



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0026181
(43) 공개일자 2024년02월27일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C12N 15/11</i> (2006.01) <i>A61K 31/7088</i> (2006.01) <i>A61K 48/00</i> (2006.01) <i>A61P 43/00</i> (2006.01) <i>C07H 21/02</i> (2006.01) <i>C07H 21/04</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 <i>C12N 15/11</i> (2022.01) <i>A61K 31/7088</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7001879 (22) 출원일자(국제) 2022년06월30일 심사청구일자 없음 (85) 번역문제출일자 2024년01월17일 (86) 국제출원번호 PCT/JP2022/026411 (87) 국제공개번호 WO 2023/277168 국제공개일자 2023년01월05일</p> <p>(30) 우선권주장 JP-P-2021-109239 2021년06월30일 일본(JP) JP-P-2021-169846 2021년10월15일 일본(JP)</p> | <p>(71) 출원인 교와 기린 가부시킴가이사 일본국 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1초메 9방 2고 내셔널 유니버시티 코퍼레이션 토카이 내셔널 하 이어 에듀케이션 앤드 리서치 시스템 일본, 아이치, 나고야-시, 지쿠사-쿠, 후로-쵸, 1</p> <p>(72) 발명자 이와이 히로토 일본 1000004 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1-9-2 교 와 기린 가부시킴가이사 혼샤 내 훙마 마사카즈 일본 1000004 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1-9-2 교 와 기린 가부시킴가이사 혼샤 내 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 김진희, 김태홍</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **폴리뉴클레오티드 및 의약 조성물**

(57) 요약

본 발명은, 개시 코돈에서부터 중지 코돈까지의 번역 영역, 5' 측 비번역 영역 및 폴리A쇄를 포함하고, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드인 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 48/00 (2024.01)

A61P 43/00 (2018.01)

C07H 21/02 (2013.01)

C07H 21/04 (2013.01)

C12N 2310/315 (2013.01)

C12N 2830/50 (2013.01)

(72) 발명자

아타고 다카유키

일본 1000004 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1-9-2 교
와 기린 가부시키키가이샤 혼샤 내

야마모토 준이치로

일본 1000004 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1-9-2 교
와 기린 가부시키키가이샤 혼샤 내

아베 히로시

일본 4648601 아이치켄 나고야시 치쿠사쿠 후로쵸
1 내셔널 유니버시티 코퍼레이션 토카이 내셔널 하
이어 에듀케이션 앤드 리서치 시스템 내

기무라 야스아키

일본 4648601 아이치켄 나고야시 치쿠사쿠 후로쵸
1 내셔널 유니버시티 코퍼레이션 토카이 내셔널 하
이어 에듀케이션 앤드 리서치 시스템 내

명세서

청구범위

청구항 1

개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,

5' 측 비번역 영역, 및

폴리A쇄

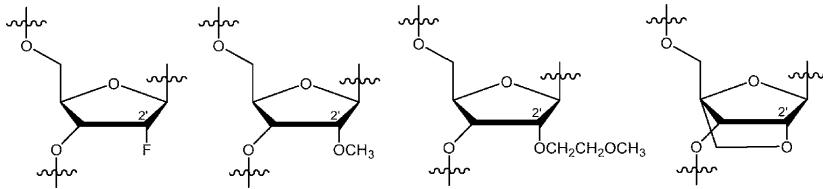
를 포함하고, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드인 폴리뉴클레오티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 폴리뉴클레오티드.

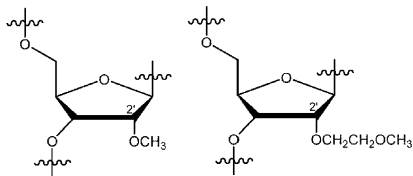
청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.



청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.



청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리A쇄는 인산 수식 뉴클레오티드를 적어도 하나 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 폴리뉴클레오티드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리A쇄를 구성하는 모든 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 폴리뉴클레오티드.

청구항 8

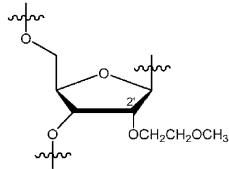
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리A쇄가 2~40 염기 길이인 폴리뉴클레오티드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 폴리뉴클레오티드.



청구항 11

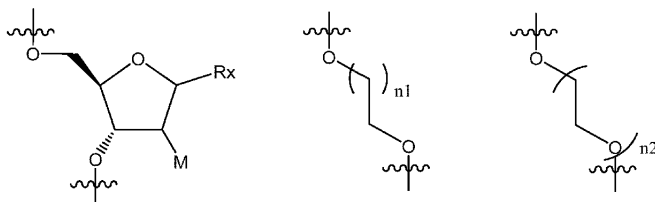
제10항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단의 5' 측에, 1~10개의 당 비수식 뉴클레오티드로 이루어진 부분을 더 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드를 제외한 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드 및/또는 스페이서 수식을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 13

제9항 또는 제12항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하고, 상기 스페이서 수식이 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.



[식 중,

Rx는 에틸닐, 수소 원자 또는 OH이고,

M은 수소 원자 또는 OH이고,

n1은 1, 2 또는 5이고,

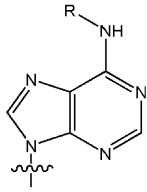
n2는 1, 2 또는 3이다.]

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 폴리뉴클레오티드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 측 비번역 영역이 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고, 상기 염기 수식 뉴클레오티드의 수식 염기부가 이하의 구조인 폴리뉴클레오티드.



[식 중, R은 탄소수 1~6의 알킬기이다.]

청구항 16

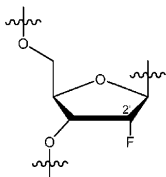
제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 번역 영역이 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 코돈을 적어도 2개 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 번역 영역이 4 이상의 코돈을 포함하고, 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 폴리뉴클레오티드.

청구항 18

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 번역 영역은 종시 코돈을 제외한 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 폴리뉴클레오티드.



청구항 19

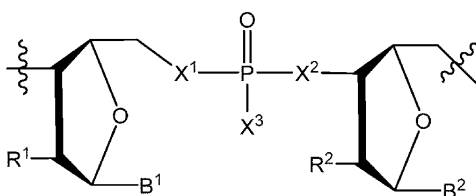
제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 번역 영역이 2000 이하의 코돈을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종시 코돈의 모든 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 폴리뉴클레오티드.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 이하의 구조를 포함하는 폴리뉴클레오티드.



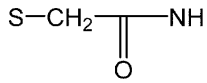
[식 중,

R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, OH, F, $OCH_2CH_2OCH_3$ 또는 OCH_3 이고,

B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 염기부이고,

X^1 은 O, S 또는 NH이고,

X^2 는 O, S, NH 또는 이하의 구조이고,



X^3 은 OH, SH 또는 이들의 염이며,

단, X^1 및 X^2 는 동시에 O는 아니다]

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 기재한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 폴리뉴클레오티드 및 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 세포에 있어서의 유전 정보는, DNA를 주형으로 하여 RNA 합성 효소에 의해서 전령 RNA(이하, 「mRNA」라고 한다)가 전사되고, 전사된 단일쇄 mRNA에 리보솜이 결합하여 번역에 의해서 단백질이 합성됨으로써 전달되고 있다. 이 전달 형식은 분자생물학에서 「센트럴 도그마」라고 불리며, 원핵생물 및 진핵생물 양쪽에 공통되는 기본 원리이다.

[0003] 유전 정보 전달의 중간 물질인 mRNA는, 리보솜에 직접 인식되어 단백질로 번역되기 위한 염기 서열 정보와 구조를 갖고 있다.

[0004] 핵산 의약은 차세대 의약으로서의 기대가 최근 높아지고 있다. mRNA로서의 인공 폴리뉴클레오티드(이하, 배경기술 항목에서 「인공 mRNA」라고 한다)는, 발현 증강 또는 발현 향진에 의해 원하는 펩티드 및 단백질을 산생하여, 단백질 보충 요법형의 핵산 의약 또는 백신 요법형의 핵산 의약으로서 이용할 수 있다.

[0005] 그러나, 천연 염기만으로 구성되는 인공 mRNA를 밖에서 세포 안에 도입하면, 세포 안의 Tol1 유사 수용체(TLR3, TLR7, TLR8, RIG-I 등)에 결합함으로써 빠르게 면역 응답이 야기되어, 염증 반응 및 단백질 번역량의 저하가 일어나는 것이 알려져 있다(비특허문헌1). 세포 내에서 단백질을 발현시키기 위해서는, 어떠한 형태로 인공 mRNA 자체의 면역 반응성을 저감하면서 또한 번역량을 저하시키지 않게 강구할 필요가 있다. 또한, 천연 염기만으로 구성되는 RNA는 핵산 분해 효소에 대하여 취약하므로, 안정성 부여라는 관점에서도 수식 뉴클레오티드의 도입이 필요하게 되었다(비특허문헌2). 수식 뉴클레오티드 중에서도 2'-O-메틸 수식 RNA, 2'-F화 RNA, 2'-O-메톡시에틸 수식 RNA나 LNA 등의 가교형 핵산 등의 당 수식 뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드는, 핵산 의약의 면역 반응성 저감이나 핵산 분해 효소에 대한 내성 부여의 어디에나 유효하다는 것이 나와 있다(비특허문헌 3).

[0006] 최근 인비트로 전사법(in vitro transcription, 이하, 「IVT」라고 한다)에 의해서 제작된 인공 mRNA를 의약품으로서 이용하는 움직임이 활발히 진행되고 있다(비특허문헌 4).

[0007] 예컨대 비특허문헌 5에, 벨라노마 환자를 대상으로 한 인공 mRNA 암 백신의 임상 시험에서는 암 백신의 투여가 시작되고 나서 전이 발증율이 대폭 감소한다는 것이 보고되어 있는 것과 같이, 인공 mRNA를 의약품으로 함에 있어서 일정한 성과도 보고되어 있다.

[0008] 그러나, 이들 임상 응용되고 있는 인공 mRNA는 IVT에 의해서 제작된 것이다. IVT로 제작되는 인공 mRNA는 이하의 두 가지 과제를 갖는다. 첫째로, 면역 반응성의 저감이나 핵산 분해 효소에 대한 안정성 부여를 목적으로 하여 도입되는 수식 뉴클레오티드의 도입 위치는 제어할 수 없다. 2'-F화 RNA를 IVT에 의해 도입한 인공 mRNA에서는 펩티드 번역능이 감약·소실되는 사례가 특허문헌 1에 개시되어 있다. 둘째로, IVT에서 이용되는 RNA 합성 효소에 기질로서 인식되는 수식 뉴클레오티드 이외에는 도입이 불가능하다. 또한, 특허문헌 1에는, 2'-O-메틸 수식 RNA를 포함하는 인공 mRNA는 일반적인 RNA 폴리메라아제를 이용한 IVT 반응에서는 조제가 곤란하다는 것이

개시되어 있다.

[0009] 따라서, IVT에 의해 수식 뉴클레오티드를 도입하여 제작된 인공 mRNA에서는, 수식 뉴클레오티드의 위치 및 종류에 관해서 충분한 검토가 이루어졌다고는 말하기 어렵다.

