



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102459595 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 16

(21) 申请号 201080025220. X

代理人 王达佐 洪欣

(22) 申请日 2010. 04. 26

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C12N 15/113 (2006. 01)

09158731. 1 2009. 04. 24 EP

C12N 15/11 (2006. 01)

61/172, 506 2009. 04. 24 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 12. 06

(86) PCT申请的申请数据

PCT/NL2010/050230 2010. 04. 26

(87) PCT申请的公布数据

W02010/123369 EN 2010. 10. 28

(71) 申请人 普罗森那技术公司

地址 荷兰莱顿

(72) 发明人 朱迪思·克里斯蒂娜·塞奥多拉·万

多伊特科姆

约瑟夫斯·约翰尼斯·德吉姆彼

勒德乌斯·约翰尼斯·普拉滕伯格

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

权利要求书 2 页 说明书 54 页

序列表 131 页 附图 2 页

(54) 发明名称

用于治疗 DMD 的包含肌苷的寡核苷酸

(57) 摘要

本发明提供了包含肌苷和 / 或含有能形成摆动碱基对的碱基的核苷酸的寡核苷酸或其功能等同物, 其中寡核苷酸或其功能等同物包括与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补的序列, 所述部分为包括至少 8 个核苷酸的一段连续序列。本发明还提供了所述寡核苷酸用于预防或治疗 DMD 或 BMD 的用途。

1. 包含肌苷和 / 或含有能形成摆动碱基对的碱基的核苷酸的寡核苷酸或其功能等同物, 其中所述寡核苷酸或其功能等同物包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补的序列, 所述部分为包含至少 8 个核苷酸的一段连续序列。

2. 根据权利要求 1 所述的寡核苷酸, 其中所述一段连续序列包含肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子 RNA 的 13-50 个核苷酸, 优选 14-25 个核苷酸。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的寡核苷酸, 其中所述外显子包括外显子 51、45、53、44、46、52、50、43、6、7、8、55、2、11、17、19、21、57、59、62、63、65、66、69 和 / 或 75。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的寡核苷酸, 其中所述寡核苷酸包含 RNA, 并且其中优选地, 所述 RNA 含有修饰, 优选 2' -O- 甲基修饰的核糖 (RNA) 或脱氧核糖 (DNA) 修饰, 或者其中所述寡核苷酸的所述功能等同物包含肽核酸、锁核酸、吗啉代磷酸二酰胺或其任意组合, 最优选吗啉代磷酸二酰胺。

5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的寡核苷酸, 其中所述寡核苷酸包含至少两个部分, 其中第一部分包含具有至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的寡核苷酸, 所述连续核苷酸与所述至少两个外显子的第一个互补, 并且其中第二部分包含具有至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的寡核苷酸, 所述连续核苷酸与所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中第二个外显子互补。

6. 根据权利要求 5 所述的寡核苷酸, 其中所述第一个和所述第二个外显子在所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中被不与所述核苷酸互补的至少一个外显子分开。

7. 根据权利要求 5 所述的寡核苷酸, 其中所述第一个和所述第二个外显子在所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中是相邻的。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的寡核苷酸, 其用作药物, 优选用于预防或治疗个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良。

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的寡核苷酸, 其中所述药物为个体提供功能性肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或至少部分地减少异常肌营养不良蛋白蛋白质的产生和 / 或增加功能性或更具功能性的肌营养不良蛋白蛋白质的产生。

10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的寡核苷酸, 其中所述药物减轻所述个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状。

11. 组合物, 其包含至少两种不同的权利要求 1-10 中任一项所定义的寡核苷酸, 其中优选地, 所述组合物为药物组合物, 所述药物组合物包含药学上可接受的载体、佐剂、稀释剂和 / 或赋形剂。

12. 根据权利要求 11 所述的组合物, 其中所用的每一寡核苷酸或全部寡核苷酸的给药剂量在 0.5mg/kg 至 10mg/kg 的范围之间变动。

13. 根据权利要求 11 或 12 所述的组合物或者根据权利要求 1-10 中任一项所述的寡核苷酸, 其中存在:

- (a) 用于减少炎症, 优选用于减少肌肉组织炎症的辅助化合物, 和 / 或
- (b) 用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助化合物, 和 / 或
- (c) 显示通读活性的化合物。

14. 权利要求 1-10 中任一项所定义的寡核苷酸或权利要求 11-13 中任一项所定义的组

合物在制备用于预防或治疗个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的药物中的用途。

15. 减轻个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状的方法,所述方法包括给予所述个体权利要求 1-10 中任一项所定义的寡核苷酸或权利要求 11-13 中任一项所定义的组合物。

用于治疗 DMD 的包含肌苷的寡核苷酸

发明领域

[0001] 本发明涉及分子生物学和医学领域。

[0002] 发明背景

[0003] 肌肉病症是通常对个体生活具有显著影响的疾病。肌肉病症可具有遗传因素或非遗传因素。具有遗传因素的一组重要的肌肉疾病为贝克型肌营养不良 (Becker Muscular Dystrophy, BMD) 和杜氏肌营养不良 (Duchenne Muscular Dystrophy, DMD)。这些病症是由肌肉蛋白质的基因缺损引起的。

[0004] 贝克型肌营养不良和杜氏肌营养不良是具有相对高发病率的遗传性肌营养不良。在杜氏和贝克型肌营养不良中,肌肉蛋白质即肌营养不良蛋白受到影响。在杜氏肌营养不良中,不存在肌营养不良蛋白,然而在贝克型肌营养不良中,存在一些肌营养不良蛋白,但是肌营养不良蛋白的产生最常见是不足的和/或存在的肌营养不良蛋白是异常形成的。两种疾病都与隐性 X 连锁遗传有关。DMD 起因于 DMD 基因中的移码突变。DMD 基因转录物 (mRNA) 中的移码引起截短的非功能性肌营养不良蛋白蛋白质的产生,从而导致渐进性肌萎缩和无力。由于突变不引起 DMD 转录物 (mRNA) 移码,所以出现 BMD。由于不同于不存在肌营养不良蛋白的 DMD, BMD 中存在有部分功能至大半功能的肌营养不良蛋白,因此 BMD 症状普遍没有 DMD 严重。DMD 的发作早于 BMD。DMD 通常在幼童时期自己表现出来, BMD 在青少年或成年早期表现出来。BMD 的进展比 DMD 慢以及更难以预测。患有 BMD 的患者可活到成年中期或晚期。患有 DMD 的患者很少活过三十多岁。

[0005] 肌营养不良蛋白在肌纤维中发挥重要的结构作用,其连接细胞外基质和细胞骨架。N 末端区域结合肌动蛋白,而 C 末端是肌营养不良蛋白糖蛋白复合物 (DGC) 的一部分,其跨越肌膜。不存在肌营养不良蛋白时,机械应力导致肌膜破裂,引起钙不受控制地流入肌纤维内部,从而触发钙激活的蛋白酶和纤维坏死。

[0006] 对于大多数遗传性肌营养不良而言,目前没有临床上适用的有效疗法可以利用。为了与遗传性肌营养不良作斗争,当前探讨了外显子跳跃技术。近来我们和其他人已经报道了关于基因疗法的有希望的结果,所述基因疗法旨在恢复来自 mdx 小鼠、GRMD 狗 (参考文献 59) 和 DMD 患者的细胞中肌营养不良蛋白前体 mRNA 的阅读框¹⁻¹¹。通过特定外显子的靶向跳跃,将 DMD 表型 (缺乏肌营养不良蛋白) 转化成较温和的 BMD 表型 (有部分功能至大半功能的肌营养不良蛋白)。优选通过靶向剪接位点的一个或两个或外显子 - 内部序列的反义寡核糖核苷酸 (AONs) 的结合诱导外显子的跳跃。由于当两个剪接位点被剪接体复合物识别时,外显子仅仅被包含在 mRNA 中,所以认为剪接位点是 AON 的明显靶标。更优选地,使用一个或多个 AON,其对参与外显子的正确剪接的一个或多个外显子序列的至少一部分是特异性的。使用对外显子 46 序列特异性的外显子 - 内部 AON,以前我们就能在来自两个具有外显子 45 缺失的不同 DMD 患者的培养的肌管中调节剪接模式¹¹。AON 治疗后,外显子 46 被跳跃,其导致至少 75% 细胞中阅读框的恢复和肌营养不良蛋白合成的诱导。最近我们证明在对照和患者肌肉细胞中使用外显子 - 内部 AON 也可对 39 个不同 DMD 外显子有效地诱导外显子跳跃^{1,2,11-15}。

[0007] 因此,应用于肌营养不良蛋白基因上的外显子跳跃技术导致 DMD 患者中生成至少具有部分功能的 - 虽然较短 - 肌营养不良蛋白蛋白质。由于 DMD 是由功能失调的肌营养不良蛋白蛋白质引起的,所以预期一旦向 DMD 患者提供功能性肌营养不良蛋白蛋白质,就能充分地减轻 DMD 症状。然而,本发明洞悉即使外显子跳跃技术能诱导肌营养不良蛋白的合成,但通过合并肌苷和 / 或含有能在所述寡核苷酸中形成摆动碱基对的碱基的核苷酸,能更进一步改善用于外显子跳跃技术的寡核苷酸。

发明内容

[0008] 寡核苷酸

[0009] 在第一方面中,提供了包含肌苷和 / 或含有能形成摆动碱基对的碱基的核苷酸的寡核苷酸或其功能等同物,其中寡核苷酸或其功能等同物包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补的序列,所述部分为包含至少 8 个核苷酸的一段连续序列。

[0010] 在本发明的寡核苷酸中肌苷和 / 或含有能形成摆动碱基对的碱基的核苷酸的用途非常吸引人,如下所说明。例如,肌苷为已知能与三个碱基即尿嘧啶、腺嘌呤和胞嘧啶配对的修饰碱基。肌苷为次黄嘌呤通过 β -N9-糖苷键与核糖环(也称为呋喃核糖)连接时形成的核苷。肌苷通常存在于 tRNA 中,并且对于摆动碱基对中遗传密码的正确翻译是必不可少的。摆动碱基对为 RNA 二级结构中基本的 G-U 和 I-U/I-A/I-C 对。所述摆动碱基对的热力学稳定性可与沃森-克里克碱基对(Watson-Crick base pair)的热力学稳定性相比。摆动碱基对对于遗传密码的正确翻译是关键。通过使用反密码子的第一个碱基中的修饰碱基对,遗传密码补偿三联密码子(64)的氨基酸(20)数目的不一致。类似地,当设计用于聚合酶链式反应的引物时,肌苷是有用的,因为它会与腺嘌呤、胸腺嘧啶或胞嘧啶无差别地配对。使用这种碱基的第一个优点允许设计跨过单核苷酸多态性(SNP)的引物,不用担心所述多态性会破坏引物的退火效率。因此在本发明中,这种碱基的使用允许设计可用于个体的寡核苷酸,所述个体在被本发明的寡核苷酸靶向的一段肌营养不良蛋白前体 mRNA 序列内具有 SNP。在本发明的寡核苷酸中使用肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的第二个优点是,如果已经将其设计为与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补,所述部分为包含至少 8 个核苷酸的一段连续序列,那么所述寡核苷酸通常会含有 CpG。寡核苷酸中 CpG 的存在通常与所述寡核苷酸提高的免疫原性有关(参考文献 60)。这种提高的免疫原性是不希望的,因为它可引起肌纤维分解。预期在所述寡核苷酸中用相应的肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基替换一个、两个或更多个 CpG,可提供具有降低的和 / 或可接受水平的免疫原性的寡核苷酸。可在动物模型中通过评价所述动物的肌肉活检中 CD4⁺ 和 / 或 CD8⁺ 细胞和 / 或炎症单核细胞浸润的存在而评价免疫原性。通过使用技术人员已知的标准免疫测定检测中和抗体和 / 或识别所述寡核苷酸的抗体的存在,也可在用本发明的寡核苷酸治疗的动物或人类的血液中评价免疫原性。

[0011] 通过比较治疗前或用具有至少一个肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的相应寡核苷酸治疗的动物的相应肌肉活检中每个细胞类型的量,免疫原性的提高优选地对应于这些细胞类型中至少一种的可检测的增加。或者,可通过使用标准免疫测定检测中和抗体

或识别所述寡核苷酸的抗体的存在或增加量而评价免疫原性的提高。

[0012] 通过比较治疗前或用不具有肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的相应寡核苷酸治疗的动物的相应肌肉活检中每个细胞类型的量,免疫原性的下降优选地对应于这些细胞类型种至少一种的可检测的减少。或者,可使用标准免疫测定通过所述化合物和 / 或中和抗体的缺乏或减少量而评价免疫原性的下降。

[0013] 在本发明的寡核苷酸中使用肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的第三个优点是,避免或减少寡核苷酸可能的多聚化 (multimerisation) 或聚集。例如,已知包含 G- 四联体基序的寡核苷酸具有形成通过四个单链寡核苷酸的胡斯坦碱基配对 (Hoogsteen base-pairing) 形成四链体 (quadruplex)、多聚体或聚集体 (参考文献 61) 的倾向,这当然是不希望的;预期寡核苷酸的效率会因此降低。优选地,通过技术人员已知的标准聚丙烯酰胺非变性凝胶电泳技术评价多聚化或聚集。在优选实施方案中,本发明的寡核苷酸总量的不到 20% 或 15%、10%、7%、5% 或更少具有使用上述测定评价的多聚化或聚集的能力。

[0014] 因而,在本发明的寡核苷酸中使用肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的第四个优点是,还避免了与抗血栓形成活性 (参考文献 62) 以及与巨噬细胞清除剂受体结合和抑制 (参考文献 63) 有关的四链体结构。

[0015] 在本发明的寡核苷酸中使用肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的第五个优点是,允许设计具有改善的 RNA 结合动力学和 / 或热力学性质的寡核苷酸。RNA 结合动力学和 / 或热力学性质至少部分地由寡核苷酸的解链温度 (T_m ; 使用基本 T_m 和最邻近模型通过用于单链 RNA 的寡核苷酸性质计算器 (<http://www.unc.edu/~cail/bioutil/oligo/index.html>) 计算) 和 / 或 AON- 靶外显子复合物 (使用 RNA 结构版本 4.5) 的自由能确定。如果 T_m 过高,则预期寡核苷酸特异性较低。可接受的 T_m 和自由能取决于寡核苷酸序列。因此,难以为这些参数中的每一个指定优选的范围。可接受的 T_m 可在 35°C -65°C 的范围内变动,并且可接受的自由能可在 15kcal/mol 至 45kcal/mol 的范围内变动。

[0016] 因此,技术人员首先选择寡核苷酸作为可能的治疗化合物。在第二个步骤中,技术人员可以使用本发明以通过降低所述寡核苷酸的免疫原性和 / 或避免聚集和 / 或四链体形成和 / 或通过优化所述寡核苷酸的 T_m 和 / 或 AON- 靶复合物的自由能,而进一步优化所述寡核苷酸。技术人员可设法在所述寡核苷酸中合适位置引入至少一个肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基,并且评价免疫原性和 / 或聚集和 / 或四链体形成和 / 或 T_m 和 / 或 AON- 靶复合物的自由能怎样被所述肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的存在改变。如果所述改变不提供期望的免疫原性和 / 或聚集和 / 或四链体形成和 / 或其 T_m 和 / 或 AON- 靶复合物的自由能的改变或降低,技术人员可以选择在所述寡核苷酸中引入另外的肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基,和 / 或在所述寡核苷酸内的不同的合适位置引入给定的肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基。

[0017] 包含肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的寡核苷酸可定义为其中至少一个核苷酸已被肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基取代的寡核苷酸。技术人员了解如何测试核苷酸是否含有能形成摆动碱基对的碱基。由于例如肌苷可与尿嘧啶、腺嘌呤和 / 或胞嘧啶形成碱基对,这意味着至少一个能与尿嘧啶、腺嘌呤和 / 或胞嘧啶形成碱基对的核苷酸已被肌苷取代。然而,为了保证特异性,只要保持如本文后面定义的所述寡核苷酸的功能活性的可接受水平,含有肌苷的寡核苷酸优选包含至少一个、两个、三个、四个能与尿嘧啶或腺

嘌呤或胞嘧啶形成碱基对的核苷酸的取代。

[0018] 包含肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的寡核苷酸优选是还能显示可接受水平的不包含肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的相应寡核苷酸的功能活性的寡核苷酸。优选地,所述寡核苷酸的功能活性是,为个体提供功能性肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 和 / 或至少部分地减少异常肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生。本文后面会定义这些特征的每一个。这种功能活性的可接受水平优选为不包含肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的相应寡核苷酸的至少 50%、60%、70%、80%、90%、95% 或 100% 的功能活性。通过比较不包含肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基的相应寡核苷酸的功能活性,可以如在个体的肌肉组织内或肌肉细胞内或在细胞内体外测量这种功能活性。可在 mRNA 水平,优选使用 RT-PCR 进行功能性评价。可在蛋白质水平,优选使用横切片的蛋白质印迹分析或免疫荧光分析进行功能性评价。

[0019] 本发明上下文中,如存在于寡核苷酸中的肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基,存在于所述寡核苷酸的一部分中,所述部分与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补,所述部分为包含至少 8 个核苷酸的一段连续序列。因此,在优选实施方案中,包含肌苷和 / 或含有能形成摆动碱基对的碱基的核苷酸的寡核苷酸或其功能等同物,其中寡核苷酸或其功能等同物包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的至少一部分或肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区域的至少一部分互补的序列,所述部分为包含至少 8 个核苷酸的一段连续序列,并且其中所述肌苷和 / 或含有碱基的核苷酸存在于如前面句子定义的与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的至少一部分互补的寡核苷酸序列中。

[0020] 然而,如本文后面所定义的,这种肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基也可存在于连接部分中,所述连接部分存在于本发明的寡核苷酸中。本文后面会定义优选的连接部分。

[0021] 在优选实施方案中,这种寡核苷酸优选为药物。更优选地,所述药物用于预防或治疗个体或患者的杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良。如本文所定义的,DMD 前体 mRNA 优选表示 DMD 或 BMD 患者的 DMD 基因的前体 mRNA。患者优选旨在表示患有 DMD 或 BMD 的患者或者由于其遗传背景易患 DMD 或 BMD 的患者。

[0022] 在 DMD 患者的情况下,所用的寡核苷酸会优选地校正如存在于所述患者的 DMD 基因中的 DMD 突变的至少一个突变,并且因此会优选地产生貌似 BMD 肌营养不良蛋白的肌营养不良蛋白;优选地,所述肌营养不良蛋白为如本文后面所定义的功能性肌营养不良蛋白。

[0023] 在 BMD 患者的情况下,所用的寡核苷酸会优选地校正如存在于所述患者的 DMD 基因中的 BMD 突变的至少一个突变,并且因此会优选地产生一个或多个肌营养不良蛋白,所述肌营养不良蛋白比最初存在于所述 BMD 患者中的肌营养不良蛋白更具功能性。更优选地,所述药物为个体提供一个功能性的或多个功能性的肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 和 / 或至少部分地减少异常肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生。

[0024] 优选地,通过诱导和 / 或促进患者的一个或多个细胞、优选肌肉细胞中如本文所确定的 DMD 前体 mRNA 的至少一个外显子跳跃,本发明方法为所述患者提供更多个功能性营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生增加和 / 或减少所述患者中异常或功能较低的肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生。

[0025] 为患者提供更具功能性的肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 和 / 或减少所述患者中异常肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生,通常用于 DMD 患者中。增加更具功能性的或功能性肌营养不良蛋白和 / 或 mRNA 的产生,通常用于 BMD 患者中。

[0026] 因此,优选方法是为患者或者所述患者的一个或多个细胞提供更具功能性的或功能性肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生增加,和 / 或减少所述患者中异常肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的产生的方法,其中通过比较在开始所述方法时所述患者中所述肌营养不良蛋白和 / 或 mRNA 的水平,评价所述异常或更具功能性的肌营养不良蛋白蛋白质和 / 或 mRNA 的水平。

[0027] 如本文所定义的,功能性肌营养不良蛋白优选为对应于具有如 SEQ ID NO :1 中确定的氨基酸序列的蛋白质的野生型肌营养不良蛋白。优选地,功能性肌营养不良蛋白是具有在其 N 末端部分 (N 末端前 240 个氨基酸) 中的肌动蛋白结合结构域、富半胱氨酸结构域 (氨基酸 3361 至 3685) 和 C 末端结构域 (C 末端最后 325 个氨基酸),这些结构域的每一个都存在于如技术人员已知的野生型肌营养不良蛋白中。本文所指出的氨基酸对应于 SEQ ID NO :1 所示的野生型肌营养不良蛋白的氨基酸。在另一实施方案中,功能性肌营养不良蛋白为至少在某种程度上显示野生型肌营养不良蛋白的活性的肌营养不良蛋白。“至少在某种程度上”优选表示野生型功能性肌营养不良蛋白的相应活性的至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 或 100%。在本上下文中,野生型肌营养不良蛋白的活性优选为与肌动蛋白和肌营养不良蛋白伴随糖蛋白复合物 (DGC)⁵⁶ 的结合。如技术人员已知的,通过使用总蛋白提取物的免疫共沉淀或横切片的免疫荧光分析使肌营养不良蛋白与肌动蛋白和与 DGC 复合物的结合可视化,所述总蛋白提取物和切片来自疑为营养不良的肌肉的活检。

[0028] 患有杜氏肌营养不良的个体通常在编码肌营养不良蛋白的基因中具有突变,所述突变防止完整蛋白质的合成,即过早终止防止所述蛋白质的 C 末端合成。在贝克型肌营养不良中,与野生型相比,肌营养不良蛋白基因也包含突变,但是所述突变通常不包括过早终止,并且通常合成蛋白质的 C 末端。因此,合成至少与野生型蛋白质具有相同类型活性的功能性肌营养不良蛋白蛋白质,但活性的量不一定相同。在优选实施方案中,功能性肌营养不良蛋白蛋白质表示框内肌营养不良蛋白基因。BMD 个体的基因组通常编码肌营养不良蛋白蛋白质,所述蛋白质包含 N 末端部分 (N 末端前 240 个氨基酸)、富半胱氨酸结构域 (氨基酸 3361 至 3685) 和 C 末端结构域 (C 末端最后 325 个氨基酸),但是其中心杆状结构域可以比野生型肌营养不良蛋白的更短⁵⁶。用于 DMD 治疗的外显子跳跃优选但不唯一地涉及通过跳过杆状结构域状的结构域中的外显子而克服前体 mRNA 中的过早终止,以校正阅读框并允许合成包括 C 末端在内的肌营养不良蛋白蛋白质的剩余部分,虽然由于较小的杆状结构域蛋白质变小一些。在优选实施方案中,为患有 DMD 并用如本本所定义的寡核苷酸治疗的个体提供肌营养不良蛋白,所述肌营养不良蛋白至少在某种程度上显示野生型肌营养不良蛋白的活性。更优选地,如果所述个体为杜氏肌营养不良患者或者疑似为杜氏肌营养不良患者,功能性肌营养不良蛋白为患有 BMD 的个体的肌营养不良蛋白:优选地,所述肌营养不良蛋白与肌动蛋白和 DGC 均能相互作用,但是其中心杆状结构域可以比野生型肌营养不良蛋白 (Aartsma-Rus et al (2006, 参考文献 56) 的更短。野生型肌营养不良蛋白的中心杆状结构域包含 24 个血影蛋白样重复⁵⁶。例如,只要如本文所提供的肌营养不良蛋白的中心杆状结构域能够与肌动蛋白和与 DGC 结合,它就可包含 5 至 23 个、10 至 22 个或 12 至 18 个血影

蛋白样重复。

[0029] 减少所述患者或所述患者的细胞中异常肌营养不良蛋白的产生,可在 mRNA 水平评价,且优选地表示通过 RT-PCR 仍然可以检测到的异常肌营养不良蛋白 mRNA 初始量的 99%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%或更少。在本文中异常肌营养不良蛋白 mRNA 或蛋白质也称为非功能性或近于非功能性或半功能性肌营养不良蛋白 mRNA 或蛋白质。优选地,非功能性肌营养不良蛋白前体 mRNA 导致框外肌营养不良蛋白蛋白质,这表示将不产生和 / 或没有检测到肌营养不良蛋白蛋白质。优选地,非功能性肌营养不良蛋白蛋白质为不能结合肌动蛋白和 / 或 DGC 蛋白质复合物成员的肌营养不良蛋白蛋白质。通常非功能性肌营养不良蛋白蛋白质或肌营养不良蛋白 mRNA 没有或不编码具有蛋白质的完整 C 末端的肌营养不良蛋白蛋白质。

[0030] 增加所述患者或所述患者的细胞中功能性肌营养不良蛋白的产生,可以在 mRNA 水平(通过 RT-PCR 分析)评价,且优选地表示可检测量的功能性或框内肌营养不良蛋白 mRNA 是通过 RT-PCR 可以检测的。在另一实施包方案中,1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多可检测的肌营养不良蛋白 mRNA 为功能性或框内肌营养不良蛋白 mRNA。

[0031] 增加所述患者或所述患者的细胞中功能性肌营养不良蛋白的产生,可以在蛋白质水平(通过免疫荧光和蛋白质印迹分析)评价,且优选地表示可检测量的功能性肌营养不良蛋白蛋白质是通过免疫荧光或蛋白质印迹分析可以检测的。在另一实施方案中,1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多可检测的肌营养不良蛋白蛋白质为功能性肌营养不良蛋白蛋白质。

[0032] 优选地,通过比较存在于用本发明的所述分子或组合物治疗前的个体或患者中的量,在所述个体或患者的肌肉组织或肌肉细胞中评价增加或减少。或者,可用所述个体或患者的肌肉组织或细胞进行比较,在局部治疗的情况下,所述肌肉组织或细胞尚未用所述寡核苷酸或组合物治疗。

[0033] 在优选的方法中,使用本发明的分子或组合物减轻来自 DMD 或 BMD 患者的一个或多个症状和 / 或减轻来自 DMD 或 BMD 患者的肌肉细胞或组织的一个或多个特征。可在患者自身评价这类症状。可在给定患者的细胞或组织水平评价这类特征。可以通过对来自患者的肌原细胞或肌肉细胞的以下分析的任一个而评价一个或多个特征的减轻:肌肉细胞钙摄取减少、胶原蛋白合成减少、形态学改变、脂质生物合成改变、氧化应激下降和 / 或肌纤维功能、完整性和 / 或存活改善。通常使用肌肉活检横切片的免疫荧光和 / 或组织化学分析来评价这些参数。

[0034] 可以通过以下分析的任一个评价使用本发明的分子或组合物减轻个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状:丧失行走能力前的时间延长、肌肉强度改善、举重能力改善、从地板上站起来花费的时间改善、行走九米的时间改善、爬四层楼梯花费的时间改善、腿功能等级改善、肺功能改善、心脏功能改善、生活质量改善。技术人员已知这些分析的每一个。作为实例,Manzur 等人(2008,参考文献 58)的出版物给出这些分析的每一个的详细说明。对于这些分析的每一个,只要发现分析中所测量的参数的可检测的改善或延长,优选其意味着使用本发明的分子或组合物减轻个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状。可检测的改善或延长优选为如 Hodgetts 等人(2006,参

考文献 57) 所述的统计学上显著的改善或延长。或者,可通过测量如本文后面所定义的肌纤维功能、完整性和 / 或存活的改善,来评价杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状的减轻。

[0035] 如本文所用的寡核苷酸优选包含反义寡核苷酸或反义寡核糖核苷酸。在优选的实施方案中,使用外显子跳跃技术。外显子跳跃干扰真核细胞中发生的天然剪接过程。在高等真核生物中,在被内含子序列相互分开的外显子中编码细胞 DNA 中蛋白质的遗传信息。在一些情况下,这些内含子非常长。真核生物的转录机制生成含有外显子和内含子的前体 mRNA,而往往早在前体 mRNA 产生过程中,剪接机制通过将存在于前体 mRNA 中的外显子剪接到一起而生成蛋白质的实际编码区。

[0036] 外显子跳跃引起缺少至少一个被跳跃的外显子的成熟 mRNA。因此,当所述外显子编码氨基酸时,外显子跳跃引起改变的产物的表达。目前,外显子跳跃技术针对反义寡核苷酸(AON)的用途。在用于杜氏肌营养不良的 mdx 小鼠模型中作了大量的这一工作。mdx 小鼠在外显子 23 中带有无义突变。尽管有会妨碍功能性肌营养不良蛋白蛋白质合成的 mdx 突变,但已经在 mdx 小鼠组织中观察到少见的天然存在的肌营养不良蛋白阳性纤维。认为由于体细胞突变或通过可选择的剪接,这些肌营养不良蛋白阳性纤维由明显地天然存在的外显子跳跃机制产生。已经显示,分别针对肌营养不良蛋白前体 mRNA 中的内含子 22 和 23 的 3' 和 / 或 5' 剪接位点的 AON 干扰通常参与去除内含子 23 的因子,以便也从 mRNA 中去除外显子 23^{3,5,6,39,40}。

[0037] 通过特定外显子的靶向跳跃,将 DMD 表型转化成较温和的 BMD 表型。优选地,通过靶向剪接位点的一个或两个或外显子-内部序列的 AON 的结合诱导外显子跳跃。针对外显子内部序列的寡核苷酸通常不显示与非外显子序列重叠。优选地,所述寡核苷酸不与剪接位点重叠,至少在所述剪接位点存在于内含子中的情况下不重叠。针对外显子内部序列的寡核苷酸优选不含有与相邻内含子互补的序列。因此,还提供了本发明的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸或其功能等同物用于抑制在由肌营养不良蛋白前体 mRNA 的剪接产生的 mRNA 中增加(inclusion)所述前体 mRNA 的外显子。优选应用外显子跳跃技术,从而肌营养不良蛋白前体 mRNA 产生的 mRNA 中外显子的缺乏生成用于更具功能性的虽然更短-肌营养不良蛋白蛋白质的编码区。在本上下文中,抑制外显子的增加优选意指最初的异常肌营养不良蛋白 mRNA 和 / 或蛋白质的检测如本文前面所定义地减少。

[0038] 由于只有当两个剪接位点都被所述剪接体复合物识别时,肌营养不良蛋白前体 mRNA 的外显子将包含在生成的 mRNA 中,因此所述剪接位点为 AON 的明显靶标。因此,一个实施方案提供了包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区互补的序列的寡核苷酸或其功能等同物。在一个实施方案中,使用只与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区互补的 AON。但这不是必须的;也可使用包含内含子特异性序列和外显子特异性序列的 AON。这种 AON 包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的非外显子区互补的序列,和与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的外显子区互补的序列。当然,AON 不必与肌营养不良蛋白外显子或内含子的全部序列互补。优选与这种外显子或内含子的一部分互补的 AON。优选地,AON 与肌营养不良蛋白外显子和 / 或内含子的至少一部分互补,所述部分至少具有 8、10、13、15、20 个核苷酸。

[0039] 通过两个连续的酯交换反应发生肌营养不良蛋白前体 mRNA 的剪接。首先,在剪接体组装中限定的内含子中的特定分支点核苷酸的 2' OH 执行对内含子的 5' 剪接位点上的

第一个核苷酸的亲核攻击,形成套索中间体。其次,释放的5' 外显子的3' OH然后对3' 剪接位点上的内含子的最后一个核苷酸执行亲核攻击,从而连接外显子并释放内含子套索。因而内含子的分支点和剪接位点参与剪接事件。因此,优选包含与这种分支点和 / 或剪接位点互补的序列的寡核苷酸用于外显子跳跃。因此,还提供了包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的剪接位点和 / 或分支点互补的序列的寡核苷酸或其功能等同物。

[0040] 由于剪接位点含有共有序列,因此包含与剪接位点互补的序列的寡核苷酸或其功能等同物(在本文中也称为 AON)的使用伴随混杂杂交的风险。AON 与其他剪接位点而不是将要跳过的的外显子的位点的杂交,可能轻易地干扰剪接过程的精确性。为了克服这些以及其他与内含子序列互补的 AON 的使用有关的潜在性问题,一个优选实施方案提供了包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子互补的序列的寡核苷酸或其功能等同物。优选地,所述 AON 能特异性地抑制所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中至少一个外显子的外显子增加信号(exon inclusion signal)。干扰外显子增加信号(EIS)具有这些元件位于外显子中的优点。通过提供用于将要跳过的的外显子的内部的 AON,可以干扰外显子增加信号,从而阻碍剪接装置,有效掩蔽外显子。因此,剪接装置不能识别将要跳过的的外显子导致从最终 mRNA 中减少(exclusion)该外显子。所述实施方案不直接干扰剪接机制的酶促过程(外显子连接)。认为这可以使所述方法更加特异性和 / 或可靠。认为 EIS 是外显子的特殊结构,其可以使剪接受体和供体采取特定空间构象。在所述概念中,是所述特定空间构象使剪接机制能识别外显子。但是,本发明肯定并不限于这种模型。在优选实施方案中,采用能与外显子结合并抑制 EIS 的寡核苷酸。AON 可在任何点特异性地接触所述外显子,还能特异性地抑制所述 EIS。

[0041] 在本发明的上下文中,寡核苷酸的功能等同物优选地意指如本文所定义的寡核苷酸,其中一个或多个核苷酸已被取代,并且其中至少在某种程度上保留所述功能等同物的活性。优选地,所述功能等同物的活性是提供功能性肌营养不良蛋白蛋白质。因此,优选通过定量功能性肌营养不良蛋白蛋白质的量或定量功能性肌营养不良蛋白 mRNA 的量而评价所述功能等同物的活性。在本文中,优选将功能性肌营养不良蛋白蛋白质(或功能性肌营养不良蛋白 mRNA)定义为能够结合肌动蛋白和 DGC 蛋白质成员的肌营养不良蛋白蛋白质(或由所述 mRNA 编码的肌营养不良蛋白蛋白质)。优选通过 RT-PCR(mRNA)或免疫荧光或蛋白质印迹分析(蛋白质)进行寡核苷酸的所述活性的评价。优选地,当所述活性表示为所述功能等同物来源的所述寡核苷酸的至少 50%或至少 60%、或至少 70%或至少 80%或至少 90%或至少 95%或更多的相应活性时,至少在某种程度上保留所述活性。通过比较为所述功能等同物来源的所述寡核苷酸的相应寡核苷酸的活性,可以在个体的肌肉组织或肌肉细胞中或在细胞中体外测量这种活性。贯穿本申请,当使用词语寡核苷酸时,它可被如本申请定义的功能等同物替代。

