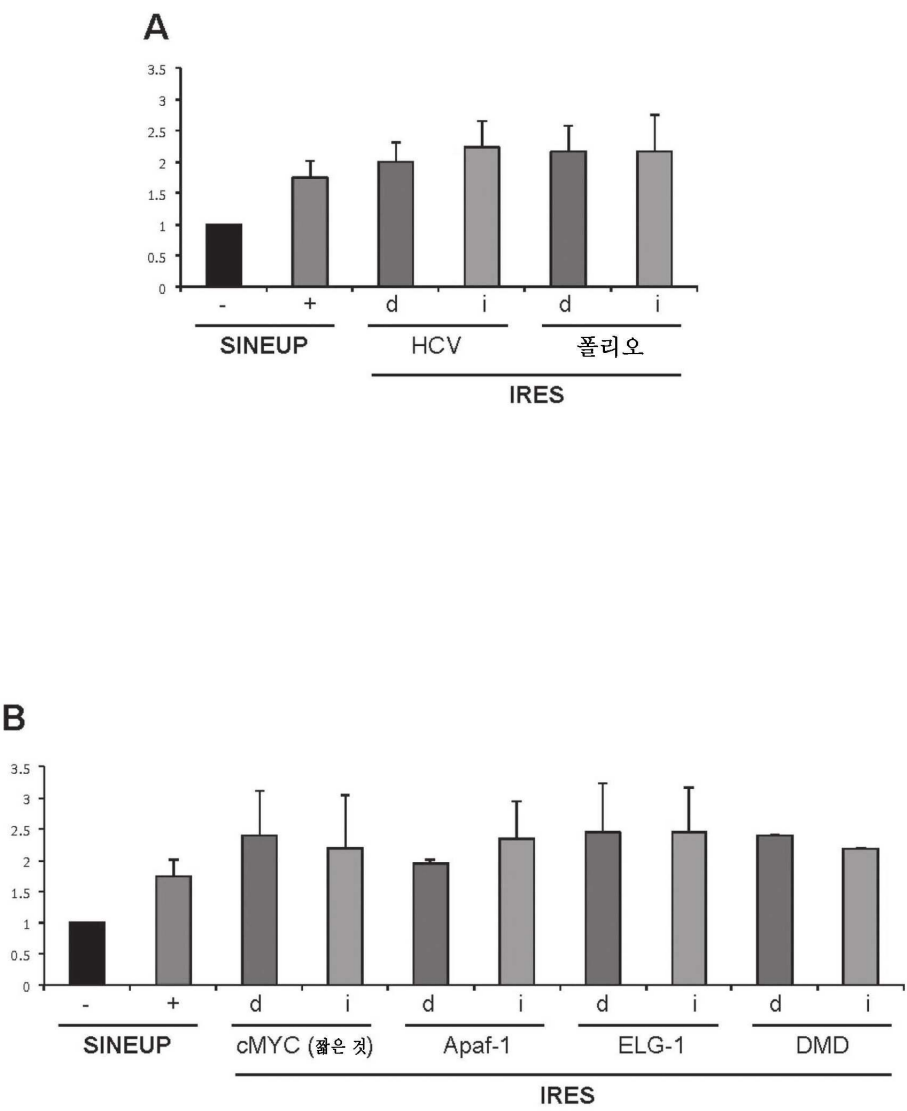
도면14



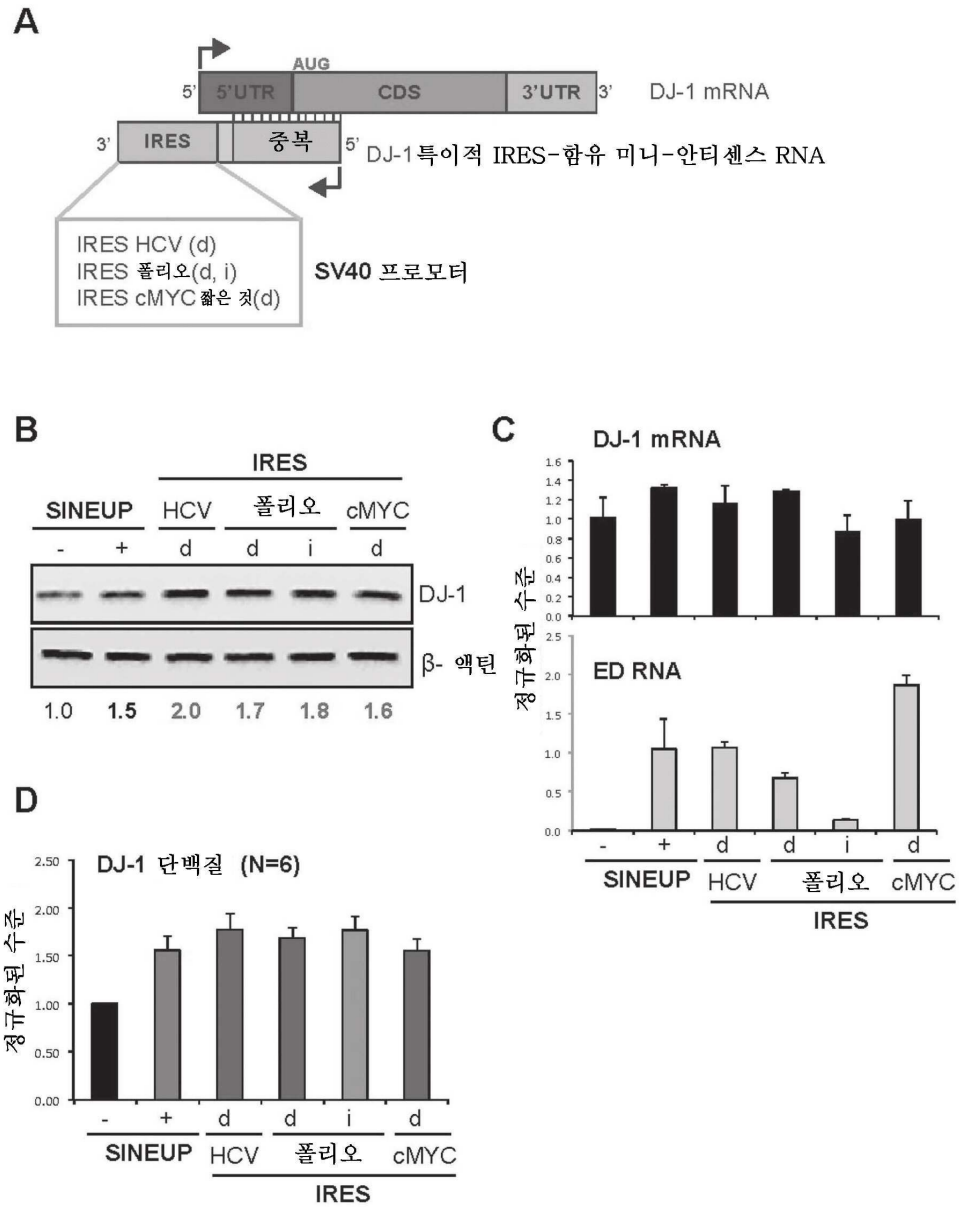
도면15



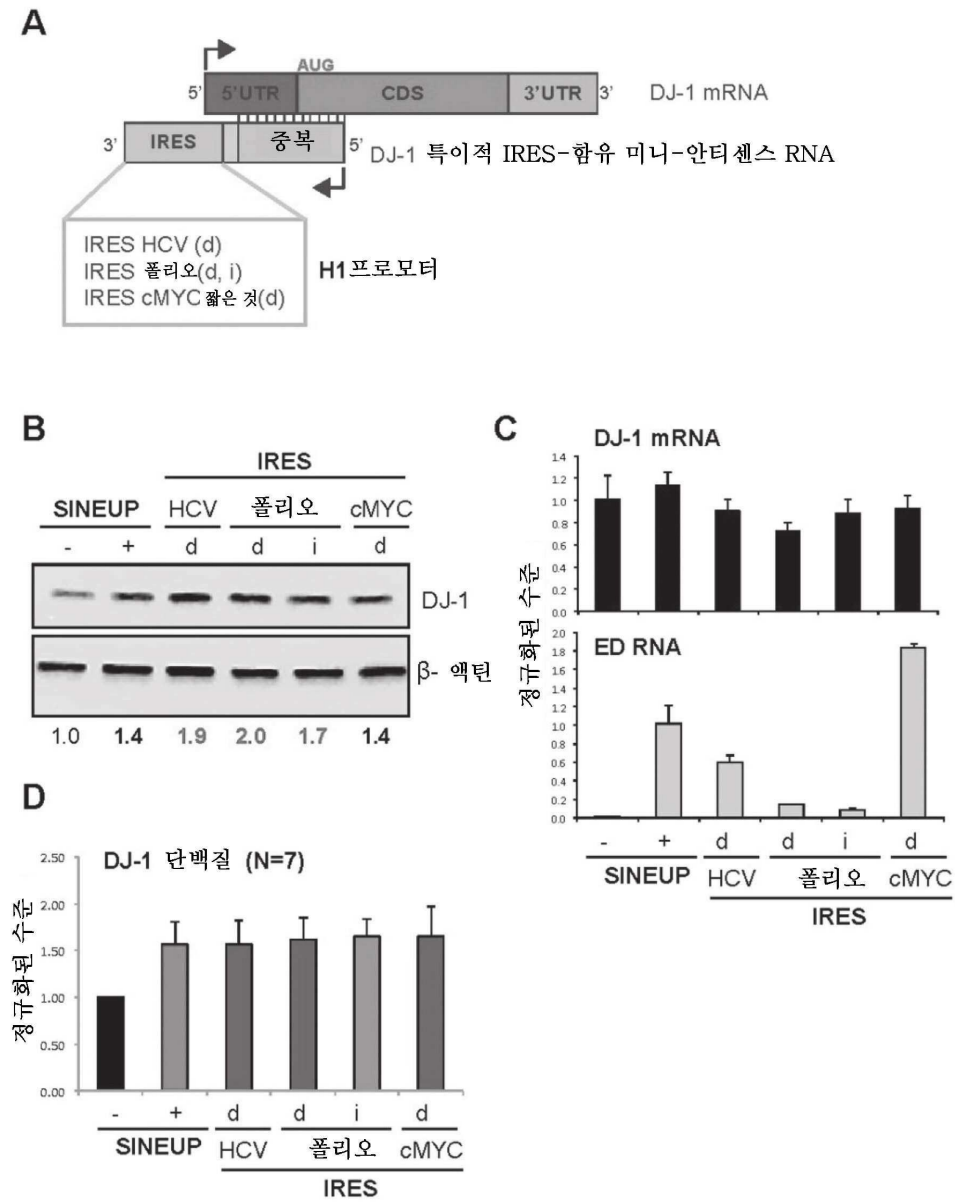
도면16



도면17



도면18

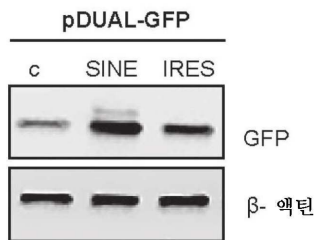


도면19

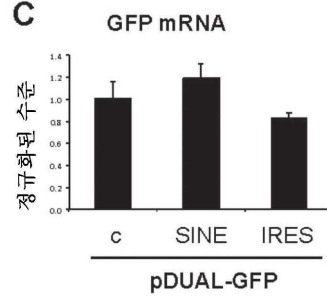
A



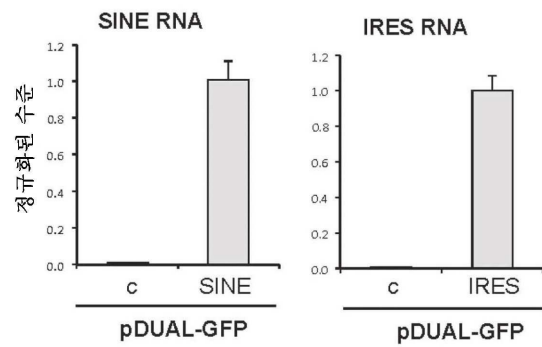
B



C

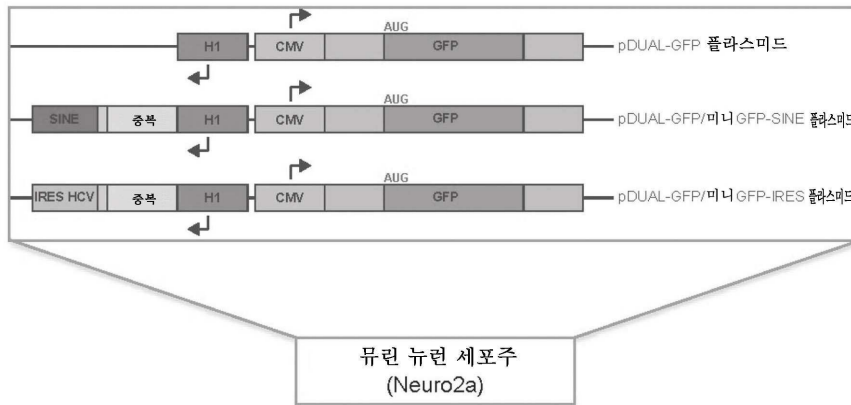


D

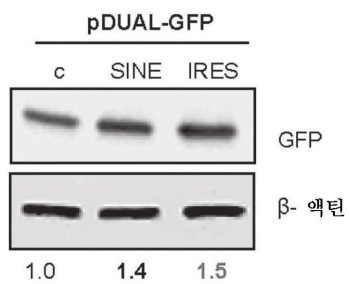


도면20

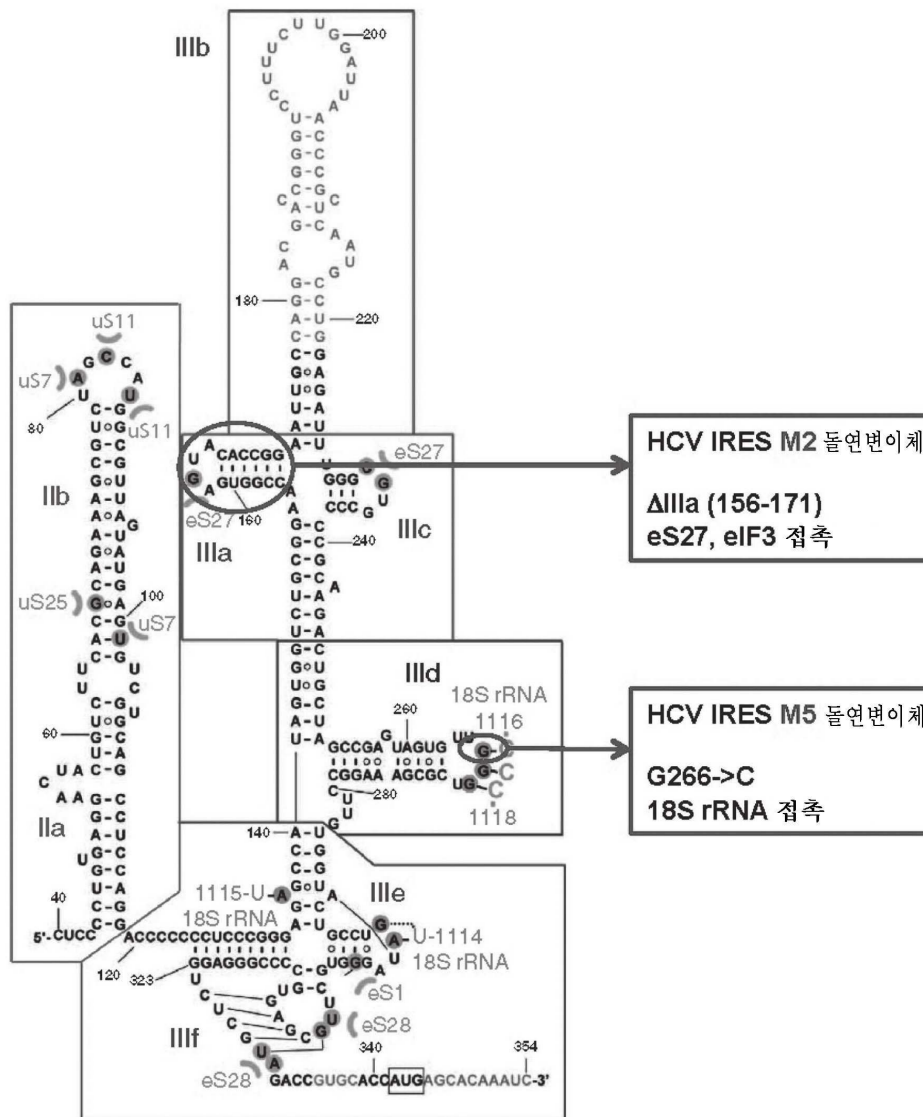
A



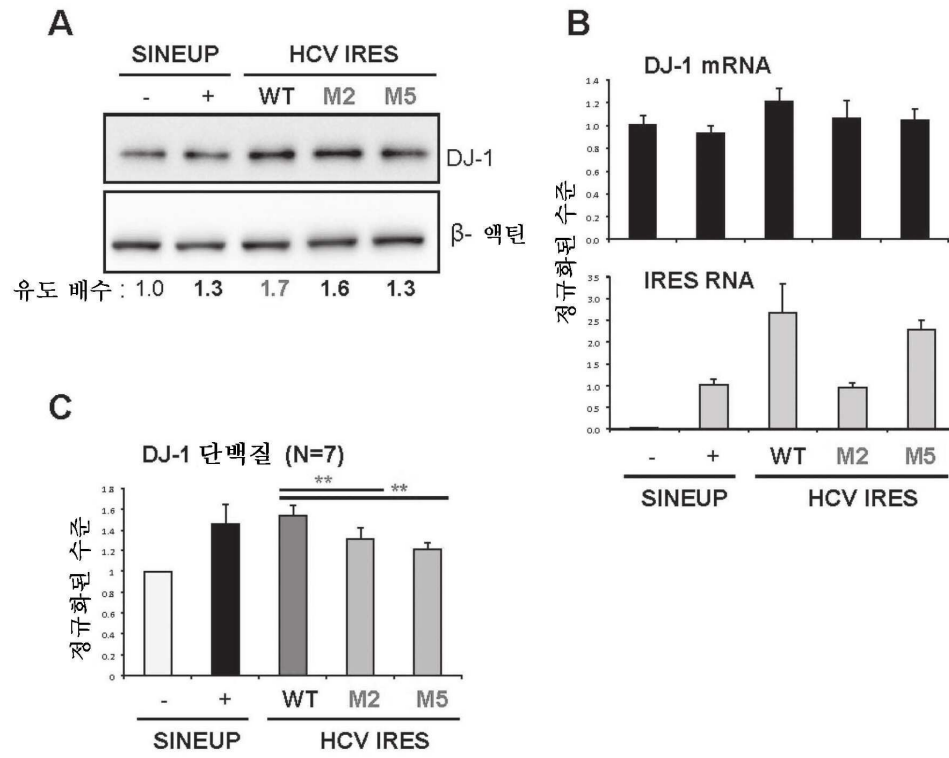
B



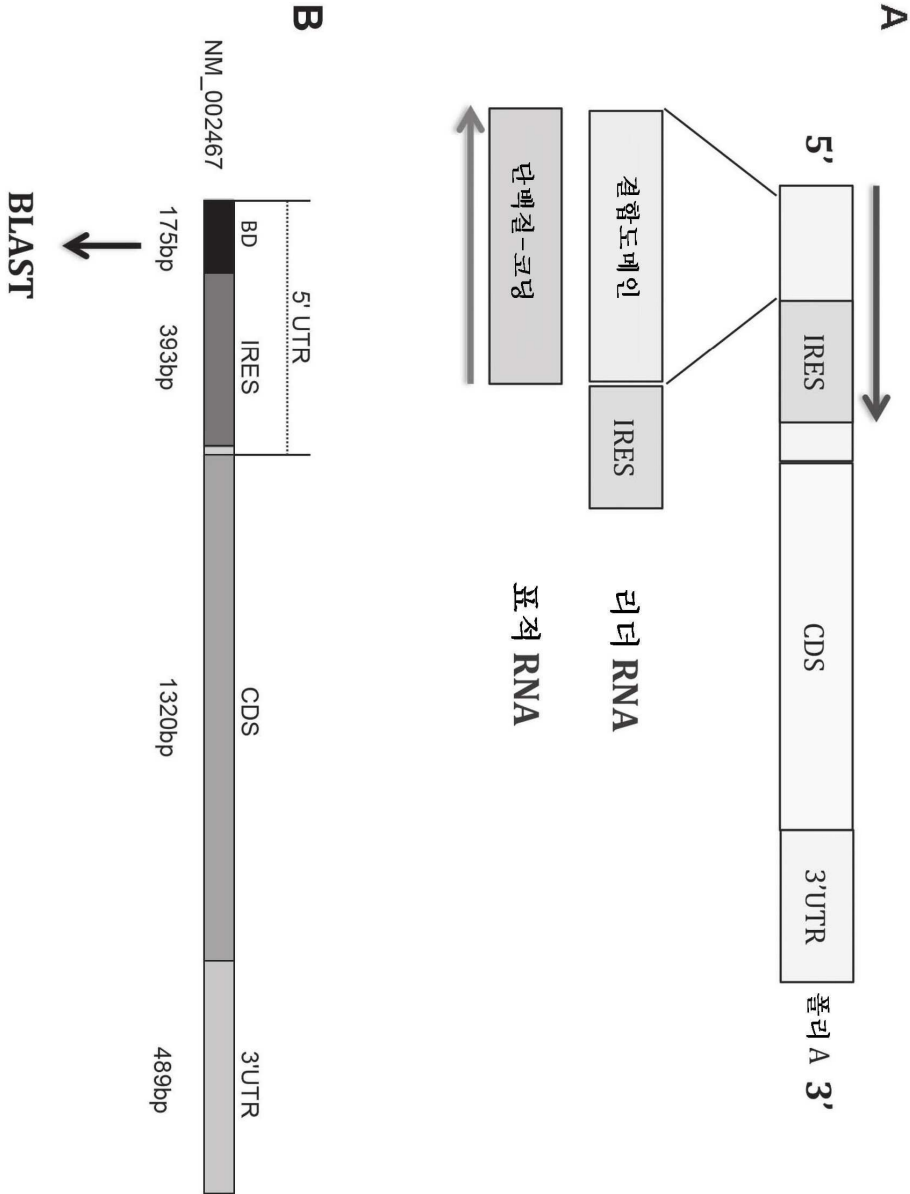
도면21



도면22



도면23i

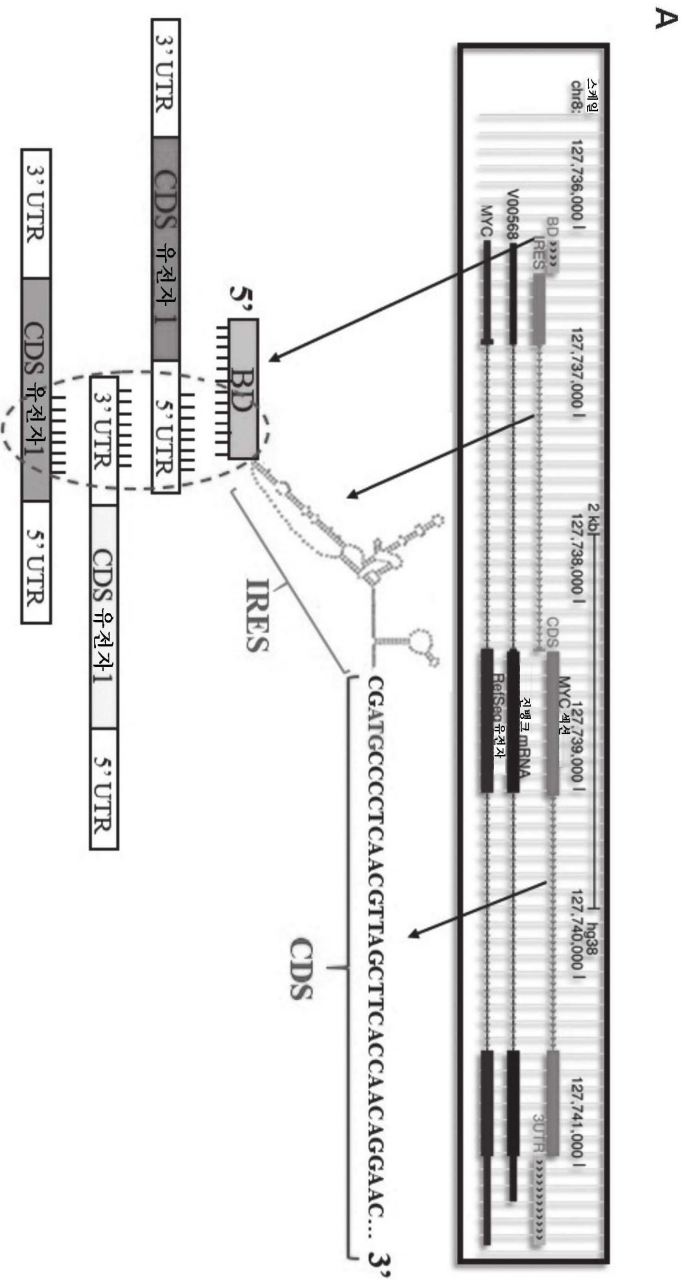


도면23ii

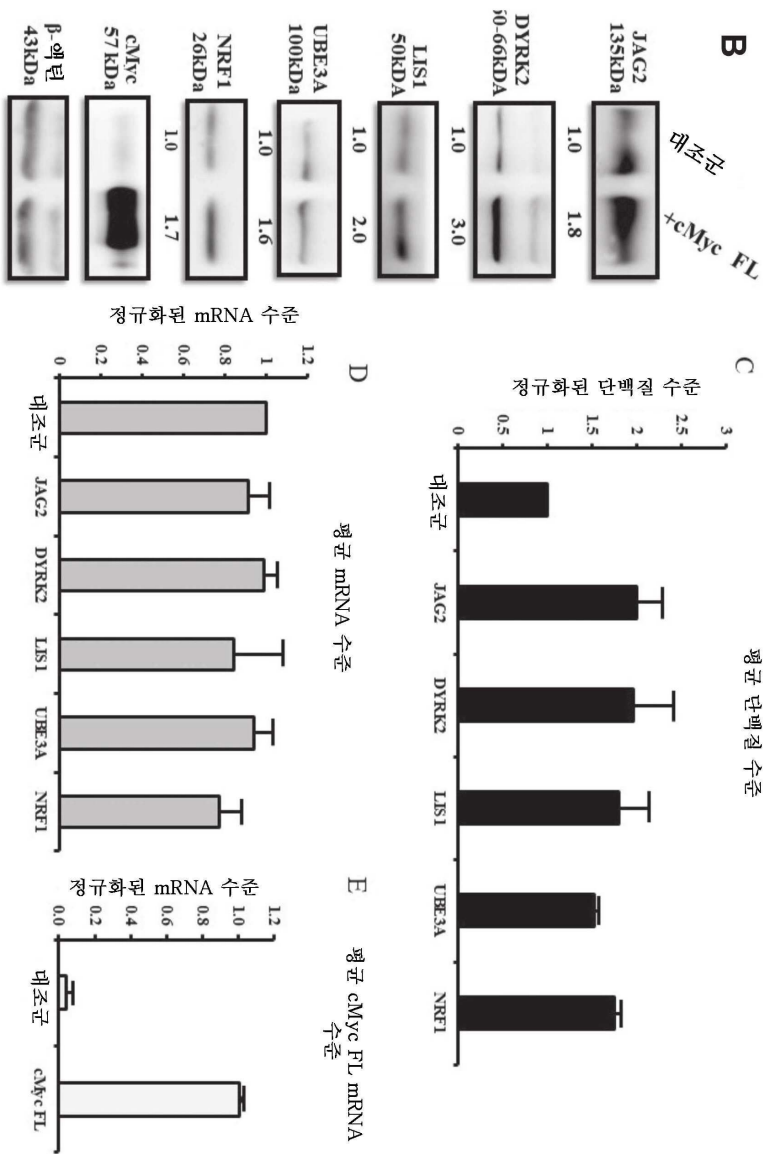
C

주석이 달린 유전자	유전자 명칭	유전자 생성성 영역	전사체 유형	위치	기능 위치	배향	정렬 길이	정렬률(%)	E 값	cmVc 생성성 영역
ENST00000347004	JAG2	5'UTR	단백질_코딩	157,297	14105168528-105168668	역배향	144	65.97	0.014	IRES
ENST00000460865	RAB6B	5'UTR	단백질_코딩	240,311	313389526-133895297	역배향	76	72.37	0.014	IRES
ENST00000433688	C11orf95	제 1 엑손	단백질_코딩	120-183	1163768496-63768559	역배향	66	72.73	0.1	IRES
ENST00000256925	CABLE81	5'UTR	단백질_코딩	3760,3787	182329225-2329252	역배향	28	92.86	0.087	IRES
ENST00000399816	UBEC2L1	5'UTR	단백질_코딩	184-201	56488806-6448823	BD	18	100	0.57	BD
ENST00000399816	UBEC2L1	5'UTR	단백질_코딩	166-205	56448806-6448824	역배향	40	85	0.005	BD
ENST0000039361	MTRF	내부 엑손 (nc)	전유_인트론	1764-1785	1161733950-61783971	역배향	22	100	0.002	BD
ENST0000054062	ARIH1	제 1 코딩 엑손	단백질_코딩	217,235	1572474861-72474879	역배향	19	100	0.14	BD
ENST0000057477	PAFAH1B1	제 1 엑손 (nc)	프로세싱된_전사체	87-178	172539301-2539392	역배향	101	68.32	0.0002	BD
ENST00000397195	PAFAH1B1	5'UTR	단백질_코딩	156-247	172539301-2539392	역배향	101	68.32	0.0002	BD
ENST00000393555	DYRK2	5'UTR	단백질_코딩	313,360	1267649033-67649080	역배향	48	79.17	0.034	BD
ENST00000468291	ZIC2	마지막 엑손 (nc)	프로세싱된_전사체	378,455	1399985415-99985492	역배향	82	68.29	0.25	BD
ENST00000620342	ZIC2	마지막 엑손	단백질_코딩	1320,1407	1399985415-99985492	역배향	83	68.67	0.092	BD
ENST0000046285	ODC1	제 1 엑손 (nc)	프로세싱된_전사체	73-114	210448196-10448237	역배향	43	79.07	0.67	BD
ENST00000234111	ODC1	5'UTR	단백질_코딩	268,309	210448196-10448237	역배향	43	79.07	0.67	BD
ENST0000049910	NRF1	5'UTR	단백질_코딩	6056,6075	1731232125-31252144	역배향	20	100	0.1	BD
ENST0000020496	DNAJC17	5'UTR	단백질_코딩	1000-1020	1540767866-40767886	역배향	21	100	0.028	3'UTR
ENST00000309539	OLR1	5'UTR	단백질_코딩	1954,2063	1210158700-10158809	역배향	110	66.36	0.018	3'UTR
ENST0000033834	KNPK3	5'UTR	단백질_코딩	3260-3359	1103552380-103552479	역배향	106	66.04	0.018	3'UTR
ENST00000610980	IBTK	5'UTR	단백질_코딩	4749-4819	682170615-82170685	역배향	72	73.61	0.018	3'UTR
ENST0000029213	SPATA18	5'UTR	단백질_코딩	3644-3702	452096540-52096598	역배향	60	78.33	0.018	3'UTR
ENST00000398559	TAF1	5'UTR	단백질_코딩	3616,3730	36902946-69021060	역배향	115	68.7	0.0001	3'UTR
ENST00000238497	VPS4B	5'UTR	단백질_코딩	1873-1995	186330319-63390641	역배향	138	65.22	0.0003	3'UTR
ENST00000356126	PSMD12	5'UTR	단백질_코딩	2542-2626	1767339696-67339780	역배향	87	72.41	0.001	3'UTR