[0010] 복수의 RNA를 화학적으로 연결하는 기술을 이용하여 mRNA를 인공적으로 합성하는 방법이 보고되어 있다(비특허 문헌 6 및 7). 이 방법을 이용하면, 번역 영역 및 비번역 영역을 포함하는 인공 mRNA의 임의 위치에 당 수식 뉴클레오티드를 도입할 수 있다. 또한, 특허문헌 2 및 3에는, 복수의 RNA를 화학적으로 연결하는 기술을 이용하여 인공 mRNA를 합성하는 방법에 의해서 mRNA의 비번역 영역에 당 수식 뉴클레오티드를 도입하여 안정화하는 개념이 개시되어 있다. 비특허문헌 6 및 7에는, mRNA의 번역 영역 내 한 곳에 2'-O-메틸 수식 RNA를 도입한 인공 mRNA의 펩티드 번역능이 확인되었다는 것이 개시되어 있다. 그 한편, 당 수식 뉴클레오티드의 도입 위치에 따라서는 펩티드 번역능이 현저히 감약한다는 것도 개시되어 있다(비특허문헌 6 및 7).

[0011] 이상으로부터, 인공 mRNA 핵산 의약으로서 충분히 낮은 면역 반응성이나 높은 안정성과 우수한 번역능을 실현하기 위해서는, 수식 뉴클레오티드의 수식률, 위치 및 종류에 관해서 한층더 지견이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) 특허문헌 1: 국제공개 제2014/093574호
 (특허문헌 0002) 특허문헌 2: 국제공개 제1999/014346호
 (특허문헌 0003) 특허문헌 3: 국제공개 제2016/022914호

비특허문헌

- [0013] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: 네이처 리뷰즈 드러그 디스커버리(Nature Reviews Drug Discovery), 제13권, 759-780 페이지 (2014)
 (비특허문헌 0002) 비특허문헌 2: 네이처 바이오테크놀로지(Nature Biotechnology), 제35권, 제3호, 238-248 페이지 (2017)
 (비특허문헌 0003) 비특허문헌 3: 드러그 디스커버리 투데이(Drug Discovery Today), 제13권, 제19/20호, 842-855 페이지 (2008)
 (비특허문헌 0004) 비특허문헌 4: 네이처 바이오테크놀로지(Nature Biotechnology), 제35권, 제3호, 193-197 페이지 (2017)
 (비특허문헌 0005) 비특허문헌 5: 네이처(Nature), 제547권, 제7662호, 222-226 페이지 (2017)
 (비특허문헌 0006) 비특허문헌 6: 뉴클레익 एसिड 리서치(Nucleic Acids Research), 제44권, 제2호, 852-862 페이지 (2015)
 (비특허문헌 0007) 비특허문헌 7: 진즈(Genes), 제10권, 제2호, 84 페이지 (2019)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 우수한 번역능을 갖는 폴리뉴클레오티드를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명자들이 예의 검토한 결과, 3'- 비번역 영역 내 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드인 경우, 우수한 번역능을 보이는 것을 알아냈다.

[0016] 본 발명은 이하의 실시형태를 포함한다.

[0017] [1]

[0018] 개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,

[0019] 5' 측 비번역 영역, 및

[0020] 폴리A쇄

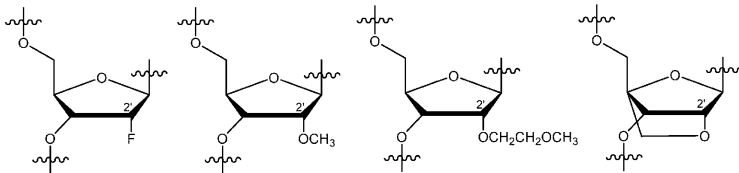
[0021] 를 포함하고, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오타이드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오타이드인 폴리뉴클레오타이드.

[0022] [2]

[0023] 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오타이드 전부가 당 수식 뉴클레오타이드인 [1]에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0024] [3]

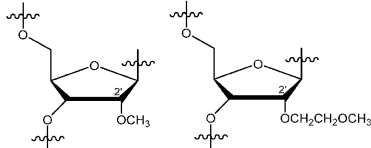
[0025] 상기 당 수식 뉴클레오타이드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [1] 또는 [2]에 기재한 폴리뉴클레오타이드.



[0026]

[0027] [4]

[0028] 상기 당 수식 뉴클레오타이드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [1]~[3] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.



[0029]

[0030] [5]

[0031] 상기 폴리A쇄는 인산 수식 뉴클레오타이드를 적어도 하나 포함하는 [1]~[4] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0032] [6]

[0033] 상기 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오타이드, 1번째~3번째의 뉴클레오타이드, 1번째~4번째의 뉴클레오타이드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오타이드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [1]~[5] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0034] [7]

[0035] 상기 폴리A쇄를 구성하는 모든 뉴클레오타이드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [1]~[6] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0036] [8]

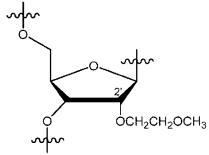
[0037] 상기 폴리A쇄가 2~40 염기 길이인 [1]~[7] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0038] [9]

[0039] 상기 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오타이드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오타이드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오타이드에서 선택되는 [1]~[8] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0040] [10]

[0041] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 [1]~[9] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0042]

[0043] [11]

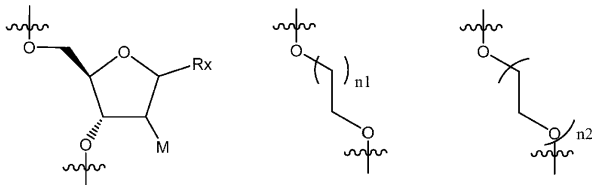
[0044] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단의 5' 측에, 1~10개의 당 비수식 뉴클레오티드로 이루어진 부분을 더 포함하는 [10]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0045] [12]

[0046] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드를 제외한 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드 및/또는 스페이서 수식을 포함하는 [1]~[11] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0047] [13]

[0048] 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하며, 바람직하게는 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하고, 상기 스페이서 수식이 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [1]~[12] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0049]

[0050] [식 중,

[0051] Rx는 에틸닐, 수소 원자 또는 OH이고,

[0052] M은 수소 원자 또는 OH이고,

[0053] n1은 1, 2 또는 5이고,

[0054] n2는 1, 2 또는 3이다.]

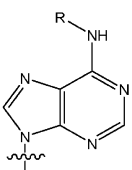
[0055] 또한, [13]에서의 스페이서 수식으로서, 가장 좌측 구조 중, 5원 고리의 산소 원자가 NH로 치환되어 있어도 좋다.

[0056] [14]

[0057] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [1]~[13] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0058] [15]

[0059] 상기 5' 측 비번역 영역이 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고, 상기 염기 수식 뉴클레오티드의 수식 염기부가 이하의 구조인 [1]~[14] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0060]

[0061] [식 중, R은 탄소수 1~6의 알킬기이다.]

[0062] [16]

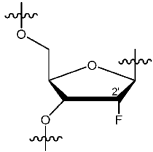
[0063] 상기 번역 영역은 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 코돈을 적어도 2개 포함하는 [1]~[15] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0064] [17]

[0065] 상기 번역 영역이 4 이상의 코돈을 포함하고, 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [1]~[16] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0066] [18]

[0067] 상기 번역 영역은 종시(終始) 코돈을 제외한 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 [1]~[17] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0068]

[0069] [19]

[0070] 상기 번역 영역이 2000 이하의 코돈을 포함하는 [1]~[18] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

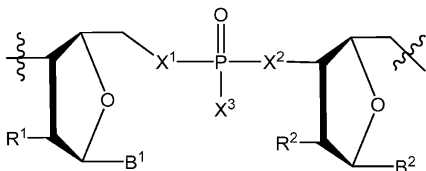
[0071] [19-1]

[0072] 상기 번역 영역이 4 이상 2000 이하(4~2000)의 코돈을 포함하는 [1]~[19] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0073] [20]

[0074] 상기 종지 코돈의 모든 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [1]~[19-1] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0075] [21] 이하의 구조를 포함하는 [1]~[20] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0076]

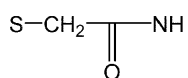
[0077] [식 중,

[0078] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, OH, F, $OCH_2CH_2OCH_3$ 또는 OCH_3 이고,

[0079] B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 염기부이고,

[0080] X^1 은 O, S 또는 NH이고,

[0081] X^2 은 O, S, NH 또는 이하의 구조이고,



[0082]

[0083] X^3 은 OH, SH 또는 이들의 염이며,

[0084] 단, X^1 및 X^2 는 동시에 0는 아니다]

[0085] [22]

[0086] [1]~[21] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물.

[0087] 본 발명은 이하의 실시형태를 더 포함한다.

[0088] [101]

[0089] 개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,

[0090] 5' 측 비번역 영역, 및

[0091] 폴리A쇄

[0092] 를 포함하고, 상기 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이스 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.

[0093] [101-1]

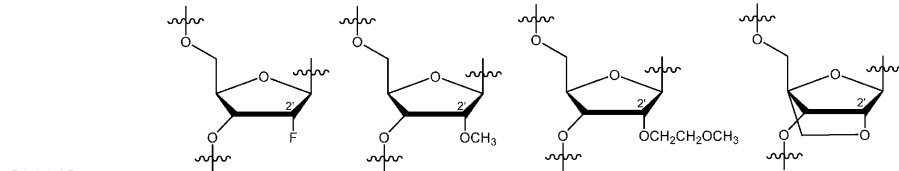
[0094] 상기 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 적어도 1 이상의 당 수식 뉴클레오티드를 포함하는 [101]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0095] [102]

[0096] 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드이며, 바람직하게는 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 [101] 또는 [101-1]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0097] [103]

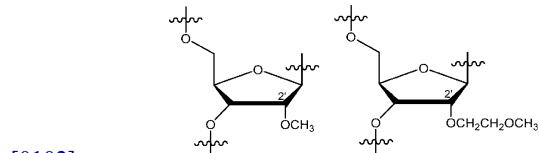
[0098] 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [101]~[102] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0099]

[0100] [104]

[0101] 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [101]~[103] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0102]

[0103] [105]

[0104] 상기 폴리A쇄는 인산 수식 뉴클레오티드를 적어도 하나 포함하는 [101]~[104] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0105] [106]

[0106] 상기 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [101]~[105] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0107] [107]

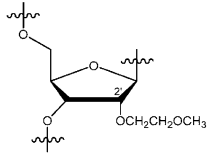
[0108] 상기 폴리A쇄를 구성하는 모든 뉴클레오타이드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [101]~[106] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0109] [108]

[0110] 상기 폴리A쇄가 2~40 염기 길이인 [101]~[107] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0111] [109]

[0112] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오타이드가 당 수식 뉴클레오타이드이고, 상기 당 수식 뉴클레오타이드의 수식 당부가 이하의 구조인 [101]~[108] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.



[0113]

[0114] [110]

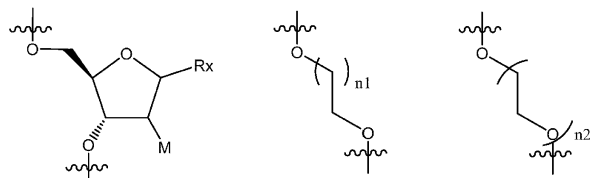
[0115] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단의 5' 측에, 1~10개의 당 비수식 뉴클레오타이드로 이루어진 부분을 더 포함하는 [109]에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0116] [111]

[0117] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오타이드를 제외한 뉴클레오타이드가 2'-데옥시리보뉴클레오타이드 및/또는 스페이서 수식을 포함하는 [101]~[110] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0118] [112]

[0119] 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하며, 바람직하게는 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하고, 상기 스페이서 수식이 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [101]~[111] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.



[0120]

[0121] [식 중,

[0122] Rx는 에틸닐, 수소 원자 또는 OH이고,

[0123] M은 수소 원자 또는 OH이고,

[0124] n1은 1, 2 또는 5이고,

[0125] n2는 1, 2 또는 3이다.]