[0042] 因此,包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子互补的序列或由所述序列组成的寡核苷酸或其功能等同物,提供良好的 DMD 治疗结果。在优选的实施方案中,使用包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子 2 至 75 的任一个的至少一部分互补的序列或由所述序列组成的寡核苷酸或其功能等同物,所述部分具有或包含至少 13 个核苷酸。但是,所述部分也可具有至少 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50 个核苷酸。与寡核苷

酸互补的肌营养不良蛋白前体 mRNA 的一部分也称为肌营养不良蛋白前体 mRNA 的一段连续序列。

[0043] 最优选地,使用包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子 51、45、53、44、46、52、50、43、6、7、8、55、2、11、17、19、21、57、59、62、63、65、66、69 和 / 或 75 的至少一部分互补的序列或由所述序列组成的 AON,所述部分具有或包含至少 13 个核苷酸。但是,所述部分也可具有至少 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50 个核苷酸。更优选的寡核苷酸用包含以下序列 SEQ ID NO :2 至 SEQ ID NO :539 的每一个或由以下序列 SEQ ID NO :2 至 SEQ ID NO :539 的每一个组成的序列表示,其中至少一个肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基存在于所述序列中。优选地,将肌苷引入这些序列的一个序列中,以替换鸟嘌呤、腺嘌呤或尿嘧啶。相应地,如本文所用的更优选的寡核苷酸用包含 SEQ ID NO :2 至 SEQ ID NO :486 或 SEQ ID NO :539、更优选 SEQ ID NO :2 至 SEQ ID NO :237 或 SEQ ID NO :539、最优选 SEQ ID NO :76 或由所述序列组成的序列表示,其中至少一个肌苷和 / 或能形成摆动碱基对的碱基存在于所述序列中。优选地,将肌苷引入这些序列的一个序列中,以替换鸟嘌呤、腺嘌呤或尿嘧啶。

[0044] 相应地,在另一优选的实施方案中,如本文所用的寡核苷酸用包含 SEQ ID NO :540 至 SEQ ID NO :576 或由所述序列组成的序列表示。更优选地,如本文所用的寡核苷酸用包含 SEQ ID NO :557 或由所述序列组成的序列表示。

[0045] 所述外显子以患者群体适用性的递减顺序列出。因此,与包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子 44 互补的序列等的 AON 相比,包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子 51 的至少一部分互补的序列的 AON 的使用,适合于更大部分的 DMD 患者群体中。

[0046] 在优选的实施方案中,本发明寡核苷酸包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的一部分互补的序列,所述寡核苷酸为这样的:所述互补部分为本发明的寡核苷酸长度的至少 50%,更优选至少 60%,更优选至少 70%,更优选至少 80%,更优选至少 90%或更优选至少 95%,或更优选至少 98%或更优选至少 99%,或更优选 100%。在最优选的实施方案中,本发明的寡核苷酸由与如本文所定义的肌营养不良蛋白前体 mRNA 的一部分互补的序列组成。作为实例,寡核苷酸可包含与如本文所定义的肌营养不良蛋白前体 mRNA 的一部分互补的序列和其他侧翼序列。在更优选实施方案中,所述寡核苷酸的所述互补部分的长度为至少 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50 个核苷酸。优选地,其他侧翼序列用于修饰蛋白质与寡核苷酸的结合或修饰寡核苷酸的热动力性质,更优选地修饰靶 RNA 结合亲合性。

[0047] 一个优选实施方案提供了寡核苷酸或其功能等同物,所述寡核苷酸或其功能等同物包含

[0048] - 与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的区域互补的序列,所述区域与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的另一部分杂交(封闭结构);和

[0049] - 与肌营养不良蛋白前体 mRNA 外显子的区域互补的序列,所述区域在所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中不杂交(开放结构)。

[0050] 对于此实施方案,参考 WO 2004/083432,所述 WO 2004/083432 的全文内容通过援

引并入。RNA 分子表现出强二级结构,主要由于相同 RNA 中互补或部分互补序列段的碱基配对导致的。长期以来,认为 RNA 中的结构在 RNA 的功能中发挥作用。在不受理论束缚的情况下,相信外显子 RNA 的二级结构在组织剪接过程中发挥作用。认为外显子结构是指导在 mRNA 中增加该外显子的一个参数。但是,其他参数也可在其中发挥作用。在本文中信号传导功能称为外显子增加信号。所述实施方案的互补寡核苷酸能干扰外显子结构,从而能干扰外显子的外显子增加信号。已经发现许多互补寡核苷酸的确具有这种能力,有的互补寡核苷酸比其他寡核苷酸更有效。所述优选实施方案的寡核苷酸,即具有针对天然外显子 RNA 中开放和封闭结构的所述重叠的寡核苷酸选自所有可能的寡核苷酸。所述选择包括能有效干扰外显子增加信号的寡核苷酸。在不受理论束缚的情况下,认为与开放结构的重叠改善了寡核苷酸的侵入效率和防止剪接因子的结合(即提高寡核苷酸可进入所述结构的效率),然而与封闭结构的重叠随后提高干扰外显子 RNA 的二级结构的效率,从而干扰外显子增加信号。发现与封闭和开放结构的部分互补性的长度不受严格限制。我们已经观察到二者任一结构中具有互补性的可变长度的寡核苷酸的高效率。本文所用的术语互补性指的是在生理条件下可与核酸的另一段序列杂交的一段核酸序列。因此,并不是绝对要求互补性区域中所有碱基都能与相对链中的碱基配对。例如,当设计寡核苷酸时,可能想要掺入例如不与互补链上的碱基配对的残基。如果在细胞中的环境下,一段核苷酸序列能充分地、互补部分杂交,那么在某种程度上可允许错配序列。在此环境中,“充分地”优选意指使用如 EP 1 619 249 的实施例 1 中所述的凝胶迁移率变动分析,可检测到寡核苷酸的结合。任选地,可通过转染到患者的肌肉细胞中而进一步测试所述寡核苷酸。可用 RT-PCR 评价靶向外显子跳跃(如 EP 1 619 249 中所述)。互补区域优选设计为当组合时,它们对于前体 mRNA 中的外显子是特异性的。由于所述特异性取决于体系中其他(前体)mRNA 的真实序列,所以可用互补区域的各种长度产生这种特异性。一个或多个其他前体 mRNA 也能与寡核苷酸杂交的风险随着寡核苷酸大小的增加而降低。在互补性区域中包含错配序列但是保留与前体 mRNA 中靶向区域杂交的能力的寡核苷酸可用于本发明中,这是明确的。然而,优选地,至少互补部分不包含这样的错配序列,因为所述互补部分通常比在一个或多个互补区域中具有这样的错配序列的寡核苷酸具有更高的效率和更高的特异性。认为较高的杂交强度(即增加与相对链相互作用的数目)有利于提高干扰该体系的剪接机制的过程效率。优选地,互补性在 90% -100% 之间。通常,在大约 20 个核苷酸的寡核苷酸中这允许大约 1 至 2 个错配。

[0051] 二级结构最好在存在外显子的前体 mRNA 的环境下分析。可在真实 RNA 中分析这种结构。但是,目前可以使用结构建模程序相当好地预测 RNA 分子的二级结构(耗费最少的精力)。适当的程序的非限制实例是 RNA mfold 版本 3.1 服务器⁴¹。给出核苷酸序列,本领域的技术人员将能够以适当的重现性预测外显子的可能结构。当为这种建模程序提供外显子和侧翼内含子序列时,得到最佳预测。通常不必构建整个前体 mRNA 结构的模型。

[0052] 优选地,寡核苷酸所针对的开放和封闭结构相互靠近。认为以这种方式,寡核苷酸退火到开放结构诱导封闭结构的开放,于是退火在所述封闭结构中进行。通过所述作用,先前封闭的结构采取不同构象。所述不同构象导致外显子增加信号的中断。但是,当潜在(隐藏的)剪接受体和/或供体序列存在于靶向外显子内时,有时产生定义不同(新)外显子的新外显子增加信号,即具有不同 5' 端、不同 3' 端或两者。因为从 mRNA 中减少靶向外显

子,这种活性类型在本发明的范围内。在 mRNA 中包含靶向外显子的一部分的新外显子的存在不改变像这样减少靶向外显子的事实。新外显子 (neo-exon) 的增加可看作仅仅有时出现的副作用。当外显子跳跃用于恢复肌营养不良蛋白的开放阅读框 (的一部分) 时,所述肌营养不良蛋白由于突变而被破坏,具有两种可能性。一种可能性是新外显子在阅读框恢复中是有功能的,然而在其他情况下,并未恢复所述阅读框。当选择用于藉由外显子跳跃而恢复肌营养不良蛋白阅读框的寡核苷酸时,当然清楚的是,在这些条件下,仅仅选择这样的寡核苷酸:其的确引起使用或不使用新外显子恢复肌营养不良蛋白开放阅读框的外显子跳跃。

[0053] 此外还提供了寡核苷酸或其功能等同物,其包含与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的外显子 RNA 中的丝氨酸-精氨酸 (SR) 蛋白的结合位点互补的序列。在 WO 2006/112705 中,我们已经公开了外显子-内部反义寡核苷酸 (AON) 在诱导外显子跳跃中的有效性以及所述 AON 的靶前体 mRNA 位点中 (例如被 ESE finder) 预测的 SR 结合位点的存在之间存在相关性。因此,在一实施方案中,生成寡核苷酸,其包括确定肌营养不良蛋白外显子 RNA 中用于 SR (Ser-Arg) 蛋白质的 (推定的) 结合位点,并且产生与所述 RNA 互补以及与所述 (推定的) 结合位点至少部分地重叠的寡核苷酸。术语“至少部分地重叠”在本文中定义为包含 SR 结合位点的仅仅单个核苷酸的重叠、所述结合位点的多个核苷酸的重叠以及所述结合位点的完全重叠。优选地,本实施方案还包括确定来自所述 RNA 的二级结构、与所述 RNA 的另一部分杂交的区域 (封闭结构) 和在所述结构中不杂交的区域 (开放结构),随后生成与所述 (推定的) 结合位点至少部分重叠以及与所述封闭结构的至少一部分重叠和与所述开放结构的至少一部分重叠的寡核苷酸。这样,我们增加了获得寡核苷酸的机会,所述寡核苷酸能干扰来自前体 mRNA 的外显子增加到 mRNA 中。有可能第一个选择的 SR 结合区域没有需要的开放-封闭结构,在此情况下,选择另一 (第二个) SR 蛋白质结合位点,随后测试所述另一 (第二个) SR 蛋白质结合位点的开放-封闭结构的存在。持续所述过程,直到确定含有 SR 蛋白质结合位点和 (部分重叠) 开放-封闭结构的序列。然后用所述序列设计与所述序列互补的寡核苷酸。

[0054] 也通过颠倒所述顺序实施生成寡核苷酸的这样的方法,即首先生成寡核苷酸,其包括确定来自肌营养不良蛋白外显子 RNA 的二级结构、采取与所述 RNA 的另一部分杂交的区域 (封闭结构) 和不在所述结构中杂交的区域 (开放结构),随后生成寡核苷酸,所述寡核苷酸的至少一部分与所述封闭结构互补并且所述寡核苷酸的至少另一部分与所述开放结构互补。然后确定 SR 蛋白质结合位点是否至少与所述开放/封闭结构重叠。这样改进了 WO 2004/083432 的方法。在另一实施方案中所述选择同时进行。

[0055] 在不希望受理论束缚的情况下,当前认为针对 SR 蛋白质结合位点的寡核苷酸的使用引起 (至少部分地) 损害 SR 蛋白质与 SR 蛋白质结合位点的结合,其导致中断的或受损的剪接。

[0056] 优选地,开放/封闭结构和 SR 蛋白质结合位点部分重叠,更优选地,开放/封闭结构与 SR 蛋白质结合位点完全重叠或者 SR 蛋白质结合位点与开放/封闭结构完全重叠。这考虑到改善外显子增加的破坏。

[0057] 除了共有剪接位点序列之外,还有许多 (如果不是全部) 外显子含有剪接调节序列例如外显子剪接增强子 (ESE) 序列,以促进剪接体识别真正的剪接位点^{42,43}。一亚群剪接

因子,称为SR蛋白质,可与这些ESE结合并且将其他剪接因子如U1和U2AF募集至(弱定义的)剪接位点。已经详细分析了四个最丰富的SR蛋白质(SF2/ASF、SC35、SRp40和SRp55)的结合位点,并且这些结果应用于ESE finder中,所述ESE finder为预测这些SR蛋白质的潜在结合位点的网络资源^{42,43}。AON的效力与SF2/ASF、SC35和SRp40结合位点的存在/缺乏之间存在相关性。在优选实施方案中,本发明因而提供了如上所述的组合,其中所述SR蛋白质为SF2/ASF或SC35或SRp40。

[0058] 在一个实施方案中,寡核苷酸或其功能等同物能特异地结合转录物中肌营养不良蛋白外显子的正确剪接所需的调节RNA序列。若干顺式作用RNA序列是转录物中外显子的正确剪接所需的。特别是,确定其他元件例如内含子或外显子剪接增强子(ISE和ESE)或沉默子(ISS和ESE)以调节组成型和选择性外显子的特异性的有效剪接。如为DMD所显示的,使用与所述元件结合的序列特异性反义寡核苷酸(AON),扰乱这些元件的调节功能,从而跳过外显子。因此,在一个优选的实施方案中,使用与内含子剪接增强子(ISE)、外显子剪接增强子(ESE)、内含子剪接沉默子(ISS)和/或外显子剪接沉默子(ESS)互补的寡核苷酸或其功能等同物。如本申请先前已经描述的,在一个优选实施方案中,肌营养不良蛋白外显子被能特异地抑制所述外显子的外显子增加信号的试剂跳过,从而作为需要在mRNA中增加的部分的所述外显子不被剪接机制识别。因此,形成了没有所述外显子的mRNA。

[0059] 优选地,本文所用的AON与肌营养不良蛋白外显子RNA或肌营养不良蛋白内含子RNA的8-50个核苷酸的连续部分或一段连续序列互补。在一个实施方案中,本文所用的AON与肌营养不良蛋白外显子RNA或肌营养不良蛋白内含子RNA的14-50个核苷酸的连续部分或一段连续序列互补。优选地,所述AON与所述外显子RNA的14-25个核苷酸的连续部分或一段连续序列互补。更优选地,使用包含与肌营养不良蛋白外显子RNA或肌营养不良蛋白内含子RNA的20-25个核苷酸的连续部分或一段连续序列互补的序列的AON。

[0060] 可使用不同类型的核酸以生成寡核苷酸。优选地,所述寡核苷酸包含RNA,因为RNA/RNA杂合体非常稳定。由于外显子跳跃技术的一个目的是在个体中指导剪接,因此优选的是,寡核苷酸RNA包含为RNA提供其他性质的修饰,例如内切核酸酶、外切核酸酶和核糖核酸酶H(RNaseH)抗性、另外的杂交强度、稳定性(例如在体液中)提高、柔性增加或减少、毒性降低、胞内运输增加、组织特异性等。优选地,所述修饰包括2'-O-甲基硫代磷酸酯寡核糖核苷酸修饰。优选地,所述修饰包括2'-O-甲基硫代磷酸酯寡脱氧核糖核苷酸修饰。因此,一个实施方案提供了所使用的包含RNA的寡核苷酸,所述RNA含有修饰,优选2'-O-甲基修饰的核糖(RNA)或脱氧核糖(DNA)修饰。

[0061] 在一个实施方案中,本发明提供了包含寡核苷酸和锁核酸的杂交寡核苷酸,所述寡核苷酸包含2'-O-甲基硫代磷酸酯寡(脱氧)核糖核苷酸修饰。与由锁核酸组成的等同物相比,所述具体的寡核苷酸具有更好的序列特异性,并且当与由2'-O-甲基硫代磷酸酯寡(脱氧)核糖核苷酸修饰组成的寡核苷酸相比时,具有改善的有效性。

[0062] 随着核酸模拟技术的出现,可以生成在种类上而不必在数量上具有与核酸本身相似的,优选相同的杂交特征的分子。当然,所述功能等同物也适合用于本发明中。寡核苷酸的功能等同物的优选实例为肽核酸和/或锁核酸。最优选地,使用吗啉代磷酸二酰胺。可在参考文献44至50中找到本发明的寡核苷酸的等同物的合适但非限制性实例。当然,等同物的一个或多个相互之间和/或与核酸之间的杂交也是合适的。在优选的实施方案中,锁

核酸作为寡核苷酸的功能等同物使用,由于锁核酸显示出更高的靶亲和性和降低的毒性,因此表现出更高的外显子跳跃效率。

[0063] 在一个实施方案中,将能抑制在肌营养不良蛋白 mRNA 中增加肌营养不良蛋白外显子的寡核苷酸或其功能等同物与能抑制在肌营养不良蛋白 mRNA 中增加另一个肌营养不良蛋白外显子的至少一其他寡核苷酸或其功能等同物组合。这样便防止了在由所述前体 mRNA 产生的 mRNA 中增加肌营养不良蛋白前体 mRNA 的两个或更多个外显子。本实施方案进一步称为双外显子跳跃或多外显子跳跃^{2,15}。在大多数情况下,双外显子跳跃导致在肌营养不良蛋白前体 mRNA 中仅减少两个靶向外显子。但是,在其他情况下,即使当其他外显子(间插外显子(intervening exon))存在于所述前体 mRNA 中的靶向外显子之间的整个区域时,发现所述外显子和所述区域不存在于产生的 mRNA 中。对于来源于 DMD 基因的寡核苷酸的组合,多外显子跳跃显著如此,其中将外显子 45 的寡核苷酸和外显子 51 的寡核苷酸加入到转录 DMD 基因的细胞中。这种构成(set-up)导致生成的 mRNA 不含有外显子 45 至 51。明显地,在所述寡核苷酸存在下的前体 mRNA 的结构为如此,即刺激剪接机制以使外显子 44 和 52 相互连接。多外显子跳跃的其他优选实例为:

[0064] -靶向外显子 17 和第二个外显子 48 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 17 和外显子 48 之间整个区域的跳跃。

[0065] -靶向外显子 17 和第二个外显子 51 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 17 和外显子 51 之间整个区域的跳跃。

[0066] -向外显子 42 和第二个外显子 55 的寡核苷酸靶的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 42 和外显子 55 之间整个区域的跳跃。

[0067] -向外显子 43 和第二个外显子 51 的寡核苷酸靶的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 43 和外显子 51 之间整个区域的跳跃。

[0068] -靶向外显子 43 和第二个外显子 55 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 43 和外显子 55 之间整个区域的跳跃。

[0069] -靶向外显子 45 和第二个外显子 55 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 45 和外显子 55 之间整个区域的跳跃。

[0070] -靶向外显子 45 和第二个外显子 59 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 45 和外显子 59 之间整个区域的跳跃。

[0071] -靶向外显子 48 和第二个外显子 59 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子或外显子 48 和外显子 59 之间整个区域的跳跃。

[0072] -靶向外显子 50 和第二个外显子 51 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子的跳跃。

[0073] -靶向外显子 51 和第二个外显子 52 的寡核苷酸的用途,其可导致所述两个外显子的跳跃。

[0074] 因此还提供了包含至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的寡核苷酸,所述连续核苷酸与肌营养不良蛋白前体 mRNA 的第一个外显子互补,其中使用包含至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的核苷酸序列,所述连续核苷酸与所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 的第二个外显子互补。所述第一个和所述第二个外显子可以是一样的。

[0075] 在一个优选实施方案中,所述第一个和所述第二个外显子在所述肌营养不良蛋白

前体 mRNA 中被不与所述寡核苷酸互补的至少一个外显子分开。或者,所述第一个和所述第二个外显子是相邻的。

[0076] 通过提供所述两个互补寡核苷酸之间的连接,也可以特异性地促进间插外显子的跳跃。因此,在一个实施方案中,与至少两个肌营养不良蛋白外显子互补的核苷酸序列被连接部分分开。因而,本实施方案中连接核苷酸的至少两段序列,从而形成单个分子。因此,还提供了与肌营养不良蛋白前体 mRNA 中至少两个外显子互补的寡核苷酸或其功能等同物,所述寡核苷酸或其功能等同物包含至少两部分,其中第一部分包含具有至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的寡核苷酸,所述连续核苷酸与所述至少两个外显子的第一个互补,并且其中第二部分包含具有至少 8 个、优选 16-80 个连续核苷酸的寡核苷酸,所述连续核苷酸与所述肌营养不良蛋白前体 mRNA 中第二个外显子互补。可通过任何方式进行连接,但是优选通过核苷酸连接而实现。在后一情况下,不含有一个或另一个互补外显子间重叠的核苷酸的数目可以为零,但是优选为 4-40 个核苷酸。连接部分可为任何类型的能连接寡核苷酸的部分。优选地,所述连接部分包含至少 4 个尿嘧啶核苷酸。目前,可采用许多模拟寡核苷酸的杂交特征的不同化合物。如果这种等同物在种类上而不必在数量上具有相似的杂交特征,那么这种化合物,其在本文中称为寡核苷酸的功能等同物,也适用于本发明。本说明书前面描述了合适的功能等同物。如所述的,本发明的寡核苷酸不一定只由有助于与靶向外显子杂交的寡核苷酸组成。还可以有添加的其他材料和 / 或核苷酸。

[0077] DMD 基因是具有许多不同外显子的大基因。考虑到所述基因位于 X 染色体上,尽管女孩也会受到这种疾病的侵袭,但是主要是男孩受到侵袭,由于他们会接收来自双亲的基因坏拷贝,或者由于他们的肌肉细胞中特别偏好的 X 染色体失活而遭受特别偏好的功能性等位基因失活。该蛋白质由许多 (79 个) 超过至少 2.4Mb 范围的外显子编码。缺陷可出现在 DMD 基因的任何部分。一个具体外显子或多个具体外显子的跳跃往往可导致编码比正常更短但至少具有部分功能的肌营养不良蛋白蛋白质的重构 mRNA。基于外显子跳跃技术的药物开发中的实际问题是,可能导致细胞中功能性肌营养不良蛋白蛋白质缺陷的许多突变。尽管存在已经通过单一外显子跳跃能够校正许多不同突变的事实,然而所述多个突变需要生成一系列不同的药物,因为对于不同的突变,不同的外显子需要被跳过。寡核苷酸或者包含至少两个如本文后面所定义的能诱导两个或更多个外显子跳跃的不同寡核苷酸的组合物的优点是,使用单一药物可跳过多个外显子。这种性质不仅仅是在实践上很有用,因为仅仅需要生成有限数量的药物用于治疗许多不同 DMD 或者特别严重的 BMD 突变。如今本领域技术人员可选的另一个选项是,选择具有特别功能的重构的肌营养不良蛋白蛋白质和制备能生成这些优选肌营养不良蛋白蛋白质的化合物。这些优选的最终结果进一步称为温和表型肌营养不良蛋白。

[0078] 优选地,基于临床试验 (体内应用) 中递增剂量研究,设计本发明的寡核苷酸的剂量范围,对于所述临床试验,存在严格的规程要求。可以在 0.1mg/kg 至 20mg/kg 之间、优选在 0.5mg/kg 至 10mg/kg 之间变动的剂量使用如本文所定义的分子或核苷酸。

[0079] 在优选的实施方案中,使用在 0.1nM 至 1 μ M 之间变动的如本文所定义的寡核苷酸的浓度。优选地,所述范围是在细胞模型如肌肉细胞或肌肉组织中用于体外应用。更优选地,所用浓度在 0.3nM 至 400nM 之间、更优选在 1nM 至 200nM 之间变动。如果使用几个寡核苷酸,所述浓度或剂量可以指寡核苷酸的总浓度或剂量或者所添加的每个寡核苷酸的浓度

或剂量。

[0080] 如上所给出的寡核苷酸的浓度或剂量范围为用于体外或离体应用的优选浓度或剂量。技术人员应当了解,根据所用的寡核苷酸、要治疗的靶细胞、基因靶标及其表达水平、所用的介质和转染及孵育条件,所用的寡核苷酸的浓度或剂量可进一步改变和需要进一步优化。

[0081] 如本文所定义的用于本发明的用途的寡核苷酸,可适合体内给予给个体的细胞、组织和/或器官,所述个体受到 DMD 或 BMD 侵袭或者具有罹患 DMD 或 BMD 的风险,并且可体内、离体 (ex vivo) 或体外给予。所述寡核苷酸可直接或间接地体内施用给个体的细胞、组织和/或器官,所述个体受到 DMD 或 BMD 侵袭或者具有罹患 DMD 或 BMD 的风险,并且可直接或间接地体内、离体或体外给予。由于杜氏和贝克型肌营养不良在肌肉细胞中具有明显表型,所以优选所述细胞是肌肉细胞,还优选所述组织为肌肉组织和/或还优选所述器官包含肌肉组织或由肌肉组织组成。优选器官为心脏。优选地,所述细胞包含编码突变的肌营养不良蛋白蛋白质的基因。优选地,所述细胞为患有 DMD 或 BMD 的个体的细胞。

[0082] 可使用本领域已知的合适方式,间接地给予本发明的寡核苷酸。例如,可以以表达载体形式将寡核苷酸给予个体或者所述个体的细胞、组织或器官,其中所述表达载体编码包含所述寡核苷酸的转录物。优选地,通过基因递送载体 (gene delivery vehicle) 将所述表达载体引入到细胞、组织、器官或个体中。在优选实施方案中,提供了包含表达盒或转录盒的基于病毒的表达载体,所述表达盒或转录盒驱动如本文所确定的分子的表达或转录。优选递送载体为病毒载体如腺伴随病毒载体 (AAV) 或者逆转录病毒载体如慢病毒载体^{4,51,52}等。质粒、人工染色体、适于细胞的人基因组中靶向同源重组和整合的质粒也可适当地用于递送如本文所定义的寡核苷酸。对于本发明,优选这样的载体,即在所述载体中,转录受 PolIII 启动子驱动,和/或其中转录物为具有 U1 或 U7 转录物的融合物形式,所述载体获得良好的递送小转录物的结果。设计合适的转录物属于技术人员的技能。优选 PolIII 驱动的转录物。优选地,采用具有 U1 或 U7 转录物的融合转录物形式^{4,51,52}。可如参考文献 53 和 54 所述,生成所述融合物。按照原来的样子,可递送所述寡核苷酸。但是,所述寡核苷酸也可由病毒载体编码。通常这为 RNA 转录物形式,所述 RNA 转录物在转录物的一部分中包含所述寡核苷酸序列。

[0083] 考虑到目前已实现的进展,预期为个体或者所述个体的细胞、组织、器官提供寡核苷酸和/或其等同物的方式的改进。当然,可以纳入这些未来的改进以达到所述的对使用本发明的方法重构 mRNA 的影响。寡核苷酸和/或其等同物可以按照原来的样子递送到个体或所述个体的细胞、组织或器官。当给予寡核苷酸和/或其等同物时,优选将寡核苷酸和/或其等同物溶于适合所述递送方法的溶液中。对于静脉内、皮下、肌肉、鞘内和/或心室内给药,优选所述溶液为生理盐溶液。在本发明中,特别优选使用赋形剂,所述赋形剂有助于将如本文所定义的组分中的每一个递送至细胞和/或细胞中,优选肌肉细胞。优选能形成递送如本文所定义的每个组分的复合物、纳米粒子、微胶粒、小囊泡 (vesicle) 和/或脂质体的赋形剂,所述组分通过细胞膜被复合或捕获到小囊泡或脂质体中。许多所述赋形剂是本领域内已知的。合适的赋形剂包括聚乙烯亚胺 (PEI) 或者类似的阳离子聚合物,包括聚丙烯亚胺或聚乙烯亚胺共聚物 (PEC) 和衍生物、合成的两性分子 (SAINT-18)、脂质体 (lipofectinTM)、DOTAP 和/或能自组装成颗粒的病毒外壳蛋白质,所述颗粒能将如本文所

定义每个组分递送至细胞,优选递送至肌肉细胞。已显示所述赋形剂可将寡核苷酸如反义核酸有效地递送至多种培养的细胞,包括肌肉细胞。根据总细胞存活,将它们的高转染潜能与期望的低毒性至中等毒性结合。结构修饰的便利,可用于允许其他修饰和分析它们的其他(体内)核酸转移特征和毒性。

[0084] 脂质体(lipofectin)代表脂质体转染剂的实例。它由两个脂质组分组成,即阳离子脂质 N-[1-(2,3-二油酰基氧)丙基]-N,N,N-三甲胺盐酸盐(DOTMA)(比较 DOTAP,其为甲基硫酸盐)和中性脂质二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)。中性组分介导细胞内释放。另一组递送体系为聚合物纳米粒子。

[0085] 熟知作为 DNA 转染剂的聚阳离子如二乙氨基乙基(DEAE)-葡聚糖可与氰基丙烯酸丁酯(PBCA)和氰基丙烯酸己酯(PHCA)组合,以配制阳离子纳米粒子,所述纳米粒子可将如本文所定义每个组分、优选寡核苷酸,横跨细胞膜递送到细胞中。

[0086] 除了这些普通纳米粒子材料外,阳离子肽鱼精蛋白也提供备选方法以用胶体制配寡核苷酸。这种胶体纳米粒子系统可形成所谓的颗粒,其通过简单的自我组装过程制备,以包装寡核苷酸并介导寡核苷酸的细胞内释放。技术人员可选择和改造以上或其他市售的选择性赋形剂和递送系统的任一个,以包装和递送用于本发明的寡核苷酸,从而递送所述寡核苷酸用于治疗人类中的杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良。

[0087] 另外,可以将寡核苷酸共价或非共价连接于经特别设计而促进摄取到细胞、细胞质和/或其细胞核中的引导配体。这种配体可包含(i)识别促进细胞摄取的细胞、组织或器官特异性元件的化合物(包括但不限于肽(样)结构)和/或(ii)能促进摄取到细胞中和/或从小囊泡如内体或溶酶体内释放寡核苷酸的化合物。

[0088] 因此,在优选的实施方案中,将寡核苷酸配制在组合物或药物或组合物中,向所述组合物或药物提供有至少一种赋形剂和/或用于递送的引导配体和/或所述组合物的递送工具(delivery device),用于递送至细胞和/或增强其细胞内递送。相应地,本发明还包括药学上可接受的组合物,所述组合物包含寡核苷酸,并且还包含至少一种赋形剂和/或用于递送的引导配体和/或所述寡核苷酸的递送工具,用于递送到细胞和/或增强其细胞内递送。

[0089] 应当了解,如果组合物包含其他组分如本文后面所定义的辅助化合物,那么所述组合物的每个组分可能不被配制在单一组合或组合物或制剂中。根据它们的特性,技术人员应当理解对于如本文所定义每个组分,哪种类型的配方是最适当的。在优选实施方案中,本发明提供多组分试剂盒(kit of parts)形式的组合物或制剂,所述多组分试剂盒包含寡核苷酸和如本文后面所定义的另外的辅助化合物。

[0090] 优选的寡核苷酸用于预防或治疗个体中杜氏肌营养不良(DMD)或贝克型肌营养不良(BMD)。可用本发明的寡核苷酸治疗的个体也许已经诊断为患有 DMD 或 BMD。或者,也许可用本发明的寡核苷酸治疗的个体还未诊断为患有 DMD 或 BMD,但是考虑到他的或她的遗传背景,所述个体可以是具有在将来罹患 DMD 或 BMD 的风险增加的个体。优选的个体为人类。

[0091] 组合物

[0092] 另一方面,提供了包含本文所定义的寡核苷酸的组合物。优选地,所述组合物包含本文所定义的至少两种不同的寡核苷酸。更优选地,所述两种不同的寡核苷酸经设计跳过

本文前面所定义的两个或更多个外显子,用于多外显子跳跃。

[0093] 在优选的实施方案中,所述组合物优选为药物组合物,所述药物组合物包含药学上可接受的载体、佐剂、稀释剂和 / 或赋形剂。

[0094] 还提供了可包含任何药学上可接受的载体、填充剂、防腐剂、佐剂、增溶剂、稀释剂和 / 或赋形剂的这种药物组合物。例如可在 Remington: The Science and Practice of Pharmacy (雷明顿: 药学技术与实践), 20th Edition. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 2000 中找到所述药学上可接受的载体、填充剂、防腐剂、佐剂、增溶剂、稀释剂和 / 或赋形剂。本申请前面已经定义了所述组合物的每个特征。

[0095] 如果使用几个寡核苷酸,则本文已经定义的浓度或剂量可指所有所用的寡核苷酸的总浓度或剂量或每个所用的或添加的寡核苷酸的浓度或剂量。因此,在一个实施方案中,提供了组合物,其中所用的每一核苷酸或全部寡核苷酸的给药剂量在 0.5mg/kg 至 10mg/kg 的范围内变动。

[0096] 优选组合物还包含:

[0097] a) 用于减少炎症,优选用于减少肌肉组织炎症的辅助化合物,和 / 或

[0098] b) 用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助化合物,和 / 或

[0099] c) 显示通读活性的化合物。

[0100] 已经出乎意料地发现,当使用针对外显子或针对所述外显子的一个或两个剪接位点的寡核苷酸时,如果向表达所述前体 mRNA 的细胞也提供了用于减少炎症,优选用于减少肌肉组织炎症的辅助化合物和 / 用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助化合物,那么来自包含所述外显子的前体 mRNA 的肌营养不良蛋白外显子的跳跃频率就增强了。所述增强的跳跃频率也提高了 DMD 或 BMD 个体的肌肉细胞中所产生的功能性肌营养不良蛋白蛋白质的水平。

[0101] 根据本发明,即使当通过施给本发明的寡核苷酸而恢复 DMD 患者中肌营养不良蛋白蛋白质缺陷时,组织炎症和受损肌肉细胞的存在仍然继续加剧 DMD 的症状。因此,即使 DMD 的原因 - 即功能失调的肌营养不良蛋白蛋白质 - 减轻了,仍然通过另外使用根发明的辅助疗法,进一步改善 DMD 的治疗。此外,本发明洞悉炎症减少不会引起肌肉细胞 AON 摄取的显著减少。这是令人吃惊的,因为通常炎症增强细胞、血液和其他化合物的运输。因而在炎症过程中也增强了 AON 摄取 / 递送。因此,在本发明之前,预期对抗炎症的辅助疗法包括消极地影响 AON 疗法的风险。然而,看来情况并非如此。

[0102] 用于减少炎症的辅助化合物包括任何能至少部分地减少炎症,优选由受损肌肉细胞引起的炎症的疗法。最优选地,所述辅助化合物能减少肌肉组织炎症。优选地,通过检测疑为营养不良的肌肉组织中浸润性免疫细胞如中性粒细胞和 / 或肥大细胞和 / 或树突细胞和 / 或淋巴细胞数目的增加而评价炎症。优选地,在具有如上鉴别的特异性染色的免疫细胞后,在疑为营养不良的肌肉组织活检的横切片中进行所述评价⁵⁷。优选地,在显微镜下进行定量。因此,优选地,通过检测疑为营养不良的肌肉组织的横切片中免疫细胞数目的降低而评价炎症减少。优选地,检测降低意思是,与治疗前同一个体中相应免疫细胞的数目相比,如上识别的至少一类免疫细胞的数目降低至少 1%、2%、3%、5%、7%、10%、12%、15%、17%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或更多。最优选地,在所述活检的横切片中检测不到浸润性免疫细胞。