ENST0000026335	C11orf54	5'UTR	단백질_코딩	28-117	1193746312-93746601	정배향	92	69.57	0.002	3'UTR
ENST00000357917	RHOBTB1	5'UTR	단백질_코딩	2335,2612	1060871165-60871242	역배향	82	70.73	0.002	3'UTR
ENST00000392519	TMEM121	5'UTR	단백질_코딩	620,696	14105559290-105559266	역배향	80	70	0.053	CDS
ENST00000325468	GYLTL1B	5'UTR	단백질_코딩	129,187	1143992905-4592964	역배향	60	76.67	0.053	CDS
ENST00000263754	KAT5B	5'UTR	단백질_코딩	168-282	320040239-20040354	역배향	117	63.25	0.14	CDS
ENST00000543491	PCDH7	5'UTR	단백질_코딩	404-595	430723140-30721522	역배향	198	61.62	0.38	CDS

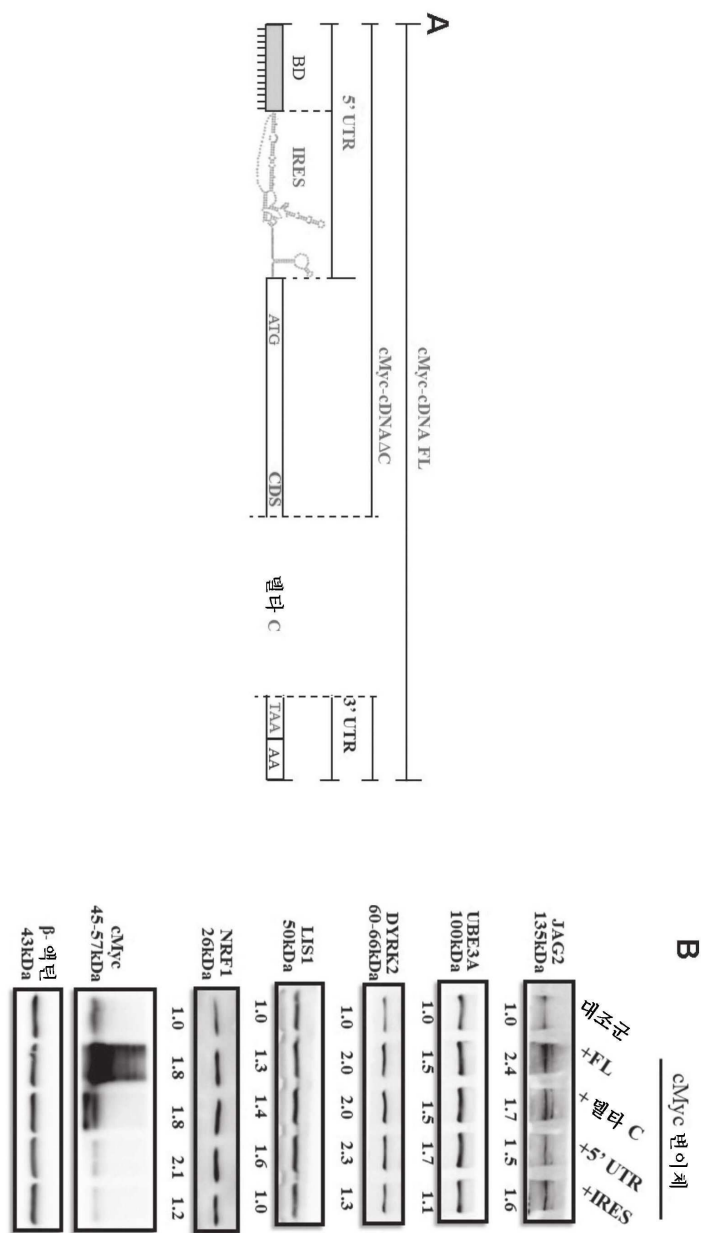
도면24i



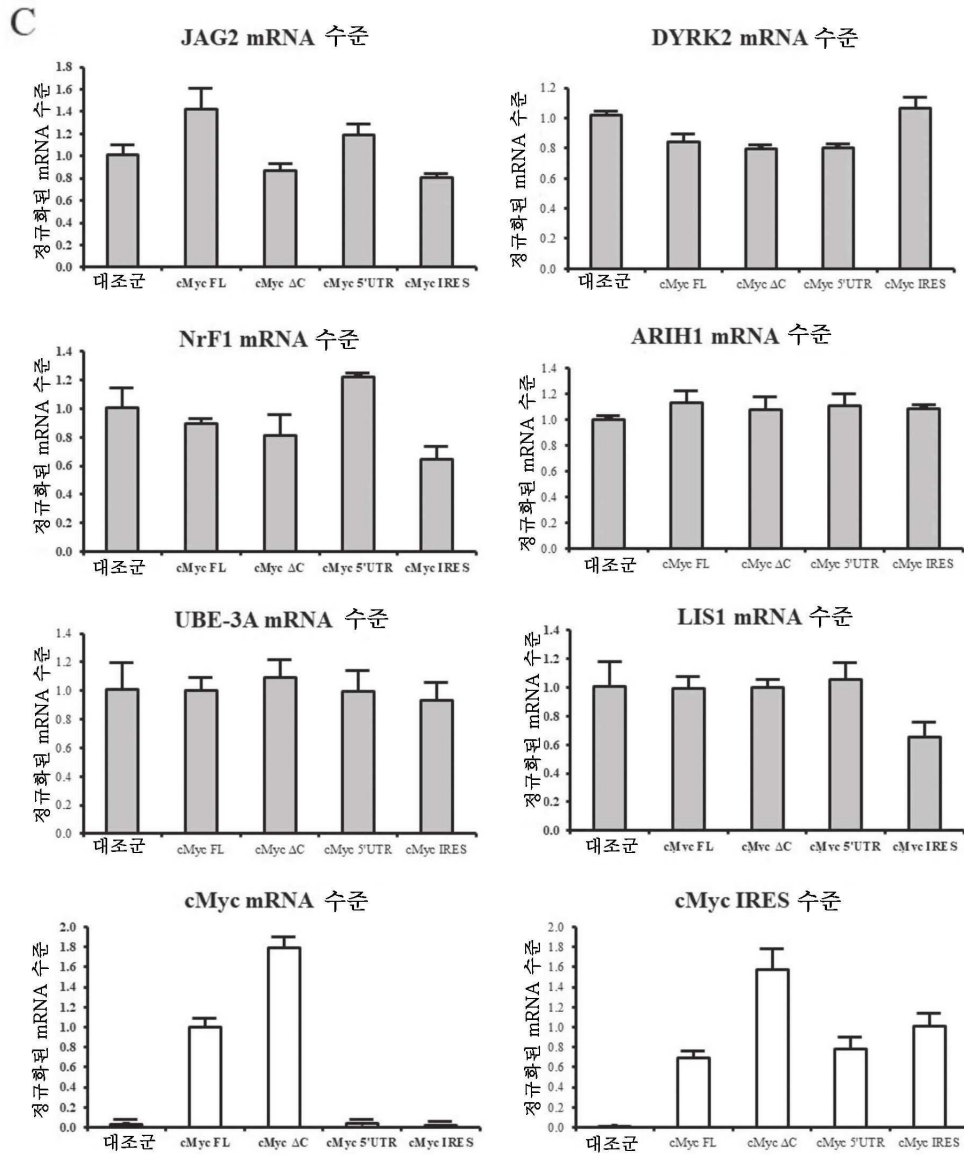
도면24ii



도면25i



도면25ii



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

<110> FONDAZIONE ISTITUTO ITALIANO DI TECNOLOGIA

SCUOLA INTERNAZIONALE SUPERIORE DI STUDI AVANZATI

<120> FUNCTIONAL NUCLEIC ACID MOLECULE AND USE THEREOF

<130> 484-17

<160> 65

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV(d) IRUP

<400> 1

ccaauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuauuggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc	240
caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgcaagac ugcuagccga guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
aggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420
aaccucaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggagcug gguaugaca cacauacuau aaucuagua cucaggauugc ugaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc ucccuaaaa	600
ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaacaa acccauuaa aaaaaacaa	660
gaucucucca cccuuucuuu gcuuuucag acuuuguaau aaggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuag caaacuggug uguauuaucu cuuauugcau gagccuggaa agagggcaca	840
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagccaacu	900
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaaug gccugugaag aaaauguucu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080
gccaauagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag	1140
acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auauuacccu auuuacucu	1260
guguugcg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuug gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuug cuuguaugca agagauggcu cacacgaug agaaaaau	1380
cuugaaggcg gaauuccacc acacuggacu aguggaucg agcucgguac caagcuu	1437

<210> 2

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV(i) IRUP

<400> 2

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuguuacgu uugguuuuuc uuugagguuu aggauucgug cucauggugc acggucuacg	120
agaccucccg gggcacucgc aagcaccua ucaggcagua ccacaaggcc uuucgcgacc	180
caacacuacu cggcuagcag ucuugcgggg gcacgccc aaucuccaggc auugagcggg	240
uuuauccaag aaaggacccg gucguccugg caauuccggu guacucaccg guuccgcaga	300
ccacuauaggc ucucccgga gggggggguc uggaggcugc acgacacuca uacuaacgcc	360