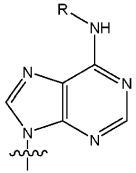
[0126] 또한, [112]에서의 스페이서 수식으로서, 가장 좌측 구조 중, 5원 고리의 산소 원자가 NH로 치환되어 있어도 좋다.

[0127] [113]

[0128] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오타이드, 1번째~3번째의 뉴클레오타이드, 1번째~4번째의 뉴클레오타이드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오타이드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [101]~[112] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.

[0129] [114]

[0130] 상기 5' 측 비번역 영역이 염기 수식 뉴클레오타이드를 포함하고, 상기 염기 수식 뉴클레오타이드의 수식 염기부가 이하의 구조인 [101]~[113] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오타이드.



[0131]

[0132] [식 중, R은 탄소수 1~6의 알킬기이다.]

[0133] [115]

[0134] 상기 번역 영역은 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 코돈을 적어도 2개 포함하는 [101]~[114] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0135] [116]

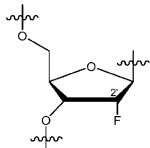
[0136] 상기 번역 영역이 4 이상의 코돈을 포함하고, 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [101]~[115] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0137] [116-1]

[0138] 상기 번역 영역이 4 이상 2000 이하(4~2000)의 코돈을 포함하는 [101]~[116] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0139] [117]

[0140] 상기 번역 영역은 중시 코돈을 제외한 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이며, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 [101]~[116-1] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0141]

[0142] [118]

[0143] 상기 번역 영역이 2000 이하의 코돈을 포함하는 [101]~[117] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

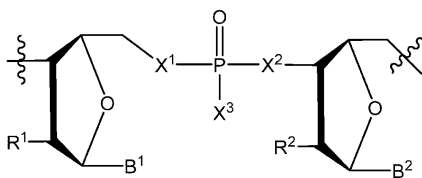
[0144] [118-1]

[0145] 상기 번역 영역이 4~2000의 코돈을 포함하는 [101]~[118] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0146] [119]

[0147] 상기 중시 코돈의 모든 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [101]~[118-1] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0148] [120] 이하의 구조를 포함하는 [101]~[119] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0149]

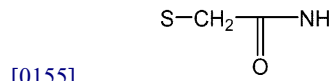
[0150] [식 중,

[0151] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, OH, F, $OCH_2CH_2OCH_3$ 또는 OCH_3 이고,

[0152] B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 염기부이고,

[0153] X^1 은 O, S 또는 NH이고,

[0154] X^2 는 O, S, NH 또는 이하의 구조이고,



[0156] X^3 은 OH, SH 또는 이들의 염이며,

[0157] 단, X^1 및 X^2 는 동시에 O는 아니다.]

[0158] [121]

[0159] [101]~[120] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물.

[0160] 본 발명은 상기 [1]~[22]와는 별도의 양태로서 이하의 실시형태를 더 포함한다.

[0161] [201]

[0162] 개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,

[0163] 5' 측 비번역 영역, 및

[0164] 폴리A쇄

[0165] 를 포함하고, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드에서 선택되는 폴리뉴클레오티드.

[0166] [201-1]

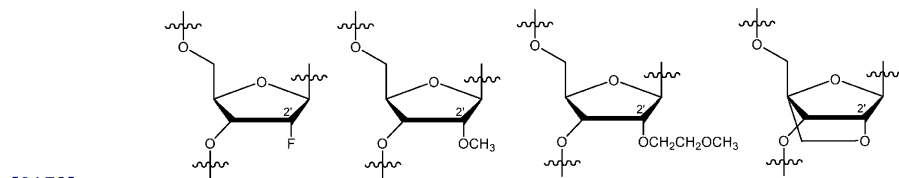
[0167] 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드가 적어도 1 이상의 당 수식 뉴클레오티드를 포함하는 [201]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0168] [202]

[0169] 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드이며, 바람직하게는 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 [201] 또는 [202-1]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

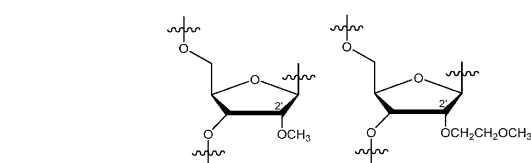
[0170] [203]

[0171] 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [201]~[202] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0173] [204]

[0174] 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [201]~[203] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0176] [205]

[0177] 상기 폴리A쇄는 인산 수식 뉴클레오티드를 적어도 하나 포함하는 [201]~[204] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0178] [206]

[0179] 상기 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [201]~[205] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0180] [207]

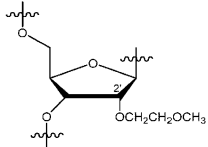
[0181] 상기 폴리A쇄를 구성하는 모든 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [201]~[206] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0182] [208]

[0183] 상기 폴리A쇄가 2~40 염기 길이인 [201]~[207] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0184] [209]

[0185] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 [201]~[208] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0186]

[0187] [210]

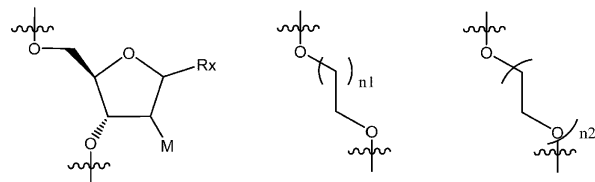
[0188] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단의 5' 측에, 1~10개의 당 비수식 뉴클레오티드로 이루어진 부분을 더 포함하는 [209]에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0189] [211]

[0190] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드를 제외한 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드 및/또는 스페이서 수식을 포함하는 [201]~[210] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0191] [212]

[0192] 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하며, 바람직하게는 상기 5' 측 비번역 영역 및/또는 3' 측 비번역 영역이 스페이서 수식을 포함하고, 상기 스페이서 수식이 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 [201]~[211] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0193]

[0194] [식 중,

[0195] Rx는 에틸닐, 수소 원자 또는 OH이고,

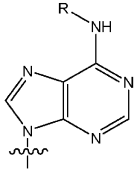
[0196] M은 수소 원자 또는 OH이고,

[0197] n1은 1, 2 또는 5이고,

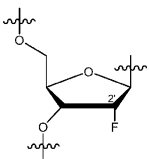
[0198] n2는 1, 2 또는 3이다.]

[0199] 또한, [212]에서의 스페이서 수식으로서, 가장 좌측 구조 중, 5원 고리의 산소 원자가 NH로 치환되어 있어도 좋다.

- [0200] [213]
- [0201] 상기 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 [201]~[212] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0202] [214]
- [0203] 상기 5' 측 비번역 영역이 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고, 상기 염기 수식 뉴클레오티드의 수식 염기부가 이하의 구조인 [201]~[213] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

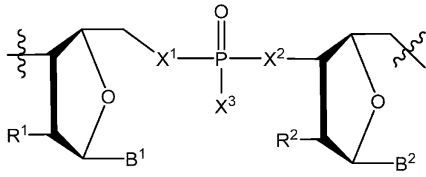


- [0204]
- [0205] [식 중, R은 탄소수 1~6의 알킬기이다.]
- [0206] [215]
- [0207] 상기 번역 영역은 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 코돈을 적어도 2개 포함하는 [201]~[214] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0208] [216]
- [0209] 상기 번역 영역이 4 이상의 코돈을 포함하고, 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [201]~[215] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0210] [216-1]
- [0211] 상기 번역 영역이 4 이상 2000 이하(4~2000)의 코돈을 포함하는 [201]~[216] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0212] [217]
- [0213] 상기 번역 영역은 중시 코돈을 제외한 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 상기 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부가 이하의 구조인 [201]~[216-1] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



- [0214]
- [0215] [218]
- [0216] 상기 번역 영역이 2000 이하의 코돈을 포함하는 [201]~[217] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0217] [218-1]
- [0218] 상기 번역 영역이 4~2000의 코돈을 포함하는 [201]~[218] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0219] [219]
- [0220] 상기 중시 코돈의 모든 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 [201]~[218-1] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.
- [0221] [220]

[0222] 이하의 구조를 포함하는 [201]~[219] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.



[0223]

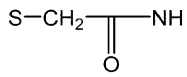
[0224] [식 중,

[0225] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, OH, F, $OCH_2CH_2OCH_3$ 또는 OCH_3 이고,

[0226] B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 염기부이고,

[0227] X^1 은 O, S 또는 NH이고,

[0228] X^2 은 O, S, NH 또는 이하의 구조이고,



[0229]

[0230] X^3 은 OH, SH 또는 이들의 염이며,

[0231] 단, X^1 및 X^2 는 동시에 O는 아니다]

[0232] [221]

[0233] [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물.

[0234] 본 발명은 이하의 실시형태를 더 포함한다.

[0235] [1A]

[0236] 질환의 치료에 사용하기 위한 [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드 또는 [22], [121] 및 [221] 중 어느 하나에 기재한 의약 조성물.

[0237] [1B]

[0238] 질환을 치료하는 방법으로서, 그 필요가 있는 환자에게 치료 유효량의 [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드 또는 [22], [121] 및 [221] 중 어느 하나에 기재한 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0239] [1C]

[0240] 질환을 치료하기 위한 [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드 또는 [22], [121] 및 [221] 중 어느 하나에 기재한 의약 조성물의 사용.

[0241] [1D]

[0242] 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의 [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드의 사용.

[0243] [1E]

[0244] 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드.

[0245] [1F]