[0103] 用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助化合物包括任何疗法,与不存在所述辅助化合物的其他相似情况相比,所述疗法能可测量地增强肌纤维功能、完整性和 / 或存活。使用以下分析中的至少一种评价肌纤维功能、完整性和 / 或存活的改善:血液中肌酸激酶可检测的减少、疑为营养不良的肌肉的活检横切片中肌纤维坏死可检测的减少和 / 或疑为营养不良的肌肉的活检横切片中肌纤维直径同质性可检测的增加。这些分析中的每一种都是技术人员已知的。

[0104] 可以如 57 中所述检测血液中的肌酸激酶。肌酸激酶可检测的减少可以指与治疗前同一个体中肌酸激酶的浓度相比,减少 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或更大。

[0105] 优选地,在肌肉活检中评价肌纤维坏死可检测的减少,更优选地,如 57 中所述使用活检横切片评价肌纤维坏死可检测的减少。坏死可检测的减少可以是面积减少了 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或更多,其中已使用活检横切片鉴别坏死。通过比较治疗前在同一个体中所评价的坏死而测量所述减少。

[0106] 优选地,在肌肉活检横切片中评价肌肉肌纤维直径同质性可检测的增加,更优选地,如 57 中所述,进行评价。

[0107] 在一个实施方案中,使用用于增加受损肌肉细胞更新的辅助化合物。用于增加受损肌肉细胞更新的辅助化合物包括任何能至少部分地诱导和 / 或增加受损肌肉细胞更新的疗法。受损肌肉细胞为具有比健康完整的肌肉细胞显著地更少的临床上可测量的功能性的肌肉细胞。在不存在肌营养不良蛋白时,机械应力导致肌膜破裂,引起钙不受控制地流入肌纤维内部,从而触发钙激活的蛋白酶和纤维坏死,导致肌肉细胞受损。增加受损肌肉细胞的更新意思是,与不增加受损肌肉细胞更新的情况相比,受损肌肉细胞被更快地分解和 / 或去除。优选地,在肌肉活检中评价受损肌肉细胞的更新,更优选地,如 57 中所述使用活检横切片评价受损肌肉细胞的更新。可检测的更新的增加可以是面积增加了 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或更多,其中已使用活检横切片鉴别了更新。通过比较如治疗前同一个体中所评价的更新,测量所述增加。

[0108] 在不希望受理论束缚的情况下,认为优选增加肌肉细胞的更新,因为这减少了炎症应答。

[0109] 根据本发明,还包含用于减少炎症,优选用于减少个体中肌肉组织炎症的辅助疗法的本发明组合物尤其适合用作药物。与不包含所述辅助化合物的组合相比,这种组合物甚至能更好地减轻杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状。当使用针对外显子或针对所述外显子的一个或两个剪接点的寡核苷酸时,本实施方案还增强来自包含所述外显子的前体 mRNA 的肌营养不良蛋白外显子的跳跃频率。所述增强的跳跃频率也提高了 DMD 或 BMD 个体的肌肉细胞中所产生的功能性肌营养不良蛋白蛋白质的水平。

[0110] 因此,进一步提供了还包含用于减少炎症,优选用于减少所述个体中肌肉组织炎症的辅助化合物的组合物,所述组合物用作药物,优选用于治疗或预防或对抗 DMD。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成功能不充分的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质或者改变的或截短的肌营养不良蛋白 mRNA 或蛋白质。

[0111] 用于减少炎症的优选辅助化合物包括类固醇、TNF- α 抑制剂、mIGF-1 源和 / 或抗氧化剂。然而,本发明也包括如本文所定义的能减少炎症的任何其他化合物。后面详细介

绍这些化合物中的每一种。详细介绍的所述化合物中的每一种都可单独使用或相互组合使用和 / 或与用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助化合物的一种或多种组合使用。

[0112] 此外,包含用于改善个体中肌纤维功能、完整性和 / 或存活的辅助疗法的组合物尤其适合作为药物,优选用于治疗或预防 DMD。与不包含所述辅助化合物的组合物相比,这类组合物甚至能更好地减轻杜氏肌营养不良的一个或多个症状。

[0113] 用于改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的优选辅助化合物包括离子通道抑制剂、蛋白酶抑制剂、L-精氨酸和 / 或血管紧张素 II I 型受体阻断剂。然而,本发明也包括如本文所定义的能改善肌纤维功能、完整性和 / 或存活的任何其他化合物。后面详细介绍这些化合物中的每一种。详细介绍的所述化合物中的每一种都可单独使用或相互组合使用和 / 或与用于减少炎症的辅助化合物的一种或多种组合使用。

[0114] 在特别优选的实施方案中,组合物还包含类固醇。这种组合物引起 DMD 症状的显著减轻。当使用针对外显子或所述外显子的一个或两个剪接点的寡核苷酸时,该实施方案还增强来自包含所述外显子的前体 mRNA 的肌营养不良蛋白外显子的跳跃频率。所述增强的跳跃频率也提高了 DMD 或 BMD 个体的肌肉细胞中所产生的功能性肌营养不良蛋白蛋白质的水平。

[0115] 在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成功能不充分的非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。

[0116] 类固醇是特征为具有通常排列为 6-6-6-5 型的四稠环碳骨架的萜类脂质。类固醇依据连接于这些环的官能团和环的氧化态而变化。类固醇包括通常用于减轻肿胀和炎症的激素和药物,例如泼尼松、地塞米松和维生素 D。

[0117] 根据本发明,DMD 患者中辅助类固醇疗法的辅助作用包括减少组织炎症、抑制细胞毒性细胞及改善钙体内平衡。在年纪较小的男孩中获得最积极的结果。优选地,类固醇为皮质类固醇,更优选地,为糖皮质类固醇。优选地,根据本发明,组合使用泼尼松类固醇如泼尼松、泼尼松龙或地夫可特²¹。基于临床试验中递增剂量研究,设计用于如本文所述的治疗用途的类固醇或糖皮质类固醇的剂量范围,对于所述临床试验,存在严格的规程要求。对于泼尼松和泼尼松龙,常用剂量为 0.5-1.0mg/kg/天,优选为 0.75mg/kg/天,对于地夫可特,常用剂量为 0.4-1.4mg/kg/天,优选为 0.9mg/kg/天。

[0118] 在一个实施方案中,在给予如本文前面所定义的组合物前,将类固醇给予所述个体。在该实施方案中,优选在给予所述组合物前至少一天,更优选至少一个星期,更优选至少两个星期,更优选至少三个星期,给予所述类固醇。

[0119] 在另一优选的实施方案中,组合还包含肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 抑制剂。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 为刺激炎症应答的促炎性细胞因子。用中和抗体英利昔单抗 (Remicade) 药理阻断 TNF- α 活性,在临床上减少炎症疾病的症状是非常有效的。在 mdx 小鼠中,英利昔单抗和伊那西普 (etanercept) 都延迟并减少营养不良肌肉的坏死^{24,25},在长期处理训练的成年 mdx 小鼠中证明对肌肉强度、氯化物通道功能和 CK 水平降低具有其他生理益处²⁶。设计用于其他临床条件的这些高度特异性消炎药是用于 DMD 的类固醇使用的很有吸引力的替代物。在一个实施方案中,当肌肉损伤和衰退特别显著时,TNF- α 抑制剂的使用限于男孩中密集型肌肉生长期。

[0120] 也提供了还包含 TNF α 抑制剂、用作药物的组合物。在一个实施方案中,所述组

合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成功能不充分、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。优选的 TNF- α 抑制剂为由与人 IgG1 的 Fc 部分连接的 TNF- α 的人 p75 受体的胞外配体-结合结构域组成的二聚融合蛋白。更优选的 TNF α 抑制剂为依那西普 (etanercept, Amgen, America)²⁶。依那西普的常用剂量大约为 0.2mg/kg, 优选大约为 0.5mg/kg, 每周两次。优选皮下给药。

[0121] 在另一个优选的实施方案中,本发明的组合物还包含 mIGF-1 源。如本文所定义的,IGF-1 源优选包含 mIGF-1 自身,能增强 mIGF-1 表达和 / 或活性的化合物。在本申请中,增强与提高同义。mIGF-1 表达与 mIGF-1 量同义。mIGF-1 通过提高卫星细胞活性而促进肌肉再生,并且减少炎症和坏死²⁷。肌肉局部损伤导致 mIGF-1 表达增加。在具有其他 IGF-1 基因的转基因小鼠中观察到肌肉肥大和扩大的肌纤维²⁷。同样,转基因 mdx 小鼠显示肌纤维退化减少²⁸。mIGF-1 基因的上调和 / 或额外量的 mIGF-1 蛋白质或其功能等同物 (尤其为 mIGF-1Ea 同种型 (如 27 中所述,人同系物 IGF-1 同种型 4:SEQ ID NO:577)) 的给药因而促进用于 DMD 的其他疗法,优选基因疗法的作用,包括反义诱导的外显子跳跃。上述转基因小鼠中其他 mIGF-1 水平不会引起心脏问题或促进癌症,并且没有病理学副作用。如前所述,例如通过增强 mIGF-1 基因表达和 / 或给予 mIGF-1 蛋白质和 / 或其功能等同物 (尤其为 mIGF-1Ea 同种型 (如 27 中所述,人同系物 IGF-1 同种型 4:SEQ ID NO:577)) 而增加 mIGF-1 的量。也提供了用作药物的还优选地包含 mIGF-1、能增强 mIGF-1 表达和 / 或 mIGF-1 活性的化合物的本发明组合物。优选地,所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中,这种组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成功能不充分的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。

[0122] 在本发明的上下文中,可通过提高 IGF-1 基因的基因表达水平、增加相应 IGF-1 蛋白质的量和 / 或提高 IGF-1 蛋白质的活性,而达到增加 mIGF-1 的量或活性。本文前面已经定义了优选的 mIGF-1 蛋白质。在本文中所述蛋白质活性的提高应理解为表示,与未治疗的个体中所述活性或稳态相比,所述蛋白质产生的生物活性或所述蛋白质的稳态水平的任何可检测的改变。优选地,通过检测肌肉肥大生物标记物 GATA-2 (如 27 中所述) 增加的表达而评价 mIGF-1 的增加量或活性。

[0123] 优选地,使用经典的分子生物学技术如 (实时)PCR、阵列或 Northern 分析评价基因表达水平。通过定量蛋白质的量直接确定蛋白质的稳态水平。可用任何已知技术如使用针对蛋白质而产生的抗体的蛋白质印迹或免疫测定定量蛋白质的量。技术人员应当理解,可选地或与基因表达水平和 / 或相应蛋白质的定量结合,使用特定分析定量相应蛋白质或已知与相应蛋白质的功能或活性相关的任何化合物的底物或定量相应蛋白质的所述功能或活性,可用于评价蛋白质的活性或稳态水平的改变。

[0124] 在本发明中,例如可通过将来自外源性来源的蛋白质供给细胞,在蛋白质自身水平改变所述蛋白质的活性或稳态水平。

[0125] 优选地,所述基因表达水平的提高或上调意思是使用阵列,所述基因表达水平提高了至少 5%。更优选地,所述基因表达水平的提高意思是提高了至少 10%,更优选至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 70%、至少 90%、至少 150% 或更多。在另一个优选的实施方案中,所述蛋白质表达水平的提高意思是使用蛋白质印迹和 / 或使用 ELISA 或适当分析,所述蛋白质表达水平提高了至少 5%。更优选地,所述蛋白质表达水平的提高

意思是提高了至少 10%，更优选至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 70%、至少 90%、至少 150%或更多。

[0126] 在另一个优选的实施方案中，多肽活性的提高意思是使用适当分析，多肽活性提高了至少 5%。更优选地，多肽活性的提高意思是提高了至少 10%，更优选至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 70%、至少 90%、至少 150%或更多。优选地，通过比较治疗前个体中相应活性而评价所述提高。

[0127] 提供 mIGF-1 源的优选方式是，引入编码 mIGF-1、优选 mIGF-1 Ea 同种型（如 27 中所述，人同系物 IGF-1 同种型 4 :SEQ ID NO :577）的转基因，更优选地在如本文后面所定义的 AAV 载体中。在如 27 中所述的小鼠的肌肉组织中特异性表达这种 mIGF-1 源。

[0128] 在另一个优选实施方案中，组合物还包含抗氧化剂。氧化应激是 DMD 进展中的重要因子，并且促进慢性炎症和纤维化²⁹。在患有杜氏肌营养不良的男孩中，氧化应激的最普遍产物即过氧化脂质平均增加了 35%。过氧化物歧化酶和过氧化氢酶的酶水平的提高减少了引起这些作用的过量自由基。事实上，临床上试验了膳食补充剂 Protandim® (LifeVantage)，并且发现所述膳食补充剂提高了过氧化物歧化酶（多达 30%）和过氧化氢酶（多达 54%）的水平，其的确显著地抑制了 29 位健康人中脂质的过氧化³⁰。因而，氧化应激的这种有效管理保持肌肉质量，从而促进 DMD 疗法的积极作用。艾地苯醌 (Idebenone) 是具有衍生自天然辅酶 Q10 的化学结构的另一个有效抗氧化剂。它保护线粒体，在所述线粒体中，通过氧化磷酸化生成三磷酸腺苷 (ATP)。DMD 中肌营养不良蛋白缺乏对心脏中也可能骨骼肌中的这个过程有负面影响。最近，艾地苯醌应用于美国和欧洲的临床试验中，证明对弗里德赖希共济失调 (Friedreich's Ataxia) 的神经学方面具有功效³¹。最近，已经在比利时开始 IIa 期双盲、安慰剂对照的、艾地苯醌的随机临床试验，其中包括 21 位 8-16 岁的患有杜氏肌营养不良的男孩。这项研究的主要目的是确定艾地苯醌对心肌功能的影响。此外，将进行一些不同的试验，以检测对于患者中肌肉强度的可能的功能性益处。有效时，艾地苯醌为根据本发明组合使用的优选的辅助化合物，以增强尤其是心脏中 DMD 疗法的疗效。还提供了用作药物的、还包含抗氧化剂的组合物。优选地，所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中，所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状，其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。根据抗氧化剂的特性，技术人员应当知道优选使用的量。抗氧化剂可以包括假马齿苋皂素 (bacoside)、水飞蓟素 (silymarin)、姜黄素和/或多酚。优选地，多酚是表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 或包括 EGCG。优选地，抗氧化剂是作为膳食补充剂 Protandim® (LifeVantage) 的抗氧化剂的混合物。每日 675mg Protandim® 胶囊包含 150mg 假马齿苋 (*B. monniera*) (45% 假马齿苋皂素)、225mg 水飞蓟 (*S. marianum*) (70-80% 水飞蓟素)、150mg 催眠睡茄 (*W. somnifera*) 粉、75mg 绿茶 (98% 多酚，其中 45% EGCG) 和 75mg 姜黄 (95% 姜黄素)。

[0129] 在另一个优选的实施方案中，组合物还包含离子通道抑制剂。DMD 中受损肌肉膜的存在妨碍钙离子进入肌纤维中，因此破坏的钙体内平衡激活许多导致其他损伤和肌肉坏死的酶，如蛋白酶。直接有助于营养不良肌肉中钙的病理积聚的离子通道，是辅助化合物治疗 DMD 的潜在靶标。有证据表明一些药物如己酮可可碱阻断运动敏感钙通道³²，且阻断牵张激活通道的抗生素降低 mdx 小鼠中肌纤维坏死并降低患有 DMD 的男孩中的 CK 水平³³。也提供了用作药物、还包含离子通道抑制剂的组合物。优选地，所述药物用于减轻 DMD 的一个或

多个症状。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。

[0130] 优选地,使用黄嘌呤类离子通道抑制剂。更优选地,所述黄嘌呤是甲基黄嘌呤衍生物,并且最优选地,所述甲基黄嘌呤衍生物选自己酮可可碱、呋拉茶碱、利索茶碱、丙戊茶碱、喷替茶碱、茶碱、托巴茶碱、阿比茶碱、恩丙茶碱及其衍生物。最优选使用己酮可可碱。当使用针对外显子或所述外显子的一个或两个剪接位点的寡核苷酸时,黄嘌呤类离子通道抑制剂增强来自包含所述外显子的前体 mRNA 的肌营养不良蛋白外显子的跳跃频率。所述增强的跳跃频率也提高了 DMD 或 BMD 个体的肌肉细胞中所产生的功能性肌营养不良蛋白蛋白质的水平。

[0131] 根据离子通道抑制剂的特性,技术人员应当知道优选使用的数量。己酮可可碱的合适剂量在 1mg/kg/ 天至 100mg/kg 天之间,优选剂量在 10mg/kg/ 天至 50mg/kg/ 天之间。用于人的典型剂量为 20mg/kg/ 天。

[0132] 在一个实施方案中,在给予包含寡核苷酸的组合物前,将离子通道抑制剂给予所述个体。在本实施方案中,优选在给予包含寡核苷酸的组合物前至少一天,更优选至少一个星期,更优选至少两个星期,更优选至少三个星期,给予所述离子通道抑制剂。

[0133] 在另一个优选的实施方案中,组合物还包含蛋白酶抑制剂。钙蛋白酶 (calpain) 是在营养不良肌肉中增加的且对肌纤维退化起作用的钙激活蛋白酶。因此,钙蛋白酶抑制剂如钙蛋白酶抑制蛋白 (calpastatin)、亮抑酶肽³⁴、calpeptin、钙蛋白酶抑制剂 III 或 PD150606 用于减少退化过程。具有作为钙蛋白酶抑制剂和抗氧化剂双重作用的新化合物 BN 82270 (Ipsen) 提高肌肉强度、降低血清 CK 并减少 mdx 隔膜纤维化,表明这种新化合物具有疗效³⁵。最近,已经提出用于 DMD 患者中临床试验的另一个化合物亮抑酶肽 / 肉毒碱 (Myodur)。

[0134] MG132 是已经显示可减少肌肉膜损伤并改善肌营养不良的组织病理征兆的另一个蛋白酶体抑制剂³⁶。MG-132 (CBZ- 亮氨酰 - 亮氨酰 - 亮氨酸缩醛) 是细胞渗透性的蛋白酶体抑制剂 ($K_i = 4\text{nM}$),它通过防止 IkappaB 退化 ($IC_{50} = 3\text{ }\mu\text{M}$) 而抑制 NFkappaB 激活。此外,MG-132 是通过结合 20S 和 26S 蛋白酶体并使之失活而抑制泛素介导的蛋白水解的肽醛。MG-132 已显示抑制营养不良 mdx 小鼠模型中肌营养不良蛋白相关蛋白质的蛋白酶体退化³⁶。因此,这种化合物也适合用作 DMD 的辅助药用化合物。还提供了用作药物、还包含蛋白酶抑制剂的组合物。所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中,所述组合用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。根据所述蛋白酶抑制剂的特性,技术人员应当知道优选使用的数量。

[0135] 在另一个优选的实施方案中,组合物还包含 L- 精氨酸。肌营养不良蛋白缺乏与纤维膜上 DGC- 复合物损失,包括神经元一氧化氮合酶 (nNOS)。mdx 小鼠中 nNOS 转基因的表达大大地减少了肌肉膜损伤。同样,给予 L- 精氨酸 (一氧化氮合酶的底物) 提高了 mdx 小鼠中 NO 产生和上调了肌营养相关蛋白 (utrophin) 表达。六星期的 L- 精氨酸治疗改善了 mdx 小鼠中肌肉病理并降低了血清 CK³⁷。还未公开 L- 精氨酸作为本发明的组合物中另一组分的用途。

[0136] 还提供了用作药物、还包含 L- 精氨酸的组合物。优选地,所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个

症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。

[0137] 在另一个优选的实施方案中,组合物还包含血管紧张素 II 1 型受体阻断剂氯沙坦 (Losartan),如在肌营养不良蛋白缺乏 mdx 小鼠模型中显示的,氯沙坦使肌构筑、修复和功能正常化²³。还提供了用作药物、还包含血管紧张素 II 1 型受体阻断剂氯沙坦的组合物。优选地,所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。根据血管紧张素 II 1 型受体阻断剂的特性,技术人员应当知道优选使用的数量。

[0138] 在另一个优选的实施方案中,组合物还包含血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂,优选培哚普利。ACE 抑制剂能降低血压。早期启动用培哚普利治疗与 DMD 患者中较低死亡率相关²²。还提供了用作药物、还包含 ACE 抑制剂、优选培哚普利的组合物。优选地,所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。ACE 抑制剂,优选培哚普利的常用剂量大约为 2-4mg/ 天²²。

[0139] 在更优选的实施方案中,将 ACE 抑制剂与至少一种先前确定的辅助化合物组合。

[0140] 在另一个优选的实施方案中,组合物还包含显示通读活性的化合物。显示通读活性的化合物可以为任何能抑制终止密码子的化合物。对于 20% 的 DMD 患者而言,肌营养不良蛋白基因突变包括点突变,其中 13% 的突变为无义突变。显示通读活性或能抑制终止密码子的化合物为能提供增加量的功能性肌营养不良蛋白 mRNA 或蛋白质和 / 或减少量的异常或截短的肌营养不良蛋白 mRNA 或蛋白质的化合物。优选地,增加的意思是增加了至少 1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100% 或更多。优选地,减少的意思是减少了至少 1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100% 或更多。优选地,通过比较存在于用所述显示通读活性的化合物治疗前的个体中的量,在所述个体的肌肉组织或肌肉细胞中评价所述蛋白质的增加或减少。或者,可用所述个体的肌肉组织或细胞进行比较,在局部治疗的情况下,所述肌肉组织或细胞尚未用所述化合物治疗。优选地,使用蛋白质印迹分析在蛋白质水平进行量的评价。

[0141] 显示通读活性的优选化合物包含或组成为氨基糖苷,包括但不限于遗传霉素 (G418)、巴龙霉素、庆大霉素和 / 或 3-(5-(2- 氟苯基)-1,2,4- 噁二唑-3- 基) 苯甲酸及其衍生物 (参考文献 64、65)。显示通读活性的更优选化合物包含或组成为 PTC124TM 和 / 或其功能等同物。PTC124TM 为 PTCTherapeutics, Inc. South Plainfield, New Jersey 的注册商标。又称为 PTC124TM 的 3-(5-(2- 氟苯基)-1,2,4- 噁二唑-3- 基) 苯甲酸 (参考文献 16、17) 属于在较低浓度模拟庆大霉素通读活性一类新的小分子 (参考文献 55)。3-(5-(2- 氟苯基)-1,2,4- 噁二唑-3- 基) 苯甲酸或庆大霉素的功能等同物为如本文前面所定义的能显示通读活性的化合物。最优选地,显示通读活性的化合物包含或组成为庆大霉素和 / 或又称为 PTC124TM 的 3-(5-(2- 氟苯基)-1,2,4- 噁二唑-3- 基) 苯甲酸。还提供了用作药物、还包含显示通读活性的化合物的组合物,优选地,所述化合物包含或组成为庆大霉素和 / 或 3-(5-(2- 氟苯基)-1,2,4- 噁二唑-3- 基) 苯甲酸。优选地,所述药物用于减轻 DMD 的一个或多个症状。在实施方案中,所述组合物用于减轻 BMD 严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。显示通读活性的化合物,优选

3-(5-(2-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸或庆大霉素的常用剂量在 3mg/kg/天至 200mg/kg/天之间变动,优选剂量在 10mg/kg/天至 50mg/kg/天之间或者一天两次。

[0142] 在更优选的实施方案中,将显示通读活性的化合物与至少一种先前确定的辅助化合物组合。

[0143] 在另一个优选实施方案中,组合物还包含能增强外显子跳跃和/或抑制剪接体组装和/或剪接的化合物。已经显示小化学化合物,例如特定嘌呤衍生物,选择性地抑制剪接体组装和剪接³⁸,例如通过干扰富丝氨酸和精氨酸(SR)蛋白质与其同源剪接增强子(ISE或ESE)的结合和/或干扰剪接阻抑物与沉默基因序列(ESS或ISS)的结合。因此,这些化合物适合作为增强外显子跳跃的辅助化合物而应用。还提供了用作药物、还包含用于增强外显子跳跃和/或抑制剪接体组装和/或剪接的化合物的组合物。优选地,所述药物用于减轻DMD的一个或多个症状。在一个实施方案中,所述组合物用于减轻BMD严重形式的一个或多个症状,其中形成了功能不足的、非常短的肌营养不良蛋白蛋白质。根据能增强外显子跳跃和/或抑制剪接体组装和/或剪接的所述化合物的特性,技术人员应当知道优选使用的数量。在更优选的实施方案中,将用于增强外显子跳跃和/或抑制剪接体组装和/或剪接的化合物与ACE抑制剂和/或如本文前面所确定的任何辅助化合物组合。

[0144] 因此,本发明提供了还包含辅助化合物的组合物,其中所述辅助化合物包括类固醇、ACE抑制剂(优选培哚普利)、血管紧张素II 1型受体阻断剂氯沙坦、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)抑制剂、mIGF-1源优选mIGF-1、用于增强mIGF-1表达的化合物、用于提高mIGF-1活性的化合物、抗氧化剂、离子通道抑制剂、蛋白酶抑制剂、L-精氨酸、显示通读活性和/或抑制剪接体组装和/或剪接的化合物。

[0145] 在一个实施方案中,使用包含微或小肌营养不良蛋白基因的载体,优选病毒载体,还为个体提供功能性肌营养不良蛋白蛋白质。更优选地,使用重组腺伴随病毒(rAAV)载体。AAV是非致病性并且显示辅助病毒依赖型(helper-dependent)生活周期的单链DNA细小病毒。与其他病毒(腺病毒、逆转录病毒和单纯疱疹病毒)相反,已经证明rAAV载体在转导成熟骨骼肌中是非常有效的。rAAV在经典DMD“基因添加”研究中的应用被其有限的包装限制(<5kb)所阻碍。因此,优选地,将rAAV应用于小得多的微或小肌营养不良蛋白基因的有效递送。这种微或小肌营养不良蛋白基因的给予引起至少具有部分功能的肌营养不良蛋白蛋白质的存在。见参考文献18-20。

[0146] 可以以任何顺序将组合物的每个组分给予个体。在一个实施方案中,同时给予每个组分(意思是在10小时内,优选1小时内给予每个组分)。然而这不是必须的。在一个实施方案中,在给予寡核苷酸前,将至少一种辅助化合物给予有需要的个体。或者,在给予至少一种辅助化合物前,将寡核苷酸给予有需要的个体。

[0147] 用途

[0148] 另一方面,提供了本文所定义的寡核苷酸或组合物在制备用于预防或治疗个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的药物中的用途。本文前面已经定义了所述用途的每个特征。

[0149] 根据本发明的用途或方法中的治疗为期至少一个星期、至少一个月、至少几个月、至少一年、至少2、3、4、5、6年或更长。根据本发明,供使用的本文所定义的每个分子或寡核苷酸或其等同物可以适合直接体内给予个体的细胞、组织和/或器官,所述个体受到DMD或

BMD 侵袭或者具有罹患 DMD 或 BMD 的风险,或者直接地体内、离体或体外施用。本发明的寡核苷酸、组合物、化合物或辅助化合物的给药频率可以取决于一些参数,如患者年龄、患者的突变、分子数量(即剂量)、所述分子的配方。所述频率的变动范围可以是两个星期或者三个星期或者四个星期或者五个星期或者更长时间周期内至少一次。

[0150] 方法

[0151] 另一方面,提供了用于减轻个体中杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的一个或多个症状或者减轻所述个体的肌原细胞或肌肉细胞的一个或多个特征的方法,所述方法包括将本文所定义的寡核苷酸或组合物给予所述个体。

[0152] 还提供了增强、诱导或促进患有杜氏肌营养不良或贝克型肌营养不良的个体中来自表达肌营养不良蛋白前体 mRNA 的细胞中所述前体 mRNA 的外显子的跳跃的方法,所述方法包括将本文所定义的寡核苷酸或组合物给予所述个体。

[0153] 还提供了增加细胞中功能性肌营养不良蛋白蛋白质产生和/或减少异常肌营养不良蛋白蛋白质产生的方法,所述细胞包含编码异常肌营养不良蛋白蛋白质的肌营养不良蛋白基因的前体 mRNA,所述方法包括为所述细胞提供本发明的寡核苷酸或组合物,并且允许由所述前体 mRNA 的剪接产生的 mRNA 翻译。在一个实施方案中,在体外如利用细胞培养实施所述方法。优选地,体内实施所述方法。

[0154] 在本上下文中,本文已经较早地定义了增加功能性肌营养不良蛋白蛋白质的产生。

[0155] 除非另外指出,本文所述的每个实施方案都可以与本文所述的另一个实施方案组合。

[0156] 在本说明书及其权利要求中,动词“包含”及其词形变化以其非限制意义使用,意思是包括这个词后的项目,但是不排除没有特别提到的项目。此外,动词“由...组成”可用“基本上由...组成”替换,后者意思是本文所定义的化合物或辅助化合物除包含特别确定的组分之外,还可包含其他组分,所述其他组分不改变本发明的独特特征。

[0157] 此外,用不定冠词“a(一个)”或“an(一个)”所提及成分,不排除存在多于一个所述成分的可能性,除非本环境明确要求存在一个且仅仅一个所述成分。因此,不定冠词“a”或“an”表示通常“至少一个”。

[0158] 当词语“大约”或“约”与数值联合使用时(大约 10、约 10),优选地表示该值可以为 $10 \pm 1\%$ 的值。

[0159] 本说明书所引用的所有专利和参考文献的全文内容特此通过援引并入。除非另外指出,可将本申请所确定的每个实施方案组合在一起。

[0160] 在以下实施例中进一步说明了本发明。这些实施例并不限制本发明的范围,而是仅仅用于阐明本发明。

[0161] 附图简要说明

[0162] 图 1、在人对照肌管中,对都靶向外显子 45 内相同序列的 PS220 和 PS305 直接进行相对跳跃效率的比较。PS220 可再现地诱导最高水平的外显子 45 跳跃(高达 73%),而使用 PS305 获得高达 46%的最高外显子 45 跳跃水平。在未处理的细胞中未观察到外显子 45 跳跃。(M:DNA 大小标记;NT:未处理的细胞)

[0163] 图 2、显示如通过 RT-PCR 分析而评价的含肌苷的 AON 的相对外显子 45 跳跃水平

图。在人对照肌管中,当用 PS220 和 PS305 进行比较时(见图 1),测试所有靶向外显子 45 并且含有一个用于鸟嘌呤取代的肌苷的一系列新 AON 的相对外显子 45 跳跃效率。虽然在可变水平(4% -25%之间),但所有新的含肌苷的 AON 都是有效的。PS220 诱导最高水平的外显子 45 跳跃(高达 72%),然而使用 PS305 获得高达 63%的最高外显子 45 跳跃水平。在未处理的细胞中未观察到外显子 45 跳跃。(M :DNA 大小标记 ;NT :未处理的细胞)。

实施例

[0164] 实施例 1

[0165] 材料和方法

[0166] AON 设计是基于 m 折叠程序 (m-fold program) 所预测的靶外显子 RNA 的(部分地)重叠的开放二级结构,基于 ESE-finder 软件所预测的(部分地)重叠的推定的 SR-蛋白质结合位点。AON 由 Prosensa Therapeutics B.V. (Leiden, Netherlands) 合成,并且含有 2' -O- 甲基 RNA 和全长硫代磷酸酯 (PS) 主链。

[0167] 组织培养、转染和 RT-PCR 分析

[0168] 如以前所述 (Aartsma-Rus et al., Neuromuscul. Disord. 2002 ;12 :S71-77 和 Hum Mol Genet 2003 ;12(8) :907-14) 处理源自健康个体 (“人对照”) (实施例 1、3 和 4 ;外显子 43、50、52 跳跃) 或携带外显子 45 缺失的 DMD 患者 (实施例 2 ;外显子 46 跳跃) 的肌管培养物。为了筛选 AON,对于每个 AON (PS220 和 PS305),以 200nM 转染肌管培养物。以每 μ g (微克) AON 2 μ l UNIFectylin,使用转染试剂 UNIFectylin (Prosensa Therapeutics BV, Netherlands)。使用位于靶向外显子 45 侧翼的外显子中的引物,通过巢式 RT-PCR 分析,确定外显子跳跃效率。从用于序列验证的琼脂糖凝胶中分离 PCR 片段。为了定量,使用 DNA 1000LabChip Kit 在 Agilent 2100 生物分析仪 (Agilent Technologies, USA) 上分析 PCR 产物。

[0169] 结果

[0170] DMD 外显子 45 跳跃。

[0171] 在健康对照肌管培养物中直接进行两个 AON 的相对跳跃效率比较,所述两个 AON 为都靶向外显子 45 内相同序列的 PS220 (SEQ ID NO :76 ; 5'-UUUGCCGCUGCCCAUGCCAUCUG-3') 和 PS305 (SEQ ID NO :557 ; 5'-UUUGCCICUGCCCAUGCCAUCUG-3')。分离的 RNA 的随后 RT-PCR 和序列分析证明,两个 AON 的确都能诱导外显子 45 跳跃。如图 1 所示,由一段 GCCGC 序列组成的 PS220 可再现地诱导最高水平的外显子 45 跳跃(高达 73%)。然而,与 PS220 相同但是含有用于所述序列内位置 4 的 G 取代的肌苷的 PS305 也是有效的,并且导致高达 46%的外显子 45 跳跃水平。在未处理的细胞 (NT) 中未观察到外显子 45 跳跃。

[0172] 实施例 2

[0173] 材料和方法

[0174] AON 设计是基于 m 折叠程序所预测的靶外显子 45 RNA 的(部分地)重叠的开放二级结构,基于 ESE-finder 软件所预测的(部分地)重叠的推定的 SR-蛋白质结合位点。AON 由 Prosensa Therapeutics B.V. (Leiden, Netherlands) 合成,并且含有 2' -O- 甲基 RNA、全长硫代磷酸酯 (PS) 主链和用于鸟嘌呤取代的肌苷。

[0175] 组织培养、转染和 RT-PCR 分析

[0176] 如以前所述 (Aartsma-Rus et al., Neuromuscul. Disord. 2002 ;12 :S71-77 和 Hum Mol Genet 2003 ;12(8) :907-14), 处理源自健康个体 (“人对照”) 的肌管培养物。为了筛选 AON, 对于每个 AON, 以 200nM 转染肌管培养物。以每 μg AON $2\mu\text{l}$ UNIFectylin, 使用转染试剂 UNIFectylin (Prosensa Therapeutics BV, Netherlands)。使用位于靶向外显子 45 侧翼的外显子中的引物, 通过巢式 RT-PCR 分析, 确定外显子跳跃效率。从用于序列验证的琼脂糖凝胶中分离 PCR 片段。为了定量, 使用 DNA 1000LabChip Kit 在 Agilent 2100 生物分析仪 (Agilent Technologies, USA) 上分析 PCR 产物。

[0177] 结果

[0178] DMD 外显子 45 跳跃。

[0179] 在健康对照肌管培养物中测试靶向外显子 45 并且含有一个肌苷取代的其他系列 AON 的外显子 45 跳跃效率, 并且与 PS220 (没有肌苷; SEQ ID NO :76) 和 PS305 (与 PS220 序列相同, 但是具有肌苷取代; SEQ ID NO :557) 直接进行比较。如图 2 所示, 分离的 RNA 的随后 RT-PCR 和序列分析证明, 所有新的 AON (PS309 至 PS316) 都能在 4% (PS311) 和 25% (PS310) 之间诱导外显子 45 跳跃。当与 PS220 和 PS305 比较时, PS220 诱导最高水平的外显子 45 跳跃 (高达 72%)。在新的含肌苷的 AON 中, PS305 是最有效的, 显示高达 63% 的外显子 45 跳跃水平。在未处理的细胞 (NT) 中未观察到外显子 45 跳跃。

[0180] 参考文献

[0181] 1. Aartsma-Rus A, Janson AA, Kaman WE, et al. Therapeutic antisense-induced exon skipping in cultured muscle cells from six different DMD patients (在来自六名不同的 DMD 患者的培养的肌肉细胞中的治疗性反义诱导外显子跳跃). Hum Mol Genet 2003 ;12(8) :907-14.