auggcuaagc gcuuucugcg ugaagacagu aguuccucac aggggaguga uucauggugg	420
agugucgccc ccaucagggg gcuggcaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggagcug gguaugacaa cacauacuau aaauucagua cucaggauuc ugaaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa	600
ggcagaauaa aagaacguc uauaaacaaa uaaacaaaca acccauauaa acaaaaccaa	660
gaucucucca cccuuuuuuu gcuuuuucag acuuuugaa aagggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagagc caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuuag caaacuggug uguauuaucu cuuauugcau gagccuggaa agagggcaca	840
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu	900
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaaug gccugugaag aaaauuguu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080
gccauuagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag	1140
acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auauuacccu auuuuacucu	1260
guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuugg gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuug cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuauu	1380
cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggauccg agcucggua caagcuu	1437

<210> 3

<211> 1366

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polio(d) IRUP

<400> 3

ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuaugaguc uggacaucucc ucaccgguga cgguggucca ggcugcguug gcggccuacc	120
uauggcuaac gccaugggac gcuaguugug aacaaggugu gaagagccua uugagcuaca	180
uaagaaucuu ccggccccug aaugcggcua aucccaaccu cggagcaggu ggucacaaac	240
cagugauugg ccugucguua cgcgcaaguc cguggcggaa ccgacuacuu ugguuguccg	300
uguuuccuuu uuuuuuauug uggcugcuua uggugacaau cacagauugu uaucauaaag	360
cgaauuggau uggccagucu cuuaaaaaac aaacaaacga acgaacagca agggagcugg	420
guaugacaac acauacuua auucuaguac ucaggauucu gaaacaggag gauugccuga	480
cugggagaua uaaggagaau cuguugucac cccaccccu ccccauaaag gcagaauaaa	540
agaacguccu auaaacaau aaacaaacaa cccaauaaaa caaaaccaag aucucuccac	600
cuuuuucuuu cuuuuucaga cuuuguaaua aggcccuuug gagugcagga uauucggcag	660
gacaagcaga gagggagacc aucaguucuu ucuuugauca agaagacuau guuccuuagc	720
aaacuggugu guauuauuc uuaugcaaug agccuggaaa gagggcacag ccaccgagga	780
ugguacagca uggauggaug guacgcuaca gagacucggg agcccaacug ugaguggcug	840
acuggcaugg uagguucagg gaagaaugg ccugugaaga aaauugucuu gaaaagugaa	900
caaggugcag gagguaggag uggguccugg gcaaagcagg gggugcaucc cagccucagg	960
gaauagcaca gcagaggucu guugaugcau gcgagugcau gaccugcuug ccaauagacg	1020
aucaagaauug ggcaaagcau caugggugau gagugggaga ggggaugaga cauuccuuuc	1080
ucccugcuga gacuuccauu gaaccgauga guucugaaua gaagaugccc cccaccccc	1140
ccaccagugu agaauucgaa gggaggcaua uauuaccua uauuacucug uguugcggc	1200
gagcuauucg acagccaacc uuuccauaca uuucuuuggg cauacacuaa ugacaggaag	1260
uuuccuuugc uuguaugcaa gagauggcuc acacgaugga gaauuuuauc uugaaggcg	1320
aaauccacca cacuggacua guggauccga gcucgguacc aagcuu	1366