[0246] [1]~[21], [101]~[120] 및 [201]~[220] 중 어느 하나에 기재한 폴리뉴클레오티드 또는 [22], [121] 및 [221] 중 어느 하나에 기재한 의약 조성물 및 사용설명서를 포함하는 질환의 치료에 사용하기 위한 키트.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0247] <폴리뉴클레오티드>
- [0248] 본 발명의 일 실시형태는, 폴리뉴클레오티드가,
- [0249] 개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,
- [0250] 5' 측 비번역 영역, 및
- [0251] 폴리A쇄
- [0252] 를 포함하고, 상기 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드이다.
- [0253] 본 발명에서는, 폴리뉴클레오티드에 있어서, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드임으로써 우수한 번역능을 보인다.
- [0254] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는, 번역 영역 및 폴리A쇄를 포함하지만, 폴리뉴클레오티드의 5' 측에서부터 3' 측으로, 5' 측 비번역 영역, 번역 영역, 폴리A쇄로 배열되어 있는 것이 바람직하고, 번역 영역과 폴리A쇄는 직접 연결되어 있어도 좋으며, 그 사이에 다른 영역이나 폴리A쇄에는 포함되지 않는 서열이 존재해 있어도 좋다. 번역 영역과 폴리A쇄가 직접 연결되어 있다는 것은, 번역 영역의 종지 코돈에 이어서 폴리A쇄가 결합해 있는 경우를 의미하고, 이 경우, 3' 측 비번역 영역이 폴리A쇄이다.
- [0255] 폴리A쇄는 3' 측 비번역 영역 내에 존재하고, 폴리뉴클레오티드는 5' 측 비번역 영역, 번역 영역, 3' 측 비번역 영역을 포함한다. 이 경우, 폴리A쇄는 3' 측 비번역 영역의 3' 말단에 존재한다.
- [0256] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는, 번역 영역이 폴리펩티드(본 명세서에서의 「폴리펩티드」는 단백질을 포함한다)로 번역된다고 하는 점에서, 예컨대 mRNA, 스몰 오픈 리딩 프레임(smORF), 비정규(non-canonical) 오픈 리딩 프레임, 롱 논코딩 RNA(lncRNA), pri-마이크로RNA(pri-miRNA)와 동등한 기능을 갖는 폴리뉴클레오티드로 이해된다.
- [0257] 폴리뉴클레오티드는, 단일쇄 폴리뉴클레오티드라도 좋고, 폴리뉴클레오티드의 말단이 서로 연결된 환상의 폴리뉴클레오티드라도 좋다.
- [0258] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는, 뉴클레오티드가 복수 결합한 것이며, 폴리뉴클레오티드를 구성하는 각 뉴클레오티드는, 통상 당부, 염기부 및 인산부를 포함한다. 당부는 뉴클레오티드에 포함되는, 당에 대응하는 부분이고, 염기부는 뉴클레오티드에 포함되는, 염기에 대응하는 부분이고, 인산부는 뉴클레오티드에 포함되는, 인산에 대응하는 부분이다.
- [0259] 일반적으로는 뉴클레오티드는, 염기부는 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 우라실(U) 또는 티민(T)에서 선택되고, 당부는 리보오스 또는 2'-데옥시리보오스에서 선택된다. 리보오스와 2'-데옥시리보오스는 각각 D체인 것이 바람직하다.
- [0260] 뉴클레오티드는 상기 염기부와 상기 당부의 조합을 포함하는데, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C) 또는 우라실(U)을 염기부로서 갖고, D-리보오스를 당부로서 갖는 리보뉴클레오티드인 것이 바람직하다.
- [0261] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드를 구성하는 뉴클레오티드는, 비수식 뉴클레오티드인 리보뉴클레오티드(AUGC)라도 좋고, 비수식 뉴클레오티드인 데옥시리보뉴클레오티드(ATGC)라도 좋고, 당부, 염기부 및 인산부의 적어도 일부에 있어서 비수식 뉴클레오티드에 유래하지 않는 구조를 갖는 수식 뉴클레오티드라도 좋다.
- [0262] 본 명세서에 있어서, 당부를 수식한 뉴클레오티드를 「당 수식 뉴클레오티드」라고 부르고, 염기부를 수식한 뉴클레오티드를 「염기 수식 뉴클레오티드」라고 부르고, 인산부를 수식한 뉴클레오티드를 「인산 수식 뉴클레오티드」라고 부른다. 본 명세서에서 「수식」이란, 당부, 염기부 또는 인산부의 구조를 변화시키는 것을 의미한다. 수식에 의한 구조의 변화는 특별히 한정되지 않는다. 수식으로서 예컨대 임의의 치환기에 의한 임의 부위의 치환을 들 수 있다.
- [0263] 수식 당부, 수식 염기부 또는 수식 인산부의 어느 하나를 갖는 뉴클레오티드를 수식 뉴클레오티드라고 하고, 당부, 염기부 또는 인산부의 어디에도 수식을 갖지 않는 뉴클레오티드가 비수식 뉴클레오티드이다.
- [0264] 수식 뉴클레오티드는, 수식 당부, 수식 염기부 또는 수식 인산부 중 하나의 수식부를 갖고 있어도 좋고, 임의

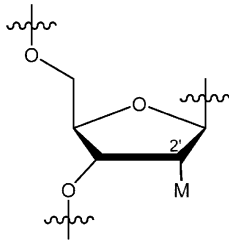
조합의 2종의 수식부를 갖고 있어도 좋고, 3종의 수식부를 갖고 있어도 좋다.

[0265] 비수식 당부는 리보오스 또는 2'-데옥시리보오스에 대응하는 당부이며, 리보오스에 대응하는 당부인 것이 보다 바람직하다. 즉, 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에 있어서, 당 수식 뉴클레오티드 이외의 뉴클레오티드는, 리보오스 또는 2'-데옥시리보오스에 대응하는 당부를 포함하는 것이 바람직하고, 리보오스에 대응하는 당부를 포함하는 것이 보다 바람직하다.

[0266] (당 수식 뉴클레오티드)

[0267] 당 수식 뉴클레오티드는, 뉴클레오티드의 당부가 수식된 것이라면 특별히 한정되지 않지만, 적어도 2' 위치가 수식된 당부를 포함하는 것이 바람직하다. 2' 위치가 수식됨으로써 효소에 대한 안정성을 향상시킬 수 있다. 적어도 2' 위치가 수식된 당부는 2' 위치와 4' 위치가 가교된 당부라도 좋다.

[0268] 수식 당부로서는 예컨대 이하의 것을 들 수 있다.



[0269]

[0270] [식 중,

[0271] M은, R^1 , OR^1 , R^2OR^1 , OR^2OR^1 , SH, SR^1 , NH_2 , NHR^1 , NR_2^1 , N_3 , CN, F, Cl, Br 또는 I이고,

[0272] R^1 은 각각 독립적으로 알킬 또는 아릴이고, 바람직하게는 탄소수 1~6의 알킬이며, 보다 바람직하게는 탄소수 1~3의 알킬이고,

[0273] R^2 는 알킬렌이며, 바람직하게는 탄소수 1~6의 알킬렌이다.]

[0274] 또한, M이 H이거나 OH인 경우가 비수식 당부이며, M이 H인 비수식 당부를 갖는 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드이고, M이 OH인 비수식 당부를 갖는 뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드이다.

[0275] 본 명세서에 있어서, 탄소수 1~6의 알킬로서는 예컨대 탄소수 1~6의 직쇄 또는 분기쇄의 알킬을 들 수 있다. 탄소수 1~6의 직쇄의 알킬로서는 예컨대 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸 및 헥실을 들 수 있다. 탄소수 1~6의 분기쇄의 알킬로서는 예컨대 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸 및 메틸로 치환된 펜틸을 들 수 있다.

[0276] 탄소수 1~3의 알킬로서는 예컨대 메틸, 에틸, 프로필 및 이소프로필을 들 수 있다.

[0277] 본 명세서에 있어서, 아릴로서는 예컨대 치환되어 있어도 좋은 페닐 및 치환되어 있어도 좋은 나프틸을 들 수 있다.

[0278] 본 명세서에 있어서, 탄소수 1~6의 알킬렌은 탄소수 1~6의 알킬의 탄소 원자에 결합하는 수소 원자를 하나 제외된 기이다.

[0279] 본 명세서에 있어서, 수식 당부란 당 수식 뉴클레오티드에 포함되는 수식된 당 구조를 나타낸다. 수식 당부의 M 으로서, 또한 2-(메톡시)에톡시, 3-아미노프로폭시, 2-[(N,N-디메틸아미노)옥시]에톡시, 3-(N,N-디메틸아미노)프로폭시, 2-[2-(N,N-디메틸아미노)에톡시]에톡시, 2-(메틸아미노)-2-옥소에톡시, 2-(N-메틸카르바모일)에톡시 및 2-시아노에톡시를 들 수도 있다.

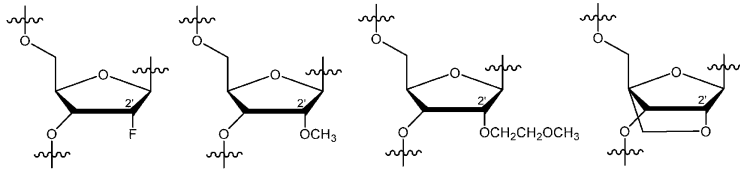
[0280] 수식 당부로서 또한 이하의 핵산의 당부를 들 수 있다:

[0281] · 잠금 핵산(LNA) [Tetrahedron Letters, 38, 8735 (1997) 및 Tetrahedron, 54, 3607 (1998)];

[0282] · 에틸렌 가교 핵산(ENA) [Nucleic Acids Research, 32, e175 (2004)];

[0283] · 구속 에틸(cEt) [The Journal of Organic Chemistry 75, 1569 (2010)];

- [0284] · 아미도-가교 핵산(AmNA) [Chem Bio Chem 13, 2513 (2012)];
- [0285] · 2'-O,4'-c-스피로시클로프로필렌 가교 핵산(scpBNA) [Chem. Commun., 51, 9737 (2015)];
- [0286] · 트리시클로DNA(tcDNA) [Nat. Biotechnol., 35, 238 (2017)];
- [0287] · 비잠금 핵산(UNA) [Mol. Ther. Nucleic Acids 2, e103 (2013)];
- [0288] · 3'-플루오로헥시톨 핵산(FHNA) [Nat. Biotechnol., 35, 238 (2017)];
- [0289] · 펩티드 핵산(PNA) [Acc. Chem. Res., 32, 624 (1999)];
- [0290] · 옥시펩티드 핵산(OPNA) [J. Am. Chem. Soc., 123, 4653 (2001)];
- [0291] · 펩티드 리보핵산(PRNA) [J. Am. Chem. Soc., 122, 6900 (2000)].
- [0292] 당식 당부는 특별히 한정되는 것은 아니지만, 이하에서 선택되는 것이 바람직하다.



- [0293]
- [0294] 당 수식 뉴클레오티드는, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C) 및 우라실(U)로 이루어지는 군에서 선택되는 염기에 대응하는 염기부를 포함하는 것이 바람직하고, 상기 염기의 종류는 적어도 2 종류인 것이 바람직하다. 여기서 「염기의 종류는 적어도 2 종류」란, 예컨대 1개의 당 수식 뉴클레오티드가 아데닌에 대응하는 염기부를 포함하고, 다른 당 수식 뉴클레오티드가 구아닌에 대응하는 염기부를 포함하는 것을 의미한다.
- [0295] 당 수식 뉴클레오티드는 염기 수식 뉴클레오티드 및/또는 인산 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 당 수식 뉴클레오티드는 수식 염기부 및/또는 수식인산부를 더 포함하고 있어도 좋다.). 당 수식 뉴클레오티드의 적어도 1개가 수식 염기부를 포함하고 있어도 좋다.
- [0296] (염기 수식 뉴클레오티드)
- [0297] 염기 수식 뉴클레오티드는 뉴클레오티드의 염기부가 수식된 것이라면 특별히 한정되지 않는다. 비수식 염기부로서는 예컨대 아데닌, 구아닌, 시토신 및 우라실에 대응하는 염기부를 들 수 있다. 수식 염기부로서는 예컨대 비수식 염기부의 산소 원자가 황 원자로 치환된 염기부, 비수식 염기부의 수소 원자가 탄소수 1~6의 알킬, 할로겐 등으로 치환된 염기부, 비수식 염기부의 메틸이 수소 원자, 히드록시메틸, 탄소수 2~6의 알킬 등으로 치환된 염기부, 비수식 염기부의 아미노가 탄소수 1~6의 알킬, 탄소수 1~6의 알카노일, 옥소, 히드록시 등으로 치환된 염기부를 들 수 있다.
- [0298] 염기 수식 뉴클레오티드가 갖는 수식 염기부의 구체예로서, 예컨대 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸시토신, 크산틴, 히포크산틴, 2-아미노아데닌, 6-메틸아데닌, 6-메틸구아닌, 2-프로필아데닌, 2-프로필구아닌, 2-티오우라실, 2-티오티민, 2-티오시토신, 5-프로피닐우라실, 5-프로피닐시토신, 6-아조우라실, 6-아조시토신, 6-아조티민, 5-슈도우라실, 4-티오우라실, 8-할로아데닌, 8-할로구아닌, 8-아미노아데닌, 8-아미노구아닌, 8-메르캅토아데닌, 8-메르캅토구아닌, 8-알킬티오아데닌, 8-알킬티오구아닌, 8-히드록시아데닌, 8-히드록시구아닌, 5-브로모우라실, 5-브로모시토신, 5-트리플루오로메틸우라실, 5-트리플루오로메틸시토신, 7-메틸구아닌, 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌, 8-아자아데닌, 7-테아자구아닌, 3-테아자구아닌, 7-테아자아데닌, 3-테아자아데닌, 피라졸로[3,4-d]피리미딘, 이미다조[1,5-a]1,3,5트리아진, 9-테아자푸린, 이미다조[4,5-d]피라진, 티아졸로[4,5-d]피리미딘, 피라진-2-온, 1,2,4-트리아진, 피리다진 및 1,3,5-트리아진을 들 수 있다.
- [0299] 염기 수식 뉴클레오티드는 당 수식 뉴클레오티드 및/또는 인산 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 염기 수식 뉴클레오티드는 수식 당부 및/또는 수식인산부를 더 포함하고 있어도 좋다.).
- [0300] (인산 수식 뉴클레오티드)
- [0301] 인산 수식 뉴클레오티드는 뉴클레오티드의 인산부(인산디에스테르 결합)가 수식된 것이라면 특별히 한정되지 않는다. 수식 인산부로서는 예컨대 포스포로티오에이트 결합, 포스포로디티오에이트 결합, 알킬포스포네이트 결합 및 포스포로아미데이트 결합을 들 수 있다.