[0182] 2. Aartsma-Rus A, Janson AA, Kaman WE, et al. Antisense-induced multi-exon skipping for Duchenne muscular dystrophy makes more sense (对于杜氏肌营养不良的反义诱导多外显子跳跃更有道理). Am J Hum Genet 2004 ;74(1) :83-92.

[0183] 3. Alter J, Lou F, Rabinowitz A, et al. Systemic delivery of morpholino oligonucleotide restores dystrophin expression bodywide and improves dystrophic pathology (吗啉代寡核苷酸的全身给药恢复全身肌营养不良蛋白表达并改善营养不良病理学). Nat Med 2006 ;12(2) :175-7.

[0184] 4. Goyenvalle A, Vulin A, Fougereousse F, et al. Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping (通过 U7 snRNA-介导的外显子跳跃修复营养不良肌肉). Science 2004 ;306(5702) :1796-9.

[0185] 5. Lu QL, Mann CJ, Lou F, et al. Functional amounts of dystrophin produced by skipping the mutated exon in the mdx dystrophic mouse (通过在 mdx 营养不良小鼠内的突变外显子跳跃产生的肌营养不良蛋白的功能量). Nat Med 2003 ;6 :6.

[0186] 6. Lu QL, Rabinowitz A, Chen YC, et al. Systemic delivery of antisense oligoribonucleotide restores dystrophin expression in body-wide skeletal muscles (反义寡核糖核苷酸的全身给药在全身骨骼肌中恢复肌营养不良蛋白表达). Proc Natl Acad Sci U S A 2005 ;102(1) :198-203.

- [0187] 7. McClorey G, Fall AM, Moulton HM, et al. Induced dystrophin exon skipping in human muscle explants(在人肌肉外植体内诱导的肌营养不良蛋白外显子跳跃). *Neuromuscul Disord* 2006 ;16(9-10) :583-90.
- [0188] 8. McClorey G, Moulton HM, Iversen PL, et al. Antisense oligonucleotide-induced exon skipping restores dystrophin expression in vitro in a canine model of DMD(反义寡核苷酸诱导的外显子跳跃恢复犬 DMD 模型体内的肌营养不良蛋白表达). *Gene Ther* 2006 ;13(19) :1373-81.
- [0189] 9. Pramono ZA, Takeshima Y, Alimsardjono H, Ishii A, Takeda S, Matsuo M. Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence(通过转染与外显子识别序列互补的反义寡脱氧核苷酸诱导淋巴母细胞内的肌营养不良蛋白转录物的外显子跳跃). *Biochem Biophys Res Commun* 1996 ;226(2) :445-9.
- [0190] 10. Takeshima Y, Yagi M, Wada H, et al. Intravenous infusion of an antisense oligonucleotide results in exon skipping in muscle dystrophin mRNA of Duchenne muscular dystrophy(静脉输注反义寡核苷酸引起杜氏肌营养不良的肌肉肌营养不良蛋白的 mRNA 内的外显子跳跃). *Pediatr Res* 2006 ;59(5) :690-4.
- [0191] 11. van Deutekom JC, Bremmer-Bout M, Janson AA, et al. Antisense-induced exon skipping restores dystrophin expression in DMD patient derived muscle cells(反义诱导的外显子跳跃恢复来自 DMD 患者的肌肉细胞内的肌营养不良蛋白表达). *Hum Mol Genet* 2001 ;10(15) :1547-54.
- [0192] 12. Aartsma-Rus A, Bremmer-Bout M, Janson A, den Dunnen J, van Ommen G, van Deutekom J. Targeted exon skipping as a potential gene correction therapy for Duchenne muscular dystrophy(靶向外显子跳跃作为杜氏肌营养不良的潜在基因修正疗法). *Neuromuscul Disord* 2002 ;12 Suppl :S71-S77.
- [0193] 13. Aartsma-Rus A, De Winter CL, Janson AA, et al. Functional analysis of 114 exon-internal AONs for targeted DMD exon skipping: indication for steric hindrance of SR protein binding sites(用于靶向 DMD 外显子跳跃的 114 外显子-内部 AON 的功能分析:指示 SR 蛋白结合位点的空间位阻). *Oligonucleotides* 2005 ;15(4) :284-97.
- [0194] 14. Aartsma-Rus A, Janson AA, Heemskerk JA, CL de Winter, GJ Van Ommen, JC Van Deutekom. Therapeutic Modulation of DMD Splicing by Blocking Exonic Splicing Enhancer Sites with Antisense Oligonucleotides(通过使用反义寡核苷酸封闭外显子剪接增强子的 DMD 剪接的治疗性调整). *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006 ;1082 :74-6.
- [0195] 15. Aartsma-Rus A, Kaman WE, Weij R, den Dunnen JT, van Ommen GJ, van Deutekom JC. Exploring the frontiers of therapeutic exon skipping for Duchenne muscular dystrophy by double targeting within one or multiple exons(通过在一个或多个外显子内的双靶向研究用于杜氏肌营养不良的治疗性外显子跳跃的边界). *Mol*

Ther 2006 ;14(3) :401-7.

[0196] 16. Welch EM, Barton ER, Zhuo J, et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations (PTC124 靶向无义突变导致的遗传疾病). Nature 2007 ; 447(7140) :87-91.

[0197] 17. Hirawat S, Welch EM, Elfring GL, et al. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of PTC124, a nonaminoglycoside nonsense mutation suppressor, following single- and multiple-dose administration to healthy male and female adult volunteers (健康男性和女性成年志愿者单剂量和多剂量服药后的非氨基糖苷无义突变抑制剂 PTC124 的安全性、耐受性和药代动力学). Journal of clinical pharmacology 2007 ;47(4) :430-44.

[0198] 18. Wang B, Li J, Xiao X. Adeno-associated virus vector carrying human minidystrophin genes effectively ameliorates muscular dystrophy in mdx mouse model (携带人小肌营养不良蛋白基因的腺病毒相关病毒载体有效地缓解 mdx 小鼠模型内的肌营养不良). Proc Natl Acad Sci U S A 2000 ;97(25) :13714-9.

[0199] 19. Fabb SA, Wells DJ, Serpente P, Dickson G. Adeno-associated virus vector gene transfer and sarcolemmal expression of a 144kDa micro-dystrophin effectively restores the dystrophin-associated protein complex and inhibits myofibre degeneration in nude/mdx mice (144kDa 微肌营养不良蛋白的腺病毒相关病毒载体基因转移和肌膜表达在裸鼠/mdx 小鼠内有效地恢复肌营养不良蛋白的相关蛋白复合体并抑制肌纤维退化). Hum Mol Genet 2002 ;11(7) :733-41.

[0200] 20. Wang Z, Kuhr CS, Allen JM, et al. Sustained AAV-mediated dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy with a brief course of immunosuppression (在经过短暂免疫抑制过程的犬杜氏肌营养不良模型内的持续的 AAV-介导的肌营养不良蛋白表达). Mol Ther 2007 ;15(6) :1160-6.

[0201] 21. Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, Swan A. Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy (用于杜氏肌营养不良的糖皮质激素类皮质激素). Cochrane Database Syst Rev 2004 ;2.

[0202] 22. Duboc D, Meune C, Pierre B, et al. Perindopril preventive treatment on mortality in Duchenne muscular dystrophy :10 years' follow-up (培哚普利预防性治疗杜氏肌营养不良中的死亡 :10 年随访). American heart journal 2007 ;154(3) : 596-602.

[0203] 23. Cohn RD, van Erp C, Habashi JP, et al. Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF-beta-induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states (血管紧张素 II 1 型受体的阻断减弱 TGF-beta 诱导的多种肌病状态下肌肉再生障碍). Nat Med 2007 ;13(2) :204-10.

[0204] 24. Grounds MD, Torrisi J. Anti-TNFalpha (Remicade) therapy protects dystrophic skeletal muscle from necrosis (抗 TNF α (Remicade) 疗法保护营养不良的骨骼肌免于坏死). Faseb J 2004 ;18(6) :676-82.

[0205] 25. Hodgetts S, Radley H, Davies M, Grounds MD. Reduced necrosis of

dystrophic muscle by depletion of host neutrophils, or blocking TNF α function with Etanercept in mdx mice(在 mdx 小鼠内使用依那西普耗竭宿主中性粒细胞或阻断 TNF α 功能而降低营养不良肌肉的坏死). *Neuromuscul Disord* 2006 ;16(9-10) : 591-602.

[0206] 26. Pierno S, Nico B, Burdi R, et al. Role of tumour necrosis factor alpha, but not of cyclo-oxygenase-2-derived eicosanoids, on functional and morphological indices of dystrophic progression in mdx mice : a pharmacological approach(肿瘤坏死因子 α 而不是环-加氧酶-2-衍生的类二十烷酸对 mdx 小鼠内营养不良进展的功能性和形态学指数的作用 : 药理学方法). *Neuropathology and applied neurobiology* 2007 ;33(3) :344-59.

[0207] 27. Musaro A, McCullagh K, Paul A, et al. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle (局部 Igf-1 转基因表达维持衰老骨骼肌内的肥大和再生). *Nat Genet* 2001 ;27(2) : 195-200.

[0208] 28. Barton ER, Morris L, Musaro A, Rosenthal N, Sweeney HL. Muscle-specific expression of insulin-like growth factor I counters muscle decline in mdx mice(胰岛素样生长因子 I 的肌肉特异性的表达抵抗 mdx 小鼠内肌肉减少). *J Cell Biol* 2002 ;157(1) :137-48.

[0209] 29. Disatnik MH, Dhawan J, Yu Y, et al. Evidence of oxidative stress in mdx mouse muscle : studies of the pre-necrotic state(mdx 小鼠肌肉内氧化应激的证据 : 坏死前状态的研究). *J Neurol Sci* 1998 ;161(1) :77-84.

[0210] 30. Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo : a fundamentally new approach to antioxidant therapy(体内诱导人过氧化物歧化酶和过氧化氢酶 : 抗氧化治疗的根本性新方法). *Free radical biology & medicine* 2006 ;40(2) :341-7.

[0211] 31. Hart PE, Lodi R, Rajagopalan B, et al. Antioxidant treatment of patients with Friedreich ataxia : four-year follow-up(对弗里德赖希共济失调患者的抗氧化治疗 : 4 年随访). *Archives of neurology* 2005 ;62(4) :621-6.

[0212] 32. Rolland JF, De Luca A, Burdi R, Andreetta F, Confalonieri P, Conte Camerino D. Overactivity of exercise-sensitive cation channels and their impaired modulation by IGF-1 in mdx native muscle fibers : beneficial effect of pentoxifylline(在 mdx 天然肌肉纤维中的运动敏感阳离子通道的过度活性及其经由 IGF-1 的受损调节 : 己酮可可碱的有益效果). *Neurobiol Dis* 2006 ;24(3) :466-74.

[0213] 33. Whitehead NP, Streamer M, Lusambili LI, Sachs F, Allen DG. Streptomycin reduces stretch-induced membrane permeability in muscles from mdx mice(链霉素降低在来自 mdx 小鼠的肌肉中的牵张诱导的膜渗透性). *Neuromuscul Disord* 2006 ; 16(12) :845-54.

[0214] 34. Badalamente MA, Stracher A. Delay of muscle degeneration and necrosis in mdx mice by calpain inhibition(通过钙蛋白酶抑制而延迟在 mdx 小鼠内的肌肉退化

和坏死). Muscle Nerve 2000 ;23(1) :106-11.

[0215] 35. Burdi R, Didonna MP, Pignol B, et al. First evaluation of the potential effectiveness in muscular dystrophy of a novel chimeric compound, BN 82270, acting as calpain-inhibitor and anti-oxidant(对作为钙蛋白酶抑制剂和抗氧化剂的新型嵌合化合物 BN82270 的对肌营养不良的潜在功效的初次评价). Neuromuscul Disord 2006 ;16(4) :237-48.

[0216] 36. Bonuccelli G, Sotgia F, Schubert W, et al. Proteasome inhibitor(MG-132) treatment of mdx mice rescues the expression and membrane localization of dystrophin and dystrophin-associated proteins(蛋白酶体抑制剂(MG-132)治疗 mdx 小鼠修复肌营养不良蛋白和肌营养不良蛋白相关蛋白质的表达和膜定位). Am J Pathol 2003 ;163(4) :1663-75.

[0217] 37. Voisin V, Sebric C, Matecki S, et al. L-arginine improves dystrophic phenotype in mdx mice(L-精氨酸改善 mdx 小鼠内营养不良表型). Neurobiol Dis 2005 ;20(1) :123-30.

[0218] 38. Soret J, Bakkour N, Maire S, et al. Selective modification of alternative splicing by indole derivatives that target serine-arginine-rich protein splicing factors(通过靶向富丝氨酸-精氨酸蛋白质剪接因子的吲哚衍生物的选择性剪接进行的选择性修饰). Proc Natl Acad Sci U S A 2005 ;102(24) :8764-9.

[0219] 39. Mann CJ, Honeyman K, McClorey G, Fletcher S, Wilton SD. Improved antisense oligonucleotide induced exon skipping in the mdx mouse model of muscular dystrophy(在 mdx 小鼠肌营养不良模型内的改善的反义寡核苷酸诱导的外显子跳跃). J Gene Med 2002 ;4(6) :644-54.

[0220] 40. Graham IR, Hill VJ, Manoharan M, Inamati GB, Dickson G. Towards a therapeutic inhibition of dystrophin exon 23 splicing in mdx mouse muscle induced by antisense oligoribonucleotides(splicomers): target sequence optimisation using oligonucleotide arrays(用于治疗性抑制反义寡核糖核苷酸(剪接子)诱导的肌营养不良蛋白外显子 23 在 mdx 小鼠肌肉内的剪接:使用寡核苷酸阵列优化靶序列). J Gene Med 2004 ;6(10) :1149-58.

[0221] 41. Mathews DH, Sabina J, Zuker M, Turner DH. Expanded sequence dependence of thermodynamic parameters improves prediction of RNA secondary structure(热力学参数的扩展序列依赖性改善 RNA 二级结构预测). J Mol Biol 1999 ;288(5) :911-40.

[0222] 42. Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing(倾听沉默并理解无义:影响剪接的外显子突变). Nat Rev Genet 2002 ;3(4) :285-98.

[0223] 43. Cartegni L, Wang J, Zhu Z, Zhang MQ, Krainer AR. ESEfinder: A web resource to identify exonic splicing enhancers(ESEfinder: 识别外显子剪接增强子的网络资源). Nucleic Acids Res 2003 ;31(13) :3568-71.

[0224] 44. Braasch DA, Corey DR. Locked nucleic acid(LNA): fine-tuning the recognition of DNA and RNA(锁核酸(LNA): 细调对 DNA 和 RNA 的识别). Chem Biol 2001 ;

8(1):1-7.

[0225] 45. Braasch DA, Corey DR. Novel antisense and peptide nucleic acid strategies for controlling gene expression(控制基因表达的新型反义和肽核酸策略). *Biochemistry* 2002;41(14):4503-10.

[0226] 46. Elayadi AN, Corey DR. Application of PNA and LNA oligomers to chemotherapy(PNA 和 LNA 寡聚物应用于化学疗法). *Curr Opin Investig Drugs* 2001;2(4):558-61.

[0227] 47. Larsen HJ, Bentin T, Nielsen P E. Antisense properties of peptide nucleic acid(肽核酸的反义特性). *Biochim Biophys Acta* 1999;1489(1):159-66.

[0228] 48. Summerton J. Morpholino antisense oligomers: the case for an RNase H-independent structural type(吗啉代反义寡聚物: 非 RNase H- 依赖结构型实例). *Biochim Biophys Acta* 1999;1489(1):141-58.

[0229] 49. Summerton J, Weller D. Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and properties(吗啉代反义寡聚物: 设计、制备和性质). *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 1997;7(3):187-95.

[0230] 50. Wahlestedt C, Salmi P, Good L, et al. Potent and nontoxic antisense oligonucleotides containing locked nucleic acids(含有锁核酸的有效无毒反义寡核苷酸). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(10):5633-8.

[0231] 51. De Angelis FG, Sthandier O, Berarducci B, et al. Chimeric snRNA molecules carrying antisense sequences against the splice junctions of exon

[0232] 51 of the dystrophin pre-mRNA induce exon skipping and restoration of a dystrophin synthesis in Delta 48-50 DMD cells(携带针对肌营养不良蛋白的前体 mRNA 的外显子 51 的剪接点的反义序列的嵌合 snRNA 分子诱导 Δ 48-50 DMD 细胞内的外显子跳跃和肌营养不良蛋白合成恢复). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(14):9456-61.

[0233] 52. Denti MA, Rosa A, D'Antona G, et al. Chimeric adeno-associated virus/antisense U1 small nuclear RNA effectively rescues dystrophin synthesis and muscle function by local treatment of mdx mice(嵌合的腺伴随病毒/反义 U1 小核 RNA 通过对 mdx 小鼠的局部治疗有效修复肌营养不良蛋白合成和肌肉功能). *Hum Gene Ther* 2006;17(5):565-74.

[0234] 53. Gorman L, Suter D, Emerick V, Schumperli D, Kole R. Stable alteration of pre-mRNA splicing patterns by modified U7 small nuclear RNAs(通过经修饰的 U7 小核 RNA 对前体 mRNA 剪接模式的稳定改造). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(9):4929-34.

[0235] 54. Suter D, Tomasini R, Reber U, Gorman L, Kole R, Schumperli D. Double-target antisense U7 snRNAs promote efficient skipping of an aberrant exon in three human beta-thalassemic mutations(双靶向反义 U7 snRNA 促进三种人 β -地中海贫血基因突变内异常外显子的有效跳跃). *Hum Mol Genet* 1999;8(13):2415-23.

[0236] 55. Wagner KR, Hamed S, Hadley DW, et al. Gentamicin treatment of Duchenne

and Becker muscular dystrophy due to nonsense mutations(对由于无义突变造成的杜氏和贝克型肌营养不良的庆大霉素治疗). Ann Neurol 2001 ;49(6) :706-11.

[0237] 56. Aartsma-Rus A et al, (2006), Entries in the leiden Duchenne Muscular Dystrophy mutation database :an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule(莱顿杜氏肌营养不良突变数据库条目 :对证实阅读框规则的突变类型和反常例的概述), Muscle Nerve, 34 :135-144.

[0238] 57. Hodgetts S., et al, (2006), Neuromuscular Disorders, 16 :591-602.

[0239] 58. Manzur AY et al, (2008), Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy(review)(用于杜氏肌营养不良的糖皮质激素类皮质激素综述), Wiley publishers, The Cochrane collaboration.

[0240] 59. Yokota T. et al., March 13th, 2009, e-publication :Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in duchennes dystrophy dogs(在杜氏肌营养不良犬内的全身性吗啉代外显子跳跃). Ann. Neurol. 2009.

[0241] 60. Dorn and Kippenberger, Curr Opin Mol Ther 2008 10(1)10-20.

[0242] 61. Cheng and Van Dyke, Gene. 1997 Sep 15 ;197(1-2) :253-60.

[0243] 62. Macaya et al., Biochemistry. 1995 4 ;34(13) :4478-92.

[0244] 63. Suzuki et al., Eur J Biochem. 1999, 260(3) :855-6.

[0245] 64. Howard et al., Ann Neurol 2004 55(3) :422-6.

[0246] 65. Nudelman et al., 2006, Bioorg Med Chem Lett 16(24), 6310-5.

[0247] 序列表

[0248] DMD 基因氨基酸序列

[0249] SEQ ID NO 1:

[0250] MLWWEVEDCYEREDVQKKTFTKWVNAQFSKFGKQHIEENLFSDLQDGRRLDLL

[0251] EGLTGQKLPEKEGSTRVHALNNVNKALRVLQNNVDLVNIGSTDIVDGNHKLTLG

[0252] LIWNIILHWQVKVMKNIMAGLQQTNSEKILLSWVRQSTRNYPQVNVINFTTWS

[0253] DGLALNALIHSHRPDLFDWNSVVCQQSATQRLEHAFNIARYQLGIEKLDPEDVDIT

[0254] TYPDKKSILMYITSLFQVLPQQVSIEAIQEVEMLPKPPKVTKEEHFQLHHQMHSYQ

[0255] QITVSLAQGYERTSSPKPRFKSYAYTQAAYVTTSDPTRSPFPSQHLEAPEDKSFSSSL

[0256] MESEVNLDRYQTALAEVLSWLLSAEDTLQAQGEISNDVEVVKDQFHTHEGYMMD

[0257] LTAHQGRVGNILQLGSKLIGTGKLSEDEETEVEQEQMNLLNSRWECLRVASMEKQS

[0258] NLHRVLMDLQNQKLKELNDWLTKEERTRKMEEEPLGPDLEDLKRQVQQHKVLQ

[0259] EDLEQEQRVNSLTHMVVVVDESSGDHATAALEEQKVLGDRWANICRWTEDRW

[0260] VLLQDILLKWQRLTEEQCLFSAWLSEKEDAVNKIHTTGFKDQNEMLSSLQKLAVL

[0261] KADLEKKKQSMGKLYSLKQDLLSTLKNKSVTQKTEAWLDNFARCDNLVQKLE

[0262] KSTAQISQAVTTTTQPSLTQTTVMETVTTVTTRREQILVKHAQEELPPPPPQKKRQITV

[0263] DSEIRKRLDVDITELHSWITRSEAVLQSPEFAIFRKEGNFSDLKEKVNAIEREKAEEKF

[0264] RKLQDASRSAQALVEQMVNEGVNADSIKQASEQLNSRWIEFCQLLSERLNWLEYQ

[0265] NNIIAFYNQLQQLEQMTTTAENWLKIQTTPSEPTAIKSQLKICKDEVNRLSGLQPQI

[0266] ERLKIQSIALKEKGQGMFLDADFVAFTNHFQVFSQVQAREKELQTIQDTLPPMR

[0267] YQETMSAIRTWVQQSETKLSIPQLSVTDYEIMEQRLGELQALQSSSLQEQQSGLYYL
[0268] STTVKEMSKKAPSEISRKYQSEFEEIEGRWKKLSSQLVEHCQKLEEQMNKLRIQN
[0269] HIQTLKKWMAEVDVFLKEEWPALGDSEILKKQLKQCRLLVSDIQTIQPSLNSVNEG
[0270] GQKIKNEAEPEFASRLETTELKELNTQWDHMCQQVYARKEALKGGLEKTVSLQKD
[0271] LSEMHEWMTQAEEEYLERDFEYKTPDELQKAVEEMKRAKEEAQQKEAKVKLLTE
[0272] SVNSVIAQAPPVAQEALKKELETLTNTYQWLCTRLNGKCKTLEEVWACWHELLSY
[0273] LEKANKWLNEVEFKLKTENIPGGAEIESEVLDSLENLMRHSEDNPNQIRILAQTLT
[0274] DGGVMDLINEELETFSNRWRELHEEAVRRQKLEQSIQSAQETEKSLHLIQESLTFI
[0275] DKQLAAYIADKVDAAMPQEAQKIQSDLTSHEISLEEMKKHNQGEAAQRVLSQI
[0276] DVAQKKLQDVSMKFRLFQKPANFEQRLQESKMILDEVKMHLPALETKSVEQEVV
[0277] QSQLNHCVNLYKSLSEVKSEVEMVIKTGRQIVQKKQTENPKELDERVTALKLHYN
[0278] ELGAKVTERKQKLEKCLKLSRKMRKEMNVLTEWLAATDMELTKRSVEGMPSNL
[0279] DSEVAWGKATQKEIEKQKVHLKSITEVGEALKTVLGKKETLVEDKLSLLNSNWIAV
[0280] TSRAEEWLNLLEYQKHMETFDQNVDHITKWI IQADTLLDESEKKKPPQKEDVLK
[0281] RLKAELNDIRPKVDSTRDQAANLMANRGDHCRKLVEPQISELNHRFAAISHRIKTG
[0282] KASIPLKELEQFNSDIQKLLPLEAEIQQGVNLKEEDFNKDMNEDNEGTVKELLQR
[0283] GDNLQQRITDERKREEIKIKQQLLQTKHNALKDLRSQRRKKALEISHQWYQYKRQ
[0284] ADDLLKCLDDIEKKLASLPEPRDERKIKEIDRELQKKKEELNAVRRQAEGLSGDGA
[0285] AMAVEPTQIQLSKRWREIESKFAQFRRNLFAQIHTVREETMMVMTEDMPLIESYVP
[0286] STYLTEITHVSQALLEVEQLLNAPDLCAKDFEDLFKQEESSLKNIKDSLQSSGRIDII
[0287] HSKKTAALQSATPVERVKLQEALSQDLDFQWEKVNKMYKDRQGRFDRSVEKWRRF
[0288] HYDIKIFNQWLTEAEQFLRKTQIPENWEHAKYKWLKELQDGIQGRQTVVRTLNA
[0289] TGEEIIQQS SKTDASILQEKLGSLNLRWQEVCKQLSDRKKRLEEQKNILSEFQRDLN
[0290] EFVLWLEEADNIASIPLEPGKEQQKLEKLEQVKLLVEELPLRQGILKQLNETGGPVL
[0291] VSAPISPEEQDKLENKLKQTNLQWIKVSRALPEKQGEIEAQIKDLGQLEKKLEDLE
[0292] EQLNHLWLSPIRNQLIYNQPNQEGPFDVQETETAVQAKQPDVEEILSKGQHLYK
[0293] EKPATQPVKRKLEDLSSEWKAVNRLLQELRAKQPDAPGLTTIGASPTQTVTLVTQ
[0294] PVVTKETAI SKLEMPSSMLLEVPALADFNRAWTELTDWLSLLDQVIKSQRVMVG
[0295] LEDINEMI IKKATMQDLEQRRPQLEELITAAQNLKNKTSNQEARTIITDRIERIQQ
[0296] WDEVQEHLQNRQQLNEMLKDSTQWLEAKEEAEQVLGQARAKLESWKEGPYTV
[0297] DAIQKKITETKQLAKDLRQWQTNVDVANDLALKLLRDYSADDTRKVHMITENIN
[0298] ASWRSIHKRVSERAALETHRLQGFPLDEKFLAWL TEAETTANVLQDATRKER
[0299] LLED SKGVKELMKWQDLQGEIEAHTDVYHNLDENSQKILRSLEGSDDAVLLQRR
[0300] LDNMNFKWSELRKSLNIRSHLEASSDQWKRLHLSLQELLVWLQLKDDELSRQAP
[0301] IGGDFPAVQKQNDVHRAFKRELKTKEPVI MSTLETVRIFLTEQPLEGLEKLYQEPRE
[0302] LPPEERAQNVTRLLRKQAEVNTEWEKLNLSADWQRKIDETLERLQELQEATDE
[0303] LDLKLRQAEVIKGSWQPVGDLLIDSLQDHLEKVKALRGEIAPLKENVSHVNDLAR
[0304] QLTTLGIQLSPYNLSTLEDLNTRWKLQVAVEDRVRQLHEAHRDFGPASQHFLSTS
[0305] VQGPWERAISPKNVPYYINHETQTTCDWHPKMTELYQSLADLNNVRFSAYRTAM

[0306] KLRRQLKALCLDLLSLAACDALDQHNLKQNDQPMIDLQIINCLTTIYDRLEQEHN
 [0307] NLVNVPLCVDMLNWLNVYDTGRTGRIRVLSFKTGIIISLCKAHLEDKYRYLKFQV
 [0308] ASSTGFCDQRRLLGLLLHDSIQIPRQLGEVASFGGSNIEPSVRSCFQFANNKPEIEAAL
 [0309] FLDWMRLEPQSMVWLPVLHRVAAAETAKHQAKCNICKECPIIGFRYRSLKHFNYDI
 [0310] CQSCFFSGRVAKGHKMHYPMVEYCTPTTS GEDVRDFAKVLKNKFRTKRYFAKHPR
 [0311] MGYLPVQTVLEGDNMETPVTLINFWPVDSAPASSPQLSHDDTHSRIEHYASRLAE
 [0312] MENSNGSYLNDISIPNESIDDEHLLIQHYCQSLNQDSPLSQPRSPAQILISLESEERGE
 [0313] LERILADLEEENRNLQAEDRLKQQHEHKGLSPLSPPEMMPTSPQSPRDAELIAE
 [0314] AKLLRQHKGRLEARMQILEDHNKQLESQHLRLRQLLEQPQAEAKVNGTTVSSPST
 [0315] SLQRSDSSQPMLLRVVGSQTSDSMGEDLLSPPQDTSTGLEEVMEQLNNSFPSSRG
 [0316] RNTPGKPMREDTM
 [0317] DMD 基因外显子 51
 [0318]

SEQ ID NO 2	GUACCUCCAACAUCAAGGAA GAUGG	SEQ ID NO 39	GAGAUGGCAGUUUCCCUUAGU AACCA
SEQ ID NO 3	UACCUCCAACAUCAAGGAAG AUGGC	SEQ ID NO 40	AGAUGGCAGUUUCCCUUAGUA ACCAC
SEQ ID NO 4	ACCUCCAACAUCAAGGAAGA UGGCA	SEQ ID NO 41	GAUGGCAGUUUCCCUUAGUAA CCACA
SEQ ID NO 5	CCUCCAACAUCAAGGAAGAU GGCAU	SEQ ID NO 42	AUGGCAGUUUCCCUUAGUAAC CACAG
SEQ ID NO 6	CUCCAACAUCAAGGAAGAUG GCAUU	SEQ ID NO 43	UGGCAGUUUCCCUUAGUAACC ACAGG
SEQ ID NO 7	UCCAACAUCAAGGAAGAUGG CAUUU	SEQ ID NO 44	GGCAGUUUCCCUUAGUAACCA CAGGU
SEQ ID NO 8	CCAACAUCAAGGAAGAUGGC AUUUC	SEQ ID NO 45	GCAGUUUCCCUUAGUAACCAC AGGUU
SEQ ID NO 9	CAACAUCAAGGAAGAUGGCA UUUCU	SEQ ID NO 46	CAGUUUCCCUUAGUAACCACA GGUUG
SEQ ID NO 10	AACAUCAAGGAAGAUGGCAU UUCUA	SEQ ID NO 47	AGUUUCCCUUAGUAACCACAG GUUGU
SEQ ID NO 11	ACAUCAAGGAAGAUGGCAUU UCUAG	SEQ ID NO 48	GUUUCCCUUAGUAACCACAGG UUGUG
SEQ ID	CAUCAAGGAAGAUGGCAUUU	SEQ ID	UUUCCCUUAGUAACCACAGGU

[0319]

NO 12	CUAGU	NO 49	UGUGU
SEQ ID NO 13	AUCAAGGAAGAUGGCAUUUC UAGUU	SEQ ID NO 50	UCCCUUAGUAACCACAGGUU GUGUC
SEQ ID NO 14	UCAAGGAAGAUGGCAUUUCU AGUUU	SEQ ID NO 51	UCCCUUAGUAACCACAGGUUG UGUCA
SEQ ID NO 15	CAAGGAAGAUGGCAUUUCUA GUUUG	SEQ ID NO 52	CCUUAGUAACCACAGGUUGU GUCAC
SEQ ID NO 16	AAGGAAGAUGGCAUUUCUAG UUUGG	SEQ ID NO 53	CUUAGUAACCACAGGUUGUG UCACC
SEQ ID NO 17	AGGAAGAUGGCAUUUCUAGU UUGGA	SEQ ID NO 54	UUAGUAACCACAGGUUGUGU CACCA
SEQ ID NO 18	GGAAGAUGGCAUUUCUAGUU UGGAG	SEQ ID NO 55	UAGUAACCACAGGUUGUGUC ACCAG
SEQ ID NO 19	GAAGAUGGCAUUUCUAGUUU GGAGA	SEQ ID NO 56	AGUAACCACAGGUUGUGUCA CCAGA
SEQ ID NO 20	AAGAUGGCAUUUCUAGUUUG GAGAU	SEQ ID NO 57	GUAACCACAGGUUGUGUCAC CAGAG
SEQ ID NO 21	AGAUGGCAUUUCUAGUUUGG AGAUG	SEQ ID NO 58	UAACCACAGGUUGUGUCACC AGAGU
SEQ ID NO 22	GAUGGCAUUUCUAGUUUGGA GAUGG	SEQ ID NO 59	AACCACAGGUUGUGUCACCA GAGUA
SEQ ID NO 23	AUGGCAUUUCUAGUUUGGAG AUGGC	SEQ ID NO 60	ACCACAGGUUGUGUCACCAG AGUAA
SEQ ID NO 24	UGGCAUUUCUAGUUUGGAGA UGGCA	SEQ ID NO 61	CCACAGGUUGUGUCACCAGA GUAAC
SEQ ID NO 25	GGCAUUUCUAGUUUGGAGAU GGCAG	SEQ ID NO 62	CACAGGUUGUGUCACCAGAG UAACA
SEQ ID NO 26	GCAUUUCUAGUUUGGAGAU GCAGU	SEQ ID NO 63	ACAGGUUGUGUCACCAGAGU AACAG
SEQ ID NO 27	CAUUUCUAGUUUGGAGAUGG CAGUU	SEQ ID NO 64	CAGGUUGUGUCACCAGAGUA ACAGU
SEQ ID NO 28	AUUUCUAGUUUGGAGAUGGC AGUUU	SEQ ID NO 65	AGGUUGUGUCACCAGAGUAA CAGUC
SEQ ID	UUUCUAGUUUGGAGAUGGCA	SEQ ID	GGUUGUGUCACCAGAGUAAC