<210> 4

<211> 1366

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polio(i) IRUP

<400> 4

ccauuuuuau guuuauuguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60  
cuuggccaau ccaauucgcu uuauugauaac aaucugugau ugucaccaua agcagccaca 120  
auaaaauaaa aggaaacacg gacacccaaa guagucgguu ccgccacgga cuugcgcguu 180  
acgacaggcc aaucacuggu uugugaccac cugcuccgag guugggauua gccgcuuca 240  
ggggccggag gauucuuau uagcucaua ggcuucac accuuguuca caacuagcgu 300  
cccauggcgu uagccauagg uaggccgcca acgcagccug gaccaccguc accggugagg 360

gauguccaga cucuagucu cuuaaaaaac aaacaaacga acgaacagca agggagcugg 420  
guaugacaac acauacuua auucuaguac ucaggauugc gaaacaggag gauugccuga 480  
cugggagaua uaaggagaau cuguugucac cccaccccu ccccauaaag gcagaauaaa 540  
agaacguccu auaaacaau aaacaacaa cccaauaaaa caaaccaag aucucuccac 600  
cuuuucuuug cuuuucaga cuuuguaaua aggccuuug gagugcagga uauucggcag 660  
gacaagcaga gaggagacc aucaguucu uuuuugauc agaagacuau guuccuagc 720  
aaacuggugu guauuauuc uuauugcaug agccuggaaa gagggcacag ccaccagga 780

ugguacagca uggauggaug guacguaca gagacucggg agccaacug ugaguggcug 840  
acuggcaugg uagguucagg gaagaaugg ccugugaaga aaauuguuu gaaaagugaa 900  
caaggucag gagguaggag uggguccugg gcaaagcagg gggugcaucc cagccucagg 960  
gaauagcaca gcagaggucu guugaugcau gcgagugcau gaccugcuug ccaauagacg 1020  
aucaagaug ggcaaagcau caugggugau gagugggaga ggggaugaga cauuccuuuc 1080  
uccucguga gacuuccau gaaccgauga guucugaaua gaagaugccc cccaccccc 1140  
ccaccagugu agaauugaa gggaggcaua uauuaccua uauuacucug uguugcggc 1200

gagcuauugc acagccaacc uucccauaca uucauuggg cauacacuaa ugacaggaag 1260  
uuccuuuugc uuguaugcaa gagauggcuc acacgaugga gaauuuauuc uugaaggcg 1320  
aauccacca cacuggacua guggaucgga gcucgguacc aagcuu 1366

<210> 5

<211> 1630

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EMCV(d) IRUP

<400> 5

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuuuuuuuu ucuuuuuuuu cccccccuaa cguuacuggc cgaagccgcu uggaauaagg	120
ccggugugcg uuugucuaua uguuuuuuuc caccuauuug ccgucuuuug gcaaugugag	180
ggccccgaaa ccuggcccgug ucuucuugac gagcauuccu aggggucuuu cccucucgc	240
caaaggaaug caaggucugu ugaaugucgu gaaggaagca guuccucugg aagcuucuug	300
aagacaaaca acgucuguag cgaccuuuug caggcagcgg aacccccac cuggcgacag	360
gugccucugc ggccaaaagc cagguuaua agauacaccu gcaagggcgg cacaaccca	420
gugccacguu gugaguugga uaguugugga aagagucaaa uggcucuccu caagcuauu	480
caacaagggg cugaaggauug cccagaaggu acccauugu augggauugc aucuggggcc	540
ucggugcaca ugcuuuacau guguuuaguc gagguaaaa aacgucuagg cccccgaac	600
cacggggacg ugguuuuccu uugaaaaaca cgaugauaaa gucucuuaaa aaacaaaca	660
acgaacgaac agcaaggagc cuggguuuga caacacauac uauaaucua guacucagga	720
ugcugaaaca ggaggauugc cugacuggga gauauaagga gaaucuguug ucacccccac	780
ccucucccau aaaggcagaa uaaaagaacg uccuauaaac aaauaaaca acaacccaau	840
aaaacaaaac caagaucucu ccaccuuuuc uuugcuuuuu cagacuuugu aaauaggccc	900
uuuggagugc aggauuuugc gcaggacaag cagagaggga gaccaucagu ucuuucuug	960
aucaagaaga cuauguuccu uagcaaacug guguguauua ucucuuaugc aaugagccug	1020
gaaagagggc acagccaccg aggaugguac agcauggaug gaugguacgc uacagagacu	1080
cgggagccca acugugagug gcugacuggc augguagguu cagggaagaa uggccugug	1140
aagaaaaugu ucuugaaaag ugaacaaggu gcaggaggua ggaguggguc cugggcaaag	1200
cagggggugc auccagccu cagggaauag cacagcagag gucuguugau gcaugcgagu	1260
gcaugaccug cuugccaaua gacgaucaag aaugggcaaa gcaucauggg ugaugagugg	1320
gagaggggau gagacaucc uuucuccug cugagacuuc cauugaaccg augaguucug	1380
aaugaagau gccccccac cccccacca guguaaau ugaaggaggg cauauuuac	1440
ccuauuuuac ucuguguugg cggcgagcua ucugacagcc aaccuucca uacauuucau	1500
ugggcuaaca cuuauagacg gaaguuccu uuugcuuguau gcaagagaug gcucacacga	1560
uggagaauuu aaucuuuag ggcgaaaucc accacacugg acuaguggau ccgagcucgg	1620
uaccaagcuu	1630
<210> 6	
<211> 1630	
<212> RNA	

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EMCV(i) IRUP

<400> 6

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuuuaucau cguguuuuuc aaagaaaaac cacguccccc ugguucgggg ggccuagacg	120
uuuuuuuacc ucgacuaaac acauguuaag caugugcacc gagggcccag aucagauccc	180
auacaauagg guaccuucug ggcauccuuc agcccccugu ugaauacgcu ugaggagagc	240
cauuugacuc uuuccacaac uauccaacuc acaacugggc acugggguug ugccgccuuu	300
gcagguguau cuuauacacg ugguuuuug ccgcagaggc accugucgcc agguuuuuuu	360
uuccgcugcc ugcaaagggu cgcucagac guuguuuguc uucaagaagc uuccagagga	420
acugcuuccu ucacgacau caacagaccu ugcauuccu uggcgagagg ggaaagacc	480
cuaggaaugc ucgucaagaa gacagggcca gguuuccggg ccucacauu gccaaaagac	540
ggcaauaugg uggaauuaa cauauagaca aacgcacacc ggccuuauuc caagcggcuu	600
cggccaguaa cguuaggggg gggggaggga gaggggggga gucucuuaa aaacaacaa	660
acgaacgaac agcaaggag cuggguuga caacacauac uauuuuua guacucagga	720
ugcugaaaca ggaggauugc cugacuggga gauauaagga gaauucugu ucacccccac	780
cccucccau aaaggcagaa uaaaagaacg uccuauaac aaauaaca acaaccaau	840
aaaacaaaac caagaucucu ccaccuuuuc uuugcuuuu cagacuuugu auaaggccc	900
uuuggagugc aggauauucg gcaggacaag cagagaggga gaccaucagu uuuuuuuu	960
aucaagaaga cuauguuccu uagcaaacug guguguauua ucucuuaugc aaugagccug	1020
gaaagagggc acagccaccg aggaugguac agcauggaug gaugguacgc uacagagacu	1080
cgggagccca acugugagug gcugacuggc augguagguu cagggaagaa uuggccugug	1140
aagaaaaugu ucuugaaaag ugaacaaggu gcaggaggua ggaguggguc cugggcaaag	1200
cagggggugc auccagaccu cagggaauag cacagcagag gucuguugau gcaugcgagu	1260
gcaugaccug cuugccaaua gacgaucaag aaugggcaa gcaucauggg ugaugagugg	1320
gagaggggau gagacauucc uuucuccug cugagacuuc cauugaaccg augaguucug	1380
aaugaagau gccccccac cccccacca guguaaau ugaaggagg cauauuuac	1440
ccuauuuac ucuguguug cggcgagcua ucugacagcc aaccuucca uacauuucau	1500
ugggcuaaca cuaaugacag gaaguuccu uuuguuau gcaagagaug gcucacacga	1560
uggagaauu aaucuugaag ggcgauuucc accacacug acuauggau ccgagcucgg	1620

uaccaagcuu	1630
<210> 7	
<211> 1140	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> CrPV(d) IRUP	
<400> 7	
ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuaaagcaa aaaugugauc uugcuuguaa auacaauuuu gagagguuaa uaaauuacaa	120
guagugcuau uuuuguauuu agguuagcua uuuagcuuuu cguuccagga ugccuagugg	180
cagccccaca auauccagga agcccucucu gcgguuuuuc agauuaggua gucgaaaaac	240
cuaagaaauu uaccuagucu cuuaaaaaac aaacaaacga acgaacagca agggagcugg	300
guaugacaac acauacuaua auucuaguac ucaggaugcu gaaacaggag gauugccuga	360
cugggagaua uaaggagaau cuguugucac ccccacccu ccccauaaag gcagaauaaa	420
agaacguccu auaaacaauu aaacaacaa cccaauaaaa caaaaccaag aucucuccac	480
cuuuucuuug cuuuucaga cuuuguaaua aggcccuuug gagugcagga uauucggcag	540
gacaagcaga gagggagacc aucaguucuu ucuuugauca agaagacuau guuccuuagc	600
aaacuggugu guauuauuc uuaugcaaug agccuggaaa gagggcacag ccaccgagga	660
ugguacagca uggauggaug guacgcuaca gagacucggg agcccaacug ugaguggcug	720
acuggcaugg uagguucagg gaagaaugg ccugugaaga aaauuguuu gaaaagugaa	780
caaggugcag gagguaggag uggguccugg gcaaagcagg gggugcaucc cagccucagg	840
gaauagcaca gcagaggucu guugaugcau gcgagugcau gaccugcuug ccaauagacg	900
aucaagaauug ggcaaagcau caugggugau gagugggaga ggggaugaga cauuccuuuc	960
ucccugcuga gacuuccauu gaaccgauga guucugaaua gaagaugccc ccccaccccc	1020
ccaccagugu agaauugaa gggaggcaua uauuaccua uauuacucug uguuggcggc	1080
gagcuauug acagccaacc uucccauaca uuucauuggg cauacacuaa ugacaggaag	1140
<210> 8	
<211> 1246	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	

<223> CrPV(i) IRUP

<400> 8

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuagguaaa uuucuuaggu uuucgacua ccuaaucuga aaaaccgcag agaggguuc	120
cuggauauug uggggcugcc acuaggcauc cuggaacgua aagcuaaaau gcuaaccuaa	180
auacaaaaau agcacuacuu guauuuuuu aaccucuaa auuuguauuu acaagcaaga	240
ucacauuuuu gcuuuagucu cuuaaaaaac aaacaaacga acgaacagca agggagcugg	300
guaugacaac acauacuaua auucuguac ucaggauucu gaaacaggag gauugccuga	360
cugggagaua uaaggagaau cuguugucac cccaccccu ccccauaaag gcagaauaaa	420
agaacuccu auaaacaau aaacaaaca ccaauaaaa caaaccaag aucucuccac	480
cuuuucuuug cuuuucaga cuuuguaaua aggcccuug gagucagga uauucggcag	540
gacaagcaga gaggagacc aucaguucuu ucuuugauca agaagacuau guuccuuagc	600
aaacuggugu guuuuauuc uuaugcaug agccugaaa gagggcacag ccaccagga	660
ugguacagca uggaugaug guacguaca gagacucggg agcccaacug ugaguggcug	720
acuggcaugg uagguucagg gaagaauugg ccugugaaga aauguucuu gaaaagugaa	780
caaggucag gagguaggag uggguccugg gcaaagcagg gggugcaucc cagccucagg	840
gaauagcaca gcagaggucu guugaugcau gcgagugcau gaccugcuug ccauagacg	900
aucaagaug ggcaaagcau caugggugau gagugggaga ggggaugaga cauuccuuc	960
ucccugcuga gacuuccau gaaccgauga guucugaaua gaagaugccc cccaccccc	1020
ccaccagugu agaauucgaa gggaggcaua uauuaccua uauuacucug uguugcggc	1080
gagcuauug acagccaacc uucccauaca uuucuuuggg cauacacuaa ugacaggaag	1140
uuccuuuugc uuguaugcaa gagauggcuc acacgaugga gaauuuuauc uugaaggcg	1200
aauccacca cacuggacua guggauccga gcucguuacc aagcuu	1246

<210> 9

<211> 1285

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Apaf-1(d) IRUP

<400> 9

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
---	----

cuucagagau ccaggggagg cgccugugag gcccgggaccu gccccggggc gaaggguaug 120  
 uggcgagaca gagcccugca ccccuauuuc ccgguggaaa acuccuguug ccguuucccu 180  
 ccaccggccu ggagucucc agucuugucc cgagcagugcc gccucccca cuaagaccua 240  
 ggcgcaaagg cuuggcucau gguugacagc ucagagagag aaagaucuga gggaagucuc 300  
 uuaaaaaaca aacaacgaa cgaacagcaa gggagcuggg uagacaaca cauacuuaa 360  
 uucuaguacu caggauugc aaacaggagg auugccugac ugggagauau aaggagaauc 420  
 uguugucacc cccaccccuc ccuauaaagg cagaauaaaa gaacguccua uaaacaaaua 480

aacaaacaac ccauuaaaac aaaaccaaga ucucuccacc uuuucuuugc uuuucagac 540  
 uuuguauuaa ggcccuuugg agugcaggau auucggcagg acaagcagag agggagacca 600  
 ucaguucuuu cuuugaucaa gaagacuaug uuccuuagca aacuggugug uauuauucuc 660  
 uaugcaauga gccuggaaa agggcacagc caccgaggau gguacagcau ggauggaugg 720  
 uacgcuacag agacucggga gcccaacugu gaguggcuga cuggcauggu agguucaggg 780  
 aagaauuggc cugugaagaa aauguucuuu aaaagugaac aaggugcagg agguaggagu 840  
 ggguccuggg caaagcaggg ggugcauccc agccucaggg aaugcacag cagaggucug 900

uugaugcaug cgagugcaug accugcuugc caauagacga ucaagaauagg gcaaagcauc 960  
 augggugaug agugggagag gggaugagac auuccuuuc cccugcugag acuccauug 1020  
 aaccgaugag uucugaauag aagaugcccc cccaccccc caccagugua gaaucugaag 1080  
 ggaggcauau auuaccuau auuacucugu guuggcggcg agcuauucga cagccaaccu 1140  
 ucccuaucuu uucauugggc auacacuaau gacaggaagu uccuuuugcu uguaugcaag 1200  
 agauggcuca cacgauggag aaauuaauuc ugaaggcgga auuccaccac acuggacuag 1260  
 uggauccgag cucgguacca agcuu 1285