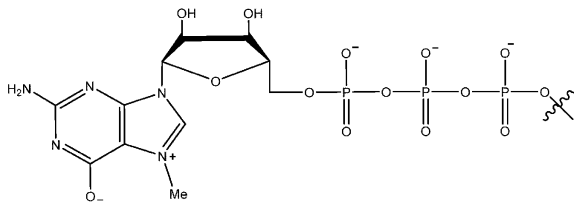
- [0302] 번역 영역은 수식 인산부가 광학 이성체(Rp, Sp)인 인산 수식 뉴클레오타이드를 포함하고 있어도 좋다. 포스포로티오에이트 결합의 광학 이성체를 선택적으로 합성하는 방법은 예컨대 J. Am. Chem. Soc., 124, 4962 (2002), Nucleic Acids Research, 42,13546 (2014) 및 Science 361, 1234 (2018)에 개시되어 있다.
- [0303] 인산 수식 뉴클레오타이드는 당 수식 뉴클레오타이드 및/또한 염기 수식 뉴클레오타이드라도 좋다(바꿔 말하면, 인산 수식 뉴클레오타이드는 수식 당부 및/또는 수식 염기부를 더 포함하고 있어도 좋다.).
- [0304] <번역 영역>
- [0305] 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드는 번역 영역을 포함한다. 번역 영역은 코드 서열(CDS)이라고도 불린다. 번역 영역은 개시 코돈에서부터 종지 코돈(또는 종결 코돈이라고 한다)까지의 복수의 코돈으로 구성되며 또한 번역되어 폴리펩티드가 합성되는 영역이다. 코돈은 폴리펩티드를 구성하는 각 아미노산을 코드하는 단위이고, 상기 단위는 3개의 뉴클레오타이드로 구성된다.
- [0306] 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드는, 하나의 폴리뉴클레오타이드가 복수의 번역 영역을 포함하고 있어도 좋고, 복수의 번역 영역을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에서는, 하나의 번역 영역을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 있어서의 번역 영역 부분이 복수의 번역 영역을 포함하고 있어도 좋다.
- [0307] 천연 코돈표에 한정되는 것이 아니지만, 천연 코돈표에 기초하면, 개시 코돈으로서의 예컨대 메티오닌을 코드하는 AUG를 들 수 있다. AUG 이외의 비정규 개시 코돈으로서 CUG, GUG, UUG, ACG, AUC, AUU, AAG, AUA, AGG를 들 수도 있다. 종지 코돈으로서의 예컨대 UAA, UAG 및 UGA를 들 수 있다. 번역 영역을 구성하는 코돈의 종류는 특별히 한정되지 않고, 목적으로 하는 폴리펩티드에 따라서 적절하게 선택할 수 있다.
- [0308] 번역 영역을 구성하는 코돈의 수(n)는 바람직하게는 2~2000의 정수이며, 보다 바람직하게는 2~1500의 정수이고, 더욱 바람직하게는 2~1000의 정수이고, 가장 바람직하게는 2~500의 정수이다. 또한, 상기 수치 범위의 하한을 5, 10, 50, 100, 200 등으로 변경하여도 좋다. 하한이 변경된 경우의 번역 영역을 구성하는 코돈의 수(n)는 바람직하게는 5~2000, 10~2000, 50~2000, 100~2000 또는 200~2000의 정수이며, 보다 바람직하게는 5~1500, 10~1500, 50~1500, 100~1500 또는 200~1500의 정수이고, 더욱 바람직하게는 5~1000, 10~1000, 50~1000, 100~1000 또는 200~1000의 정수이고, 가장 바람직하게는 5~500, 10~500, 50~500, 100~500 또는 200~500의 정수이다.
- [0309] 번역 영역을 구성하는 뉴클레오타이드의 수는 코돈의 수(n)의 3배의 수가 된다.
- [0310] 각 코돈은 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오타이드를 포함한다. 예컨대 개시 코돈(AUG)의 경우, 1번째의 뉴클레오타이드는 A이고, 2번째의 뉴클레오타이드는 U이고, 3번째의 뉴클레오타이드는 G이다.
- [0311] 번역 영역은 n개의 코돈을 포함하고, 상기 n이 2 이상의 양의 정수이며, 상기 n개의 코돈이 각각 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오타이드를 포함한다고 하는 경우, 상기 n개의 코돈 중 적어도 2개의 코돈에 있어서의 1번째의 뉴클레오타이드가 당 수식 뉴클레오타이드인 것이 바람직하다.
- [0312] 바꿔 말하면, 번역 영역이 코돈 중 1번째의 뉴클레오타이드가 당 수식 뉴클레오타이드인 코돈을 적어도 2개 포함하는 것이 바람직하고, 코돈에 있어서의 1번째의 뉴클레오타이드가 당 수식 뉴클레오타이드인 적어도 2개의 코돈은 번역 영역의 임의 위치의 코돈이라도 좋다.
- [0313] 번역 영역을 구성하는 복수 코돈에 있어서의 1번째의 뉴클레오타이드의 당부를 수식하여도 번역 활성이 유지되기 때문에, 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드는 번역 영역에 수식 부위를 가지면서도 번역 활성을 유지하고 있다. 본 명세서에서 「번역 활성」이란, mRNA가 번역되어 폴리펩티드가 합성되는 활성을 의미한다. 또한, 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드는 효소(예컨대 핵산 분해 효소(뉴클레아제))에 대한 우수한 안정성도 갖는다.
- [0314] 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드는, 번역 영역이 번역 활성을 유지하고 있는 한, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오타이드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오타이드임으로써 우수한 번역능을 보이게 된다.
- [0315] 본 명세서에서 「번역 활성이 유지된다」란, 복수 코돈에 있어서의 1번째의 뉴클레오타이드의 당부를 수식한 폴리뉴클레오타이드가 수식하지 않은 폴리뉴클레오타이드와 비교하여 60% 이상의 번역 활성이 있음을 가리킨다. 수식 폴리뉴클레오타이드의 번역 활성이 미수식 폴리뉴클레오타이드와 비교하여 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100% 이상인 것이 바람직하다.
- [0316] 본 실시형태의 폴리뉴클레오타이드에서는, 번역 영역을 구성하는 코돈에 포함되는 1번째의 뉴클레오타이드의 적어도 2개가 당 수식 뉴클레오타이드라도 좋다. 당 수식 뉴클레오타이드를 포함하는 코돈의 위치는 특별히 한정되지 않는다

다. 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 비율은 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 100%인 것이 바람직하다. 상기 비율이 100%란, 1번째의 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 것을 의미한다. 상기 비율이 클수록 효소에 대한 안정성이 우수한 경향이 있다. 1번째의 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 변역 영역이라도 좋다. 특별히 한정되지는 않지만, 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 경우, 1번째의 뉴클레오티드의 당부의 2' 위치의 치환기는 불소인 것이 바람직하다.

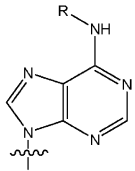
- [0317] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 변역 영역을 구성하는 코돈에 포함되는 2번째의 뉴클레오티드의 적어도 1개가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋지만, 2번째의 뉴클레오티드의 당부가 수식되어 있지 않아도 좋다. 2번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 비율은 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하 또는 0%라도 좋다. 상기 비율이 0%란, 2번째의 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드가 아님을 의미한다. 특별히 한정되지는 않지만, 2번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 경우, 2번째의 뉴클레오티드의 당부의 2' 위치의 치환기는 불소인 것이 바람직하다.
- [0318] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 변역 영역을 구성하는 코돈에 포함되는 3번째의 뉴클레오티드의 적어도 1개가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인 비율은 100%, 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하 또는 0%라도 좋다.
- [0319] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 변역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 종지 코돈의 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 1번째의 뉴클레오티드 전부 및 종지 코돈의 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드인 변역 영역이라도 좋다.
- [0320] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 핵산 분해 효소에 대한 안정성을 향상시킨다는 관점에서, 개시 코돈의 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 특별히 한정되지는 않지만, 개시 코돈의 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드의 당부의 2' 위치의 치환기가 모두 불소인 것이 바람직하다.
- [0321] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 종시 코돈을 제외한 나머지 코돈 전부에 있어서의 1번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 특별히 한정되지는 않지만, 종시 코돈을 제외한 모든 코돈의 1번째의 뉴클레오티드의 당부의 2' 위치의 치환기가 모두 불소인 것이 바람직하다.
- [0322] 변역 영역은 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 변역 영역에 있어서 염기 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다.
- [0323] 변역 영역은 인산 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 변역 영역에 있어서 인산 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않지만, 코돈의 1번째의 뉴클레오티드와 2번째의 뉴클레오티드를 연결하는 인산기가 포스포로티오에이트 결합인 것이 바람직하다.
- [0324] <5' 측 비변역 영역>
- [0325] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 5' 측 비변역 영역(5' UTR)을 포함한다. 5' 측 비변역 영역은 변역 영역의 상류(5' 말단 측)에 존재하며, 폴리펩티드 합성을 위한 변역이 이루어지지 않는 영역이다. 5' 측 비변역 영역을 구성하는 뉴클레오티드의 수는 바람직하게는 1 이상이며, 6 이상이라도 좋다. 또한, 5' 측 비변역 영역을 구성하는 뉴클레오티드의 수는 바람직하게는 1000 이하이며, 500 이하, 250 이하, 100 이하라도 좋다.
- [0326] 5' 측 비변역 영역을 구성하는 뉴클레오티드의 수는, 상기 상한과 하한에서 선택되는 임의 범위의 수라도 좋지만, 바람직하게는 1~1000의 정수이며, 보다 바람직하게는 1~500의 정수이고, 더욱 바람직하게는 6~250의 정수이고, 특히 바람직하게는 6~100의 정수이다.
- [0327] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 5' 측 비변역 영역, 변역 영역의 순으로 연결된다.
- [0328] 5' 측 비변역 영역은 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이스 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다.
- [0329] 이들 뉴클레오티드의 위치는 5' 측 비변역 영역 내에서 특별히 한정되지 않는다.
- [0330] 변역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 5' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋고, 5' 말단에서부터 1번째~6번째의 뉴클레오티드가 전부 당 수식 뉴클레오티드인 것이 바람직하다.

다.