[0320]

NO 29	GUUUC	NO 66	AGUCU
SEQ ID NO 30	UUCUAGUUUGGAGAUGGCAG UUUCC	SEQ ID NO 67	GUUGUGUCACCAGAGUAACA GUCUG
SEQ ID NO 31	UCUAGUUUGGAGAUGGCAGU UUCCU	SEQ ID NO 68	UUGUGUCACCAGAGUAACAG UCUGA
SEQ ID NO 32	CUAGUUUGGAGAUGGCAGUU UCCUU	SEQ ID NO 69	UGUGUCACCAGAGUAACAGU CUGAG
SEQ ID NO 33	UAGUUUGGAGAUGGCAGUUU CCUUA	SEQ ID NO 70	GUGUCACCAGAGUAACAGUC UGAGU
SEQ ID NO 34	AGUUUGGAGAUGGCAGUUUC CUUAG	SEQ ID NO 71	UGUCACCAGAGUAACAGUCU GAGUA
SEQ ID NO 35	GUUUGGAGAUGGCAGUUUCC UUAGU	SEQ ID NO 72	GUCACCAGAGUAACAGUCUG AGUAG
SEQ ID NO 36	UUUGGAGAUGGCAGUUUCCU UAGUA	SEQ ID NO 73	UCACCAGAGUAACAGUCUGA GUAGG
SEQ ID NO 37	UUGGAGAUGGCAGUUUCCUU AGUAA	SEQ ID NO 74	CACCAGAGUAACAGUCUGAG UAGGA
SEQ ID NO 38	UGGAGAUGGCAGUUUCCUUA GUAAC	SEQ ID NO 75	ACCAGAGUAACAGUCUGAGU AGGAG
SEQ ID NO 539	UCAAGGAAGAUGGCAUUUCU	SEQ ID NO 548	UCAAGGAAGAUGGCAUIUCU
SEQ ID NO 540	UCAAIGAAGAUGGCAUUUCU	SEQ ID NO 549	UCAAGGAAGAUGGCAUUICU
SEQ ID NO 541	UCAAGIAAGAUGGCAUUUCU	SEQ ID NO 550	UCAAGGAAGAUGGCAUUUCI
SEQ ID NO 542	UCAAGGAAlAUGGCAUUUCU	SEQ ID NO 551	UCIAGGAAGAUGGCAUUUCU
SEQ ID NO 543	UCAAGGAAGAUIGCAUUUCU	SEQ ID NO 552	UCAIGGAAGAUGGCAUUUCU
SEQ ID NO 544	UCAAGGAAGAUGICAUUUCU	SEQ ID NO 553	UCAAGGIAGAUGGCAUUUCU
SEQ ID NO 545	ICAAGGAAGAUGGCAUUUCU	SEQ ID NO 554	UCAAGGAIGAUGGCAUUUCU
SEQ ID NO 546	UCAAGGAAGAIGGCAUUUCU	SEQ ID NO 555	UCAAGGAAGIUGGCAUUUCU

[0321]

SEQ ID NO 547	UCAAGGAAGAUGGCAIUUCU	SEQ ID NO 556	UCAAGGAAGAUGGCIUUUCU
------------------	----------------------	------------------	----------------------

[0322] DMD 基因外显子 45

[0323]

SEQ ID NO 76 PS220	UUUGCC <u>G</u> CUGCCCAAUGCC AUCCUG	SEQ ID NO 109	GUUGCAUUCAAUGUUCUGAC AACAG
SEQ ID NO 77	AUUCAAUGUUCUGACAACA GUUUGC	SEQ ID NO 110	UUGCAUUCAAUGUUCUGACA ACAGU
SEQ ID NO 78	CCAGUUGCAUUCAAUGUUC UGACAA	SEQ ID NO 111	UGCAUUCAAUGUUCUGACAA CAGUU
SEQ ID NO 79	CAGUUGCAUUCAAUGUUCU GAC	SEQ ID NO 112	GCAUUCAAUGUUCUGACAAC AGUUU
SEQ ID NO 80	AGUUGCAUUCAAUGUUCUG A	SEQ ID NO 113	CAUUCAAUGUUCUGACAACA GUUUG
SEQ ID NO 81	GAUUGCUGAAUUAUUUCUU CC	SEQ ID NO 114	AUUCAAUGUUCUGACAACAG UUUGC
SEQ ID NO 82	GAUUGCUGAAUUAUUUCUU CCCCAG	SEQ ID NO 115	UCAUGUUCUGACAACAGUU UGCCG
SEQ ID NO 83	AUUGCUGAAUUAUUUCUUC CCCAGU	SEQ ID NO 116	CAAUGUUCUGACAACAGUUU GCCGC
SEQ ID NO 84	UUGCUGAAUUAUUUCUUC CCAGUU	SEQ ID NO 117	AAUGUUCUGACAACAGUUUG CCGCU
SEQ ID NO 85	UGCUGAAUUAUUUCUUC CAGUUG	SEQ ID NO 118	AUGUUCUGACAACAGUUUGC CGCUG
SEQ ID NO 86	GCUGAAUUAUUUCUUC AGUUGC	SEQ ID NO 119	UGUUCUGACAACAGUUUGCC GCUGC
SEQ ID NO 87	CUGAAUUAUUUCUUC GUUGCA	SEQ ID NO 120	GUUCUGACAACAGUUUGCCG CUGCC
SEQ ID NO 88	UGAAUUAUUUCUUC UUGCAU	SEQ ID NO 121	UUCUGACAACAGUUUGCCGC UGCCC
SEQ ID NO 89	GAAUUAUUUCUUC UGCAUU	SEQ ID NO 122	UCUGACAACAGUUUGCCGCU GCCCA
SEQ ID	AAUUAUUUCUUC CAGUU	SEQ ID	CUGACAACAGUUUGCCGCUG

[0324]

NO 90	GCAUUC	NO 123	CCCAA
SEQ ID NO 91	AUUAUUUCUCCCCAGUUG CAUUCA	SEQ ID NO 124	UGACAACAGUUUGCCGCUGC CCAAU
SEQ ID NO 92	UUAUUUCUCCCCAGUUGC AUUCAA	SEQ ID NO 125	GACAACAGUUUGCCGCUGCC CAAUG
SEQ ID NO 93	UAUUUCUCCCCAGUUGCA UUCAAU	SEQ ID NO 126	ACAACAGUUUGCCGCUGCCC AAUGC
SEQ ID NO 94	AUUUCUCCCCAGUUGCAU UCAAUG	SEQ ID NO 127	CAACAGUUUGCCGCUGCCCA AUGCC
SEQ ID NO 95	UUUCUCCCCAGUUGCAU CAAUGU	SEQ ID NO 128	AACAGUUUGCCGCUGCCCAA UGCCA
SEQ ID NO 96	UUCUCCCCAGUUGCAUUC AAUGUU	SEQ ID NO 129	ACAGUUUGCCGCUGCCCAAU GCCAU
SEQ ID NO 97	UCUCCCCAGUUGCAUUCA AUGUUC	SEQ ID NO 130	CAGUUUGCCGCUGCCCAAUG CCAUC
SEQ ID NO 98	CUCCCCAGUUGCAUUCAA UGUUCU	SEQ ID NO 131	AGUUUGCCGCUGCCCAAUGC CAUCC
SEQ ID NO 99	UCCCCAGUUGCAUUCAAU GUUCUG	SEQ ID NO 132	GUUUGCCGCUGCCCAAUGCC AUCCU
SEQ ID NO 100	UCCCCAGUUGCAUUCAAUG UUCUGA	SEQ ID NO 133	UUUGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCUG
SEQ ID NO 101	CCCCAGUUGCAUUCAAUGU UCUGAC	SEQ ID NO 134	UUGCCGCUGCCCAAUGCCAU CCUGG
SEQ ID NO 102	CCCAGUUGCAUUCAAUGUU CUGACA	SEQ ID NO 135	UGCCGCUGCCCAAUGCCAUC CUGGA
SEQ ID NO 103	CCAGUUGCAUUCAAUGUUC UGACAA	SEQ ID NO 136	GCCGCUGCCCAAUGCCAUC UGGAG
SEQ ID NO 104	CAGUUGCAUUCAAUGUUCU GACAAC	SEQ ID NO 137	CCGCUGCCCAAUGCCAUCCU GGAGU
SEQ ID NO 105	AGUUGCAUUCAAUGUUCUG ACAACA	SEQ ID NO 138	CGCUGCCCAAUGCCAUCCUG GAGUU
SEQ ID NO 106	UCC UGU AGA AUA CUG GCA UC	SEQ ID NO 139	UGUUUUUGAGGAUUGCUGAA
SEQ ID NO 107	UGCAGACCUCUGCCACCGC AGAUUCA	SEQ ID NO 140	UGUUCUGACAACAGUUUGCC GCUGCCCAAUGCCAUCCUGG

[0325]

SEQ ID NO 108	UUGCAGACCUCCUGCCACC GCAGAUUCAGGCUUC	SEQ ID NO 557 PS305	UUUGCCICUGCCCCAAUGCCAU CCUG
SEQ ID NO 558	UUUGCCGCUICCCAAUGCCA UCCUG	SEQ ID NO 566	UUUGCCGCUGCCCAIUGCCAU CCUG
SEQ ID NO 559	UUUGCCGCUGCCCAAUICCA UCCUG	SEQ ID NO 567	UUUGCCGCUGCCCAAUGCCIU CCUG
SEQ ID NO 560	UUUICCGCUGCCCCAAUGCCA UCCUG	SEQ ID NO 568	UUUICCICUGCCCCAAUGCCAU CCUG
SEQ ID NO 561	UUUGCCGCUGCCCAAUGCC AUCCUI	SEQ ID NO 569	UUUGCCGCUGCCCAAIGCCAU CCUG
SEQ ID NO 562	IUUGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCUG	SEQ ID NO 570	UUUGCCGCUGCCCAAUGCCAI CCUG
SEQ ID NO 563	UIUGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCUG	SEQ ID NO 571	UUUGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCIG
SEQ ID NO 564	UUIGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCUG	SEQ ID NO 572	UUUGCCGCUGCCCIAUGCCAU CCUG
SEQ ID NO 565	UUUGCCGCUGCCCAAUGCCA UCCUG		

[0326] DMD 基因外显子 53

[0327]

SEQ ID NO 141	CUCUGGCCUGUCCUAAGAC CUGCUC	SEQ ID NO 165	CAGCUUCUCCUAGCUUCC AGCCA
SEQ ID NO 142	UCUGGCCUGUCCUAAGACC UGCUC	SEQ ID NO 166	AGCUUCUCCUAGCUUCCA GCCAU
SEQ ID NO 143	CUGGCCUGUCCUAAGACCU GCUCAG	SEQ ID NO 167	GCUUCUCCUAGCUUCCAG CCAUU
SEQ ID NO 144	UGGCCUGUCCUAAGACCUG CUCAGC	SEQ ID NO 168	CUUCUCCUAGCUUCCAGC CAUUG
SEQ ID NO 145	GGCCUGUCCUAAGACCUGC UCAGCU	SEQ ID NO 169	UUCUCCUAGCUUCCAGCC AUUGU
SEQ ID NO 146	GCCUGUCCUAAGACCUGCU CAGCUU	SEQ ID NO 170	UCUCCUAGCUUCCAGCCA UUGUG
SEQ ID	CCUGUCCUAAGACCUGCUC	SEQ ID	CUUCCUAGCUUCCAGCCAU

[0328]

NO 147	AGCUUC	NO 171	UGUGU
SEQ ID NO 148	CUGUCCUAAGACCUGGCUCA GCUUCU	SEQ ID NO 172	UUCCUUAGCUUCCAGCCAUU GUGUU
SEQ ID NO 149	UGUCCUAAGACCUGGCUAG CUUCUU	SEQ ID NO 173	UCCUUAGCUUCCAGCCAUUG UGUUG
SEQ ID NO 150	GUCCUAAGACCUGGCUAGC UUCUUC	SEQ ID NO 174	CCUUAGCUUCCAGCCAUUGU GUUGA
SEQ ID NO 151	UCCUAAGACCUGGCUAGCU UCUUC	SEQ ID NO 175	CUUAGCUUCCAGCCAUUGUG UUGAA
SEQ ID NO 152	CCUAAGACCUGGCUAGCUU CUUCCU	SEQ ID NO 176	UUAGCUUCCAGCCAUUGUGU UGAAU
SEQ ID NO 153	CUAAGACCUGGCUAGCUUC UUCUU	SEQ ID NO 177	UAGCUUCCAGCCAUUGUGUU GAAUC
SEQ ID NO 154	UAAGACCUGGCUAGCUUCU UCCUUA	SEQ ID NO 178	AGCUUCCAGCCAUUGUGUUG AAUCC
SEQ ID NO 155	AAGACCUGGCUAGCUUCUU CCUUAG	SEQ ID NO 179	GCUUCCAGCCAUUGUGUUGA AUCCU
SEQ ID NO 156	AGACCUGGCUAGCUUCUUC CUUAGC	SEQ ID NO 180	CUUCCAGCCAUUGUGUUGAA UCCUU
SEQ ID NO 157	GACCUGGCUAGCUUCUUC UUAGCU	SEQ ID NO 181	UCCAGCCAUUGUGUUGAAU CCUUU
SEQ ID NO 158	ACCUGGCUAGCUUCUUCU UAGCUU	SEQ ID NO 182	UCCAGCCAUUGUGUUGAAUC CUUUA
SEQ ID NO 159	CCUGGCUAGCUUCUUCU AGCUUC	SEQ ID NO 183	CCAGCCAUUGUGUUGAAUCC UUUAA
SEQ ID NO 160	CUGGCUAGCUUCUUCUUA GCUUC	SEQ ID NO 184	CAGCCAUUGUGUUGAAUCCU UUAAC
SEQ ID NO 161	UGCUGGCUUCUUCUUCUAG CUUCCA	SEQ ID NO 185	AGCCAUUGUGUUGAAUCCU UAACA
SEQ ID NO 162	GCUGGCUUCUUCUUCUAGC UUCAG	SEQ ID NO 186	GCCAUUGUGUUGAAUCCUU AACAU
SEQ ID NO 163	CUGGCUUCUUCUUCUAGCU UCCAGC	SEQ ID NO 187	CCAUUGUGUUGAAUCCUUUA ACAUU
SEQ ID NO 164	UCAGCUUCUUCUUCUAGCU CCAGCC	SEQ ID NO 188	CAUUGUGUUGAAUCCUUUA CAUUU

[0329] DMD 基因外显子 44

[0330]

SEQ ID NO 189	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG	SEQ ID NO 214	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAAA
SEQ ID NO 190	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU	SEQ ID NO 215	CAGCUUCUGUUAGCCACU GAUUAAA
SEQ ID NO 191	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU G	SEQ ID NO 216	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAAA
SEQ ID NO 192	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG A	SEQ ID NO 217	AGCUUCUGUUAGCCACUG AU
SEQ ID NO 193	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GA	SEQ ID NO 218	GCUUCUGUUAGCCACUGA UU
SEQ ID NO 194	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG A	SEQ ID NO 219	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUU
SEQ ID NO 195	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GA	SEQ ID NO 220	GCUUCUGUUAGCCACUGA UUA
SEQ ID NO 196	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG AU	SEQ ID NO 221	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUUA
SEQ ID NO 197	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GAU	SEQ ID NO 222	GCUUCUGUUAGCCACUGA UUAA
SEQ ID NO 198	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG AUU	SEQ ID NO 223	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAA
SEQ ID NO 199	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GAUU	SEQ ID NO 224	GCUUCUGUUAGCCACUGA UUAAA
SEQ ID NO 200	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG AUUA	SEQ ID NO 225	AGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAAA
SEQ ID NO 201	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GAUA	SEQ ID NO 226	GCUUCUGUUAGCCACUGA UUAAA
SEQ ID NO 202	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAA	SEQ ID NO 227	CCAUUUGUAUUUAGCAU GUUCCC
SEQ ID NO 203	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GAUUAA	SEQ ID NO 228	AGAUACCAUUUGUAUUU AGC
SEQ ID NO 204	UCAGCUUCUGUUAGCCACUG AUUAAA	SEQ ID NO 229	GCCAUUUCUCAACAGAU C
SEQ ID NO 205	UUCAGCUUCUGUUAGCCACU GAUUAAA	SEQ ID NO 230	GCCAUUUCUCAACAGAU C

[0331]

SEQ ID NO 206	CAGCUUCUGUUAGCCACUG	SEQ ID NO 231	AUUCUCAGGAAUUUGUG UCUUUC
SEQ ID NO 207	CAGCUUCUGUUAGCCACUGA U	SEQ ID NO 232	UCUCAGGAAUUUGUGUC UUUC
SEQ ID NO 208	AGCUUCUGUUAGCCACUGAU U	SEQ ID NO 233	GUUCAGCUUCUGUUAGCC
SEQ ID NO 209	CAGCUUCUGUUAGCCACUGA UU	SEQ ID NO 234	CUGAUUAAAUAUCUUUA UAU C
SEQ ID NO 210	AGCUUCUGUUAGCCACUGAU UA	SEQ ID NO 235	GCCGCCAUUUCUCAACAG
SEQ ID NO 211	CAGCUUCUGUUAGCCACUGA UUA	SEQ ID NO 236	GUAUUUAGCAUGUUCCC A
SEQ ID NO 212	AGCUUCUGUUAGCCACUGAU UAA	SEQ ID NO 237	CAGGAAUUUGUGUCUUU C
SEQ ID NO 213	CAGCUUCUGUUAGCCACUGA UUAA	SEQ ID NO 575	UCAICUUCUGUUAGCCAC UG
SEQ ID NO 573	UCAGCUUCUUAAGCCACUG	SEQ ID NO 576	UCAGCUUCUGUUAGCCAC UI
SEQ ID NO 574	UCAGCUUCUGUUAICACUG		

[0332] DMD 基因外显子 46

[0333]

SEQ ID NO 238	GCUUUUCUUUAGUUGCUGC UCUUU	SEQ ID NO 265	CCAGGUUCAAGUGGGGAUA CUAGCAA
SEQ ID NO 239	CUUUUCUUUAGUUGCUGCU CUUUU	SEQ ID NO 266	CAGGUUCAAGUGGGGAUAC UAGCAAU
SEQ ID NO 240	UUUUCUUUAGUUGCUGCUC UUUUC	SEQ ID NO 267	AGGUUCAAGUGGGGAUACU AGCAAUG
SEQ ID NO 241	UUUCUUUAGUUGCUGCUCU UUUCC	SEQ ID NO 268	GGUUCAAGUGGGGAUACUA GCAAUGU
SEQ ID NO 242	UUCUUUAGUUGCUGCUCUU UCCA	SEQ ID NO 269	GUUCAAGUGGGGAUACUAG CAAUGUU
SEQ ID NO 243	UCUUUAGUUGCUGCUCUUU UCCAG	SEQ ID NO 270	UUCAAGUGGGGAUACUAGC AAUGUUA

[0334]

SEQ ID NO 244	CUUUUAGUUGCUGCUCUUUU CCAGG	SEQ ID NO 271	UCAAGUGGGAUACUAGCA AUGUUAU
SEQ ID NO 245	UUUUAGUUGCUGCUCUUUUC CAGGU	SEQ ID NO 272	CAAGUGGGAUACUAGCAA UGUUAUC
SEQ ID NO 246	UUUAGUUGCUGCUCUUUUC AGGUU	SEQ ID NO 273	AAGUGGGAUACUAGCAAU GUUAUCU
SEQ ID NO 247	UUAGUUGCUGCUCUUUCCA GGUUC	SEQ ID NO 274	AGUGGGAUACUAGCAAUG UUAUCUG
SEQ ID NO 248	UAGUUGCUGCUCUUUCCAG GUUCA	SEQ ID NO 275	GUGGGAUACUAGCAAUGU UAUCUGC
SEQ ID NO 249	AGUUGCUGCUCUUUCCAGG UUCAA	SEQ ID NO 276	UGGGAUACUAGCAAUGUU AUCUGCU
SEQ ID NO 250	GUUGCUGCUCUUUCCAGGU UCAAG	SEQ ID NO 277	GGGAUACUAGCAAUGUUA UCUGCUU
SEQ ID NO 251	UUGCUGCUCUUUCCAGGUUC AAGU	SEQ ID NO 278	GGAUACUAGCAAUGUUAU CUGCUUC
SEQ ID NO 252	UGCUGCUCUUUCCAGGUUCA AGUG	SEQ ID NO 279	GAUACUAGCAAUGUUAUC UGCUUCC
SEQ ID NO 253	GCUGCUCUUUCCAGGUUCAA GUGG	SEQ ID NO 280	AUACUAGCAAUGUUAUCU GCUUCCU
SEQ ID NO 254	CUGCUCUUUCCAGGUUCAAG UGGG	SEQ ID NO 281	UACUAGCAAUGUUAUCUG CUUCCUC
SEQ ID NO 255	UGCUCUUUCCAGGUUCAAG UGGGA	SEQ ID NO 282	ACUAGCAAUGUUAUCUGC UUCCUCC
SEQ ID NO 256	GCUCUUUCCAGGUUCAAGU GGGAC	SEQ ID NO 283	CUAGCAAUGUUAUCUGCU UCCUCCA
SEQ ID NO 257	CUCUUUCCAGGUUCAAGUG GGAUA	SEQ ID NO 284	UAGCAAUGUUAUCUGCUU CCUCCAA
SEQ ID NO 258	UCUUUCCAGGUUCAAGUGG GAUAC	SEQ ID NO 285	AGCAAUGUUAUCUGCUUC CUCCAAC
SEQ ID NO 259	UCUUUCCAGGUUCAAGUGG	SEQ ID NO 286	GCAAUGUUAUCUGCUUCC UCCAACC
SEQ ID NO 260	CUUUUCCAGGUUCAAGUGGG AUACU	SEQ ID NO 287	CAAUGUUAUCUGCUUCCU CCAACCA
SEQ ID	UUUCCAGGUUCAAGUGGGA	SEQ ID	AAUGUUAUCUGCUUCCUC

[0335]

NO 261	UACUA	NO 288	CAACCAU
SEQ ID NO 262	UUUCCAGGUUCAAGUGGGGAU ACUAG	SEQ ID NO 289	AUGUUAUCUGCUUCCUCC AACCAUA
SEQ ID NO 263	UUCAGGUUCAAGUGGGGAUA CUAGC	SEQ ID NO 290	UGUUAUCUGCUUCCUCCA ACCAUAA
SEQ ID NO 264	UCCAGGUUCAAGUGGGGAUAC UAGCA		

[0336] DMD 基因外显子 52

[0337]

SEQ ID NO 291	AGCCUCUUGAUUGCUGGUC UUGUUU	SEQ ID NO 326	UUGGGCAGCGGUA AUGAGUUC UUCC
SEQ ID NO 292	GCCUCUUGAUUGCUGGUCU UGUUUU	SEQ ID NO 327	UGGGCAGCGGUA AUGAGUUCU UCCA
SEQ ID NO 293	CCUCUUGAUUGCUGGUCUU GUUUUU	SEQ ID NO 328	GGGCAGCGGUA AUGAGUUCUU CCAA
SEQ ID NO 294	CCUCUUGAUUGCUGGUCUU G	SEQ ID NO 329	GGCAGCGGUA AUGAGUUCUUC CAAC
SEQ ID NO 295	CUCUUGAUUGCUGGUCUUG UUUUUC	SEQ ID NO 330	GCAGCGGUA AUGAGUUCUUC AACU
SEQ ID NO 296	UCUUGAUUGCUGGUCUUGU UUUUCA	SEQ ID NO 331	CAGCGGUA AUGAGUUCUUC ACUG
SEQ ID NO 297	CUUGAUUGCUGGUCUUGUU UUUCAA	SEQ ID NO 332	AGCGGUA AUGAGUUCUUC CUGG
SEQ ID NO 298	UUGAUUGCUGGUCUUGUU UUUCAA	SEQ ID NO 333	GCGGUA AUGAGUUCUUC UGGG
SEQ ID NO 299	UGAUUGCUGGUCUUGUUU UUCAAU	SEQ ID NO 334	CGGUA AUGAGUUCUUC GGGG
SEQ ID NO 300	GAUUGCUGGUCUUGUUUU UCAAUU	SEQ ID NO 335	GGUA AUGAGUUCUUC GGGA
SEQ ID NO 301	GAUUGCUGGUCUUGUUUU UC	SEQ ID NO 336	GGUA AUGAGUUCUUC G
SEQ ID NO 302	AUUGCUGGUCUUGUUUUUC AAAUUU	SEQ ID NO 337	GUA AUGAGUUCUUC GGAC
SEQ ID	UUGCUGGUCUUGUUUUUCA	SEQ ID	UAAUGAGUUCUUC UGGG

[0338]

NO 303	AAUUUU	NO 338	GACG
SEQ ID NO 304	UGCUGGUCUUGUUUUUCAA AUUUUG	SEQ ID NO 339	AAUGAGUUCUCCAACUGGGG ACGC
SEQ ID NO 305	GCUGGUCUUGUUUUUCAA UUUUGG	SEQ ID NO 340	AUGAGUUCUCCAACUGGGGA CGCC
SEQ ID NO 306	CUGGUCUUGUUUUUCAA UUUGGG	SEQ ID NO 341	UGAGUUCUCCAACUGGGGAC GCCU
SEQ ID NO 307	UGGUCUUGUUUUUCAA UUUGGGC	SEQ ID NO 342	GAGUUCUCCAACUGGGGACG CCUC
SEQ ID NO 308	GGUCUUGUUUUUCAA UUGGGCA	SEQ ID NO 343	AGUUCUCCAACUGGGGACGC CUCU
SEQ ID NO 309	GUCUUGUUUUUCAA UUGGGCAG	SEQ ID NO 344	GUUCUCCAACUGGGGACGCC UCUG
SEQ ID NO 310	UCUUGUUUUUCAA GGGCAGC	SEQ ID NO 345	UUCUCCAACUGGGGACGCCU CUGU
SEQ ID NO 311	CUUGUUUUUCAA GGCAGCG	SEQ ID NO 346	UCUCCAACUGGGGACGCCUC UGUU
SEQ ID NO 312	UUGUUUUUCAA GCAGCGG	SEQ ID NO 347	CUCCAACUGGGGACGCCUCU GUUC
SEQ ID NO 313	UGUUUUUCAA CAGCGGU	SEQ ID NO 348	UCCAACUGGGGACGCCUCUG UCC
SEQ ID NO 314	GUUUUUCAA AGCGGUA	SEQ ID NO 349	UCCAACUGGGGACGCCUCUGU UCCA
SEQ ID NO 315	UUUUUCAA GCGGUA	SEQ ID NO 350	CCAACUGGGGACGCCUCUGUU CAA
SEQ ID NO 316	UUUCAA GGUAAU	SEQ ID NO 351	CAACUGGGGACGCCUCUGUUC CAA
SEQ ID NO 317	UUCAA GUAAUG	SEQ ID NO 352	AACUGGGGACGCCUCUGUUC AAAU
SEQ ID NO 318	UCAA UAAUGA	SEQ ID NO 353	ACUGGGGACGCCUCUGUCCA AAUC
SEQ ID NO 319	UCAA AAUGAG	SEQ ID NO 354	CUGGGGACGCCUCUGUCCAA AUCC
SEQ ID NO 320	CAA AUGAGU	SEQ ID NO 355	UGGGGACGCCUCUGUCCAAA UCCU

[0339]

SEQ ID NO 321	AAAUUUUGGGCAGCGGUA AUGAGUU	SEQ ID NO 356	GGGACGCCUCUGUCCAAAU CCUG
SEQ ID NO 322	AAUUUUGGGCAGCGGUAA UGAGUUC	SEQ ID NO 357	GGGACGCCUCUGUCCAAAU CUGC
SEQ ID NO 323	AUUUUGGGCAGCGGUAAU GAGUUCU	SEQ ID NO 358	GGACGCCUCUGUCCAAAU UGCA
SEQ ID NO 324	UUUUGGGCAGCGGUAAUG AGUUCUU	SEQ ID NO 359	GACGCCUCUGUCCAAAU GCAU
SEQ ID NO 325	UUUGGGCAGCGGUAAUGA GUUCUUC		

[0340] DMD 基因外显子 50

[0341]

SEQ ID NO 360	CCAAUAGUGGUCAGUCCA GGAGCUA	SEQ ID NO 386	CUAGGUCAGGCUGCUUUGC CCUCAG
SEQ ID NO 361	CAAUAGUGGUCAGUCCAG GAGCUAG	SEQ ID NO 387	UAGGUCAGGCUGCUUUGCC CUCAGC
SEQ ID NO 362	AAUAGUGGUCAGUCCAG GAGCUAGG	SEQ ID NO 388	AGGUCAGGCUGCUUUGCCC UCAGCU
SEQ ID NO 363	AUAGUGGUCAGUCCAGG AGCUAGGU	SEQ ID NO 389	GGUCAGGCUGCUUUGCCCU CAGCUC
SEQ ID NO 364	AUAGUGGUCAGUCCAGG AGCU	SEQ ID NO 390	GUCAGGCUGCUUUGCCCUC AGCUCU
SEQ ID NO 365	UAGUGGUCAGUCCAGGA GCUAGGUC	SEQ ID NO 391	UCAGGCUGCUUUGCCCUC GCUCUU
SEQ ID NO 366	AGUGGUCAGUCCAGGAGC UAGGUCA	SEQ ID NO 392	CAGGCUGCUUUGCCCUCAG CUCUUG
SEQ ID NO 367	GUGGUCAGUCCAGGAGCU AGGUCAG	SEQ ID NO 393	AGGCUGCUUUGCCCUCAGC UCUUGA
SEQ ID NO 368	UGGUCAGUCCAGGAGCUA GGUCAGG	SEQ ID NO 394	GGCUGCUUUGCCCUCAGCU CUUGAA
SEQ ID NO 369	GGUCAGUCCAGGAGCUAG GUCAGGC	SEQ ID NO 395	GCUGCUUUGCCCUCAGCUC UUGAAG
SEQ ID NO 370	GUCAGUCCAGGAGCUAGG UCAGGCU	SEQ ID NO 396	CUGCUUUGCCCUCAGCUCU UGAAGU

[0342]

SEQ ID NO 371	UCAGUCCAGGAGCUAGGU CAGGCUG	SEQ ID NO 397	UGCUUUGCCCUCAGCUCUU GAAGUA
SEQ ID NO 372	CAGUCCAGGAGCUAGGUC AGGCUGC	SEQ ID NO 398	GCUUUGCCCUCAGCUCUUG AAGUAA
SEQ ID NO 373	AGUCCAGGAGCUAGGUCA GGCUGCU	SEQ ID NO 399	CUUUGCCCUCAGCUCUUGA AGUAAA
SEQ ID NO 374	GUCCAGGAGCUAGGUCAG GCUGCUU	SEQ ID NO 400	UUUGCCCUCAGCUCUUGAA GUAAAC
SEQ ID NO 375	UCCAGGAGCUAGGUCAGG CUGCUUU	SEQ ID NO 401	UUGCCCUCAGCUCUUGAAG UAAACG
SEQ ID NO 376	CCAGGAGCUAGGUCAGGC UGCUUUG	SEQ ID NO 402	UGCCCUCAGCUCUUGAAGU AAACGG
SEQ ID NO 377	CAGGAGCUAGGUCAGGCU GCUUUGC	SEQ ID NO 403	GCCCUCAGCUCUUGAAGUA AACGGU
SEQ ID NO 378	AGGAGCUAGGUCAGGCU GCUUUGCC	SEQ ID NO 404	CCCUCAGCUCUUGAAGUAA ACGGUU
SEQ ID NO 379	GGAGCUAGGUCAGGCUGC UUUGCCC	SEQ ID NO 405	CCUCAGCUCUUGAAGUAAA C
SEQ ID NO 380	GAGCUAGGUCAGGCUGCU UUGCCCU	SEQ ID NO 406	CCUCAGCUCUUGAAGUAAA CG
SEQ ID NO 381	AGCUAGGUCAGGCUGCUU UGCCCUC	SEQ ID NO 407	CUCAGCUCUUGAAGUAAAC G
SEQ ID NO 382	GCUAGGUCAGGCUGCUUU GCCCUCA	SEQ ID NO 408	CCUCAGCUCUUGAAGUAAA CGGUUU
SEQ ID NO 383	CUCAGCUCUUGAAGUAAA CGGUUUA	SEQ ID NO 409	UCAGCUCUUGAAGUAAACG GUUUAC
SEQ ID NO 384	CAGCUCUUGAAGUAAACG GUUUACC	SEQ ID NO 410	AGCUCUUGAAGUAAACGGU UUACCG
SEQ ID NO 385	GCUCUUGAAGUAAACGG UUUACCGC	SEQ ID NO 411	CUCUUGAAGUAAACGGUUU ACCGCC

[0343] DMD 基因外显子 43

[0344]

SEQ ID NO 412	CCACAGGCGUUGCACUUU GCAAUGC	SEQ ID NO 443	UCUUCUUGCUAUGAAUAAU GUCAAU
------------------	-------------------------------	------------------	-------------------------------

[0345]