<210> 10

<211> 1285

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Apaf-1(i) IRUP

<400> 10

ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60  
 cuuucccuca gaucuuucuc ucucugagcu gucaaccaug agccaagccu uugcgccuag 120  
 gucuuagugg ggaggcgggc acugccggga caagacuggg agacuccagg ccgguggagg 180  
 gaaacggcaa caggaguuuu ccaccgggaa uuaggggugc agggcucugu cucgccacau 240

acccuucgcc ccggggcagg uccgggccuc acaggcgccu cccuggauc ucugagucuc	300
uuaaaaaaca aacaaacgaa cgaacagcaa gggagcuggg uaugacaaca cauacuaaa	360
uucuaguacu caggauugcug aaacaggagg auugccugac ugggagauau aaggagaauc	420
uguugucacc cccaccccuc cccauaaagg cagaauaaaa gaacguccua uaaacaaaua	480
aacaaacaac ccaauaaaaa aaaaccaaga ucucuccacc uuuuuuugc uuuuucagac	540
uuuguauaa ggcccuuugg agugcaggau auucggcagg acaagcagag agggagacca	600
ucaguucuuu cuuugaucaa gaagacuaug uuccuuagca aacuggugug uauuauucuc	660
uaugcaauga gccuggaaag agggcacagc caccgaggau gguacagcau ggauggaugg	720
uacgcuacag agacucggga gcccaacugu gaguggcuga cuggcauggu agguucaggg	780
aagaauuggc cugugaagaa aauguucuug aaaagugaac aaggugcagg agguaggagu	840
ggguccuggg caaagcaggg ggugcauccc agccucaggg aaugcacag cagaggucug	900
uugaugcaug cgagugcaug accugcuugc caauagacga ucaagaauagg gcaaagcauc	960
augggugaug agugggagag gggauagagc auuccuuuc cccugcugag acuccauug	1020
aaccgaugag uucugaauag aagaugcccc cccaccccc caccagugua gaaucugaag	1080
ggaggcauau auuaccuau auuacucugu guuggcggcg agcuauauga cagccaaccu	1140
ucccauacau uucauugggc auacacuaau gacaggaagu uccuuuugcu uguaugcaag	1200
agauggcuca cacgauggag aaauuauc ugaaggcgga auuccaccac acuggacuag	1260
uggauccgag cucgguacca agcuu	1285
<210> 11	
<211> 1514	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> ELG-1(d) IRUP	
<400> 11	
ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuacuuuug gugggcauuu aaaaaugugu guuauaugugu auauauguau guuauauguau	120
guuauauau guuauauguau guuauaucg cguguauugug uguauauguau cauguguaug	180
uauuauaug cauguaugug uauuguaaua uauuauugug uguuauugua uauugugugug	240
uauuguaug uguuuguaug uguuugugug uauuauugua uguuauuaua uguuuuauac	300
acauauacac auauugguuu uuuuaucau uugagaguua guugaagaua aaaaccauc	360

accccuaaa guauuccaaa gaauaagaac auuguuuuuu acauagcaca cuuaacaaaa	420
ucaagaaau uaacauuaa acaguacugu uaccuaaacc guagucgauu uucaauuuu	480
gucaguuguu ccaauaaugu ccuuuauua uuccccgccc agcagucucu uaaaaaaca	540
acaaacgaac gaacagcaag ggagcugggu augacaacac auacuauaa ucuaguacuc	600
aggaugcuga aacaggagga uugccugacu gggagauua aggagaaucu guugucaccc	660
ccacccucc ccuaaaaggc agaauaaaag aacguccuau aaacaaaua acaacaacc	720
caaaaaaca aaaccaagau cucuccaccu uuucuugcu uuucagacu uguaauaag	780
gccccuugga gugcaggaua uucggcagga caagcagaga gggagaccu caguucuuu	840
uuugaucaag aagacuugu uccuagcaa acuggugugu auuauucuu augcaaugag	900
ccuggaaaga gggcacagcc accgaggau guacagcaug gauggauggu acgcuacaga	960
gacucgggag cccaacugug aguggcugac uggauggua gguucaggga agaauuggcc	1020
ugugaagaaa auguucuuga aaagugaaca aggugcagga gguaggagug gguccugggc	1080
aaagcagggg gugcaucca gccucaggga auagcacagc agaggucugu ugaugcaugc	1140
gagugcauga ccugcuugc aaugacgau caagauggg caaagcauca ugguugauga	1200
gugggagagg ggaugagaca uuccuuucuc ccugcugaga cuuccauuga accgaugagu	1260
ucugaauaga agaugcccc cccccccc accaguguag aaucugaagg gaggcuaaua	1320
uuaccuaua uuacucugug uuggcggcga gcuauugac agccaaccu ccuauacau	1380
ucauugggca uacacuaag acaggaagu ccuuuugcu guaugcaaga gauggcucac	1440
acgauggaga auuuauucuu gaaggcgaa uuccaccaca cuggacuagu ggaucggagc	1500
ucguacca gcuu	1514
<210> 12	
<211> 1514	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> ELG-1(i) IRUP	
<400> 12	
ccauuuuuu guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugcugggc ggggaauua uaaaggacau uauuggaaca acugacaaaa uuugaaauc	120
gacuacggau uagguaacag uacuguauua auguuuuuu ucuugauuuu guuaagugug	180
cuauguaua aacaanguuc uuauucuuug gaauacauu aggggugaug gguuuuuuac	240

uucaacuaac ucucaaauga uuaaaaaaac caauaugugu auauguguau aaucacauua	300
cauacauaca uacauacaca cacacauaca cacacacaua cacauacaca cacauauaca	360
uacacacaca uacauauuaa cacauacaca uacaugcaua uacauacaua ccaugcaua	420
cauacacaca uacacgcgau acauacauac auauacauau auacacauac auacacauac	480
auauauacac auacacacac auuuuuuuuu gcccaccaa agugucucu uaaaaaaca	540
acaaacgaac gaacagcaag ggagcugggu augacaacac auacuauauu ucuaguacuc	600
aggauugcuga aacaggagga uugccugacu ggagauaua aggagaaucu guugucaccc	660
ccacccucc ccuaaaaggc agaauaaaag aacguccuau aaacaaaua acaacaacc	720
cauaaaaca aaaccaagau cucuccaccu uuucuuugcu uuucagacu uuguauaag	780
gcccuuugga gugcaggaua uucggcagga caagcagaga ggagaccu caguucuuu	840
uuugaucaag aagacuauu uccuagcaa acugugugu auuauucuu augcaugag	900
ccugaaaga gggcacagcc accgaggau guacagcaug gauggauggu acguacaga	960
gacucgggag ccaacugug aguggcugac ugcauggua gguucaggga agaauaggcc	1020
ugugaagaaa auguucuaa aaagugaaca agugcagga gguaggagug ggucugggc	1080
aaagcagggg gugcaucca gccucaggga auagcacagc agaggucugu ugaugcaugc	1140
gagugcauga ccugcuugcc aaugacgau caagauggg caaagcaua ugggugauga	1200
gugggagagg ggaugagaca uuccuuucuc ccugcugaga cuuccauua accgaugau	1260
ucugaauaga agaugcccc ccaccccc accaguguag aaucugaagg gaggcuaaua	1320
uuaccuaua uuacucugug uggcggcga gcuauugac agccaaccuu ccuauacuu	1380
ucauugggca uacacuaug acaggaaguu cccuuugcu gaaugcaaga gauggcucac	1440
acgauggaga auuuauucuu gaaggcgaa uuccaccaca cuggacuagu ggaucggagc	1500
ucguaccaa gcuu	1514
<210> 13	
<211> 1449	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> cMYC full length(d) IRUP	
<400> 13	
ccauuuuuu guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuaauucca gcgagaggca gagggagcga gcggggcgcc ggcuaggug gaagagccgg	120

gcgagcagag cugcgcugcg ggcguccugg gaaggagau ccggagcgaa uagggggcuu 180

cgccucuggc ccagcccucc cgcuuagucc cccaggccag cguccgcaa cccuugccgc 240

auccacgaaa cuuugcccau agcagcgggc gggcacuuug cacuggaacu uacaacaccc 300

gagcaaggac gcgacucucc cgacgcgggg aggcuaauuc gcccauuugg ggacacuucc 360

ccgccgcugc caggacccgc uucucugaaa ggcucuccuu gcagcugcuu agacgcugga 420

uuuuuuucgg guaguggaaa accagcagcc ucccgcgaag ucucuuaaaa aacaaacaaa 480

cgaacgaaca gcaagggagc uggguaugac aacacauacu auaauucua uacucaggau 540

gcugaaaacag gaggauugc ugacugggag auauaaggag aaucuguugu cccccccacc 600

ccucccaua aaggcagaau aaaagaacgu ccuaauaaca auaaaacaaa caaccacaa 660

aaacaaaacc aagaucucuc caccuuuuc uugcuuuuc agacuuugua auaaggcccu 720

uuggagugca ggauauucgg caggacaagc agagagggag accaucaguu cuuucuuuga 780

ucaagaagac uauguuccuu agcaaacugg uguguauuuu cucuuugca augagccugg 840

aaagagggca cagccaccga ggaugguaca gcauggaugg augguacgu acagagacuc 900

gggagcccaa cugugagugg cugacuggca ugguagguuc agggaagaau uggccuguga 960

agaaaauguu cuugaaaagu gaacaaggug caggagguag gagugggucc ugggcaaagc 1020

agggggugca ucccagccuc agggauuagc acagcagagg ucuguugaug caugcgagug 1080

caugaccugc uugccaauag acgaucaaga augggcaaag caucaugggu gaugaguggg 1140

agaggggaug agacauuccu uucucccugc ugagacuucc auugaaccga ugaguucuga 1200

auagaagaug cccccccacc cccccaccag uguagaauuc gaagggaggc auauuuuacc 1260

cuauuuuacu cuguguuggc ggcgagcuau cugacagcca accuucccau acauuucauu 1320

gggcauacac uaauagacagg aaguuccuuu ugcuuguaug caagagaugg cucacacgau 1380

ggagaaauua aucuugaagg gcgaauucca ccacacugga cuaguggauc cgagcucggu 1440

accaagcuu 1449

<210> 14

<211> 1449

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> cMYC full length(i) IRUP

<400> 14

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60

cuuucgcggg aggcugcugg uuuuccacua cccgaaaaaa auccagcguc uaagcagcug	120
caaggagagc cuuucagaga agcgggucgu ggagcggcg gggaaguguc cccaauggg	180
cagaauagcc uccccgcguc gggagagucg cguccuugcu cggguguugu aaguuccagu	240
gcaaagugcc cgcccgucg uaugggcaaa guuucgugga ugcggcaagg guugcggacc	300
gcuggccugg gggaucaagc gggagggcug ggccagaggc gaagccccc auucgcuccg	360
gaucuccuu cccaggacgc ccgcagcgca gcucugcucg cccggcucu ccaccuagc	420
cggccgcccg cucgcuccu cugccucucg cuggaauuag ucucuuaaaa aacaaacaaa	480
cgaacgaaca gcaaggagc ugguaugac aacacauacu auaauucuag uacucaggau	540
gcugaaacag gaggauugc ugacugggag auuaaggag aaucuguugu cccccacc	600
ccucccaua aaggcagaau aaaagaacgu ccuaaaaca auaaaca caaccuaa	660
aaacaaaacc aagaucuc caccuuuuc uugcuuuuc agacuugua auaaggccu	720
uuggagugca ggauauucg caggacaagc agagagggag accaucagu cuuucuuuga	780
ucaagaagac uauguuccu agcaacug uguguauuau cucuuugca augagccugg	840
aaagagggca cagccaccga ggaugguaca gcauggaugg augguacgu acagagacuc	900
gggagcccaa cugugagugg cugacuggca ugguagguuc agggaagaau ugccuguga	960
agaaauguu cuugaaaagu gaacaaggug caggagguag gagugggucc ugggcaaagc	1020
agggggugca ucccagccuc agggaaugc acagcagagg ucuguugaug caugcgagug	1080
caugaccugc uugccaauag acgaucaaga augggcaaag caucaugggu gaugaguggg	1140
agaggggaug agacauuccu uucuccugc ugagacuucc auugaaccga ugaguucuga	1200
auagaaug cccccacc cccccaccag uguagaau cuagggagc auauuuacc	1260
cuauuuacu cuguguuggc ggcgagcuau cugacagcca accuuccau acuuuacuu	1320
gggcacacac uaaugacagg aaguuccuu ugcuuugaug caagagaug cucacacgau	1380
ggagaauuu aucuugaag gcgaauucca ccacacugga cuaguggauc cgagcucggu	1440
accaagcuu	1449
<210> 15	
<211> 1102	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> cMYC short variant(d) IRUP	
<400> 15	
ccauuuuuu guuauaugu uacaagcccc acaccaggu gaaaaucugc agaauucgcc	60