- [0331] 또한, 5' 측 비번역 영역의 모든 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 당 수식 뉴클레오티드에 있어서, 당부의 2' 위치의 치환기는 메톡시에톡시기(OCH₂CH₂OCH₃) 또는 불소(F)인 것이 바람직하다.
- [0332] 본 발명의 일 실시형태는, 폴리뉴클레오티드가,
- [0333] 개시 코돈에서부터 종지 코돈까지의 번역 영역,
- [0334] 5' 측 비번역 영역, 및
- [0335] 폴리A쇄
- [0336] 를 포함하고, 상기 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이스 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로부터 선택되는 폴리뉴클레오티드이다.
- [0337] 본 발명에서는, 폴리뉴클레오티드에 있어서, 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 각각 독립적으로 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이스 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로부터 선택됨으로써 우수한 번역능을 나타낸다.
- [0338] 5' 측 비번역 영역의 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이스 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 당 수식 뉴클레오티드가 포함되는 것이 바람직하다.
- [0339] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에는, 본래의 5' 측 말단에 1~10 염기 길이의 적당한 당 비수식 뉴클레오티드를 부가한 것도 포함된다.
- [0340] (5' 캡 구조)
- [0341] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 본래의 5' 측 말단에 5'캡 구조를 더 포함하고 있어도 좋다. 5'캡 구조는 5' 측 비번역 영역에 부가되는 형태로 존재해 있어도 좋다. 5'캡 구조를 포함함으로써 번역 활성이 향상되는 경향이 있다.
- [0342] 본원에 있어서의 5'캡 구조는 7-메틸구아닐산(m7G)에 트리인 구조가 부여된 이하의 구조를 가리킨다.



- [0343]
- [0344] 5' 캡 구조에는, 상기 7-메틸구아닐산(m7G) 캡 외에, 이하의 논문에 개시되는 5' 캡 아날로그도 이용할 수 있다.
- [0345] · ARCA: 알엔에이(RNA), 제7권, 1486-1495 페이지 (2001), 셀 사이클(Cell Cycle), 제17권, 제13호, 1624-1636 페이지 (2018);
- [0346] · LNA: 저널 오브 아메리칸 케미컬 소사이어티(Journal of American Chemical Society), 제131권, 제18호, 6364-6365 페이지 (2009);
- [0347] · S화 Cap: 알엔에이(RNA), 제14권, 1119-1131 페이지 (2008);
- [0348] · 네이처 리뷰즈 드러그 디스커버리(Nature Reviews Drug Discovery), 제13권, 759-780 페이지 (2014).
- [0349] 5' 측 비번역 영역은 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 5' 측 비번역 영역에 있어서 염기 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다. 염기 수식 뉴클레오티드는 당 수식 뉴클레오티드 및/또는 인산 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 염기 수식 뉴클레오티드는 수식 당부 및/또는 수식 인산부를 더 포함하고 있어도 좋다.).
- [0350] 특별히 한정되지는 않지만, 번역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 5' 측 비번역 영역은 이하의 수식 염기부를 포함하는 것이 바람직하다.



[0351]

[0352] [식 중, R은 탄소수 1~6의 알킬기이다]

[0353] 수식 염기부의 알킬기 R은 메틸 또는 에틸인 것이 바람직하다.

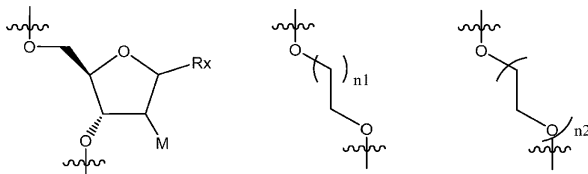
[0354] 5' 측 비번역 영역은 인산 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 5' 측 비번역 영역에 있어서 인산 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다. 인산 수식 뉴클레오티드는 당 수식 뉴클레오티드 및/또는 염기 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 인산 수식 뉴클레오티드는 수식 당부 및/또는 수식 염기부를 더 포함하고 있어도 좋다.).

[0355] 5' 측 비번역 영역은 2'-데옥시리보뉴클레오티드 또는 스페이서 수식을 포함하고 있어도 좋다. 5' 측 비번역 영역에 있어서 2'-데옥시리보뉴클레오티드 또는 스페이서 수식이 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않지만, 5' 말단에서부터 1번째~6번째를 제외한 임의 위치의 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드 또는 스페이서 수식을 포함하는 것이 바람직하다.

[0356] 본 실시형태에 있어서, 스페이서 수식은 번역 영역에는 포함하지 않는 것이 바람직한 실시 양태이다.

[0357] (스페이서 수식)

[0358] 5' 측 비번역 영역에 포함되는 스페이서 수식은, 염기부를 포함하지 않는, 뉴클레오티드의 대체로서 이용되는 구조라면 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 이하의 구조를 들 수 있다.



[0359]

[0360] [식 중,

[0361] Rx는 탄소수 1~6의 알킬, 탄소수 1~6의 알케닐, 탄소수 1~6의 알키닐, 수소 원자 또는 OH이고,

[0362] M은 R¹, OR¹, R²OR¹, OR²OR¹, SH, SR¹, NH₂, NHR¹, NR₂¹, N₃, 수소 원자, OH, CN, F, Cl, Br 또는 I이고,

[0363] X는 O, S 또는 NR¹이고,

[0364] R¹은 각각 독립적으로 알킬 또는 아릴이고, 바람직하게는 탄소수 1~6의 알킬이며, 보다 바람직하게는 탄소수 1~3의 알킬이고,

[0365] R²는 알킬렌이며, 바람직하게는 탄소수 1~6의 알킬렌이고,

[0366] n1 및 n2는 각각 1부터 10의 정수이다]

[0367] 또한, 스페이서 수식으로서, 가장 좌측 구조 중, 5원 고리의 산소 원자가 NH로 치환되어 있어도 좋다.

[0368] 스페이서 수식으로서 이용되는 구조에 관해서는 이하의 논문에 개시가 있다.

[0369] · M. Takeshita, C.N. Chang, F. Johnson, S. Will, and A.P. Grollman, J. Biol. Chem., 1987, 262, 10171-10179.

[0370] · M.W. Kalnik, C.N. Chang, A.P. Grollman, and D.J. Patel, Biochemistry, 1988, 27, 924-931.

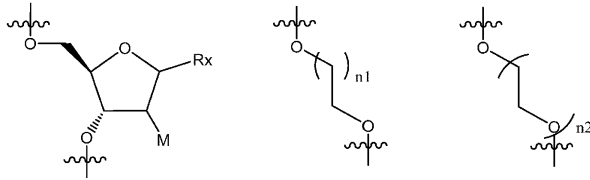
[0371] · I.G. Shishkina and F. Johnson, Chem Res Toxicol, 2000, 13, 907-912.

[0372] · K. Groebke, and C.J. Leumann, Helv Chim Acta, 1990, 73, 608-617.

[0373] · T. Kuboyama, M. Nakahara, M. Yoshino, Y. Cui, T. Sako, Y. Wada, T. Imanishi, S. Obika, Y. Watanabe, M. Suzuki, H. Doi, Bioorg. Med. Chem. 2011, 19, 249-255.

[0374] · M. Salunkhe, T.F. Wu, and R.L. Letsinger, J. Amer. Chem. Soc., 1992, 114, 8768-8772.

[0375] 스페이서 수식은 특별히 한정되지 않지만, 이하의 구조가 바람직하다.



[0376]

[0377] [식 중,

[0378] Rx는 에틸닐, 수소 원자 또는 OH이고,

[0379] M은 수소 원자 또는 OH이고,

[0380] n1은 1, 2 또는 5이고,

[0381] n2는 1, 2 또는 3이다.]

[0382] <폴리아쇄>

[0383] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 폴리아쇄를 포함한다.

[0384] 본 실시형태의 일 양태에서의 폴리아쇄는, 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식 뉴클레오티드이다. 폴리아쇄는 3' 측 비번역 영역에 포함된다.

[0385] 본 실시형태에서의 폴리아쇄는 3' 측 비번역 영역에 적어도 하나 이상 포함된다.

[0386] 폴리아쇄는 2 이상의 AMP로 구성되는 폴리아데닐산이다.

[0387] 본원에서의 AMP는 AMP에 상당하는 뉴클레오티드(예컨대 AMP의 당 수식 뉴클레오티드, AMP의 2'-데옥시리보뉴클레오티드, AMP의 인산 수식 뉴클레오티드 및 AMP의 염기 수식 뉴클레오티드를 포함한다)를 포함한다. 이후, 본원에서는 AMP 또는 AMP에 상당하는 뉴클레오티드를 통합하여 AMP라고 기재한다.

[0388] 폴리아쇄는, 2 이상의 AMP를 포함하는 폴리아데닐산 구조를 갖고 있으면, AMP 이외의 리보뉴클레오티드(예컨대 CMP, GMP, UMP 또는 각각에 상당하는 뉴클레오티드)를 포함하고 있어도 좋다. 폴리아쇄가 AMP 이외의 리보뉴클레오티드를 포함하는 경우, 폴리아쇄의 5' 말단의 뉴클레오티드는 2 이상의 AMP가 연속되는 서열의 시점이 되는 AMP로 이해된다.

[0389] 폴리아쇄가 AMP 이외의 리보뉴클레오티드를 포함하는 경우, 폴리아쇄를 구성하는 뉴클레오티드 중, AMP 이외의 리보뉴클레오티드의 비율은, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하 또는 10% 이하이며, 30% 이하가 바람직하고, 20% 이하가 보다 바람직하고, 10% 이하가 더욱 바람직하다.

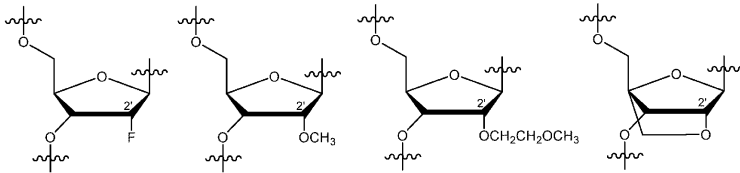
[0390] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는, 폴리아쇄의 뉴클레오티드 중, 65% 이상의 뉴클레오티드가 리보뉴클레오티드도 아니고, 2'-데옥시리보뉴클레오티드도 아니다.

[0391] 폴리아쇄가, AMP 이외의 리보뉴클레오티드를 포함하는 사례로서는, 예컨대 네이처 메디슨(Nature Medicine), 제23권, 제7호, 815-817 페이지 (2017), 사이언스(Science), 제361권, 701-704 페이지 (2018), 알엔에이(RNA), 제25권, 507-518 페이지 (2019)에 개시가 있다.

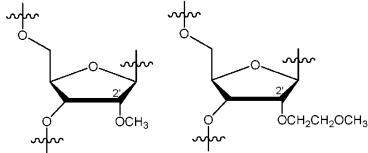
[0392] 본 명세서에서 폴리아쇄로서는, 2 곳 이상에 존재하는 2 이상의 AMP가 연속되는 영역을 임의의 링커로 연결한 서열도 폴리아쇄를 의미한다. 링커로서는 예컨대 폴리에틸렌글리콜, 폴리펩티드, 알킬쇄 등을 들 수 있지만, 특별히 한정되는 것은 아니다. 예컨대 국제공개 제2016/011306호에는, 특정 링커로 뉴클레오티드 사이를 연결하는 방법에 관해서 개시가 있다.

[0393] 본 실시형태의 일 양태에서의 폴리아쇄는 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다.