SEQ ID NO 413	CACAGGCGUUGCACUUUG CAAUGCU	SEQ ID NO 444	CUUCUUGCUAUGAAUAAUG UCAAUC
SEQ ID NO 414	ACAGGCGUUGCACUUUGC AAUGCUG	SEQ ID NO 445	UUCUUGCUAUGAAUAAUG UCAAUCC
SEQ ID NO 415	CAGGCGUUGCACUUUGCA AUGCUGC	SEQ ID NO 446	UCUUGCUAUGAAUAAUGUC AAUCCG
SEQ ID NO 416	AGGCGUUGCACUUUGCAA UGCUGCU	SEQ ID NO 447	CUUGCUAUGAAUAAUGUCA AUCCGA
SEQ ID NO 417	GGCGUUGCACUUUGCAAU GCUGCUG	SEQ ID NO 448	UUGCUAUGAAUAAUGUCA AUCCGAC
SEQ ID NO 418	GCGUUGCACUUUGCAAUG CUGCUGU	SEQ ID NO 449	UGCUAUGAAUAAUGUCA UCCGACC
SEQ ID NO 419	CGUUGCACUUUGCAAUGC UGCUGUC	SEQ ID NO 450	GCUAUGAAUAAUGUCA CGACCU
SEQ ID NO 420	CGUUGCACUUUGCAAUGC UGCUG	SEQ ID NO 451	CUAUGAAUAAUGUCA GACCUG
SEQ ID NO 421	GUUGCACUUUGCAAUGCU GCUGUCU	SEQ ID NO 452	UAUGAAUAAUGUCA ACCGA
SEQ ID NO 422	UUGCACUUUGCAAUGCUG CUGUCUU	SEQ ID NO 453	AUGAAUAAUGUCA CCUGAG
SEQ ID NO 423	UGCACUUUGCAAUGCUGC UGUCUUC	SEQ ID NO 454	UGAAUAAUGUCA CUGAGC
SEQ ID NO 424	GCACUUUGCAAUGCUGCU GUCUUCU	SEQ ID NO 455	GAAUAAUGUCA UCCGACC
SEQ ID NO 425	CACUUUGCAAUGCUGCUG UCUUCUU	SEQ ID NO 456	AAUAAUGUCA UCCGACCU
SEQ ID NO 426	ACUUUGCAAUGCUGCUGU CUUCUUG	SEQ ID NO 457	AUAAUGUCA UCCGACCUG
SEQ ID NO 427	CUUUGCAAUGCUGCUGUC UUCUUGC	SEQ ID NO 458	UAAUGUCA UCCGACCUGA
SEQ ID NO 428	UUUGCAAUGCUGCUGUCU UCUUGCU	SEQ ID NO 459	AAUGUCA UCCGACCUGAG
SEQ ID NO 429	UUGCAAUGCUGCUGUCUU CUUGCUA	SEQ ID NO 460	AUGUCA UCCGACCUGAGC
SEQ ID	UGCAAUGCUGCUGUCUUC	SEQ ID	UGUCA UCCGACCUGAGCU

[0346]

NO 430	UUGCUAU	NO 461	UUGUUG
SEQ ID NO 431	GCAAUGCUGCUGUCUUCU UGCUAUG	SEQ ID NO 462	GUCAAUCCGACCUGAGCUU UGUUGU
SEQ ID NO 432	CAAUGCUGCUGUCUUCUU GCUAUGA	SEQ ID NO 463	UCAAUCCGACCUGAGCUUU GUUGUA
SEQ ID NO 433	AAUGCUGCUGUCUUCUUG CUAUGAA	SEQ ID NO 464	CAAUCCGACCUGAGCUUUG UUGUAG
SEQ ID NO 434	AUGCUGCUGUCUUCUUGC UAUGAAU	SEQ ID NO 465	AAUCCGACCUGAGCUUUGU UGUAGA
SEQ ID NO 435	UGCUGCUGUCUUCUUGCU AUGAAUA	SEQ ID NO 466	AUCCGACCUGAGCUUUGUU GUAGAC
SEQ ID NO 436	GCUGCUGUCUUCUUGCUA UGAAUAA	SEQ ID NO 467	UCCGACCUGAGCUUUGUUG UAGACU
SEQ ID NO 437	CUGCUGUCUUCUUGCUAU GAAUAAU	SEQ ID NO 468	CCGACCUGAGCUUUGUUGU AGACUA
SEQ ID NO 438	UGCUGUCUUCUUGCUAUG AAUAAUG	SEQ ID NO 469	CGACCUGAGCUUUGUUGUA G
SEQ ID NO 439	GCUGUCUUCUUGCUAUGA AUAAUGU	SEQ ID NO 470	CGACCUGAGCUUUGUUGUA GACUAU
SEQ ID NO 440	CUGUCUUCUUGCUAUGAA UAAUGUC	SEQ ID NO 471	GACCUGAGCUUUGUUGUAG ACUAUC
SEQ ID NO 441	UGUCUUCUUGCUAUGAAU AAUGUCA	SEQ ID NO 472	ACCUGAGCUUUGUUGUAGA CUAUC
SEQ ID NO 442	GUCUUCUUGCUAUGAAUA AUGUCAA	SEQ ID NO 473	CCUGA GCUUU GUUGU AGACU AUC

DMD基因外显子6			
SEQ ID NO 474	CAUUUUUGACCUACAUGU GG	SEQ ID NO 479	AUUUUUGACCUACAUGGG AAA G
SEQ ID NO 475	UUUGACCUACAUGUGGAA AG	SEQ ID NO 480	UACGAGUUGAUUGUCGGA CCCAG
SEQ ID NO 476	UACAUUUUUGACCUACAU GUGGAAA G	SEQ ID NO 481	GUGGUCUCCUUACCUAUG ACUGUGG
SEQ ID	GGUCUCCUUACCUAUGA	SEQ ID	UGUCUCAGUAAUCUUCUU

[0347]

NO 477		NO 482	ACCUAU
SEQ ID NO 478	UCUUACCUAUGACUAUGG AUGAGA		
DMD基因外显子7			
SEQ ID NO 483	UGCAUGUCCAGUCGUUG UGUGG	SEQ ID NO 485	AUUUACCAACCUUCAGGAU CGAGUA
SEQ ID NO 484	CACUAUUCAGUCAAAUAG GUCUGG	SEQ ID NO 486	GGCCUAAAACACAUACACA UA
DMD基因外显子8			
SEQ ID NO 487	GAUAGGUGGUAUCAACAU CUGUAA	SEQ ID NO 490	UGUUGUUGUUUAUGCUCA UU
SEQ ID NO 488	GAUAGGUGGUAUCAACAU CUG	SEQ ID NO 491	GUACAUUAAGAUGGACUU C
SEQ ID NO 489	CUUCCUGGAUGGCUUGAA U		
DMD基因外显子55			
SEQ ID NO 492	CUGUUGCAGUAAUCUAUG AG	SEQ ID NO 495	UGCCAUUGUUUCAUCAGCU CUUU
SEQ ID NO 493	UGCAGUAAUCUAUGAGUU UC	SEQ ID NO 496	UCCUGUAGGACAUUGGCAG U
SEQ ID NO 494	GAGUCUUCUAGGAGCCUU	SEQ ID NO 497	CUUGGAGUCUUCUAGGAGC C
DMD基因外显子2			
SEQ ID NO 498	CCAUUUUGUGAAUGUUUU CUUUUGAACAUC	SEQ ID NO 500	GAAAAUUGUGCAUUUACCC AUUUU
SEQ ID NO 499	CCCAUUUUGUGAAUGUUUU UCUUUU	SEQ ID NO 501	UUGUGCAUUUACCCAUUUU GUG
DMD基因外显子11			
SEQ ID NO 502	CCCUGAGGCAUCCCAUC UUGAAU	SEQ ID NO 504	CUUGAAUUUAGGAGAUUC AUCUG

[0348]

SEQ ID NO 503	AGGACUUACUUGCUUUGU UU	SEQ ID NO 505	CAUCUUCUGAAUUAUUUCC UGUU
DMD基因外显子17			
SEQ ID NO 506	CCAUUACAGUUGUCUGUG UU	SEQ ID NO 508	UAAUCUGCCUCUUCUUUUG G
SEQ ID NO 507	UGACAGCCUGUGAAAUCU GUGAG		

DMD基因外显子19			
SEQ ID NO 509	CAGCAGUAGUUGUCAUCUG C	SEQ ID NO 511	GCCUGAGCUGAUCUGC UGGCAUCUUGCAGUU
SEQ ID NO 510	GCCUGAGCUGAUCUGCUGG CAUCUUGC	SEQ ID NO 512	UCUGCUGGCAUCUUGC
DMD基因外显子21			
SEQ ID NO 513	GCCGGUUGACUUCAUCCUG UGC	SEQ ID NO 516	CUGCAUCCAGGAACAU GGGUCC
SEQ ID NO 514	GUCUGCAUCCAGGAACAUG GGUC	SEQ ID NO 517	GUUGAAGAUCUGAUAG CCGGUUGA
SEQ ID NO 515	UACUUACUGUCUGUAGCUC UUUCU		
DMD基因外显子57			
SEQ ID NO 518	UAGGUGCCUGCCGGCUU	SEQ ID NO 520	CUGAACUGCUGGAAAG UCGCC
SEQ ID NO 519	UUCAGCUGUAGCCACACC	SEQ ID NO 521	CUGGCUUCCAAAUGGG ACCUGAAAAAGAAC
DMD基因外显子59			
SEQ ID NO 522	CAAUUUUUCCACUCAGUA UU	SEQ ID NO 524	UCCUCAGGAGGCAGCUC UAAAU
SEQ ID NO 523	UUGAAGUCCUGGAGUCUU		

[0349]

DMD基因外显子62			
SEQ ID NO 525	UGGCUCUCUCCCAGGG	SEQ ID NO 527	GGGCACUUUGUUUGGCG
SEQ ID NO 526	GAGAUGGCUCUCUCCCAGGG ACCCUGG		
DMD基因外显子63			
SEQ ID NO 528	GGUCCCAGCAAGUUGUUUG	SEQ ID NO 530	GUAGAGCUCUGUCAUUU UGGG
SEQ ID NO 529	UGGGAUGGUCCCAGCAAGUU GUUUG		
DMD基因外显子65			
SEQ ID NO 531	GCUCAAGAGAUCCACUGCAA AAAAC	SEQ ID NO 533	UCUGCAGGAUAUCCAUG GGCUGGUC
SEQ ID NO 532	GCCAUACGUACGUAUCAUAA ACAUUC		
DMD基因外显子66			
SEQ ID NO 534	GAUCCUCCCUGUUCGUCCCC UAUUAUG		
DMD基因外显子69			
SEQ ID NO 535	UGCUIUAGACUCCUGUACCU GAUA		
DMD基因外显子75			
SEQ ID NO 536	GGCGGCCUUGUGUUGAC	SEQ ID NO 538	CCUUAUGUUCGUGCUG CU
SEQ ID NO 537	GGACAGGCCUUAUGUUCGU GCUGC		

[0350] 人 IGF-1 同型 4 氨基酸序列

[0351] SEQ ID NO 577:

[0352] MGKISSLPQLFKCCFCDFLKVKMHTMSSSHLFYLALCLLTFTSSATAGPETLCGAE

[0353] LVDALQFVCGDRGFYFNKPTGYGSSRRAPQTGIVDECCFRSCDLRRLEMYCAPL
[0354] KPAKSARSVRAQRHTDMPKTQKEVHLKNASRGSAKNKYRM

[0001]

序列表

<110> 普罗森那技术公司(Prosensa Technologies B.V.)

<120> 通过外显子跳跃治疗DMD的包含肌苷的寡核苷酸

<130> P6024692PCT

<150> US 61/172,506

<151> 2009-04-24

<150> EP 09158731.1

<151> 2009-04-24

<160> 577

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 3685

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

Met Leu Trp Trp Glu Glu Val Glu Asp Cys Tyr Glu Arg Glu Asp Val
1 5 10 15

Gln Lys Lys Thr Phe Thr Lys Trp Val Asn Ala Gln Phe Ser Lys Phe
20 25 30

Gly Lys Gln His Ile Glu Asn Leu Phe Ser Asp Leu Gln Asp Gly Arg
35 40 45

Arg Leu Leu Asp Leu Leu Glu Gly Leu Thr Gly Gln Lys Leu Pro Lys
50 55 60

Glu Lys Gly Ser Thr Arg Val His Ala Leu Asn Asn Val Asn Lys Ala
65 70 75 80

Leu Arg Val Leu Gln Asn Asn Asn Val Asp Leu Val Asn Ile Gly Ser
85 90 95

Thr Asp Ile Val Asp Gly Asn His Lys Leu Thr Leu Gly Leu Ile Trp
100 105 110

Asn Ile Ile Leu His Trp Gln Val Lys Asn Val Met Lys Asn Ile Met
115 120 125

Ala Gly Leu Gln Gln Thr Asn Ser Glu Lys Ile Leu Leu Ser Trp Val
130 135 140

Arg Gln Ser Thr Arg Asn Tyr Pro Gln Val Asn Val Ile Asn Phe Thr
145 150 155 160

[0002]

Thr	Ser	Trp	Ser	Asp	Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Ala	Leu	Ile	His	Ser	His
				165					170					175	
Arg	Pro	Asp	Leu	Phe	Asp	Trp	Asn	Ser	Val	Val	Cys	Gln	Gln	Ser	Ala
			180					185					190		
Thr	Gln	Arg	Leu	Glu	His	Ala	Phe	Asn	Ile	Ala	Arg	Tyr	Gln	Leu	Gly
		195					200					205			
Ile	Glu	Lys	Leu	Leu	Asp	Pro	Glu	Asp	Val	Asp	Thr	Thr	Tyr	Pro	Asp
	210					215					220				
Lys	Lys	Ser	Ile	Leu	Met	Tyr	Ile	Thr	Ser	Leu	Phe	Gln	Val	Leu	Pro
225					230					235					240
Gln	Gln	Val	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Gln	Glu	Val	Glu	Met	Leu	Pro	Arg
				245					250					255	
Pro	Pro	Lys	Val	Thr	Lys	Glu	Glu	His	Phe	Gln	Leu	His	His	Gln	Met
			260					265						270	
His	Tyr	Ser	Gln	Gln	Ile	Thr	Val	Ser	Leu	Ala	Gln	Gly	Tyr	Glu	Arg
		275					280					285			
Thr	Ser	Ser	Pro	Lys	Pro	Arg	Phe	Lys	Ser	Tyr	Ala	Tyr	Thr	Gln	Ala
	290					295					300				
Ala	Tyr	Val	Thr	Thr	Ser	Asp	Pro	Thr	Arg	Ser	Pro	Phe	Pro	Ser	Gln
305						310				315					320
His	Leu	Glu	Ala	Pro	Glu	Asp	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Ser	Leu	Met	Glu
				325					330					335	
Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Asp	Arg	Tyr	Gln	Thr	Ala	Leu	Glu	Glu	Val	Leu
			340					345					350		
Ser	Trp	Leu	Leu	Ser	Ala	Glu	Asp	Thr	Leu	Gln	Ala	Gln	Gly	Glu	Ile
		355					360					365			
Ser	Asn	Asp	Val	Glu	Val	Val	Lys	Asp	Gln	Phe	His	Thr	His	Glu	Gly
	370					375					380				
Tyr	Met	Met	Asp	Leu	Thr	Ala	His	Gln	Gly	Arg	Val	Gly	Asn	Ile	Leu
385					390					395					400
Gln	Leu	Gly	Ser	Lys	Leu	Ile	Gly	Thr	Gly	Lys	Leu	Ser	Glu	Asp	Glu
				405					410					415	

[0003]

Glu Thr Glu Val	Gln Glu Gln Met	Asn Leu Leu Asn Ser	Arg Trp Glu
420	425		430
Cys Leu Arg Val	Ala Ser Met Glu	Lys Gln Ser Asn Leu	His Arg Val
435	440		445
Leu Met Asp Leu	Gln Asn Gln Lys	Leu Lys Glu Leu	Asn Asp Trp Leu
450	455		460
Thr Lys Thr Glu	Glu Arg Thr Arg	Lys Met Glu Glu	Glu Pro Leu Gly
465	470	475	480
Pro Asp Leu Glu	Asp Leu Lys Arg	Gln Val Gln Gln	His Lys Val Leu
	485	490	495
Gln Glu Asp Leu	Glu Gln Glu Gln	Val Arg Val Asn	Ser Leu Thr His
	500	505	510
Met Val Val Val	Val Asp Glu Ser	Ser Gly Asp His	Ala Thr Ala Ala
	515	520	525
Leu Glu Glu Gln	Leu Lys Val Leu	Gly Asp Arg Trp	Ala Asn Ile Cys
	530	535	540
Arg Trp Thr Glu	Asp Arg Trp Val	Leu Leu Gln Asp	Ile Leu Leu Lys
545	550	555	560
Trp Gln Arg Leu	Thr Glu Glu Gln	Cys Leu Phe Ser	Ala Trp Leu Ser
	565	570	575
Glu Lys Glu Asp	Ala Val Asn Lys	Ile His Thr Thr	Gly Phe Lys Asp
	580	585	590
Gln Asn Glu Met	Leu Ser Ser Leu	Gln Lys Leu Ala	Val Leu Lys Ala
	595	600	605
Asp Leu Glu Lys	Lys Lys Gln Ser	Met Gly Lys Leu	Tyr Ser Leu Lys
	610	615	620
Gln Asp Leu Leu	Ser Thr Leu Lys	Asn Lys Ser Val	Thr Gln Lys Thr
	625	630	635
Glu Ala Trp Leu	Asp Asn Phe Ala	Arg Cys Trp Asp	Asn Leu Val Gln
	645	650	655
Lys Leu Glu Lys	Ser Thr Ala Gln	Ile Ser Gln Ala	Val Thr Thr Thr
	660	665	670

[0004]

Gln	Pro	Ser	Leu	Thr	Gln	Thr	Thr	Val	Met	Glu	Thr	Val	Thr	Thr	Val
		675					680					685			
Thr	Thr	Arg	Glu	Gln	Ile	Leu	Val	Lys	His	Ala	Gln	Glu	Glu	Leu	Pro
	690					695					700				
Pro	Pro	Pro	Pro	Gln	Lys	Lys	Arg	Gln	Ile	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Ile
705					710					715					720
Arg	Lys	Arg	Leu	Asp	Val	Asp	Ile	Thr	Glu	Leu	His	Ser	Trp	Ile	Thr
				725					730					735	
Arg	Ser	Glu	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Pro	Glu	Phe	Ala	Ile	Phe	Arg	Lys
			740					745					750		
Glu	Gly	Asn	Phe	Ser	Asp	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Asn	Ala	Ile	Glu	Arg
		755					760					765			
Glu	Lys	Ala	Glu	Lys	Phe	Arg	Lys	Leu	Gln	Asp	Ala	Ser	Arg	Ser	Ala
	770					775					780				
Gln	Ala	Leu	Val	Glu	Gln	Met	Val	Asn	Glu	Gly	Val	Asn	Ala	Asp	Ser
785					790					795					800
Ile	Lys	Gln	Ala	Ser	Glu	Gln	Leu	Asn	Ser	Arg	Trp	Ile	Glu	Phe	Cys
				805					810					815	
Gln	Leu	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Asn	Trp	Leu	Glu	Tyr	Gln	Asn	Asn	Ile
			820					825					830		
Ile	Ala	Phe	Tyr	Asn	Gln	Leu	Gln	Gln	Leu	Glu	Gln	Met	Thr	Thr	Thr
		835					840					845			
Ala	Glu	Asn	Trp	Leu	Lys	Ile	Gln	Pro	Thr	Thr	Pro	Ser	Glu	Pro	Thr
	850					855					860				
Ala	Ile	Lys	Ser	Gln	Leu	Lys	Ile	Cys	Lys	Asp	Glu	Val	Asn	Arg	Leu
865					870					875					880
Ser	Gly	Leu	Gln	Pro	Gln	Ile	Glu	Arg	Leu	Lys	Ile	Gln	Ser	Ile	Ala
				885					890					895	
Leu	Lys	Glu	Lys	Gly	Gln	Gly	Pro	Met	Phe	Leu	Asp	Ala	Asp	Phe	Val
			900					905					910		
Ala	Phe	Thr	Asn	His	Phe	Lys	Gln	Val	Phe	Ser	Asp	Val	Gln	Ala	Arg
		915					920					925			

[0005]

Glu Lys Glu Leu Gln Thr Ile Phe Asp Thr Leu Pro Pro Met Arg Tyr 930	935	940
Gln Glu Thr Met Ser Ala Ile Arg Thr Trp Val Gln Gln Ser Glu Thr 945	950	955 960
Lys Leu Ser Ile Pro Gln Leu Ser Val Thr Asp Tyr Glu Ile Met Glu 965	970	975
Gln Arg Leu Gly Glu Leu Gln Ala Leu Gln Ser Ser Leu Gln Glu Gln 980	985	990
Gln Ser Gly Leu Tyr Tyr Leu Ser Thr Thr Val Lys Glu Met Ser Lys 995	1000	1005
Lys Ala Pro Ser Glu Ile Ser Arg Lys Tyr Gln Ser Glu Phe Glu 1010	1015	1020
Glu Ile Glu Gly Arg Trp Lys Lys Leu Ser Ser Gln Leu Val Glu 1025	1030	1035
His Cys Gln Lys Leu Glu Glu Gln Met Asn Lys Leu Arg Lys Ile 1040	1045	1050
Gln Asn His Ile Gln Thr Leu Lys Lys Trp Met Ala Glu Val Asp 1055	1060	1065
Val Phe Leu Lys Glu Glu Trp Pro Ala Leu Gly Asp Ser Glu Ile 1070	1075	1080
Leu Lys Lys Gln Leu Lys Gln Cys Arg Leu Leu Val Ser Asp Ile 1085	1090	1095
Gln Thr Ile Gln Pro Ser Leu Asn Ser Val Asn Glu Gly Gly Gln 1100	1105	1110
Lys Ile Lys Asn Glu Ala Glu Pro Glu Phe Ala Ser Arg Leu Glu 1115	1120	1125
Thr Glu Leu Lys Glu Leu Asn Thr Gln Trp Asp His Met Cys Gln 1130	1135	1140
Gln Val Tyr Ala Arg Lys Glu Ala Leu Lys Gly Gly Leu Glu Lys 1145	1150	1155
Thr Val Ser Leu Gln Lys Asp Leu Ser Glu Met His Glu Trp Met 1160	1165	1170

[0006]

Thr	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Arg	Asp	Phe	Glu	Tyr	Lys
1175						1180					1185			
Thr	Pro	Asp	Glu	Leu	Gln	Lys	Ala	Val	Glu	Glu	Met	Lys	Arg	Ala
1190						1195					1200			
Lys	Glu	Glu	Ala	Gln	Gln	Lys	Glu	Ala	Lys	Val	Lys	Leu	Leu	Thr
1205						1210					1215			
Glu	Ser	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gln
1220						1225					1230			
Glu	Ala	Leu	Lys	Lys	Glu	Leu	Glu	Thr	Leu	Thr	Thr	Asn	Tyr	Gln
1235						1240					1245			
Trp	Leu	Cys	Thr	Arg	Leu	Asn	Gly	Lys	Cys	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu
1250						1255					1260			
Val	Trp	Ala	Cys	Trp	His	Glu	Leu	Leu	Ser	Tyr	Leu	Glu	Lys	Ala
1265						1270					1275			
Asn	Lys	Trp	Leu	Asn	Glu	Val	Glu	Phe	Lys	Leu	Lys	Thr	Thr	Glu
1280						1285					1290			
Asn	Ile	Pro	Gly	Gly	Ala	Glu	Glu	Ile	Ser	Glu	Val	Leu	Asp	Ser
1295						1300					1305			
Leu	Glu	Asn	Leu	Met	Arg	His	Ser	Glu	Asp	Asn	Pro	Asn	Gln	Ile
1310						1315					1320			
Arg	Ile	Leu	Ala	Gln	Thr	Leu	Thr	Asp	Gly	Gly	Val	Met	Asp	Glu
1325						1330					1335			
Leu	Ile	Asn	Glu	Glu	Leu	Glu	Thr	Phe	Asn	Ser	Arg	Trp	Arg	Glu
1340						1345					1350			
Leu	His	Glu	Glu	Ala	Val	Arg	Arg	Gln	Lys	Leu	Leu	Glu	Gln	Ser
1355						1360					1365			
Ile	Gln	Ser	Ala	Gln	Glu	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	His	Leu	Ile	Gln
1370						1375					1380			
Glu	Ser	Leu	Thr	Phe	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Ala	Ala	Tyr	Ile	Ala
1385						1390					1395			
Asp	Lys	Val	Asp	Ala	Ala	Gln	Met	Pro	Gln	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile
1400						1405					1410			

[0007]

Gln Ser Asp Leu Thr Ser His Glu Ile Ser Leu Glu Glu Met Lys 1415 1420 1425
Lys His Asn Gln Gly Lys Glu Ala Ala Gln Arg Val Leu Ser Gln 1430 1435 1440
Ile Asp Val Ala Gln Lys Lys Leu Gln Asp Val Ser Met Lys Phe 1445 1450 1455
Arg Leu Phe Gln Lys Pro Ala Asn Phe Glu Gln Arg Leu Gln Glu 1460 1465 1470
Ser Lys Met Ile Leu Asp Glu Val Lys Met His Leu Pro Ala Leu 1475 1480 1485
Glu Thr Lys Ser Val Glu Gln Glu Val Val Gln Ser Gln Leu Asn 1490 1495 1500
His Cys Val Asn Leu Tyr Lys Ser Leu Ser Glu Val Lys Ser Glu 1505 1510 1515
Val Glu Met Val Ile Lys Thr Gly Arg Gln Ile Val Gln Lys Lys 1520 1525 1530
Gln Thr Glu Asn Pro Lys Glu Leu Asp Glu Arg Val Thr Ala Leu 1535 1540 1545
Lys Leu His Tyr Asn Glu Leu Gly Ala Lys Val Thr Glu Arg Lys 1550 1555 1560
Gln Gln Leu Glu Lys Cys Leu Lys Leu Ser Arg Lys Met Arg Lys 1565 1570 1575
Glu Met Asn Val Leu Thr Glu Trp Leu Ala Ala Thr Asp Met Glu 1580 1585 1590
Leu Thr Lys Arg Ser Ala Val Glu Gly Met Pro Ser Asn Leu Asp 1595 1600 1605
Ser Glu Val Ala Trp Gly Lys Ala Thr Gln Lys Glu Ile Glu Lys 1610 1615 1620
Gln Lys Val His Leu Lys Ser Ile Thr Glu Val Gly Glu Ala Leu 1625 1630 1635
Lys Thr Val Leu Gly Lys Lys Glu Thr Leu Val Glu Asp Lys Leu 1640 1645 1650

[0008]

Ser 1655	Leu	Asn	Ser	Asn	Trp 1660	Ile	Ala	Val	Thr	Ser 1665	Arg	Ala	Glu
Glu 1670	Trp	Leu	Asn	Leu	Leu 1675	Glu	Tyr	Gln	Lys	His 1680	Met	Glu	Thr
Phe 1685	Asp	Gln	Asn	Val	Asp 1690	Ile	Thr	Lys	Trp	Ile 1695	Ile	Gln	Ala
Asp 1700	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu 1705	Ser	Glu	Lys	Lys	Lys	Pro 1710	Gln	Gln
Glu 1715	Asp	Val	Leu	Lys	Arg 1720	Leu	Lys	Ala	Glu	Leu	Asn 1725	Asp	Ile
Pro 1730	Lys	Val	Asp	Ser	Thr 1735	Arg	Asp	Gln	Ala	Ala	Asn 1740	Leu	Met
Asn 1745	Arg	Gly	Asp	His	Cys 1750	Arg	Lys	Leu	Val	Glu	Pro 1755	Gln	Ile
Glu 1760	Leu	Asn	His	Arg	Phe 1765	Ala	Ala	Ile	Ser	His	Arg 1770	Ile	Lys
Gly 1775	Lys	Ala	Ser	Ile	Pro 1780	Leu	Lys	Glu	Leu	Glu	Gln 1785	Phe	Asn
Asp 1790	Ile	Gln	Lys	Leu	Leu 1795	Glu	Pro	Leu	Glu	Ala	Glu 1800	Ile	Gln
Gly 1805	Val	Asn	Leu	Lys	Glu 1810	Glu	Asp	Phe	Asn	Lys	Asp 1815	Met	Asn
Asp 1820	Asn	Glu	Gly	Thr	Val 1825	Lys	Glu	Leu	Leu	Gln	Arg 1830	Gly	Asp
Leu 1835	Gln	Gln	Arg	Ile	Thr 1840	Asp	Glu	Arg	Lys	Arg	Glu 1845	Glu	Ile
Ile 1850	Lys	Gln	Gln	Leu	Leu 1855	Gln	Thr	Lys	His	Asn	Ala 1860	Leu	Lys
Leu 1865	Arg	Ser	Gln	Arg	Arg 1870	Lys	Lys	Ala	Leu	Glu	Ile 1875	Ser	His
Trp 1880	Tyr	Gln	Tyr	Lys	Arg 1885	Gln	Ala	Asp	Asp	Leu	Leu 1890	Lys	Cys

[0009]

Asp 1895	Asp	Ile	Glu	Lys	Lys	Leu 1900	Ala	Ser	Leu	Pro	Glu 1905	Pro	Arg	Asp
Glu 1910	Arg	Lys	Ile	Lys	Glu	Ile 1915	Asp	Arg	Glu	Leu	Gln 1920	Lys	Lys	Lys
Glu 1925	Glu	Leu	Asn	Ala	Val	Arg 1930	Arg	Gln	Ala	Glu	Gly 1935	Leu	Ser	Glu
Asp 1940	Gly	Ala	Ala	Met	Ala	Val 1945	Glu	Pro	Thr	Gln	Ile 1950	Gln	Leu	Ser
Lys 1955	Arg	Trp	Arg	Glu	Ile	Glu 1960	Ser	Lys	Phe	Ala	Gln 1965	Phe	Arg	Arg
Leu 1970	Asn	Phe	Ala	Gln	Ile	His 1975	Thr	Val	Arg	Glu	Glu 1980	Thr	Met	Met
Val 1985	Met	Thr	Glu	Asp	Met	Pro 1990	Leu	Glu	Ile	Ser	Tyr 1995	Val	Pro	Ser
Thr 2000	Tyr	Leu	Thr	Glu	Ile	Thr 2005	His	Val	Ser	Gln	Ala 2010	Leu	Leu	Glu
Val 2015	Glu	Gln	Leu	Leu	Asn	Ala 2020	Pro	Asp	Leu	Cys	Ala 2025	Lys	Asp	Phe
Glu 2030	Asp	Leu	Phe	Lys	Gln	Glu 2035	Glu	Ser	Leu	Lys	Asn 2040	Ile	Lys	Asp
Ser 2045	Leu	Gln	Gln	Ser	Ser	Gly 2050	Arg	Ile	Asp	Ile	Ile 2055	His	Ser	Lys
Lys 2060	Thr	Ala	Ala	Leu	Gln	Ser 2065	Ala	Thr	Pro	Val	Glu 2070	Arg	Val	Lys
Leu 2075	Gln	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln 2080	Leu	Asp	Phe	Gln	Trp 2085	Glu	Lys	Val
Asn 2090	Lys	Met	Tyr	Lys	Asp	Arg 2095	Gln	Gly	Arg	Phe	Asp 2100	Arg	Ser	Val
Glu 2105	Lys	Trp	Arg	Arg	Phe	His 2110	Tyr	Asp	Ile	Lys	Ile 2115	Phe	Asn	Gln
Trp 2120	Leu	Thr	Glu	Ala	Glu	Gln 2125	Phe	Leu	Arg	Lys	Thr 2130	Gln	Ile	Pro

[0010]

Glu 2135	Asn	Trp	Glu	His	Ala	Lys 2140	Tyr	Lys	Trp	Tyr	Leu 2145	Lys	Glu	Leu
Gln 2150	Asp	Gly	Ile	Gly	Gln	Arg 2155	Gln	Thr	Val	Val	Arg 2160	Thr	Leu	Asn
Ala 2165	Thr	Gly	Glu	Glu	Ile	Ile 2170	Gln	Gln	Ser	Ser	Lys 2175	Thr	Asp	Ala
Ser 2180	Ile	Leu	Gln	Glu	Lys	Leu 2185	Gly	Ser	Leu	Asn	Leu 2190	Arg	Trp	Gln
Glu 2195	Val	Cys	Lys	Gln	Leu	Ser 2200	Asp	Arg	Lys	Lys	Arg 2205	Leu	Glu	Glu
Gln 2210	Lys	Asn	Ile	Leu	Ser	Glu 2215	Phe	Gln	Arg	Asp	Leu 2220	Asn	Glu	Phe
Val 2225	Leu	Trp	Leu	Glu	Glu	Ala 2230	Asp	Asn	Ile	Ala	Ser 2235	Ile	Pro	Leu
Glu 2240	Pro	Gly	Lys	Glu	Gln	Gln 2245	Leu	Lys	Glu	Lys	Leu 2250	Glu	Gln	Val
Lys 2255	Leu	Leu	Val	Glu	Glu	Leu 2260	Pro	Leu	Arg	Gln	Gly 2265	Ile	Leu	Lys
Gln 2270	Leu	Asn	Glu	Thr	Gly	Gly 2275	Pro	Val	Leu	Val	Ser 2280	Ala	Pro	Ile
Ser 2285	Pro	Glu	Glu	Gln	Asp	Lys 2290	Leu	Glu	Asn	Lys	Leu 2295	Lys	Gln	Thr
Asn 2300	Leu	Gln	Trp	Ile	Lys	Val 2305	Ser	Arg	Ala	Leu	Pro 2310	Glu	Lys	Gln
Gly 2315	Glu	Ile	Glu	Ala	Gln	Ile 2320	Lys	Asp	Leu	Gly	Gln 2325	Leu	Glu	Lys
Lys 2330	Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Glu 2335	Gln	Leu	Asn	His	Leu 2340	Leu	Leu	Trp
Leu 2345	Ser	Pro	Ile	Arg	Asn	Gln 2350	Leu	Glu	Ile	Tyr	Asn 2355	Gln	Pro	Asn
Gln 2360	Glu	Gly	Pro	Phe	Asp	Val 2365	Gln	Glu	Thr	Glu	Ile 2370	Ala	Val	Gln

[0011]