cuugggcacu uugcacugga acuuacaaca cccgagcaag gacgcgacuc uagucucuua	120
aaaaacaaac aaacgaacga acagcaaggg agcuggguau gacaacacau acuaauauuc	180
uaguacucag gaugcugaaa caggaggauu gccugacugg gagauauaag gagaauucugu	240
ugucaccccc accccucucc auaaaggcag auaaaaagaa cguccuauaa acaaaauaac	300
aaacaaccca auaaaacaaa accaagaucu cuccaccuuu ucuuugcuuu uucagacuuu	360
guaauaaggc ccuuuggagu gcaggauuu cggcaggaca agcagagagg gagaccauca	420
guucuuuuuu ugaucaagaa gacuauguuc cuuagcaaac ugguguguau uaucucuau	480
gcaaugagcc uggaaagagg gcacagccac cgaggauugu acagcaugga uggaugguac	540
gcuacagaga cucgggagcc caacugugag uggcugacug gcaugguagg uucagggaag	600
aaugggccug ugaagaaaau guucuugaaa agugaacaag gugcaggagg uaggaguggg	660
uccuggggcaa agcagggggu gcaucccagc cucagggaau agcacagcag aggucuguug	720
augcaugcga gugcaugacc ugcuugccaa uagacgauca agaauaggca aagcauauug	780
ggugaugagu gggagagggg augagacauu ccuuucuccc ugcugagacu uccauugaac	840
cgaugaguuc ugaauagaag augccccccc accccccac caguguagaa ucugaaggga	900
ggcauauauu acccuauauu acucuguguu ggcggcgagc uaucugacag ccaaccuucc	960
cauacauuuc auugggcuaa cacuaaugac aggaaguucc uuuugcuugu augcaagaga	1020
uggcucacac gauggagaau uuaaucuuga agggcgaaau ccaccacacu ggacuagugg	1080
auccgagcuc gguaccaagc uu	1102
<210> 16	
<211> 1102	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> cMYC short variant(i) IRUP	
<400> 16	
ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuagagucg cguccuugcu cggguguugu aaguuccagu gcaaagugcc cagucucuua	120
aaaaacaaac aaacgaacga acagcaaggg agcuggguau gacaacacau acuaauauuc	180
uaguacucag gaugcugaaa caggaggauu gccugacugg gagauauaag gagaauucugu	240
ugucaccccc accccucucc auaaaggcag auaaaaagaa cguccuauaa acaaaauaac	300
aaacaaccca auaaaacaaa accaagaucu cuccaccuuu ucuuugcuuu uucagacuuu	360

guaauaaggc ccuuggagu gcaggauuu cggcaggaca agcagagagg gagaccauca	420
guucuuuuu ugaucaagaa gacuauuuc cuuagcaaac ugguguguau uaucucuau	480
gcaaugagcc uggaagagg gcacagccac cgaggauugu acagcaugga uggaugguac	540
gcuacagaga cucgggagcc caacugugag uggcugacug gcaugguagg uucagggaag	600
aaugggccug ugaagaaaa guucuugaaa agugaacaag gugcaggagg uaggaguggg	660
uccugggcaa agcagggggu gcaucccagc cucagggaau agcacagcag aggucuguug	720
augcaugcga gugcaugacc ugcuuGCCaa uagacgauca agaauGGGca aagcaucaug	780
ggugaugagu gggagagggg augagacuu ccuuucucc ugcugagacu uccauugaac	840
cgaugaguuc ugaauagaag augcccccc accccccac caguguagaa ucugaaggga	900
ggcauuuuu acccuauuu acucuguguu ggCGGcgagc uaucugacag ccaaccuucc	960
cauacauuuc auugggcaua cacuaaugac aggaaguucc uuuugcuugu augcaagaga	1020
uggcucacac gauggagaau uuaaucuuga agggcgaaau ccaccacacu ggacuagugg	1080
auccgagcuc gguaccaagc uu	1102
<210> 17	
<211> 1125	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> DMD(d) IRUP	
<400> 17	
ccauuuuuu guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuguacuga caucguagau ggaaaucaua aacugacucu ugguuugauu uggaauauaa	120
uccuccacug gcagagucuc uuaaaaaaca aacaaacgaa cgaacagcaa gggagcuggg	180
uagacaaca cauacuauaa uucuauguacu caggauugcug aaacaggagg auugccugac	240
ugggagauau aaggagaauc uguugucacc cccaccccuc cccauaaagg cagaauaaaa	300
gaacguccua uaaacaaaua aacaacaac ccauuuuuac aaaccaaga ucucuccacc	360
uuuucuuugc uuuuucagac uuuguauuaa ggccuuuugg agugcaggau auucggcagg	420
acaagcagag agggagacca ucaguucuuu cuuugaucaa gaagacuau uuccuuagca	480
aacuggugug uauuauucuu uaugcaauga gccuggaaag agggcacagc caccgaggau	540
ggucacgau ggauggaugg uacgcucag agacucggga gccaacugu gaguggcuga	600
cuggcauggu agguucaggg aagaauuggc cugugaagaa aauguucuug aaaagugaac	660

aaggugcagg agguaggagu ggguccuggg caaagcaggg ggugcaucc agccucaggg	720
aaauagcacag cagaggucug uugaugcaug cgagugcaug accugcuugc caauagacga	780
ucaagaauagg gcaaagcauc augggugaug agugggagag gggauagagac auuccuuucu	840
cccugcugag acuccauug aaccgaugag uucugaauag aagaugcccc cccaccccc	900
caccagugua gaucugaag ggaggcauau auuaccuau auuacucugu guuggcggcg	960
agcuauauga cagccaaccu ucccauacau uucauugggc auacacuaau gacaggaagu	1020
uccuuuugcu uguaugcaag agauggcuca cacgauggag aauuuauucu ugaagggcga	1080
auuccaccac acuggacuag uggauccgag cucguacca agcuu	1125
<210> 18	
<211> 1125	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> DMD(i) IRUP	
<400> 18	
ccauuuuuau guuuauuguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuucugccag uggaggauua uauuccaaau caaaccaaga gucaguuuau gauuuccauc	120
uacgaugua guacagucuc uaaaaaaca aacaaacgaa cgaacagcaa gggagcuggg	180
uauacaaca cauacuaua uucuaguacu caggauugcug aaacaggagg auugccugac	240
ugggagauau aaggagaauc uguugucacc cccacccuc cccauaaagg cagaauaaaa	300
gaacguccua uaaacaaaau aacaacaac ccauaaaac aaaaccaaga ucucuccacc	360
uuuucuugc uuuucagac uuuguauuaa ggcccuuugg agugcaggau auucggcagg	420
acaagcagag agggagacca ucaguucuuu cuuugauca gaagacuag uuccuagca	480
aacuggugug uuuuauucu uaugcauga gccuggaaag agggcacagc caccgaggau	540
gguacagcau ggauggaugg uacgcuacag agacucggga gccaacugu gaguggcuga	600
cuggcauggu agguucaggg aagaauuggc cugugaagaa aauguucuug aaaagugaac	660
aaggugcagg agguaggagu ggguccuggg caaagcaggg ggugcaucc agccucaggg	720
aaauagcacag cagaggucug uugaugcaug cgagugcaug accugcuugc caauagacga	780
ucaagaauagg gcaaagcauc augggugaug agugggagag gggauagagac auuccuuucu	840
cccugcugag acuccauug aaccgaugag uucugaauag aagaugcccc cccaccccc	900
caccagugua gaucugaag ggaggcauau auuaccuau auuacucugu guuggcggcg	960

agcuauauga cagccaaccu ucccauacau uucauugggc auacacuaau gacaggaagu 1020

uccuuuugcu uguaugcaag agauggcuca cacgauggag aauuuuauu ugaagggcga 1080

auuccaccac acuggacuag uggauccgag cucgguacca agcuu 1125

<210> 19

<211> 1357

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV delta II(d) IRUP

<400> 19

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60

cuugccagcc cccugauggg ggcgacacuc caccaugaau ccccccccu cccgggagag 120

ccauaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc caggacgacc ggguccuuuc 180

uuggaauaac ccgcucaaug ccuggagauu ugggcgugcc cccgcaagac ugcuagccga 240

guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau agggugcuug cgagugcccc 300

gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua aaccucaaag aaaaacaaa 360

cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc aaggagcug gguaugacaa 420

cacauacuau aaaucuagua cucaggauugc ugaaacagga ggauugccug acugggagau 480

auaaggagaa ucuguugua cccccacccc uccccauaaa ggcaagaaua aagaacgucc 540

uauaaacaaa uaaacaacaa acccauauaa acaaaacaa gaucucucca ccuuuucuuu 600

gcuuuuucag acuuuguaau aaggccuuu ggagugcagg auauucggca ggacaagcag 660

agaggagac caucaguucu ucuuuugauc aagaagacua uguuccuuag caaacuggug 720

uguauuauu cuuauagcau gagccuggaa agagggcaca gccaccgagg augguacagc 780

auggauggau gguacgcua acagacucgg gagcccaacu gugaguggcu gacuggcaug 840

guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu ugaaaaguga acaaggugca 900

ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc ccagccucag ggaauagcac 960

agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu gccaaugac gaucaagaau 1020

gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag acauuccuuu cuccugcug 1080

agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugc cccccacccc cccaccagug 1140

uagaauauga agggaggcau auuuuacccu auuuuacucu guuuuggcgg cgagcuauu 1200

gacagccaac cuucccauac auuucauugg gcuaacacua augacaggaa guuccuuuug 1260

cuuguau gca agagaug gcu cacacgaugg agaauuuauu cuugaagggc gaauuccacc	1320
acacuggacu aguggaucg agcucgguaac caagcuu	1357
<210> 20	
<211> 1421	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> HCV delta IIIa(d) IRUP	
<400> 20	
ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc cccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaaaa uugccaggac gaccgggucc	240
uuucuuggau aaacccgcuc aaugccugga gauuugggcg ugcccccgca agacugcuag	300
ccgaguagug uugggucgcg aaaggccuug ugguacugcc ugauaggug cuugcgagug	360
ccccgggagg ucucguagac cgugcaccau gaggcacgaau ccuaaaccuc aaagaaaaac	420
caaacguaac agucucuuaa aaaacaaaca aacgaacgaa cagcaaggga gcuggguaug	480
acaacacua cuauaaauuc aguacucagg augcugaaac aggaggauug ccugacuggg	540
agauuaaagg agaauucuuu gucaccccca cccucccca uaaaggcaga auaaaagaac	600
guccuauaaa caaaauaaca aacaacccaa uaaaacaaaa ccaagaucuc uccaccuuuu	660
cuuugcuuuu ucagacuuug uaauaaggcc cuuuggagug caggauauuc ggcaggacaa	720
gcagagaggg agaccaucag uucuuuuuu gaucaagaag acuauguucc uuagcaaacu	780
gguguguauu aucucuuaug caaugagccu ggaaagaggg cacagccacc gaggauggua	840
cagcauggau ggaugguac cuacagagac ucgggagccc aacugugagu ggcugacugg	900
caugguaggu ucagggaaga auuggccugu gaagaaaaug uucuuagaaa gugaacaagg	960
ugcaggaggu aggagugggu ccugggcaaa gcagggggug caucccagcc ucagggaaua	1020
gcacagcaga ggucuguuga ugcaugcgag ugcaugaccu gcuugccaau agacgaucaa	1080
gaaugggcaa agcaucaugg gugaugagug ggagagggga ugagacauuc cuuucuccu	1140
gcugagacuu ccuugaacc gaugaguucu gaauagaaga ugcccccca cccccacc	1200
aguguagaau cugaaggag gcauauauua ccuauauua cucuguguug gcggcgagcu	1260
aucugacagc caaccuucc auacauuua uugggcuaac acuaaugaca ggaaguuccu	1320
uuugcuugua ugcaagagau ggcucacacg auggagaauu uaaucuugaa gggcgaauc	1380

caccacacug gacuagugga uccgagcucg guaccaagcu u 1421

<210> 21

<211> 1410

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV delta IIId(d) IRUP

<400> 21

ccauuuuuau guuuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60

cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua 120

cugucuucac gcagaaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180

gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc 240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc 300

cccgcaagac ugcuaauugu gguacugccu gauagggugc uugcgagugc cccgggaggu 360

cucguagacc gugcaccaug agcacgaauc cuaaaccuca aagaaaaacc aaacguaaca 420

gucucuuaaa aaacaaacaa acgaacgaac agcaaggag cuggguauga caacacauac 480

uauaaauua guacucagga ugcugaaaca ggaggauugc cugacuggga gauauaagga 540

gaaucuguug ucacccccac ccucuccau aaaggcagaa uaaaagaacg uccuauaaac 600

aaauaaacaa acaaccaau aaaacaaaac caagaucucu ccaccuuuc uuugcuuuuu 660

cagacuuugu aaauaggccc uuuggagugc aggauauucg gcaggacaag cagagaggga 720

gaccaucagu uuuuuuuug aucaagaaga cuauguuccu uagcaaacug guguguauua 780

ucucuuaugc aaugagccug gaaagagggc acagccaccg aggaugguac agcauggaug 840

gaugguacgc uacagagacu cgggagccca acugugagug gcugacuggc augguagguu 900

cagggaagaa ugggccugug aagaaaaugu ucuugaaaag ugaacaaggu gcaggaggua 960

ggaguggguc cugggcaaag cagggggugc auccagccu cagggaauag cacagcagag 1020

gucuguugau gcaugcgagu gcaugaccug cuugccaaua gacgaucaag aaugggcaaa 1080

gcaucauggg ugaugagugg gagaggggau gagacauucc uuucuccug cugagacuuc 1140

cauugaaccg augaguucug aaugaagau gccccccac cccccacca guguagaau 1200

ugaaggagg cauauuuac ccuauuuac ucuguguugg cggcgagcua ucugacagcc 1260

aaccuuccca uacauuuau ugggcuaaca cuaaugacag gaaguuccu uugcuuguau 1320

gcaagagaug gcucacacga uggagaauuu aaucuugaag ggcgaaaucc accacacugg 1380

acuaguggau ccgagcucgg uaccaagcuu 1410

<210> 22

<211> 1384

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV delta IV(d) IRUP

<400> 22

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60

cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacuccccug ugaggaacua 120

cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180

gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc 240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc 300

cccgcaagac ugcuaagccga guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau 360

agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guaagucucu uaaaaaaca acaaacgaac 420

gaacagcaag ggagcugggu augacaacac auacuauau ucuaguacuc aggaugcuga 480

aacaggagga uugccugacu gggagauaua aggagaauu guugucaccc ccacccucc 540

ccauaaaggc agaauaaaag aacguccuau aaacaaaua acaacaacc caauaaaaca 600

aaaccaagau cucuccaccu uuucuuugcu uuucagacu uuguauaag gcccuuugga 660

gugcaggaua uucggcagga caagcagaga gggagaccu caguucuuuc uuugaucaag 720

aagacuauu uccuagcaa acuggugugu auuauucuu augcaugag ccuggaaaga 780

gggcacagcc accgaggaug guacagcaug gauggauggu acgcuacaga gacucgggag 840

cccaacugug aguggcugac uggcauggua gguucaggga agaauuggcc ugugaagaaa 900

auguucuga aaagugaaca agguccagga gguaggagug gguccugggc aaagcagggg 960

gugcauccca gccucaggga auagcacagc agaggucugu ugaugcaugc gagugcauga 1020

ccugcuugcc aaugacgau caagauggg caaagcauca ugggugauga gugggagagg 1080

ggaugagaca uuccuuucuc ccugcugaga cuuccauuga accgaugagu ucugaauaga 1140

agaugcccc ccaccccc accaguguag aaucugaagg gaggcuaaua uuaccuaua 1200

uuacucugug uggcggcga gcuauugac agccaaccuu ccuauacau ucauugggca 1260

uacacuaug acaggaagu cccuuugcu guaugcaaga gauggcucac acgauggaga 1320

auuuauuuu gaagggcgaa uuccaccaca cuggacuagu ggauccgagc ucgguaccaa 1380

gcuu

1384

<210> 23

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV G266->C(d) IRUP

<400> 23

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaaauccgc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc	240
caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgcaagac ugcuaagccga guaguguucg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
aggguugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420
aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggaggcug gguaugaca cacaucuaau aaucuaagua cucaggauugc ugaaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccaccc ucccacuaaa	600
ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaacaa acccauuaa acaaaaccaa	660
gaucucucca ccuuuuuuu gcuuuuucag acuuuugaa aaggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuag caaacuggug uguuuuauu cuuauugcau gagccuggaa agagggcaca	840
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagccaacu	900
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080
gccaauagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag	1140
acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauucga agggaggcau auuuuacccu auuuuacucu	1260
guguugcgcg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucauugg gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuuu cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuau	1380

cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggaucgc agcucgguac caagcuu 1437