- [0394] 이들 뉴클레오티드의 위치는 3' 측 비번역 영역 내에서 특별히 한정되지 않는다.
- [0395] 본 양태의 폴리A쇄는, AMP를 포함하지 않는 경우도 있을 수 있지만, 상기 양태로서 기재하는 폴리A쇄에 관한 기재도 적용할 수 있다.
- [0396] 폴리A쇄는 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드를 65% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 100% 포함하고 있어도 좋으며, 폴리A쇄는 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 것이 바람직하다.
- [0397] 폴리A쇄의 뉴클레오티드가 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 당 수식 뉴클레오티드가 포함되는 것이 바람직하다. 폴리A쇄가 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 당 수식 뉴클레오티드는 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상일 수 있다.
- [0398] (3' 측 비번역 영역)
- [0399] 3' 측 비번역 영역(3' UTR)은, 번역 영역의 하류(3' 말단 측)에 존재하고, 폴리펩티드 합성을 위한 번역이 이루어지지 않는 영역이다. 3' 측 비번역 영역을 구성하는 뉴클레오티드의 수는 바람직하게는 2~6000의 정수이며, 보다 바람직하게는 2~3000의 정수이고, 더욱 바람직하게는 2~1000의 정수이고, 특히 바람직하게는 2~500의 정수이다.
- [0400] 3' 측 비번역 영역에서의 폴리A쇄 이외의 영역은 임의의 뉴클레오티드라도 좋고, 3' 측 비번역 영역의 폴리A쇄 이외의 영역의 각 뉴클레오티드는 비수식 뉴클레오티드라도 수식 뉴클레오티드라도 좋다.
- [0401] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 번역 영역, 3' 측 비번역 영역의 순으로 연결된다.
- [0402] 폴리A쇄의 길이는 바람직하게는 2~500 염기 길이이며, 보다 바람직하게는 2~200 염기 길이이고, 더욱 바람직하게는 2~80 염기 길이이고, 더욱 바람직하게는 2~40 염기 길이이고, 더욱 바람직하게는 3~40 염기 길이이고, 더욱 바람직하게는 5~40 염기 길이이고, 더욱 바람직하게는 10~40 염기 길이이며, 특히 바람직하게는 20~40 염기 길이이다.
- [0403] 폴리A쇄는 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이다. 당 수식 뉴클레오티드의 위치는 폴리A쇄 내에서 특별히 한정되지 않는다.
- [0404] 폴리A쇄 내에서 당 수식 뉴클레오티드인 비율은, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 100%인 것이 바람직하다. 상기 비율이 100%란, 폴리A쇄의 뉴클레오티드 전부가 당 수식 뉴클레오티드임을 의미한다.
- [0405] 폴리A쇄가 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 또는 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 당 수식 뉴클레오티드가 포함되어 있는 것이 바람직하다.
- [0406] 폴리A쇄가 2'-데옥시리보뉴클레오티드, 스페이서 수식 및 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드 중, 당 수식 뉴클레오티드는 50% 이상, 2'-데옥시리보뉴클레오티드는 30% 이하, 스페이서 수식은 20% 이하인 것이 바람직하다.
- [0407] 폴리A쇄가 2'-데옥시리보뉴클레오티드 및 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드 중, 당 수식 뉴클레오티드는 50% 이상, 2'-데옥시리보뉴클레오티드는 50% 이하인 것이 바람직하다.
- [0408] 폴리A쇄가 스페이서 수식 및 당 수식 뉴클레오티드로 구성되는 경우, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드 중, 당 수식 뉴클레오티드는 80% 이상, 스페이서 수식은 20% 이하인 것이 바람직하다.
- [0409] 번역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 3' 측 비번역 영역의 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드라도 좋다. 특별히 한정되지는 않지만, 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드의 당부의 2' 위치의 치환기는 메톡시에톡시기($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$)인 것이 바람직하다.
- [0410] 당 수식 뉴클레오티드의 수식 당부의 구체예로서는, 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 것이 바람직하고,



- [0411]
- [0412] 각각 독립적으로 이하의 구조 중 어느 하나에서 선택되는 것이 바람직하다.



- [0413]
- [0414] 폴리A쇄는 염기 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 폴리A쇄에 있어서 염기 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다. 염기 수식 뉴클레오티드는 당 수식 뉴클레오티드 및/또는 인산 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 염기 수식 뉴클레오티드는 수식 당부 및/또는 수식 인산부를 더 포함하고 있어도 좋다.).
- [0415] 3' 측 비번역 영역은, 바람직하게는 폴리A쇄 이외의 3' 측 비번역 영역에 있어서 2'-데옥시리보뉴클레오티드 또는 스페이서 수식을 포함하고 있어도 좋다. 스페이서 수식의 구체 구조로서는 예컨대 상기 (5' 측 비번역 영역)의 (스페이서 수식) 항목에서 기재한 것을 들 수 있다.

- [0416] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에는, 본래의 3' 측 말단에 1~10 염기 길이의 적당한 당 비수식 뉴클레오티드를 부가한 것도 포함된다.

- [0417] 폴리A쇄는 인산 수식 뉴클레오티드를 포함하고 있어도 좋다. 폴리A쇄에 있어서 인산 수식 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다. 인산 수식 뉴클레오티드는 당 수식 뉴클레오티드 및/또는 염기 수식 뉴클레오티드라도 좋다(바꿔 말하면, 인산 수식 뉴클레오티드는 수식 당부 및/또는 수식 염기부를 포함하고 있어도 좋다.).

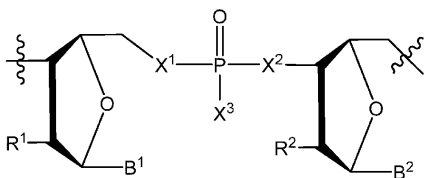
- [0418] 폴리A쇄에 포함되는 수식 인산부는 포스포로티오에이트가 바람직하다. 폴리A쇄에 있어서 포스포로티오에이트로 연결되는 뉴클레오티드가 존재하는 위치는 3' 측 말단 측에서부터 연속되어 있는 것이 바람직하다.

- [0419] 폴리A쇄 내 인산 결합 중 포스포로티오에이트로 연결되는 뉴클레오티드의 비율은 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100% 이상이며, 50% 이상인 것이 바람직하고, 80% 이상이 보다 바람직하고, 100%인 것이 특히 바람직하다. 상기 비율이 100%란, 폴리A쇄의 뉴클레오티드 전부가 포스포로티오에이트로 연결되어 있음을 의미한다.

- [0420] 인산 수식 뉴클레오티드는, 핵산 분해 효소의 하나인 엔도뉴클레아제에 대한 안정성을 부여할 수 있기 때문에, 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 5' 말단 및/또는 3' 말단에서부터 2 연속 이상 포함되는 것이 바람직하다.

- [0421] (연결부)

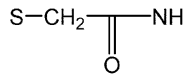
- [0422] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 이하의 연결부를 포함하고 있어도 좋다.



- [0423]
- [0424] [식 중,
- [0425] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 H, OH, F, OCH₂CH₂OCH₃ 또는 OCH₃이고,
- [0426] B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 염기부이고,

[0427] X^1 은 O, S 또는 NH이고,

[0428] X^2 는 O, S, NH 또는 이하의 구조이고,



[0429]

[0430] X^3 은 OH, SH 또는 이들의 염이고(X^3 의 OH 및 SH는 각각 O^- 및 S^- 로 표기되어도 좋다),

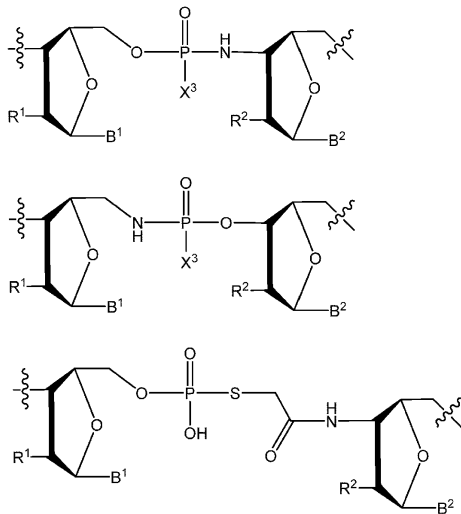
[0431] 단, X^1 및 X^2 는 동시에 O는 아니다.]

[0432] 염기부는 비수식 염기부라도 수식 염기부라도 좋다.

[0433] 상기 연결부에 있어서의 좌측 및 우측의 뉴클레오티드는 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드를 구성하는 2개의 뉴클레오티드이다. 상기 연결부를 포함하고 있더라도 번역 활성을 유지할 수 있다. 상기 연결부에 있어서의 우측(5' 말단 측)의 뉴클레오티드 A 및 좌측(3' 말단 측)의 뉴클레오티드 B, 그리고 상기 뉴클레오티드 B에 인접하는 3' 말단 측의 뉴클레오티드 C 및 상기 뉴클레오티드 C에 인접하는 3' 말단 측의 뉴클레오티드 D는 수식되어 있지 않아도 좋다.

[0434] 상기 연결부의 X^3 의 OH 및 SH의 염으로서는 예컨대 제약학적으로 허용 가능한 염을 들 수 있다. 제약학적으로 허용 가능한 염으로서의 예컨대 알칼리 금속염, 알칼리 토류 금속염, 암모늄염, 유기 아민염 및 아미노산염을 들 수 있다. 알칼리 금속염으로서의 예컨대 나트륨염, 리튬염 및 칼륨염을 들 수 있다. 알칼리 토류 금속염으로서의 예컨대 칼슘염 및 마그네슘염을 들 수 있다.

[0435] 상기 연결부의 구체예로서는 이하의 것을 들 수 있다.



[0436]

[0437] [식 중, R^1 , R^2 , B^1 , B^2 및 X^3 은 상기한 것과 같다.]

[0438] 상기 연결부가 존재하는 위치는 특별히 한정되지 않는다. 연결부는 번역 영역, 5' 측 비번역 영역 및 3' 측 비번역 영역(폴리A쇄를 포함한다)의 어디에 존재해 있어도 좋지만, 연결부가 존재하는 경우에는, 연결부는 적어도 번역 영역에 존재해 있는 것이 바람직하다.

[0439] 상기 연결부의 수는 특별히 한정되지 않고, 폴리뉴클레오티드의 길이에 따라서 적절하게 선택할 수 있다. 연결부의 수로서는 예컨대 1~200개, 1~100개, 1~50개, 1~20개, 1~10개, 1~8개, 1~6개, 1~4개, 1~3개 또는 1 혹은 2개를 들 수 있다.

[0440] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드에서는, 번역 영역을 구성하는 복수의 코돈 중 적어도 1개의 코돈에 있어서의 1번째의 뉴클레오티드와 2번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있어도 좋다. 포스포로티오에이트 결합의 수는 특별히 한정되지 않고, 폴리뉴클레오티드의 길이에 따라서 적절하게 선택할 수 있다. 포스포로티오에이트 결합의 수로서는 예컨대 1~200개, 1~100개, 1~50개, 1~20개, 1~10개, 1~8개, 1~6개,

1~4개, 1~3개 또는 1 혹은 2개를 들 수 있다.