Ala Lys	Gln Pro Asp Val	Glu	Glu Ile Leu Ser	Lys	Gly Gln His
2375		2380		2385	
Leu Tyr	Lys Glu Lys Pro	Ala	Thr Gln Pro Val	Lys	Arg Lys Leu
2390		2395		2400	
Glu Asp	Leu Ser Ser Glu	Trp	Lys Ala Val Asn	Arg	Leu Leu Gln
2405		2410		2415	
Glu Leu	Arg Ala Lys Gln	Pro	Asp Leu Ala Pro	Gly	Leu Thr Thr
2420		2425		2430	
Ile Gly	Ala Ser Pro Thr	Gln	Thr Val Thr Leu	Val	Thr Gln Pro
2435		2440		2445	
Val Val	Thr Lys Glu Thr	Ala	Ile Ser Lys Leu	Glu	Met Pro Ser
2450		2455		2460	
Ser Leu	Met Leu Glu Val	Pro	Ala Leu Ala Asp	Phe	Asn Arg Ala
2465		2470		2475	
Trp Thr	Glu Leu Thr Asp	Trp	Leu Ser Leu Leu	Asp	Gln Val Ile
2480		2485		2490	
Lys Ser	Gln Arg Val Met	Val	Gly Asp Leu Glu	Asp	Ile Asn Glu
2495		2500		2505	
Met Ile	Ile Lys Gln Lys	Ala	Thr Met Gln Asp	Leu	Glu Gln Arg
2510		2515		2520	
Arg Pro	Gln Leu Glu Glu	Leu	Ile Thr Ala Ala	Gln	Asn Leu Lys
2525		2530		2535	
Asn Lys	Thr Ser Asn Gln	Glu	Ala Arg Thr Ile	Ile	Thr Asp Arg
2540		2545		2550	
Ile Glu	Arg Ile Gln Asn	Gln	Trp Asp Glu Val	Gln	Glu His Leu
2555		2560		2565	
Gln Asn	Arg Arg Gln Gln	Leu	Asn Glu Met Leu	Lys	Asp Ser Thr
2570		2575		2580	
Gln Trp	Leu Glu Ala Lys	Glu	Glu Ala Glu Gln	Val	Leu Gly Gln
2585		2590		2595	
Ala Arg	Ala Lys Leu Glu	Ser	Trp Lys Glu Gly	Pro	Tyr Thr Val
2600		2605		2610	

[0012]

Asp 2615	Ala	Ile	Gln	Lys	Lys	Ile 2620	Thr	Glu	Thr	Lys	Gln 2625	Leu	Ala	Lys
Asp 2630	Leu	Arg	Gln	Trp	Gln	Thr 2635	Asn	Val	Asp	Val	Ala 2640	Asn	Asp	Leu
Ala 2645	Leu	Lys	Leu	Leu	Arg	Asp 2650	Tyr	Ser	Ala	Asp	Asp 2655	Thr	Arg	Lys
Val 2660	His	Met	Ile	Thr	Glu	Asn 2665	Ile	Asn	Ala	Ser	Trp 2670	Arg	Ser	Ile
His 2675	Lys	Arg	Val	Ser	Glu	Arg 2680	Glu	Ala	Ala	Leu	Glu 2685	Glu	Thr	His
Arg 2690	Leu	Leu	Gln	Gln	Phe	Pro 2695	Leu	Asp	Leu	Glu	Lys 2700	Phe	Leu	Ala
Trp 2705	Leu	Thr	Glu	Ala	Glu	Thr 2710	Thr	Ala	Asn	Val	Leu 2715	Gln	Asp	Ala
Thr 2720	Arg	Lys	Glu	Arg	Leu	Leu 2725	Glu	Asp	Ser	Lys	Gly 2730	Val	Lys	Glu
Leu 2735	Met	Lys	Gln	Trp	Gln	Asp 2740	Leu	Gln	Gly	Glu	Ile 2745	Glu	Ala	His
Thr 2750	Asp	Val	Tyr	His	Asn	Leu 2755	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln 2760	Lys	Ile	Leu
Arg 2765	Ser	Leu	Glu	Gly	Ser	Asp 2770	Asp	Ala	Val	Leu	Leu 2775	Gln	Arg	Arg
Leu 2780	Asp	Asn	Met	Asn	Phe	Lys 2785	Trp	Ser	Glu	Leu	Arg 2790	Lys	Lys	Ser
Leu 2795	Asn	Ile	Arg	Ser	His	Leu 2800	Glu	Ala	Ser	Ser	Asp 2805	Gln	Trp	Lys
Arg 2810	Leu	His	Leu	Ser	Leu	Gln 2815	Glu	Leu	Leu	Val	Trp 2820	Leu	Gln	Leu
Lys 2825	Asp	Asp	Glu	Leu	Ser	Arg 2830	Gln	Ala	Pro	Ile	Gly 2835	Gly	Asp	Phe
Pro 2840	Ala	Val	Gln	Lys	Gln	Asn 2845	Asp	Val	His	Arg	Ala 2850	Phe	Lys	Arg

[0013]

Glu 2855	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Pro 2860	Val	Ile	Met	Ser	Thr 2865	Leu	Glu	Thr
Val 2870	Arg	Ile	Phe	Leu	Thr	Glu 2875	Gln	Pro	Leu	Glu	Gly 2880	Leu	Glu	Lys
Leu 2885	Tyr	Gln	Glu	Pro	Arg	Glu 2890	Leu	Pro	Pro	Glu	Glu 2895	Arg	Ala	Gln
Asn 2900	Val	Thr	Arg	Leu	Leu	Arg 2905	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu 2910	Val	Asn	Thr
Glu 2915	Trp	Glu	Lys	Leu	Asn	Leu 2920	His	Ser	Ala	Asp	Trp 2925	Gln	Arg	Lys
Ile 2930	Asp	Glu	Thr	Leu	Glu	Arg 2935	Leu	Gln	Glu	Leu	Gln 2940	Glu	Ala	Thr
Asp 2945	Glu	Leu	Asp	Leu	Lys	Leu 2950	Arg	Gln	Ala	Glu	Val 2955	Ile	Lys	Gly
Ser 2960	Trp	Gln	Pro	Val	Gly	Asp 2965	Leu	Leu	Ile	Asp	Ser 2970	Leu	Gln	Asp
His 2975	Leu	Glu	Lys	Val	Lys	Ala 2980	Leu	Arg	Gly	Glu	Ile 2985	Ala	Pro	Leu
Lys 2990	Glu	Asn	Val	Ser	His	Val 2995	Asn	Asp	Leu	Ala	Arg 3000	Gln	Leu	Thr
Thr 3005	Leu	Gly	Ile	Gln	Leu	Ser 3010	Pro	Tyr	Asn	Leu	Ser 3015	Thr	Leu	Glu
Asp 3020	Leu	Asn	Thr	Arg	Trp	Lys 3025	Leu	Leu	Gln	Val	Ala 3030	Val	Glu	Asp
Arg 3035	Val	Arg	Gln	Leu	His	Glu 3040	Ala	His	Arg	Asp	Phe 3045	Gly	Pro	Ala
Ser 3050	Gln	His	Phe	Leu	Ser	Thr 3055	Ser	Val	Gln	Gly	Pro 3060	Trp	Glu	Arg
Ala 3065	Ile	Ser	Pro	Asn	Lys	Val 3070	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Asn 3075	His	Glu	Thr
Gln 3080	Thr	Thr	Cys	Trp	Asp	His 3085	Pro	Lys	Met	Thr	Glu 3090	Leu	Tyr	Gln

[0014]

Ser 3095	Leu	Ala	Asp	Leu	Asn	Asn	Val	Arg	Phe	Ser	Ala	Tyr	Arg	Thr
3105														
Ala 3110	Met	Lys	Leu	Arg	Arg	Leu	Gln	Lys	Ala	Leu	Cys	Leu	Asp	Leu
3125														
Leu 3125	Ser	Leu	Ser	Ala	Ala	Cys	Asp	Ala	Leu	Asp	Gln	His	Asn	Leu
3130														
Lys 3140	Gln	Asn	Asp	Gln	Pro	Met	Asp	Ile	Leu	Gln	Ile	Ile	Asn	Cys
3145														
Leu 3155	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asp	Arg	Leu	Glu	Gln	Glu	His	Asn	Asn	Leu
3160														
Val 3170	Asn	Val	Pro	Leu	Cys	Val	Asp	Met	Cys	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu
3175														
Asn 3185	Val	Tyr	Asp	Thr	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Ile	Arg	Val	Leu	Ser
3190														
Phe 3200	Lys	Thr	Gly	Ile	Ile	Ser	Leu	Cys	Lys	Ala	His	Leu	Glu	Asp
3205														
Lys 3215	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Phe	Lys	Gln	Val	Ala	Ser	Ser	Thr	Gly	Phe
3220														
Cys 3230	Asp	Gln	Arg	Arg	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	His	Asp	Ser	Ile	Gln
3235														
Ile 3245	Pro	Arg	Gln	Leu	Gly	Glu	Val	Ala	Ser	Phe	Gly	Gly	Ser	Asn
3250														
Ile 3260	Glu	Pro	Ser	Val	Arg	Ser	Cys	Phe	Gln	Phe	Ala	Asn	Asn	Lys
3265														
Pro 3275	Glu	Ile	Glu	Ala	Ala	Leu	Phe	Leu	Asp	Trp	Met	Arg	Leu	Glu
3280														
Pro 3290	Gln	Ser	Met	Val	Trp	Leu	Pro	Val	Leu	His	Arg	Val	Ala	Ala
3295														
Ala 3305	Glu	Thr	Ala	Lys	His	Gln	Ala	Lys	Cys	Asn	Ile	Cys	Lys	Glu
3310														
Cys 3320	Pro	Ile	Ile	Gly	Phe	Arg	Tyr	Arg	Ser	Leu	Lys	His	Phe	Asn
3325														

[0015]

Tyr 3335	Asp	Ile	Cys	Gln	Ser	Cys 3340	Phe	Phe	Ser	Gly	Arg 3345	Val	Ala	Lys
Gly 3350	His	Lys	Met	His	Tyr	Pro 3355	Met	Val	Glu	Tyr	Cys 3360	Thr	Pro	Thr
Thr 3365	Ser	Gly	Glu	Asp	Val	Arg 3370	Asp	Phe	Ala	Lys	Val 3375	Leu	Lys	Asn
Lys 3380	Phe	Arg	Thr	Lys	Arg	Tyr 3385	Phe	Ala	Lys	His	Pro 3390	Arg	Met	Gly
Tyr 3395	Leu	Pro	Val	Gln	Thr	Val 3400	Leu	Glu	Gly	Asp	Asn 3405	Met	Glu	Thr
Pro 3410	Val	Thr	Leu	Ile	Asn	Phe 3415	Trp	Pro	Val	Asp	Ser 3420	Ala	Pro	Ala
Ser 3425	Ser	Pro	Gln	Leu	Ser	His 3430	Asp	Asp	Thr	His	Ser 3435	Arg	Ile	Glu
His 3440	Tyr	Ala	Ser	Arg	Leu	Ala 3445	Glu	Met	Glu	Asn	Ser 3450	Asn	Gly	Ser
Tyr 3455	Leu	Asn	Asp	Ser	Ile	Ser 3460	Pro	Asn	Glu	Ser	Ile 3465	Asp	Asp	Glu
His 3470	Leu	Leu	Ile	Gln	His	Tyr 3475	Cys	Gln	Ser	Leu	Asn 3480	Gln	Asp	Ser
Pro 3485	Leu	Ser	Gln	Pro	Arg	Ser 3490	Pro	Ala	Gln	Ile	Leu 3495	Ile	Ser	Leu
Glu 3500	Ser	Glu	Glu	Arg	Gly	Glu 3505	Leu	Glu	Arg	Ile	Leu 3510	Ala	Asp	Leu
Glu 3515	Glu	Glu	Asn	Arg	Asn	Leu 3520	Gln	Ala	Glu	Tyr	Asp 3525	Arg	Leu	Lys
Gln 3530	Gln	His	Glu	His	Lys	Gly 3535	Leu	Ser	Pro	Leu	Pro 3540	Ser	Pro	Pro
Glu 3545	Met	Met	Pro	Thr	Ser	Pro 3550	Gln	Ser	Pro	Arg	Asp 3555	Ala	Glu	Leu
Ile 3560	Ala	Glu	Ala	Lys	Leu	Leu 3565	Arg	Gln	His	Lys	Gly 3570	Arg	Leu	Glu

[0016]

Ala Arg Met Gln Ile Leu Glu Asp His Asn Lys Gln Leu Glu Ser
3575 3580 3585

Gln Leu His Arg Leu Arg Gln Leu Leu Glu Gln Pro Gln Ala Glu
3590 3595 3600

Ala Lys Val Asn Gly Thr Thr Val Ser Ser Pro Ser Thr Ser Leu
3605 3610 3615

Gln Arg Ser Asp Ser Ser Gln Pro Met Leu Leu Arg Val Val Gly
3620 3625 3630

Ser Gln Thr Ser Asp Ser Met Gly Glu Glu Asp Leu Leu Ser Pro
3635 3640 3645

Pro Gln Asp Thr Ser Thr Gly Leu Glu Glu Val Met Glu Gln Leu
3650 3655 3660

Asn Asn Ser Phe Pro Ser Ser Arg Gly Arg Asn Thr Pro Gly Lys
3665 3670 3675

Pro Met Arg Glu Asp Thr Met
3680 3685

<210> 2
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 2
guaccuccaa caucaaggaa gaugg

25

<210> 3
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 3
uaccuccaac aucaaggaag auggc

25

<210> 4
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

16

[0017]

<400> 4 accuccaaca ucaaggaaga uggca	25
<210> 5 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 5 ccuccaacaau caaggaagau ggcau	25
<210> 6 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 6 cuccaacauc aaggaaug gcauu	25
<210> 7 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 7 uccaacauca aggaaugg cauuu	25
<210> 8 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 8 ccaacauc aa ggaauggc auuuc	25
<210> 9 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 9 caacaucaag gaauggca uuucu	25

[0018]

<210>	10	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	10	
	aacaucaagg aagauggcau uucua	25
<210>	11	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	11	
	acaucaagga agauggcauu ucuag	25
<210>	12	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	12	
	caucaaggaa gauggcauuu cuagu	25
<210>	13	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	13	
	aucaaggaag auggcauuuc uaguu	25
<210>	14	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	14	
	ucaaggaaga uggcauuucu aguuu	25
<210>	15	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0019]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	15	
	caaggaagau ggcauuucua guuug	25
<210>	16	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	16	
	aaggaagaug gcuuuucua uugg	25
<210>	17	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	17	
	aggaagaugg cauuucuagu uugga	25
<210>	18	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	18	
	ggaagauggc auuucuaguu uggag	25
<210>	19	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	19	
	gaagauggca uuucuaguuu ggaga	25
<210>	20	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

10

[0020]

<400> 20 aagauggcau uucuaguuug gagau	25
<210> 21 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 21 agauggcauu ucuaguuugg agaug	25
<210> 22 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 22 gauggcauuu cuaguuugga gaugg	25
<210> 23 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 23 auggcauuuc uaguuggag auggc	25
<210> 24 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 24 uggcauuucu aguuggaga uggca	25
<210> 25 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 25 ggcauuucua guuuggagau ggcag	25

[0021]

<210>	26	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	26	
	gcuuuucuag uuuggagaug gcagu	25
<210>	27	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	27	
	cauuucuagu uuggagaugg cagu	25
<210>	28	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	28	
	auuuucuagu uggagauggc aguu	25
<210>	29	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	29	
	uuucuaguuu ggagauggca guuuc	25
<210>	30	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	30	
	uucuaguuug gagauggcag uuucc	25
<210>	31	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0022]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	31	
	ucuaguuugg agauggcagu uuccu	25
<210>	32	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	32	
	cuaguuugga gauggcaguu uccuu	25
<210>	33	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	33	
	uaguuuggag auggcaguuu ccuua	25
<210>	34	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	34	
	aguuuggaga uggcaguuuc cuuag	25
<210>	35	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	35	
	guuuggagau ggcaguuucc uuagu	25
<210>	36	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0023]

<400> 36 uuuggagaug gcaguuuccu uagua	25
<210> 37 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 37 uuggagaugg caguuuccuu aguaa	25
<210> 38 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 38 uggagauggc aguuuccuua guaac	25
<210> 39 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 39 gagauggcag uuuccuuagu aacca	25
<210> 40 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 40 agauggcagu uuccuuagua accac	25
<210> 41 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 41 gauggcaguu uccuuaguaa ccaca	25

[0024]

<210>	42	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	42	
	auggcaguuu ccuuaguaac cacag	25
<210>	43	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	43	
	uggcaguuuc cuuaguaacc acagg	25
<210>	44	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	44	
	ggcaguuucc uuaguaacca caggu	25
<210>	45	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	45	
	gcaguuuccu uaguaaccac agguu	25
<210>	46	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	46	
	caguuuccuu aguaaccaca gguug	25
<210>	47	
<211>	25	
<212>	RNA	

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	47	
	aguuuuccuua guaaccacag guugu	25
<210>	48	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	48	
	guuuuccuag uaaccacagg uuug	25
<210>	49	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	49	
	uuuccuagu aaccacaggu ugugu	25
<210>	50	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	50	
	uuccuagua accacagguu guguc	25
<210>	51	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	51	
	uccuuaguaa ccacagguug uguca	25
<210>	52	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

25

[0026]

<400> 52 ccuuaguaac cacagguugu gucac	25
<210> 53 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 53 cuuaguaacc acagguugug ucacc	25
<210> 54 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 54 uuaguaacca cagguugugu cacca	25
<210> 55 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 55 uaguaaccac agguuguguc accag	25
<210> 56 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 56 aguaaccaca gguuguguca ccaga	25
<210> 57 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 57 guaaccacag guugugucac cagag	25

[0027]

<210>	58	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	58	
uaaccacagg	uugugucacc	agagu
		25
<210>	59	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	59	
aaccacaggu	ugugucacca	gagua
		25
<210>	60	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	60	
accacagguu	gugucaccag	aguaa
		25
<210>	61	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	61	
ccacagguug	ugucaccaga	guaac
		25
<210>	62	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	62	
cacagguugu	gucaccagag	uaaca
		25
<210>	63	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0028]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	63	
	acagguugug ucaccagagu aacag	25
<210>	64	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	64	
	cagguugugu caccagagua acagu	25
<210>	65	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	65	
	agguuguguc accagaguaa caguc	25
<210>	66	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	66	
	gguuguguca ccagaguaac agucu	25
<210>	67	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	67	
	guugugucac cagaguaaca gucug	25
<210>	68	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0029]

--

<400> 68 uugugucacc agaguaacag ucuga	25
<210> 69 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 69 ugugucacca gaguaacagu cugag	25
<210> 70 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 70 gugucaccag aguaacaguc ugagu	25
<210> 71 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 71 ugucaccaga guaacagucu gagua	25
<210> 72 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 72 gucaccagag uaacagucug aguag	25
<210> 73 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 73 ucaccagagu aacagucuga guagg	25

[0030]

<210> 74
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 74
caccagagua acagucugag uagga

25

<210> 75
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 75
accagaguaa cagucugagu aggag

25

<210> 76
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 76
uuugccgcug cccaugcca uccug

25

<210> 77
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 77
auucaauguu cugacaacag uuugc

25

<210> 78
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 78
ccaguugcau ucaauguucu gacaa

25

<210> 79
<211> 22
<212> RNA

[0031]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	79	
	caguugcauu caauguucug ac	22
<210>	80	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	80	
	aguugcauuc aauguucuga	20
<210>	81	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	81	
	gauugcugaa uuauuucuuc c	21
<210>	82	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	82	
	gauugcugaa uuauuucuuc cccag	25
<210>	83	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	83	
	auugcugaau uauuucuucc ccagu	25
<210>	84	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0032]

<400> 84 uugcugaaau auuucuuccc caguu	25
<210> 85 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 85 ugcugaaaua uuucuucccc aguug	25
<210> 86 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 86 gcugaaauau uucuucccca guugc	25
<210> 87 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 87 cugaaauauu ucuuccccag uugca	25
<210> 88 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 88 ugaauuauuu cuuccccagu ugcau	25
<210> 89 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 89 gaauuauuuc uuccccaguu gcauu	25

[0033]

<210>	90	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	90	
	aaauuuuucu uccccaguug cauuc	25
<210>	91	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	91	
	auuauuucuu ccccaguugc auuca	25
<210>	92	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	92	
	uuauuucuuc cccaguugca uucaa	25
<210>	93	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	93	
	uauuucuucc ccaguugcau ucaau	25
<210>	94	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	94	
	auuucuuccc caguugcauu caaug	25
<210>	95	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0034]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	95	
	uuucuucccc aguugcauuc aaugu	25
<210>	96	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	96	
	uucuucccca guugcauuc aaugu	25
<210>	97	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	97	
	ucuuccccag uugcauuc aaugu	25
<210>	98	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	98	
	cuuccccagu ugcauuc aaugu	25
<210>	99	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	99	
	uuccccaguu gcauuc aaugu	25
<210>	100	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0035]

<400> 100 uccccaguug cauucaaugu ucuga	25
<210> 101 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 101 ccccaguugc auucaauguu cugac	25
<210> 102 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 102 cccaguugca uucaauguuc ugaca	25
<210> 103 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 103 ccaguugcau ucaauguucu gacaa	25
<210> 104 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 104 caguugcauu caauguucug acaac	25
<210> 105 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 105 aguugcauuc aauguucuga caaca	25

[0036]

<210>	106	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	106	
	uccuguagaa uacuggcauc	20
<210>	107	
<211>	27	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	107	
	ugcagaccuc cugccaccgc agauuca	27
<210>	108	
<211>	34	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	108	
	uugcagaccu ccugccaccg cagauucagg cuuc	34
<210>	109	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	109	
	guugcauua auguucugac aacag	25
<210>	110	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	110	
	uugcauucaa uguucugaca acagu	25
<210>	111	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0037]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	111	
	ugcauucaau guucugacaa caguu	25
<210>	112	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	112	
	gcauucaaug uucugacaac aguuu	25
<210>	113	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	113	
	cauuccaagu ucugacaaca guuug	25
<210>	114	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	114	
	auucaauguu cugacaacag uuugc	25
<210>	115	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	115	
	ucaauguucu gacaacaguu ugccg	25
<210>	116	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0038]

<400> 116 caauguucug acaacaguuu gccgc	25
<210> 117 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 117 aauugucuga caacaguuug ccgcu	25
<210> 118 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 118 auguucugac aacaguuugc cgcug	25
<210> 119 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 119 uguucugaca acaguuugcc gcugc	25
<210> 120 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 120 guucugacaa caguuugccg cugcc	25
<210> 121 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 121 uucugacaac aguuugccgc ugccc	25

[0039]

<210>	122	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	122	
	ucugacaaca guuugccgcu gccca	25
<210>	123	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	123	
	cugacaacag uuugccgcug cccaa	25
<210>	124	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	124	
	ugacaacagu uugccgcugc ccaau	25
<210>	125	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	125	
	gacaacaguu ugccgcugcc caaug	25
<210>	126	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	126	
	acaacaguuu gccgcugccc aaugc	25
<210>	127	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0040]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	127	
	caacaguuug ccgcugccca augcc	25
<210>	128	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	128	
	aacaguuugc cgcugcccaa ugcca	25
<210>	129	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	129	
	acaguuugcc gcugcccaau gccau	25
<210>	130	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	130	
	caguuugccg cugcccaaug ccauc	25
<210>	131	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	131	
	aguuugccgc ugcccaaugc caucc	25
<210>	132	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0041]

<400> 132 guuugccgcu gcccaaugcc auccu	25
<210> 133 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 133 uuugccgcug cccaaugcca uccug	25
<210> 134 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 134 uugccgcugc ccaaugccau ccugg	25
<210> 135 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 135 ugccgcugcc caaugccauc cugga	25
<210> 136 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 136 gccgcugccc aaugccaucc uggag	25
<210> 137 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 137 ccgcugccca augccauccu ggagu	25

[0042]

<210>	138	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	138	
	cgcugcccaa ugccauccug gaguu	25
<210>	139	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	139	
	uguuuuugag gauugcugaa	20
<210>	140	
<211>	40	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	140	
	uguucugaca acaguugcc gcugcccaau gccauccugg	40
<210>	141	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	141	
	cucuggccug uccuaagacc ugcuc	25
<210>	142	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	142	
	ucuggccugu ccuaagaccu gcuca	25
<210>	143	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0043]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	143	
	cuggccuguc cuaagaccug cucag	25
<210>	144	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	144	
	uggccugucc uaagaccugc ucagc	25
<210>	145	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	145	
	ggccuguccu aagaccugcu cagcu	25
<210>	146	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	146	
	gccuguccua agaccugcuc agcuu	25
<210>	147	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	147	
	ccuguccuaa gaccugcuca gcuuc	25
<210>	148	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0044]

<400> 148 cuguccuaag accugcucag cuucu	25
<210> 149 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 149 uguccuaaga ccugcucagc uucuu	25
<210> 150 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 150 guccuaagac cugcucagcu ucuuc	25
<210> 151 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 151 uccuaagacc ugcucagcuu cuucc	25
<210> 152 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 152 ccuaagaccu gcucagcuuc uuccu	25
<210> 153 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 153 cuaagaccug cucagcuucu uccuu	25

[0045]

<210>	154	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	154	
	uaagaccugc ucagcuucuu ccuua	25
<210>	155	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	155	
	aagaccugcu cagcuucuu cuuag	25
<210>	156	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	156	
	agaccugcuc agcuucuucc uuagc	25
<210>	157	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	157	
	gaccugcuca gcuucuuccu uagcu	25
<210>	158	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	158	
	accugcucag cuucuuuccu agcuu	25
<210>	159	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0046]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	159	
	ccugcucagc uucuuccuua gcuuc	25
<210>	160	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	160	
	cugcucagcu ucuuccuag cuucc	25
<210>	161	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	161	
	ugcucagcuu cuuccuuagc uucca	25
<210>	162	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	162	
	gcucagcuuc uuccuuagcu uccag	25
<210>	163	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	163	
	cucagcuucu uccuuagcuu ccagc	25
<210>	164	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
[0047]		

<400> 164 ucagcuucuu ccuuagcuuc cagcc	25
<210> 165 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 165 cagcuucuuu cuuagcuucc agcca	25
<210> 166 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 166 agcuucuuu uuagcuucca gccau	25
<210> 167 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 167 gcuucuuuuu uagcuuccag ccuuu	25
<210> 168 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 168 cuucuuuuu agcuuccagc cauug	25
<210> 169 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 169 uucuuuuu gcuuccagcc auugu	25
[0048]	

<210>	170	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	170	
	ucuuccuuag cuuccagcca uugug	25
<210>	171	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	171	
	cuuccuuagc uuccagccau ugugu	25
<210>	172	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	172	
	uuccuuagcu uccagccauu guguu	25
<210>	173	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	173	
	uccuuagcuu ccagccauug uguug	25
<210>	174	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	174	
	ccuuagcuuc cagccauugu guuga	25
<210>	175	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0049]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	175	
	cuuagcuucc agccauugug uugaa	25
<210>	176	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	176	
	uuagcuucca gccauugugu ugaau	25
<210>	177	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	177	
	uagcuuccag ccuuguguu gaauc	25
<210>	178	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	178	
	agcuuccagc cauuguguug aaucc	25
<210>	179	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	179	
	gcuuccagcc auuguguuga auccu	25
<210>	180	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0050]

<400> 180 cuuccagcca uuguguugaa uccuu	25
<210> 181 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 181 uuccagccau uguguugaau ccuuu	25
<210> 182 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 182 uccagccauu guguugaaucc cuuuu	25
<210> 183 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 183 ccagccauug uguugaaucc uuuaa	25
<210> 184 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 184 cagccauugu guugaauccu uuaac	25
<210> 185 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 185 agccauugug uugaauccuu uaaca	25

[0051]

<210>	186	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	186	
	gccauugugu ugaaucuuu aacau	25
<210>	187	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	187	
	ccauuguguu gaauccuuu acauu	25
<210>	188	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	188	
	cauuguguug aaucuuuaa cauuu	25
<210>	189	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	189	
	ucagcuucug uuagccacug	20
<210>	190	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	190	
	uucagcuucu guuagccacu	20
<210>	191	
<211>	21	
<212>	RNA	

[0052]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	191	
uucagcuucu guuagccacu g		21
<210>	192	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	192	
ucagcuucug uuagccacug a		21
<210>	193	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	193	
uucagcuucu guuagccacu ga		22
<210>	194	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	194	
ucagcuucug uuagccacug a		21
<210>	195	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	195	
uucagcuucu guuagccacu ga		22
<210>	196	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0053]

<400> 196 ucagcuucug uuagccacug au	22
<210> 197 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 197 uucagcuucu guuagccacu gau	23
<210> 198 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 198 ucagcuucug uuagccacug auu	23
<210> 199 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 199 uucagcuucu guuagccacu gauu	24
<210> 200 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 200 ucagcuucug uuagccacug auua	24
<210> 201 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 201 uucagcuucu guuagccacu gaud	24

[0054]

<210>	202	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	202	
ucagcuucug uuagccacug auuuaa		25
<210>	203	
<211>	26	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	203	
uucagcuucu guuagccacu gauuuaa		26
<210>	204	
<211>	26	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	204	
ucagcuucug uuagccacug auuuaa		26
<210>	205	
<211>	27	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	205	
uucagcuucu guuagccacu gauuuaa		27
<210>	206	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	206	
cagcuucugu uagccacug		19
<210>	207	
<211>	21	
<212>	RNA	

[0055]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	207	
	cagcuucugu uagccacuga u	21
<210>	208	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	208	
	agcuucuguu agccacugau u	21
<210>	209	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	209	
	cagcuucugu uagccacuga uu	22
<210>	210	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	210	
	agcuucuguu agccacugau ua	22
<210>	211	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	211	
	cagcuucugu uagccacuga uua	23
<210>	212	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0056]

<400> 212 agcuucuguu agccacugau uaa	23
<210> 213 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 213 cagcuucugu uagccacuga uuaa	24
<210> 214 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 214 agcuucuguu agccacugau uaaa	24
<210> 215 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 215 cagcuucugu uagccacuga uuaaa	25
<210> 216 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 216 agcuucuguu agccacugau uaaa	24
<210> 217 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 217 agcuucuguu agccacugau	20

[0057]

<210> 218
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 218
gcuucuguua gccacugauu

20

<210> 219
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 219
agcuucuguu agccacugau u

21

<210> 220
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 220
gcuucuguua gccacugauu a

21

<210> 221
<211> 22
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 221
agcuucuguu agccacugau ua

22

<210> 222
<211> 22
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 222
gcuucuguua gccacugauu aa

22

<210> 223
<211> 23
<212> RNA

[0058]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	223	
	agcuucuguu agccacugau uaa	23
<210>	224	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	224	
	gcuucuguua gccacugauu aaa	23
<210>	225	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	225	
	agcuucuguu agccacugau uaaa	24
<210>	226	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	226	
	gcuucuguua gccacugauu aaa	23
<210>	227	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	227	
	ccaauuguau uuagcauguu ccc	23
<210>	228	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0059]

<400> 228 agauaccuu uguauuuagc	20
<210> 229 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 229 gccauuucuc aacagaucu	19
<210> 230 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 230 gccauuucuc aacagaucug uca	23
<210> 231 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 231 auucucagga auuugugucu uuc	23
<210> 232 <211> 21 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 232 ucucaggaau uugugucuuu c	21
<210> 233 <211> 18 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 233 guucagcuuc uguuagcc	18

[0060]

<210>	234	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	234	
	cugauuaaaau aucuuuauau c	21
<210>	235	
<211>	18	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	235	
	gccgccauuu cucaacag	18
<210>	236	
<211>	18	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	236	
	guauuuagca uguuccca	18
<210>	237	
<211>	18	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	237	
	caggauuuug ugucuuuc	18
<210>	238	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	238	
	gcuuuuuuuu uaguugcugc uuuuu	25
<210>	239	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0061]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	239	
	cuuuucuuuu aguugcugcu cuuuu	25
<210>	240	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	240	
	uuuucuuuuu guugcugcuc uuuuc	25
<210>	241	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	241	
	uuucuuuuag uugcugcucu uuucc	25
<210>	242	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	242	
	uucuuuuagu ugcugcucu uucca	25
<210>	243	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	243	
	ucuuuuaguu gcugcucuuu uccag	25
<210>	244	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0062]

<400> 244 cuuuuaguug cugcucuuuu ccagg	25
<210> 245 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 245 uuuuaguugc ugcucuuuuc caggu	25
<210> 246 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 246 uuuaguugcu gcucuuuucc agguu	25
<210> 247 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 247 uuaguugcug cucuuuucca gguuc	25
<210> 248 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 248 uaguugcugc ucuuuuccag guuca	25
<210> 249 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 249 aguugcugcu cuuuuccagg uucaa	25

[0063]

<210>	250	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	250	
	guugcugcuc uuuuccaggu ucaag	25
<210>	251	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	251	
	uugcugcucu uuuccagguu caagu	25
<210>	252	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	252	
	ugcugcucuu uuccagguuc aagug	25
<210>	253	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	253	
	gcugcucuuu uccagguuca agugg	25
<210>	254	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	254	
	cugcucuuuu ccagguuca guggg	25
<210>	255	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0064]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	255	
	ugcucuuuuc cagguucaag uggga	25
<210>	256	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	256	
	gcucuuuucc agguucaagu gggac	25
<210>	257	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	257	
	cucuuuuucca gguucaagug ggaua	25
<210>	258	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	258	
	ucuuuuuccag guucaagugg gauac	25
<210>	259	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	259	
	ucuuuuuccag guucaagugg	20
<210>	260	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0065]

<400> 260 cuuuuccagg uucaaguggg auacu	25
<210> 261 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 261 uuuuccaggu ucaaguggga uacua	25
<210> 262 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 262 uuuccagguu caagugggau acuag	25
<210> 263 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 263 uuccagguuc aagugggaua cuagc	25
<210> 264 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 264 uccagguuca agugggauac uagca	25
<210> 265 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 265 ccagguuca gugggauacu agcaa	25

[0066]

<210>	266	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	266	
	cagguucaag ugggauacua gcaau	25
<210>	267	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	267	
	agguucaagu gggauacuag caaug	25
<210>	268	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	268	
	gguucaagug ggauacuagc aaugu	25
<210>	269	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	269	
	guucaagugg gauacuagca auguu	25
<210>	270	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	270	
	uucaaguggg auacuagcaa uguua	25
<210>	271	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0067]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	271	
	ucaaguggga uacuagcaau guuau	25
<210>	272	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	272	
	caagugggau acuagcaaug uuauuc	25
<210>	273	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	273	
	aagugggaua cuagcaaugu uauuc	25
<210>	274	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	274	
	agugggauac uagcaauguu aucug	25
<210>	275	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	275	
	gugggauacu agcaauguua ucugc	25
<210>	276	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0068]

<400> 276 ugggauacua gcaauguuau cugcu	25
<210> 277 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 277 gggauacuag caauguuauc ugcuu	25
<210> 278 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 278 ggauacuagc aauguuau cuuc	25
<210> 279 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 279 gauacuagca auguuaucug cuucc	25
<210> 280 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 280 auacuagcaa uguuaucugc uuccu	25
<210> 281 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 281 uacuagcaau guuaucugcu uccuc	25

[0069]

<210> 282
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 282
acuagcaaug uuaucugcuu ccucc 25

<210> 283
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 283
cuagcaaugu uaucugcuuc cucca 25

<210> 284
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 284
uagcaauguu aucugcuucc uccaa 25

<210> 285
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 285
agcaauguua ucugcuuccu ccaac 25