<210> 24

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV U228->C(d) IRUP

<400> 24

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaaauccgc 60

cuugccagcc ccugaugggg ggcgacacuc caccaugaau cacuccccug ugaggaacua 120

cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180

gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc 240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu cgggcgugcc 300

cccgcaagac ugcuaagccga guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau 360

agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua 420

aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc 480

aaggagcug gguaugacaa cacauacuau aaucuagua cucaggauugc ugaaacagga 540

ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa 600

ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaacaa acccauauaa acaaaaccaa 660

gaucucucca cccuuucuuu gcuuuuucag acuuuguauu aaggccuuu ggagugcagg 720

auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua 780

uguuccuag caaacuggug uguuuuauu cuuauucau gagccuggaa agagggcaca 840

gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu 900

gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu 960

ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc 1020

ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu 1080

gccaauagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag 1140

acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc 1200

ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auuuacccu auuuacucu 1260

guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuug gcuaacacua 1320

augacaggaa guuccuuuug cuugaugca agagauggcu cacacgaug agaauuuau 1380

cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggauccg agcucgguac caagcuu 1437

<210> 25

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV G267->C(d) IRUP

<400> 25

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaaauccgc 60

cuugccagcc ccugaugggg ggcgacacuc caccaugaau cacuccccug ugaggaacua 120

cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180

gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc 240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc 300

cccgaagac ugcuagccga guaguguugc gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau 360

agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua 420

aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc 480

aaggaggcug gguaugaca cacaucuaau aaaucuagua cucaggauugc ugaaacagga 540

ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa 600

ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaacaa acccauuaa acaaaaccaa 660

gaucucucca ccuuuucuuu gcuuuuucag acuuuguaau aaggccuuu ggagugcagg 720

auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua 780

uguuccuag caaacuggug uguauuauu cuuauugcau gagccuggaa agagggcaca 840

gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu 900

gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaaauug gccugugaag aaaauguucu 960

ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc 1020

ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu 1080

gccaaauagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag agggggaugag 1140

acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc 1200

ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auauuacccu auauuacucu 1260

guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuugg gcuaacacua 1320

augacaggaa guuccuuuug cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuauu 1380

cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggauccg agcucgguac caagcuu 1437

<210> 26

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV G268->C(d) IRUP

<400> 26

ccaauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60

cuugccagcc cccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccugc ugaggaacua 120

cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180

gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaaacc ggugaguaca ccggaauugc 240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcucuaug ccuggagauu ugggcgugcc 300

cccgaagac ugcuagccga guaguguugg cucgcgaaag gccuuguggu acugccugau 360

agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua 420

aaccucaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc 480

aaggaggcug gguaugacaa cacauacuau aaaucuagua cucaggauuc ugaaacagga 540

ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa 600

ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaacaa acccauauaa acaaaaccaa 660

gaucucucca ccuuuuuuu gcuuuuucag acuuuguauu aaggccuuu ggagugcagg 720

auauucggca ggacaagcag agaggagagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua 780

uguuccuag caaacuggug uguauuaucu cuuaugcaau gagccuggaa agagggcaca 840

gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu 900

gugaguggcu gacuggcag guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu 960

ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc 1020

ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu 1080

gccauuagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggagag 1140

acauuccuuu cucccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc 1200

ccccacccc cccaccagug uagaaucuga agggaggcau auauuacccu auuuuacucu 1260

guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuugg gcuaucacua 1320

augacaggaa guuccuuuug cuuguauagca agagauggcu cacacgaugg agaauuuauu 1380

cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggauccg agcucgguac caagcuu 1437

<210> 27

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV G266G267G268-> C266C267C268(d) IRUP

<400> 27

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcgggaacc ggugaguaca ccggaauugc	240

caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcucuaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgcaagac ugcuaagccga guaguguucc cucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420
aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggagcug gguaugacaa cacauacuau aaaucuagua cucaggauuc ugaaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa	600
ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaaaca acccauauaa acaaaaccaa	660

gaucucucca ccuuuucuuu gcuuuuucag acuuuguauu aaggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuag caaacuggug uguuuuauu cuuaugcau gagccuggaa agagggcaca	840
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu	900
gugaguggcu gacuggcag guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080

gccauuagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggagag	1140
acauuccuuu cucccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auauuacccu auuuuacucu	1260
guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuugg gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuug cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuauu	1380
cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggauccg agcucggua caagcuu	1437

<210> 28

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV G266->A/G268->T(d) IRUP

<400> 28

ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc	240
caggacgacc ggguccuuu uuggauaaac ccgcucuaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgaagac ugcuaagcca guaguguuag uucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420

aaccucaaag aaaaaccaaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggagcug gguaugaca cacaucuaau aaucuaqua cucaggauug ugaaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa	600
ggcagaauaa aagaacguc uauaaacaaa uaaacaaaca acccauauaa acaaaaccaa	660
gaucucucca ccuuuuuuu gcuuuuucag acuuuugaa aaggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuag caaacuggug uguauuuau cuuaugcaau gagccuggaa agagggcaca	840

gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagccaacu	900
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080
gccaaugac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag	1140
acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auuuuacccu auuuuacucu	1260

guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucuuug gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuug cuuguaugca agagauggcu cacacgaugg agaauuuau	1380
cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggaucg agcucggua caagcuu	1437

<210> 29

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV IIIa->IIIa-comp; AGTA->TCAT(d) IRUP

<400> 29

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugucauca ccggaauugc	240
caggacgacc ggguccuuu uuggauaaac ccgcucuaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgaagac ugcuaagcca guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
aggguugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420
aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc	480
aaggagcug gguaugaca cacaucuaau aaucuaqua cucaggauugc ugaaacagga	540
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa	600
ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaaaca acccauuaaa aaaaaacaa	660
gaucucucca ccuuuucuuu gcuuuuucag acuuuguaau aaggccuuu ggagugcagg	720
auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua	780
uguuccuag caaacuggug uguuuuauu cuuaugcaau gagccuggaa agagggcaca	840
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagccaacu	900
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaauug gccugugaag aaaauguucu	960
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc	1020
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguugaugca ugcgagugca ugaccugcuu	1080
gccauuagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag	1140
acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc	1200
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auuuuacccu auuuuacucu	1260
guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucauug gcuaacacua	1320
augacaggaa guuccuuuug cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuau	1380
cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggaucg agcucgguac caagcuu	1437

<210> 30

<211> 1437

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV IIIe->IIIe-comp; TGATAG->ACTATC(d) IRUP

<400> 30

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc 60  
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggaacua 120  
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag 180  
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc 240  
caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc 300

cccgaagac ugcuaagcca guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccacua 360  
ucggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua 420  
aaccucaaag aaaaaccaa cguaacaguc ucuuaaaaaa caaacaacg aacgaacagc 480  
aagggagcug gguaugacaa cacauacuau aaucuagua cucaggauugc ugaaacagga 540  
ggauugccug acugggagau auaaggagaa ucuguuguca cccccacccc uccccauaaa 600  
ggcagaauaa aagaacgucc uauaaacaaa uaaacaaaca acccauuaaa acaaaaccaa 660  
gaucucucca ccuuuucuuu gcuuuuucag acuuuguaau aaggccuuu ggagugcagg 720

auauucggca ggacaagcag agaggagac caucaguucu uucuuugauc aagaagacua 780  
uguuccuag caaacuggug uguuuuauu cuuauugcau gagccuggaa agagggcaca 840  
gccaccgagg augguacagc auggauggau gguacgcuac agagacucgg gagcccaacu 900  
gugaguggcu gacuggcaug guagguucag ggaagaaug gccugugaag aaaauguucu 960  
ugaaaaguga acaaggugca ggagguagga guggguccug ggcaaagcag ggggugcauc 1020  
ccagccucag ggaauagcac agcagagguc uguuugaugca ugcgagugca ugaccugcuu 1080  
gccauagac gaucaagaau gggcaaagca ucauggguga ugagugggag aggggaugag 1140

acauuccuuu cuccugcug agacuuccau ugaaccgaug aguucugaau agaagaugcc 1200  
ccccacccc cccaccagug uagaauauga agggaggcau auuuuacccu auuuuacucu 1260  
guguuggcgg cgagcuauu gacagccaac cuucccauac auuucauugg gcuaacacua 1320  
augacaggaa guuccuuuug cuuguauuca agagauggcu cacacgaugg agaauuuau 1380  
cuugaagggc gaauuccacc acacuggacu aguggaucg agcucgguac caagcuu 1437

<210> 31

<211> 446

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV(d) miniIRUP

<400> 31

ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugccagcc ccugauggg ggcgacacuc caccaugaau cacucccug ugaggacua	120
cugucuucac gcagaaagcg ucuagccaug gcguuaguau gagugucgug cagccuccag	180
gacccccccu cccgggagag ccuaguggu cugcggaacc ggugaguaca ccggaauugc	240
caggacgacc ggguccuuuc uuggauaaac ccgcuaaug ccuggagauu ugggcgugcc	300
cccgcaagac ugcuaagcga guaguguugg gucgcgaaag gccuuguggu acugccugau	360
agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug caccaugagc acgaauccua	420
aaccucaaag aaaaaccaa cguaac	446

<210> 32

<211> 375

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polio(d) miniIRUP

<400> 32

ccaauuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuauaguc uggaacucc ucaccgguga cgguggucca ggcugcguug gcggccuacc	120
uauggcuaac gccaugggac gcuaguugug aacaaggugu gaagagccua uugagcuaca	180
uaagaauccu ccggccccug aaugcggcua aucccaaccu cggagcaggu ggucacaaac	240
cagugauugg ccugucguua cgcgcaaguc cguggcggaa ccgacuacuu uggguguccg	300
uguuuccuuu uauuuuauug uggcugcuua uggugacaau cacagauugu uaucauaaag	360
cgaauuggau ug gcc	375

<210> 33

<211> 375

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polio(i) miniIRUP

<400> 33

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuuggccaau ccaauucgcu uuugauaac aaucugugau ugucaccaua agcagccaca	120
auaaaauaaa aggaaacacg gacacccaaa guagucgguu ccgccacgga cuugcgcgau	180
acgacaggcc aaucacuggu uugugaccac cugcuccgag guugggauua gccgcgauca	240
ggggccggag gauucuuaug uagcucauaa ggcucuucac accuuguuca caacuagcgu	300
cccauggcgu uagccauagg uaggccgcca acgcagccug gaccaccguc accggugagg	360
gauguccaga cucau	375

<210> 34

<211> 111

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> cMYC short variant(d) miniIRUP

<400> 34

ccauuuuuau guuauauguu uacaagcccc acaccaggcu gaaaaucugc agaauucgcc	60
cuugggcacu uugcacugga acuuacaaca cccgagcaag gacgcgacuc u	111

<210> 35

<211> 488

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCV(d) miniIRUP

<400> 35

ccagugaaca gcuccucgcc cuugcucacc augguaggcga ccgguagcgc uagcggaucu	60
gacgguuac uagaugcggc cgccacugug cuggaaucg ccuugccag ccccuugaug	120
ggggcgacac uccaccauga aucacucucc ugugaggaac uacugucuuc acgcagaaag	180
cgucuagcca uggcguuagu augagugucg ugcagccucc aggaccccc cuccgggag	240
agccauagug gucugcgga cccgugagua caccggaau gccaggacga ccggguccuu	300
ucuuggauaa acccgcucaa ugccuggaga uuugggcgug ccccgcaag acugcuagcc	360
gaguaguguu gggucgcgaa aggccuugug guacugccug auagggugcu ugcgagugcc	420

ccgggagguc ucguagaccg ugcaccauga gcacgaaucc uaaaccucaa agaaaaacca	480
aacguaac	488
<210> 36	
<211> 383	
<212> RNA	
<213> Hepatitis C virus	
<220>	
<223> HCV(d) IRES	
<400> 36	
gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaaucac uccccuguga ggaacuacug	60
ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucag ccuccaggac	120
ccccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag	180
gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc	240
gcaagacugc uagccgagua guguuggguc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg	300
gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac	360
cucaaagaaa aaccaaacgu aac	383
<210> 37	
<211> 383	
<212> RNA	
<213> Hepatitis C virus	
<220>	
<223> HCV(i) IRES	
<400> 37	
guuacguuug guuuuucuuu gagguuuagg auucgugcuc auggugcacg gucuacgaga	60
ccucccgagg cacucgcaag caccuauca ggaguuacca caaggccuuu cgcgacccaa	120
cacuacucgg cuagcagucu ugcgggggca cgcccaaauc uccaggcauu gagcggguuu	180
auccaagaaa ggacccgguc guccuggcaa uuccggugua cucaccgguu ccgcagacca	240
cuauggcucu cccgggaggg gggguccugg aggcugcacg acacucauac uaacgccaug	300
gcuagacgcu uucugcguga agacaguagu uccucacagg ggagugauuc augguggagu	360
gucgccccca ucagggggcu ggc	383
<210> 38	
<211> 312	
<212> RNA	