<210> 286
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 286
gcaauguuau cugcuuccuc caacc 25

<210> 287
<211> 25
<212> RNA

[0070]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	287	
	caauguuauc ugcuccucc aacca	25
<210>	288	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	288	
	aauguuau cuuccucca accau	25
<210>	289	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	289	
	auguau cuuccucca ccaua	25
<210>	290	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	290	
	uguuau cuuccucca cauaa	25
<210>	291	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	291	
	agccucuuga ugcuggucu uguuu	25
<210>	292	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0071]

<400> 292 gccucuugau ugcuggucuu guuuu	25
<210> 293 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 293 ccucuugauu gcuggucuug uuuuu	25
<210> 294 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 294 ccucuugauu gcuggucuug	20
<210> 295 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 295 cucuugauug cuggucuugu uuuuc	25
<210> 296 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 296 ucuugauugc uggucuuguu uuuca	25
<210> 297 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 297 cuugauugcu ggucuuguu uucaa	25

[0072]

<210> 298
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 298
uugauugcug gucuuguuuu ucaaa

25

<210> 299
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 299
ugauugcugg ucuuguuuuu caaau

25

<210> 300
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 300
gauugcuggu cuuguuuuuc aaauu

25

<210> 301
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 301
gauugcuggu cuuguuuuuc

20

<210> 302
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 302
auugcugguc uuguuuuuca aaauu

25

<210> 303
<211> 25
<212> RNA

[0073]

<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 303	
uugcuggucu uguuuuucaa auuuu	25
<210> 304	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 304	
ugcuggucuu guuuuucaaa uuug	25
<210> 305	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 305	
gcuggucuug uuuuucaaa uuugg	25
<210> 306	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 306	
cuggucuugu uuuucaaaau uuugg	25
<210> 307	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 307	
uggucuuguu uuucaaaaau ugggc	25
<210> 308	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	

[0074]

<400> 308 ggucuuguuu uucaaaaauuu gggca	25
<210> 309 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 309 gucuuguuuu ucaaaaauuug ggcag	25
<210> 310 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 310 ucuuguuuuu caaaaauuugg gcagc	25
<210> 311 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 311 cuuguuuuuc aaauuuuggg cagcg	25
<210> 312 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 312 uuguuuuuca aaauuuugggc agcgg	25
<210> 313 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 313 uguuuuucaa auuuugggca gcggu	25

[0075]

<210>	314	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	314	
	guuuuucaaa uuugggcag cgua	25
<210>	315	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	315	
	uuuuucaaau uuugggcagc gguaa	25
<210>	316	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	316	
	uuuucaaaau ugggcagcg gaaau	25
<210>	317	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	317	
	uuucaaauuu ugggcagcgg uaaug	25
<210>	318	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	318	
	uucaaauuuu gggcagcgg uauga	25
<210>	319	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0076]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	319	
	ucaaauuuug ggcagcggua augag	25
<210>	320	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	320	
	caaauuuugg gcagcgguaa ugagu	25
<210>	321	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	321	
	aaauuuuggg cagcgguaau gaguu	25
<210>	322	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	322	
	aaauuugggc agcgguaaug aguuc	25
<210>	323	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	323	
	auuuugggca gcgguaauga guucu	25
<210>	324	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0077]

<400> 324 uuuugggcag cgguaaugag uucuu	25
<210> 325 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 325 uuugggcagc gguaaugagu ucuuc	25
<210> 326 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 326 uugggcagcg gaaugaguu cuucc	25
<210> 327 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 327 ugggcagcgg uaugaguuc uucca	25
<210> 328 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 328 gggcagcggg aaugaguucu uccaa	25
<210> 329 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 329 ggcagcggua augaguucu ccaac	25

[0078]

<210>	330	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	330	
	gcagcgguaa ugaguucuuc caacu	25
<210>	331	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	331	
	cagcgguaau gaguucuucc aacug	25
<210>	332	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	332	
	agcgguaaug aguucuucca acugg	25
<210>	333	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	333	
	gcgguaauga guucuuccaa cuggg	25
<210>	334	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	334	
	cgguaaugag uucuuccaac ugggg	25
<210>	335	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0079]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	335	
	gguaaugagu ucuuccaacu gggga	25
<210>	336	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	336	
	gguaaugagu ucuuccaacu gg	22
<210>	337	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	337	
	guaaugagu cuuccaacug gggac	25
<210>	338	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	338	
	uaaugaguuc uuccaacugg ggcgc	25
<210>	339	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	339	
	aaugaguucu uccaacuggg gacgc	25
<210>	340	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0080]

<400> 340 augaguucuu ccaacugggg acgcc	25
<210> 341 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 341 ugaguucuu ccaacugggga cgccu	25
<210> 342 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 342 gaguucuu ccaacuggggac gccuc	25
<210> 343 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 343 aguucuu ccaacuggggacg ccucu	25
<210> 344 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 344 guucuu ccaacuggggacgc cucug	25
<210> 345 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 345 uucuu ccaacuggggacgcc ucugu	25

[0081]

<210>	346	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	346	
	ucuuccaacu ggggacgccu cuguu	25
<210>	347	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	347	
	cuuccaacug gggacgccuc uguuc	25
<210>	348	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	348	
	uuccaacugg ggacgccucu guucc	25
<210>	349	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	349	
	uccaacuggg gacgccucug uucca	25
<210>	350	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	350	
	ccaacugggg acgccucugu uccaa	25
<210>	351	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0082]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	351	
	caacugggga cgccucuguu ccaaa	25
<210>	352	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	352	
	aacuggggac gccucuguuc caaau	25
<210>	353	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	353	
	acuggggacg ccucuguucc aaauc	25
<210>	354	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	354	
	cuggggacgc cucuguucca aaucc	25
<210>	355	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	355	
	uggggacgcc ucuguuccaa auccu	25
<210>	356	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0083]

<400> 356 ggggacgccu cuguuccaaa uccug	25
<210> 357 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 357 gggacgccuc uguuccaaaau ccugc	25
<210> 358 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 358 ggacgccucu guuccaaauc cugca	25
<210> 359 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 359 gacgccucug uuccaaaucc ugcau	25
<210> 360 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 360 ccaauagugg ucaguccagg agcua	25
<210> 361 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 361 caauaguggu caguccagga gcuag	25

[0084]

<210>	362	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	362	
aaauagugguc aguccaggag cuagg		25
<210>	363	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	363	
auagugguca guccaggagc uaggu		25
<210>	364	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	364	
auagugguca guccaggagc u		21
<210>	365	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	365	
uaguggucag uccaggagcu agguc		25
<210>	366	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	366	
aguggucagu ccaggagcua gguca		25
<210>	367	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0085]

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 367

guggucaguc caggagcuag gucag

25

<210> 368

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 368

uggucagucc aggagcuagg ucagg

25

<210> 369

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 369

ggucagucca ggagcuaggu caggc

25

<210> 370

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 370

gucaguccag gagcuagguc aggcu

25

<210> 371

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 371

ucaguccagg agcuagguca ggcug

25

<210> 372

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

[0086]

<400> 372 caguccagga gcuaggucag gcugc	25
<210> 373 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 373 aguccaggag cuaggucagg cugcu	25
<210> 374 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 374 guccaggagc uaggucaggc ugcuu	25
<210> 375 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 375 uccaggagcu aggucaggcu gcuuu	25
<210> 376 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 376 ccaggagcua ggucaggcug cuuug	25
<210> 377 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 377 caggagcuag gucaggcugc uuugc	25

[0087]

<210>	378	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	378	
	aggagcuagg ucaggcugcu uugcc	25
<210>	379	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	379	
	ggagcuaggu caggcugcuu ugccc	25
<210>	380	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	380	
	gagcuagguc aggcugcuuu gcccu	25
<210>	381	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	381	
	agcuagguca ggcugcuuug ccuc	25
<210>	382	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	382	
	gcuaggucag gcugcuuugc ccuca	25
<210>	383	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0088]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	383	
	cucagcucuu gaaguaaacg guuuu	25
<210>	384	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	384	
	cagcucuuga aguaaacggu uuacc	25
<210>	385	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	385	
	gcucuugaag uaaacgguu accgc	25
<210>	386	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	386	
	cuaggucagg cugcuuugcc cucag	25
<210>	387	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	387	
	uaggucaggc ugcuuugccc ucage	25
<210>	388	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0089]

<400> 388 aggucaggcu gcuuugcccu cagcu	25
<210> 389 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 389 ggucaggcug cuuugcccuc agcuc	25
<210> 390 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 390 gucaggcugc uuugcccuca gcucu	25
<210> 391 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 391 ucaggcugcu uugcccucag cucuu	25
<210> 392 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 392 caggcugcuu ugcccucagc ucuug	25
<210> 393 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 393 aggcugcuuu gccucagcu cuuga	25

[0090]

<210> 394
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 394
ggcugcuuug cccucagcuc uugaa

25

<210> 395
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 395
gcugcuuugc ccucagcucu ugaag

25

<210> 396
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 396
cugcuuugcc cucagcucu gaagu

25

<210> 397
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 397
ugcuuugccc ucagcucuug aagua

25

<210> 398
<211> 25
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 398
gcuuugcccu cagcucuuga aguaa

25

<210> 399
<211> 25
<212> RNA

[0091]

<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 399	
cuuugcccuc agcucuugaa guaaa	25
<210> 400	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 400	
uuugcccuca gcucuugaag uaaac	25
<210> 401	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 401	
uugcccucag cucuugaagu aaacg	25
<210> 402	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 402	
ugcccucagc ucuugaagua aacgg	25
<210> 403	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 403	
gcccucagcu cuugaagua acggu	25
<210> 404	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	

[0092]

<400> 404 cccucagcuc uugaaguaaa cgguu	25
<210> 405 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 405 ccucagcucu ugaaguaaac	20
<210> 406 <211> 21 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 406 ccucagcucu ugaaguaaac g	21
<210> 407 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 407 cucagcucu gaaguaaacg	20
<210> 408 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 408 ccucagcucu ugaaguaaac gguuu	25
<210> 409 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 409 ucagcucuug aaguaaacgg uuuac	25

[0093]

<210>	410	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	410	
	agcucuugaa guaaacgguu uaccg	25
<210>	411	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	411	
	cucuugaagu aaacgguuua ccgcc	25
<210>	412	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	412	
	ccacaggcgu ugcacuuugc aaugc	25
<210>	413	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	413	
	cacaggcguu gcacuuugca augcu	25
<210>	414	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	414	
	acaggcguug cacuuugcaa ugcug	25
<210>	415	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0094]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	415	
	caggcguugc acuuugcaau gcugc	25
<210>	416	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	416	
	aggcguugca cuuugcaaug cugcu	25
<210>	417	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	417	
	ggcguugcac uuugcaaugc ugcug	25
<210>	418	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	418	
	gcuugcacu uugcaaugcu gcugu	25
<210>	419	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	419	
	cguugcacuu ugcaaugcug cuguc	25
<210>	420	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0095]

<400> 420 cguugcacuu ugcaaugcug cug	23
<210> 421 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 421 guugcacuuu gcaaugcugc ugucu	25
<210> 422 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 422 uugcacuuug caaugcugcu gucuu	25
<210> 423 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 423 ugcacuuugc aaugcugcug ucuuc	25
<210> 424 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 424 gcacuuugca augcugcugu cuucu	25
<210> 425 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 425 cacuuugcaa ugcugcuguc uucuu	25

[0096]

<210>	426	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	426	
	acuuugcaau gcugcugucu ucuug	25
<210>	427	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	427	
	cuuugcaaug cugcugucuu cuugc	25
<210>	428	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	428	
	uuugcaaugc ugcugucuuc uugcu	25
<210>	429	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	429	
	uugcaaugcu gcugucuucu ugcua	25
<210>	430	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	430	
	ugcaaugcug cugucuucuu gcuaa	25
<210>	431	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0097]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	431	
	gcaaugcugc ugucuuucug cuaug	25
<210>	432	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	432	
	caaugcugcu gucuucugc uauga	25
<210>	433	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	433	
	aaugcugcug ucuucugcu augaa	25
<210>	434	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	434	
	augcugcugu cuucugcua ugaau	25
<210>	435	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	435	
	ugcugcuguc uuucugcuau gaaua	25
<210>	436	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0098]

<400> 436 gcugcugucu ucuugcuaug aaaua	25
<210> 437 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 437 cugcugucuu cuugcuauga auaau	25
<210> 438 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 438 ugcugucuuc uugcuaugaa uaaug	25
<210> 439 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 439 gcugucuucu ugcuugaau aaugu	25
<210> 440 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 440 cugucuucuu gcuaugaaua auguc	25
<210> 441 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 441 ugucuucuug cuaugaauaa uguca	25

[0099]

<210>	442	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	442	
	gucuucuugc uaugaaauau gucaa	25
<210>	443	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	443	
	ucuucuugcu augaaauaug ucaau	25
<210>	444	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	444	
	cuucuugcua ugaaauaugu caauc	25
<210>	445	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	445	
	uucuugcuau gaauaauguc aaucc	25
<210>	446	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	446	
	ucuugcuauug aaauauguca auccg	25
<210>	447	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0100]

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 447

cuugcuauga auaaugucaa uccga

25

<210> 448

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 448

uugcuaugaa uaaugucaau ccgac

25

<210> 449

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 449

ugcuaugaau aaugucaauc cgacc

25

<210> 450

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 450

gcuaugaaua augucaaucc gaccu

25

<210> 451

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 451

cuaugaauaa ugucaauccg accug

25

<210> 452

<211> 25

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

[0101]

<400> 452 uaugaauaau gucaauccga ccuga	25
<210> 453 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 453 augaauaaug ucaauccgac cugag	25
<210> 454 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 454 ugaauaaugu caauccgacc ugagc	25
<210> 455 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 455 gaauaauguc aaucgaccu gagcu	25
<210> 456 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 456 aauaauguca auccgaccug agcuu	25
<210> 457 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 457 auaaugucaa uccgaccuga gcuuu	25

[0102]

<210>	458	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	458	
	uaaugucaau ccgaccugag cuuug	25
<210>	459	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	459	
	aaugucaauc cgaccugagc uuugu	25
<210>	460	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	460	
	augucaaucc gaccugagcu uuguu	25
<210>	461	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	461	
	ugucaauccg accugagcuu uguug	25
<210>	462	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	462	
	gucaauccga ccugagcuu guugu	25
<210>	463	
<211>	25	
<212>	RNA	

[0103]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	463	
	ucaauccgac cugagcuuug uugua	25
<210>	464	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	464	
	caaauccgacc ugagcuuugu uguag	25
<210>	465	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	465	
	aaauccgaccu gagcuuuguu guaga	25
<210>	466	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	466	
	auccgaccug agcuuuguug uagac	25
<210>	467	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	467	
	uccgaccuga gcuuuguugu agacu	25
<210>	468	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0104]

<400> 468 ccgaccugag cuuuguugua gacua	25
<210> 469 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 469 cgaccugagc uuuguuguag	20
<210> 470 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 470 cgaccugagc uuuguuguag acuaa	25
<210> 471 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 471 gaccugagcu uguuguuaga cuauc	25
<210> 472 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 472 accugagcuu uguuguagac uauca	25
<210> 473 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 473 ccugagcuuu guuguagacu auc	23

[0105]

<210>	474	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	474	
	cauuuuugac cuacaugugg	20
<210>	475	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	475	
	uuugaccuac auguggaaag	20
<210>	476	
<211>	26	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	476	
	uacauuuuug accuacaugu ggaaag	26
<210>	477	
<211>	17	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	477	
	ggucuccuua ccuauga	17
<210>	478	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	478	
	ucuuaccuau gacuauggau gaga	24
<210>	479	
<211>	22	
<212>	RNA	

[0106]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	479	
	auuuuugacc uacaugggaa ag	22
<210>	480	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	480	
	uacgaguuga uugucggacc cag	23
<210>	481	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	481	
	guggucuccu uaccuaugac ugugg	25
<210>	482	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	482	
	ugucucagua aucuucuuac cuau	24
<210>	483	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	483	
	ugcauguucc agucguugug ugg	23
<210>	484	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0107]

<400> 484 cacuauucca gucaauagg ucugg	25
<210> 485 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 485 auuuaccaac cuucaggauc gagua	25
<210> 486 <211> 21 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 486 ggccuaaaac acauacacau a	21
<210> 487 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 487 gauagguggu aucaacaucu guaa	24
<210> 488 <211> 21 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 488 gauagguggu aucaacaucu g	21
<210> 489 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 489 cuuccuggau ggcuugaau	19

[0108]

<210>	490	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	490	
	uguuguuguu uaugcucauu	20
<210>	491	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	491	
	guacauuaag auggacuuc	19
<210>	492	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	492	
	cuguugcagu aaucuaugag	20
<210>	493	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	493	
	ugcaguaauc uaugaguuuuc	20
<210>	494	
<211>	18	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	494	
	gagucuucua ggagccuu	18
<210>	495	
<211>	23	
<212>	RNA	

[0109]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	495	
	ugccauuguu ucaucagcuc uuu	23
<210>	496	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	496	
	uccuguagga cauuggcagu	20
<210>	497	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	497	
	cuuggagucu ucuaggagcc	20
<210>	498	
<211>	30	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	498	
	ccauuuugug aauguuuucu uuugaacauc	30
<210>	499	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	499	
	cccauuuugu gauguuuuc uuuu	24
<210>	500	
<211>	24	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0110]

<400> 500 gaaaauugug cauuuaccca uuuu	24
<210> 501 <211> 22 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 501 uugugcauuu acccauuuug ug	22
<210> 502 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 502 cccugaggca uucccaucuu gaau	24
<210> 503 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 503 aggacuuacu ugcuuuguuu	20
<210> 504 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 504 cuugaauua ggagauucau cug	23
<210> 505 <211> 23 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 505 caucuucuga uaauuuuccu guu	23

[0111]

<210>	506	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	506	
	ccauuacagu ugucuguguu	20
<210>	507	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	507	
	ugacagccug ugaaucugu gag	23
<210>	508	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	508	
	uaaucugccu cuucuuuugg	20
<210>	509	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	509	
	cagcaguagu ugucaucugc	20
<210>	510	
<211>	27	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	510	
	gccugagcug aucugcuggc aucuugc	27
<210>	511	
<211>	31	
<212>	RNA	

[0112]

<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 511	
gccugagcug aucugcuggc aucuugcagu u	31
<210> 512	
<211> 16	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 512	
ucugcuggca ucuugc	16
<210> 513	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 513	
gccgguugac uucauccugu gc	22
<210> 514	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 514	
gucugcaucc aggaacaugg guc	23
<210> 515	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 515	
uacuuacugu cuguagcucu uucu	24
<210> 516	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	

[0113]

<400> 516 cugcauccag gaacaugggu cc	22
<210> 517 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 517 guugaagauc ugauagccgg uuga	24
<210> 518 <211> 17 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 518 uaggugccug ccggcuu	17
<210> 519 <211> 18 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 519 uucagcugua gccacacc	18
<210> 520 <211> 21 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 520 cugaacugcu ggaaagucgc c	21
<210> 521 <211> 30 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<400> 521 cuggcuucca aaugggaccu gaaaaagaac	30

[0114]

<210>	522	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	522	
	caauuuuucc cacucaguau u	21
<210>	523	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	523	
	uugaaguucc uggagucuu	19
<210>	524	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	524	
	uccucaggag gcagcucuaa au	22
<210>	525	
<211>	16	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	525	
	uggcucucuc ccaggg	16
<210>	526	
<211>	27	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	526	
	gagauggcuc ucucccaggg acccugg	27
<210>	527	
<211>	17	
<212>	RNA	

[0115]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	527	
	gggcacuuug uuuggcg	17
<210>	528	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	528	
	ggucccagca aguuguuug	19
<210>	529	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	529	
	ugggaugcuc ccagcaagu gguug	25
<210>	530	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	530	
	guagagcucu gucauuuugg g	21
<210>	531	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	531	
	gcucaagaga uccacugcaa aaaac	25
<210>	532	
<211>	26	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	

[0116]

<400> 532 gccauacgua cguaucauaa acauuc	26
<210> 533 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的 <220> <223> 寡核苷酸 <400> 533 ucugcaggau auccaugggc ugguc	25
<210> 534 <211> 27 <212> RNA <213> 人工的 <220> <223> 寡核苷酸 <400> 534 gauccucccu guucgucccc uauuaug	27
<210> 535 <211> 24 <212> RNA <213> 人工的 <220> <223> 寡核苷酸 <400> 535 ugcuuuagac uccuguaccu gaua	24
<210> 536 <211> 18 <212> RNA <213> 人工的 <220> <223> 寡核苷酸 <400> 536 ggcggccuuu guguugac	18
<210> 537 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的 <220> <223> 寡核苷酸 <400> 537 ggacaggccu uuanguucgu gcugc	25

[0117]

<210>	538	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	538	
	ccuuuauuu cgugcugcu	19
<210>	539	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	539	
	ucaaggaaga uggcauuucu	20
<210>	540	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(5)..(5)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(5)..(5)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	540	
	ucaangaaga uggcauuucu	20
<210>	541	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(6)..(6)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	

[0118]

<222> (6)..(6)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 541	
ucaagnaaga uggaauuucu	20
<210> 542	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (9)..(9)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (9)..(9)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 542	
ucaaggaana uggaauuucu	20
<210> 543	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (12)..(12)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (12)..(12)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 543	
ucaaggaaga ungcauuucu	20
<210> 544	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	

[0119]

<222> (13).. (13)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (13).. (13)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 544	
ucaaggaaga ugncauuucu	20
<210> 545	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (1).. (1)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (1).. (1)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 545	
ncaaggaaga uggcauuucu	20
<210> 546	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (11).. (11)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (11).. (11)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 546	
ucaaggaaga nggcauuucu	20
<210> 547	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	

[0120]

<223> 寡核苷酸

<220>

<221> 修饰的碱基

<222> (16).. (16)

<223> I

<220>

<221> 混杂特征

<222> (16).. (16)

<223> n是a、c、g或u

<400> 547

ucaaggaaga uggcanuucu

20

<210> 548

<211> 20

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<220>

<221> 修饰的碱基

<222> (17).. (17)

<223> I

<220>

<221> 混杂特征

<222> (17).. (17)

<223> n是a、c、g或u

<400> 548

ucaaggaaga uggcaunucu

20

<210> 549

<211> 20

<212> RNA

<213> 人工的

<220>

<223> 寡核苷酸

<220>

<221> 修饰的碱基

<222> (18).. (18)

<223> I

<220>

<221> 混杂特征

<222> (18).. (18)

<223> n是a、c、g或u

<400> 549

ucaaggaaga uggcauuncu

20

<210> 550

[0121]

<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(20)..(20)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(20)..(20)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	550	
	ucaaggaaga uggcauuucn	20
<210>	551	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(3)..(3)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(3)..(3)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	551	
	ucnaggaaga uggcauuucu	20
<210>	552	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(4)..(4)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(4)..(4)	
<223>	n是a、c、g或u	

[0122]

<400> 552 ucanggaaga uggcauuucu	20
<210> 553 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (7).. (7) <223> I	
<220> <221> 混杂特征 <222> (7).. (7) <223> n是a、c、g或u	
<400> 553 ucaaggnaga uggcauuucu	20
<210> 554 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (8).. (8) <223> I	
<220> <221> 混杂特征 <222> (8).. (8) <223> n是a、c、g或u	
<400> 554 ucaagganga uggcauuucu	20
<210> 555 <211> 20 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (10).. (10) <223> I	
<220>	

[0123]

<221> 混杂特征	
<222> (10).. (10)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 555	
ucaaggaagn uggcauuucu	20
<210> 556	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (15).. (15)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (15).. (15)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 556	
ucaaggaaga uggcnuuucu	20
<210> 557	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	
<221> 修饰的碱基	
<222> (7).. (7)	
<223> I	
<220>	
<221> 混杂特征	
<222> (7).. (7)	
<223> n是a、c、g或u	
<400> 557	
uuugccncug cccaaugcca uccug	25
<210> 558	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<220>	

[0124]

<221>	修饰的碱基	
<222>	(10)..(10)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(10)..(10)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	558	
	uuugccgcun cccaaugcca uccug	25
<210>	559	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(17)..(17)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(17)..(17)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	559	
	uuugccgcug ccceauncca uccug	25
<210>	560	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(4)..(4)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(4)..(4)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	560	
	uuunccgcug cccaaugcca uccug	25
<210>	561	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	

[0125]

<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(25).. (25)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(25).. (25)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	561	
	uuugccgcug cccaaugcca uccun	25
<210>	562	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(1).. (1)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(1).. (1)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	562	
	nuugccgcug cccaaugcca uccug	25
<210>	563	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(2).. (2)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(2).. (2)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	563	
	unugccgcug cccaaugcca uccug	25

[0126]

<210>	564	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(3)..(3)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(3)..(3)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	564	
	uungccgcug cccaaugcca uccug	25
<210>	565	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(9)..(9)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(9)..(9)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	565	
	uuugccgcng cccaaugcca uccug	25
<210>	566	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(15)..(15)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(15)..(15)	
<223>	n是a、c、g或u	

[0127]

<400> 566 uuugccgcug cccanugcca uccug	25
<210> 567 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (20).. (20) <223> I	
<220> <221> 混杂特征 <222> (20).. (20) <223> n是a、c、g或u	
<400> 567 uuugccgcug cccaugccn uccug	25
<210> 568 <211> 25 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> 寡核苷酸	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (4).. (4) <223> I	
<220> <221> 混杂特征 <222> (4).. (4) <223> n是a、c、g或u	
<220> <221> 修饰的碱基 <222> (7).. (7) <223> I	
<220> <221> 混杂特征 <222> (7).. (7) <223> n是a、c、g或u	
<400> 568 uuuncncug cccaugcca uccug	25
<210> 569 <211> 25 <212> RNA	

[0128]

<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(16).. (16)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(16).. (16)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	569	
uuugccgcug	cccaangcca	uccug
		25
<210>	570	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(21).. (21)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(21).. (21)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	570	
uuugccgcug	cccaaugcca	nccug
		25
<210>	571	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(24).. (24)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(24).. (24)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	571	
uuugccgcug	cccaaugcca	uccng
		25

[0129]

<210>	572	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(14)..(14)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(14)..(14)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	572	
	uuugccgcug ccnaugcca uccug	25
<210>	573	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(10)..(10)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	
<222>	(10)..(10)	
<223>	n是a、c、g或u	
<400>	573	
	ucagcuucun uuagccacug	20
<210>	574	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<220>		
<221>	修饰的碱基	
<222>	(14)..(14)	
<223>	I	
<220>		
<221>	混杂特征	

[0130]

<222> (14)..(14)
<223> n是a、c、g或u

<400> 574
ucagcuucug uuanccacug

20

<210> 575
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (4)..(4)
<223> I

<220>
<221> 混杂特征
<222> (4)..(4)
<223> n是a、c、g或u

<400> 575
ucancuucug uuagccacug

20

<210> 576
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工的

<220>
<223> 寡核苷酸

<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (20)..(20)
<223> I

<220>
<221> 混杂特征
<222> (20)..(20)
<223> n是a、c、g或u

<400> 576
ucagcuucug uuagccacun

20

<210> 577
<211> 153
<212> PRT
<213> 智人

<400> 577

Met Gly Lys Ile Ser Ser Leu Pro Thr Gln Leu Phe Lys Cys Cys Phe
1 5 10 15

[0131]

Cys	Asp	Phe	Leu	Lys	Val	Lys	Met	His	Thr	Met	Ser	Ser	Ser	His	Leu
			20					25					30		
Phe	Tyr	Leu	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Thr	Ala
		35					40					45			
Gly	Pro	Glu	Thr	Leu	Cys	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Asp	Ala	Leu	Gln	Phe
	50					55					60				
Val	Cys	Gly	Asp	Arg	Gly	Phe	Tyr	Phe	Asn	Lys	Pro	Thr	Gly	Tyr	Gly
65					70					75					80
Ser	Ser	Ser	Arg	Arg	Ala	Pro	Gln	Thr	Gly	Ile	Val	Asp	Glu	Cys	Cys
				85					90					95	
Phe	Arg	Ser	Cys	Asp	Leu	Arg	Arg	Leu	Glu	Met	Tyr	Cys	Ala	Pro	Leu
			100					105					110		
Lys	Pro	Ala	Lys	Ser	Ala	Arg	Ser	Val	Arg	Ala	Gln	Arg	His	Thr	Asp
		115					120					125			
Met	Pro	Lys	Thr	Gln	Lys	Glu	Val	His	Leu	Lys	Asn	Ala	Ser	Arg	Gly
	130					135					140				
Ser	Ala	Gly	Asn	Lys	Asn	Tyr	Arg	Met							
145					150										

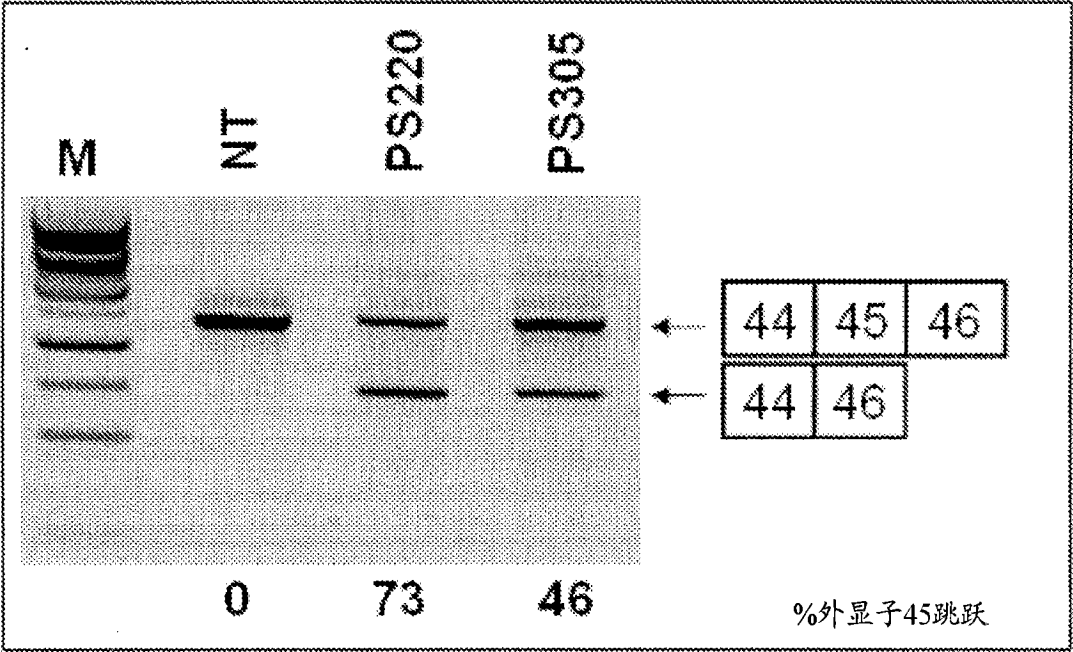


图 1

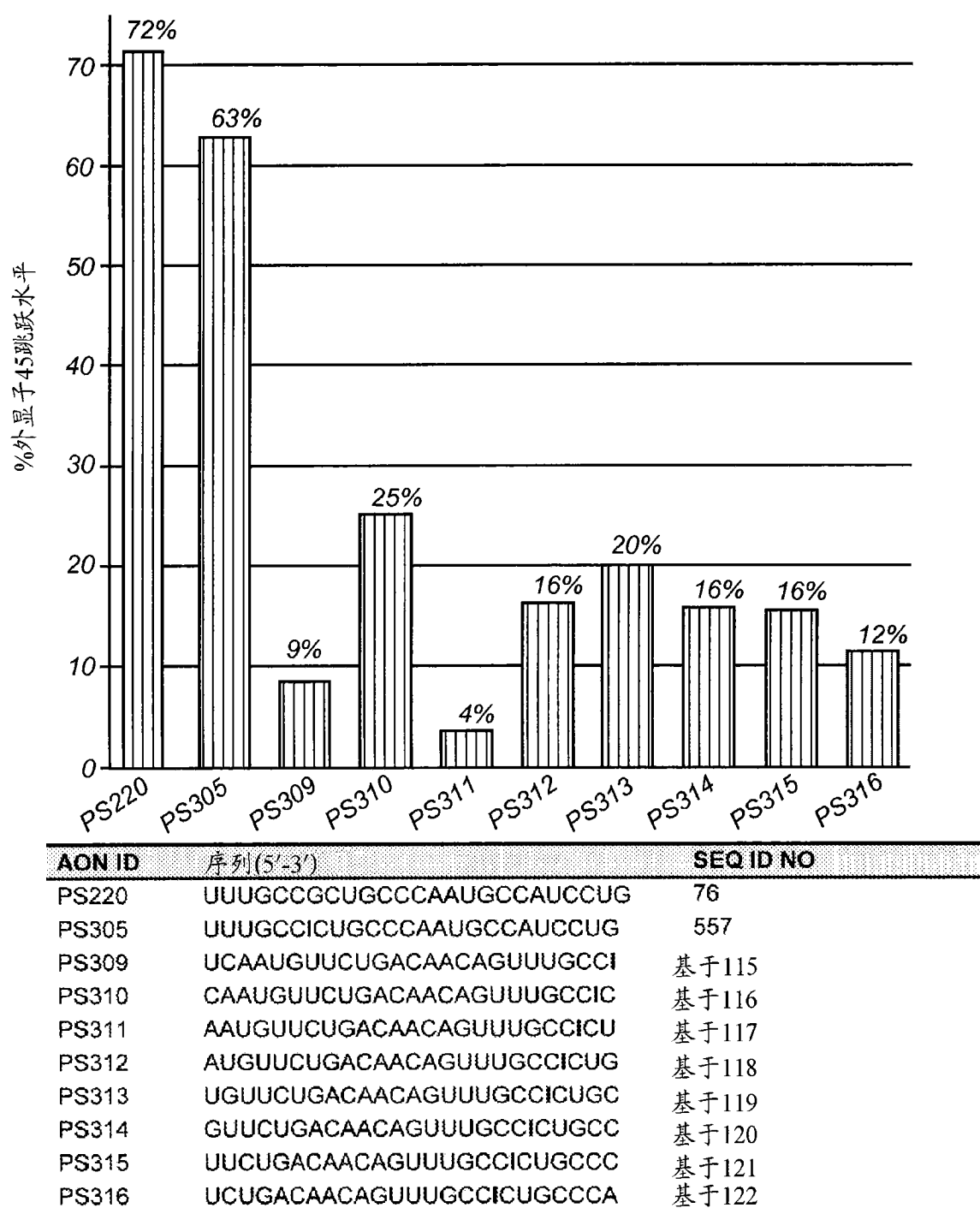


图 2