<213> Human poliovirus

<220>

<223> Polio(d) IRES

<400> 38

augagucugg acaucccuca ccgguacagg ugguccaggc ugcguuggcg gccuaccuau 60

ggcuaacgcc augggacgcu aguugugaac aaggugugaa gagccuauug agcuacauaa 120

gaauccucgg gcccugaa ugcggcuau ccaaccucgg agcagguggu cacaaccag 180

ugauuggccu gucguaacgc gcaaguccgu ggcggaaccg acuacuuugg guguccgugu 240

uuccuuuuau uuuauuggg cugcuuauug ugacaaucac agauuguuuau cauaaagcga 300

auuggauugg cc 312

<210> 39

<211> 312

<212> RNA

<213> Human poliovirus

<220>

<223> Polio(i) IRES

<400> 39

ggccaaacca auucgcuuu ugaauacaau cugugauugu caccuaaagc agccacaaua 60

aaaauaaaagg aaacacggac acccaaagua gucgguuccg ccacggacuu gcgcguuacg 120

acaggccaau cacugguuug ugaccaccug cuccgagguu gggauuagcc gcauucaggg 180

gccggaggau ucuuauag ucuuacacac uuguucacaa cuagcguccc 240

auggcguuag ccuauagguag gccccaacg cagccuggac caccgucacc ggugagggau 300

guccagacuc au 312

<210> 40

<211> 576

<212> RNA

<213> Encephalomyocarditis virus

<220>

<223> EMCV(d) IRES

<400> 40

ccccccucu ccuuccccc ccccuacgu uacuggccga agccguugg auaaggccg 60

gugugcguu gcuauaugu uauuuuccac cauaugccg uuuuuuggca augugagggc 120

ccggaaccu ggcccugucu ucuugacgag cauuccuagg ggucuuuccc cucucgcaa 180  
 aggaugcaa ggucuguuga augucgugaa ggaagcaguu ccucuggaag cuucuugaag 240  
 acaaacaacg ucuguagcga ccuuuugcag gcagcggaac cccccaccug gcgacaggug 300  
 ccucugcggc caaaagccac guguaaaga uacaccugca aaggcggcac aaccccagug 360  
 ccacguugug aguuggauag uuguggaaag agucaaaugg cucuccucaa gcguauucaa 420  
 caagggcgug aaggaugcc agaagguacc ccauuguaug ggauugauc uggggccucg 480  
 gugcacaugc uuuacaugug uuuagucgag guuaaaaaac gucuaggccc cccgaaccac 540

ggggacgugg uuuuccuuug aaaaacacga ugauaa 576

<210> 41

<211> 576

<212> RNA

<213> Encephalomyocarditis virus

<220>

<223> ECMV(i) IRES

<400> 41

uuaucaucgu guuuuucaaa ggaaaaccac guccccgugg uucggggggc cuagacguuu 60  
 uuuaaccucg acuaaacaca uguaaaagcau gugcaccgag gccccagauc agaucccaua 120  
 caauggggua ccuucugggc auccuucagc ccuugguuga auacgcuuga ggagagccau 180  
 uugacucuuu ccacaacuau ccaacucaca acguggcacu gggguugugc cgccuuugca 240  
 gguguaucuu auacacgugg cuuuuggccg cagaggcacc ugucgccagg uggggggguuc 300

cgugccugc aaaggguccg uacagacguu guuugucuuc aagaagcuuc cagaggaacu 360  
 gcuuccuua cgacauucaa cagaccuugc auuccuuugg cgagagggga aagacccua 420  
 ggaaugcugc ucaagaagac agggccaggu uuccggggcc ucacauugcc aaaagacggc 480  
 aaauaggugg aaaaauacau auagacaaac gcacaccggc cuuauuccaa gcggcuucgg 540  
 ccaguaacgu uagggggggg ggaggagag gggggg 576

<210> 42

<211> 192

<212> RNA

<213> Cricket paralysis virus

<220>

<223> CrPV(d) IRES

<400> 42

aaagcaaaaa ugugaucuuug cuuguaaaaua caauuuugag agguuaauaa auuacaagua 60

gugcuauuuu uguauuuuagg uuagcuauuu agcuuuuacgu uccaggaugc cuaguggcag 120

ccccacaaua uccaggaagc ccucucugcg guuuuucaga uuagguaguc gaaaaaccua 180

agaaauuuac cu 192

<210> 43

<211> 192

<212> RNA

<213> Cricket paralysis virus

<220>

<223> CrPV(i) IRES

<400> 43

agguaaaauu cuuagguuuu ucgacuaccu aaucugaaaa accgcagaga ggguuuccug 60

gauauugugg ggcugccacu aggcauccug gaacguaaag cuaaaauagcu aaccuaaaaua 120

caaaaauagc acuacuugua auuuauuaac cucucaaau uguauuuaca agcaagauca 180

cauuuuugcu uu 192

<210> 44

<211> 231

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Apaf-1(d) IRES

<400> 44

cagagaucca ggggaggcgc cugugaggcc cggaccugcc ccggggcgaa ggguaugugg 60

cgagacagag cccugcaccu cuaauucccg guggaaaacu ccuguugccg uuuccucca 120

ccggccugga gucuuccagu cuugucccg cagugccgcc cucccccua agaccuaggc 180

gcaaaggcuu ggcucauggu ugacagcuca gagagagaaa gaucugaggg a 231

<210> 45

<211> 231

<212> RNA

<213>

> Homo sapiens

<220>

<223> Apaf-1(i) IRES

<400> 45

ucccucagau cuuucucucu cugagcuguc aaccaugagc caagccuug cgccuagguc	60
uuagugggga gggcggcacu gccgggacaa gacugggaga cuccaggccg guggagggaa	120
acggcaacag gaguuuucca ccgggaauua ggggugcagg gcucugucuc gccacauacc	180
cuucgccccg gggcaggucc gggccucaca ggcgccuccc cuggaucucu g	231

<210> 46

<211> 460

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> ELG-1(d) IRES

<400> 46

acuuuuggug ggcauuuaaa aaugugugug uauguguaua uauguaugug uauguaugug	60
uauauaugua uauguaugua uguaucgcgu guauggugug auguaugcau guguauguau	120
guauaugcau guaugguguau guguaauaua guauggugug uauguaugua guguguguau	180
guguaugugug guguguaugu guguguguau guaugguaugu auguaugua auuauacaca	240
uauacacaua uggguuuuuu uaucauuug agaguuaugu gaagauaaaa acccaucacc	300
ccuaaaugua uuccaaagaa uaagaacauu guuuuauaca uagcacacu aacaaaauca	360
agaaauuuua cauuauaca guacuguuac cuaauccgua gucgauuuuc aaauuuuguc	420
aguuguucca auaauguccu uuauauauuc cccgccccagc	460

<210> 47

<211> 460

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> ELG-1(i) IRES

<400> 47

gcugggcggg gaauauuaa aggacauuau uggaacaacu gacaaaauu gaaaucgac	60
uacggauuag guaacaguac uguauuaaag uuaauuuuc ugauuuuguu aagugucua	120
uguauaaaac aauguucua uucuuuggaa uacauuuagg ggugaugggu uuuuaucuuc	180
aacuaacucu caaauuuua aaaaaacaa uauguguaua uguguauaua acauauacau	240
acauacauac auacacacac acauacacac acacauacac auacacacac auauacauac	300

acacacauac auauauacac auacacauac augcauauac auacauacac augcauacau	360
acacacauac acgcgauaca uacauacaua uacauauaua cacauacaua cacauacaua	420
uauacacaua cacacacauu uuuuuuugcc caccaaaagu	460
<210> 48	
<211> 395	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> cMYC full length(d) IRES	
<400> 48	
aaauccagcg agaggcagag ggagcgagcg ggcgccggcg uaggguaggaa gagccgggcg	60
agcagagcug cgcugcggcg guccugggaa ggagauccg gagcgaauag ggggcuucgc	120
cucuggccca gccucccg uugaucccc aggccagcgg uccgcaacc uugccgcauc	180
cacgaaacu ugcacauagc agcgggcggg cacuuugcac uggaacuac aacaccgag	240
caaggacgcg acucuccga cgcggggagg cuauucugcc cauugggga cacuucccg	300
ccgcugccag gaccgcuc ucugaaaggc ucuccuugca gcugcuuaga cgcuggaauu	360
uuuucgggua guggaaaacc agcagccucc cgcga	395
<210> 49	
<211> 395	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> cMYC full length(i) IRES	
<400> 49	
ucgcgggagg cugcugguu uccacuacc gaaaaaauc cagcgucuaa gcagcugcaa	60
ggagagccuu ucagagaagc ggguccuggc agcgccgggg aagugucucc aaauaggcag	120
aaauagccucc ccgcgucggg agagucgcgu ccuugcucgg guguuuaag uuccagugca	180
aagugccgc ccgcugcuau gggcaaaguu ucuggaugc ggcaaggguu gcggaccgcu	240
ggccuggggg aucaagcggg agggcugggc cagaggcgaa gccccuauu cgcuccggau	300
cuccuuccc aggagcccc cagcgagcu cugcucgcc ggcuuucca ccuagccgg	360
ccgccgcuc gcuccucug ccucucgcug gaauu	395
<210> 50	

<211> 48  
 <212> RNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> cMYC short variant(d) IRES  
 <400> 50  
 gggcacuuug cacuggaacu uacaacaccc gagcaaggac gcgacucu 48  
 <210> 51  
 <211> 48  
 <212>  
 > RNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> cMYC short variant(i) IRES  
 <400> 51  
 agagucgcgu ccuugcucgg guguuguaag uuccagugca aagugccc 48  
 <210> 52  
 <211> 71  
 <212> RNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> DMD(d) IRES  
 <400> 52  
 guacugacau cguagaugga aaucuaaaac ugacucuugg uuugauuugg aaauaaaucc 60  
 uccacuggca g 71  
 <210> 53  
 <211> 71  
 <212> RNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> DMD(i) IRES  
 <400> 53  
 cugccagugg aggauuauau uccaaaauca accaagaguc aguuuugau uuccaucuac 60  
 gaugucagua c 71

<210> 54

<211> 303

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV delta II(d) IRES

<400> 54

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac cccccuccc gggagagcca	60
uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag gacgaccggg uccuuucug	120
gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc gcaagacugc uagccgagua	180
guguuggguc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg gugcuugcga gugccccggg	240
aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccaaaac cucaaagaaa aaccaaacgu	300

aac	303
-----	-----

<210> 55

<211> 367

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV delta IIIa(d) IRES

<400> 55

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac ucccuguga ggaacuacug	60
ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucag ccuccaggac	120
ccccucccc gggagagcca uaguggucug cggaauuug ccaggacgac cggguccuuu	180
cuuggauaaa cccgcuaau gccuggagau ugggugcugc cccgcaaga cugcuagccg	240
aguaguguug ggucgcgaaa ggccuugugg uacugccuga uaggugucuu gcgagugccc	300

cgggaggucu cguagaccgu gcaccaugag cacgaauccu aaaccucaa gaaaaaccaa	360
acguaac	367

<210> 56

<211> 356

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV delta IIId(d) IRES

<400> 56

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauacac uccccuguga ggaacuacug	60
ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgugcag ccuccaggac	120
ccccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag	180
gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc	240

gcaagacugc uacuuguggu acugccugau agggugcuug cgagugcccc gggaggucuc	300
guagaccgug caccaugagc acgaauccua aaccucaaag aaaaaccaa cguaac	356

<210> 57

<211> 330

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV delta IV(d) IRES

<400> 57

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauacac uccccuguga ggaacuacug	60
ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgugcag ccuccaggac	120
ccccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag	180
gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc	240

gcaagacugc uagccgagua guguuagguc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg	300
gugcuugcga gugccccggg aggucucgua	330

<210> 58

<211> 383

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV G266->C(d) IRES

<400> 58

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauacac uccccuguga ggaacuacug	60
ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgugcag ccuccaggac	120
ccccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag	180
gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc	240

gcaagacugc uagccgagua guguuagguc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg	300
---	-----

gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360  
 cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383  
 <210> 59  
 <211> 383  
 <212> RNA  
 <213> Hepatitis C virus  
 <220>  
 <223> HCV U228->C(d) IRES  
 <400> 59  
 gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60  
 ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucag ccuccaggac 120  
 cccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag 180  
 gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaagccu ggagauucgg gcgugcccc 240  
 gcaagacugc uagccgagua guguuggguc gcgaaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300  
 gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360  
 cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383  
 <210> 60  
 <211> 383  
 <212> RNA  
 <213> Hepatitis C virus  
 <220>  
 <223> HCV G267->C(d) IRES  
 <400> 60  
 gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60  
 ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucag ccuccaggac 120  
 cccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaaugccag 180  
 gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaagccu ggagauuugg gcgugcccc 240  
 gcaagacugc uagccgagua guguugcguc gcgaaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300  
 gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360  
 cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383  
 <210> 61  
 <211> 383  
 <212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV G268->C(d) IRES

<400> 61

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60

ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgugcag ccuccaggac 120

ccccccucc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaauugccag 180

gacgaccggg uccuuucug gauaaacccg cucaauggcu ggagauuugg gcgugcccc 240

gcaagacugc uagccgagua guguuggcuc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300

gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360

cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383

<210> 62

<211> 383

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV G266G267G268->C266C267C268(d) IRES

<400> 62

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60

ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgugcag ccuccaggac 120

ccccccucc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaauugccag 180

gacgaccggg uccuuucug gauaaacccg cucaauggcu ggagauuugg gcgugcccc 240

gcaagacugc uagccgagua guguucccuc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300

gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360

cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383

<210> 63

<211> 383

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV G266->A/G268->T(d) IRES

<400> 63

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60  
 ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucgag ccuccaggac 120  
 cccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaauugccag 180  
 gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc 240  
 gcaagacugc uagccgagua guguuaguuc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300

gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360  
 cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383

<210> 64

<211> 383

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HVC IIIa->IIIa-comp; AGTA->TCAT(d) IRES

<400> 64

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60  
 ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucgag ccuccaggac 120  
 cccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gucaucaccg gaauugccag 180  
 gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc 240

gcaagacugc uagccgagua guguuagguc gcgaaaggcc uugugguacu gccugauagg 300  
 gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac 360  
 cucaaagaaa aaccaaacgu aac 383

<210> 65

<211> 383

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> HCV IIIe-IIIe-comp; TGATAG->ACTATC(d) IRES

<400> 65

gccagcccc ugaugggggc gacacuccac caugaauac uccccuguga ggaacuacug 60  
 ucuucacgca gaaagcgucu agccauggcg uuaguaugag ugucgucgag ccuccaggac 120  
 cccccuccc gggagagcca uaguggucug cggaaccggu gaguacaccg gaauugccag 180  
 gacgaccggg uccuuucuug gauaaacccg cucaaugccu ggagauuugg gcgugcccc 240

gcaagacugc uagccgagua guguggguc gcgaaaggcc uugugguacu gccacuaucg	300
gugcuugcga gugccccggg aggucucgua gaccgugcac caugagcacg aauccuaaac	360
cucaaagaaa aaccaaacgu aac	383