- [0441] 변역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드, 1번째~3번째의 뉴클레오티드, 1번째~4번째의 뉴클레오티드 또는 1번째~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있어도 좋다. 이때, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째~2번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있다는 것은, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째의 뉴클레오티드와 2번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있다는 것과 동의이며, 예컨대 1번째~3번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있다는 것은, 1번째의 뉴클레오티드와 2번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되며 또한 2번째의 뉴클레오티드와 3번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있다는 것을 의미한다. 1번째~3번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는 경우, 1번째의 뉴클레오티드의 5' 측 및 3번째의 뉴클레오티드의 3' 측의 구조는 임의라도 좋다.
- [0442] 변역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 3' 측 비번역 영역의 3' 말단에서부터 1~2번째의 뉴클레오티드, 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있어도 좋다.
- [0443] 변역 활성을 향상시킨다는 관점에서, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1~2번째의 뉴클레오티드, 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있어도 좋다. 또한, 폴리A쇄의 모든 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있어도 좋다.
- [0444] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0445] 본 발명의 다른 실시형태는, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0446] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고,
- [0447] 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드인, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0448] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0449] 본 발명의 다른 실시형태는, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0450] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있고, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0451] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0452] 본 발명의 다른 실시형태는, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0453] 본 발명의 다른 실시형태는, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 5' 측 비번역 영역의 5' 말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있고,
- [0454] 폴리A쇄의 3' 말단에서부터 1번째, 2번째 및 3번째의 뉴클레오티드가 당 수식 뉴클레오티드이고, 폴리A쇄의 3'

말단에서부터 1~3번째의 뉴클레오티드, 1~4번째의 뉴클레오티드 또는 1~5번째의 뉴클레오티드가 포스포로티오에이트에 의해서 연결되어 있는, 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.

[0455] 본 발명에 있어서, 5' 측 비번역 영역, 번역 영역 및 폴리A쇄로서 기재하는 각 설명에서 예시하는 양태와 적합한 양태가 기재되어 있지만, 각 양태의 임의의 조합으로 5' 측 비번역 영역, 번역 영역 및 폴리A쇄가 존재하여도 좋고, 5' 측 비번역 영역, 번역 영역 및 폴리A쇄의 어느 하나 또는 둘에서 적합한 양태의 임의의 조합이라도 좋다. 또한, 5' 측 비번역 영역, 번역 영역 및 폴리A쇄로서 기재하는 이외의 영역도 적절하게 예시하는 양태 및 적합한 양태로 조합하여도 좋다.

[0456] 즉, 본 명세서에 있어서, 5' 측 비번역 영역, 번역 영역 및 폴리A쇄로서 기재하는 각 설명에서의, 예시하는 양태와 적합한 양태의 모든 조합이 본 명세서에서의 양태로서 기재되어 예시된다.

[0457] (기타 서열)

[0458] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 Kozak 서열 및/또는 리보솜 결합 서열(RBS)을 더 포함하고 있어도 좋다.

[0459] <폴리뉴클레오티드의 제조 방법>

[0460] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드는 예컨대 화학 합성에 의해서 제조할 수 있다. 구체적으로는 공지된 화학합성법을 이용하여 폴리뉴클레오티드쇄를 신장시키면서 소정의 위치에서 소정의 당 수식 뉴클레오티드를 도입함으로써 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드를 제조할 수 있다. 공지된 화학합성법으로서의 예컨대 포스포로아미다이트법, 포스포로티오에이트법, 포스포트리에스테르법 및 CEM법(Nucleic Acids Research, 35, 3287 (2007)를 참조)을 들 수 있다. 또한, ABI3900 하이스루풋 핵산 합성기(어플라이드바이오시스템즈사 제조)를 이용할 수도 있다.

[0461] 공지된 화학합성법으로서 보다 구체적으로는 이하의 문헌 등에 기재된 방법을 들 수 있다:

[0462] · 테트라헤드론(Tetrahedron), 제48권, 제12호, 2223-2311 페이지 (1992년);

[0463] · 커런트 프로토콜스 인 뉴클레익 애시즈 케미스트리(Current Protocols in Nucleic Acids Chemistry), John Wiley & Sons (2000년);

[0464] · 프로토콜즈 포 올리고뉴클레오티즈 앤드 아날로그즈(Protocols for Oligonucleotides and Analogs), Human Press (1993년);

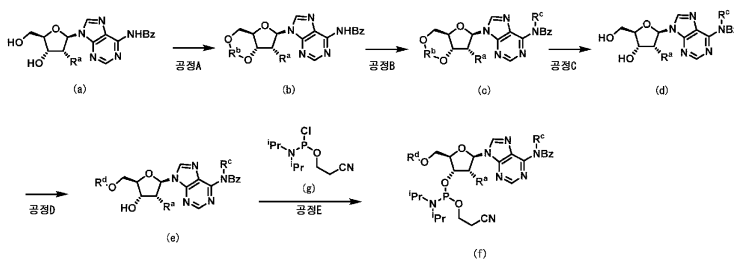
[0465] · 케미스트리 앤드 바이올로지 오브 아티피셜 뉴클레익 애시즈(Chemistry and Biology of Artificial Nucleic Acids), Wiley-VCH (2012년);

[0466] · 게놈 케미스트리 인공 핵산을 활용하는 과학적 접근, 고단샤 (2003년);

[0467] · 핵산 화학의 뉴트렌드, 가가쿠도진 (2011년).

[0468] 시판되지 않는 포스포로아미다이트를 화학 합성하고, 그것을 원재료에 이용하여 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드를 제조할 수 있다.

[0469] 염기 수식 뉴클레오티드의 원재료가 되는 포스포로아미다이트(f)의 합성 방법에 관해서 이하에 나타낸다.



[0470]

[0471] [합성 스킴 중, Ra는 수소 원자, F, OCH₂CH₂OCH₃ 또는 OCH₃이고, Rb는 예컨대 디-tert-부틸실릴 등의 불화물 이온으로 제거할 수 있는 보호기이고, Rc는 탄소수 1~6의 알킬이고, Rd는 핵산 고상 합성에서 이용되는 보호기이며, 예컨대 p,p'-디메톡시트리틸기이다.]

[0472] (공정 A)

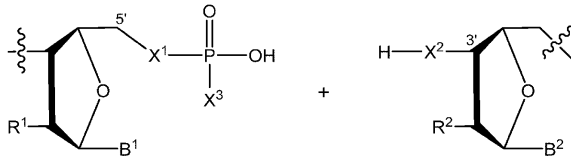
- [0473] 화합물 (b)는, 용매 중, 염기 존재 하에, 화합물 (a)와 예컨대 상당하는 실릴화제를, 0℃와 80℃ 사이의 온도에서 10분간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0474] 용매로서는 예컨대 DMF, DMA, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용된다.
- [0475] 염기로서는 예컨대 이미다졸, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민 등을 들 수 있다.
- [0476] 실릴화제로서는 예컨대 비스(트리플루오로메탄술폰산)디-tert-부틸실릴 등을 들 수 있다.
- [0477] (공정 B)
- [0478] 화합물 (c)는, 용매 중, 염기 존재 하에, 화합물 (b)와 상당하는 알킬화제를, 0℃와 150℃ 사이의 온도에서 10분간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 적당한 첨가제에 의해 반응을 촉진시킬 수도 있다.
- [0479] 용매로서는 예컨대 DMF, 피리딘, 디클로로메탄, THF, 아세트산에틸, 1,4-디옥산, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용된다.
- [0480] 염기로서는 예컨대 수산화나트륨 수용액, 탄산칼륨, 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민 등을 들 수 있다.
- [0481] 알킬화제로서는 예컨대 요오드화메틸, 요오드화에틸, 브롬화메틸 등을 들 수 있다.
- [0482] 첨가화제로서는 예컨대 테트라부틸암모늄브로미드를 들 수 있다.
- [0483] (공정 C)
- [0484] 화합물 (d)는, 용매 중, 화합물 (c)와 불소 시약을 -80℃와 200℃ 사이의 온도에서 10초간부터 72시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 이때, 염기를 첨가할 수도 있다.
- [0485] 불소 시약으로서는 예컨대 불화수소, 불화수소산트리에틸아민염, 불화테트라부틸암모늄(TBAF) 등을 들 수 있다.
- [0486] 염기로서는 예컨대 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민 등을 들 수 있다.
- [0487] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 클로로포름, 아세트니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, N,N-디메틸아세트아미드(DMA), NMP, 디메틸설폭시드(DMSO) 등을 들 수 있다.
- [0488] (공정 D)
- [0489] 화합물 (e)는, 용매 중, 염기 존재 하에, 화합물 (d)와 상당하는 알킬화제를, 0℃와 150℃ 사이의 온도에서 10분간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 적당한 활성화제에 의해 반응을 촉진시킬 수도 있다.
- [0490] 용매로서는 예컨대 DMF, 피리딘, 디클로로메탄, THF, 아세트산에틸, 1,4-디옥산, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용된다.
- [0491] 염기로서는 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민, 2,6-루티딘 등을 들 수 있다.
- [0492] 알킬화제로서는 예컨대 트리틸클로리드, p,p'-디메톡시트리틸클로리드 등을 들 수 있다.
- [0493] 활성화제로서는 예컨대 4-디메틸아미노피리딘 등을 들 수 있다.
- [0494] (공정 E)
- [0495] 화합물 (f)는, 용매 중, 화합물 (e)와 화합물 (g)를, 염기 존재 하에, 0℃와 100℃ 사이의 온도에서 10초간부터 24시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0496] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세트니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용된다.
- [0497] 염기로서는 예컨대 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민, 피리딘 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용된다.
- [0498] 5' 캡 구조는 공지된 방법(예컨대 효소법 및 화학합성법)을 이용하여 도입할 수 있다. 공지된 방법으로서 예컨대 Top. Curr. Chem. (Z) (2017) 375:16 및 Beilstein J. Org. Chem. 2017, 13, 2819-2832에 기재된 방법을 들 수 있다.
- [0499] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드의 염기 길이가 긴 경우, 복수의 폴리뉴클레오티드 단위를 연결하여도 좋다. 연

결 방법은 특별히 한정되지 않고, 예컨대 효소법 및 화학합성법을 들 수 있다.

[0500] 효소법에 의한 연결로서는 예컨대 리가아제를 이용한 연결을 들 수 있다. 리가아제로서는 예컨대 T4 DNA Ligase, T4 RNA Ligase1, T4 RNA Ligase2, T4 RNA Ligase2, 절두 T4 RNA Ligase2, 절두 KQ, 이 콜라이(*E. Coli*) DNA Ligase, Taq. DNA Ligase 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다. 효소법에서는 일반적으로 폴리뉴클레오티드의 5' 말단 측을 구성하는 폴리뉴클레오티드 단위(이하 「5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위」라고 부른다.)의 3' 말단의 뉴클레오티드 A와, 폴리뉴클레오티드의 3' 말단 측을 구성하는 폴리뉴클레오티드 단위(이하 「3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위」라고 부른다.)의 5' 말단의 뉴클레오티드 B(연결한 폴리폴리뉴클레오티드에서 뉴클레오티드 A 및 B는 서로 인접한다.)와, 상기 뉴클레오티드 B에 인접하는 뉴클레오티드 C와, 상기 뉴클레오티드 C에 인접하는 뉴클레오티드 D가 수식되어 있지 않은 것이 바람직하다. 한편, *Molecular Cell*, Vol. 16, 211-221, October 22, 2004에 기재된 T4 RNA Ligase 2 등을 사용하는 경우에는 상기 뉴클레오티드 A~D는 수식되어 있어도 좋다.

[0501] 효소법에 의한 연결에서는, 분자 군집 효과에 의해 연결 반응을 촉진하기 위해서, 다분산 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 이용하여도 좋다. 다분산 PEG로서는 예컨대 PEG4000, PEG6000, PEG8000, PEG10000 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0502] 화학합성법에 의한 연결(「케미칼 라이게이션」이라고도 한다)로서는, 예컨대 하기에 나타내는 것과 같이, 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 3' 말단(하기 우측)과, 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 5' 말단(하기 좌측)을, 촉합제의 존재 하에서 축합하는 방법을 들 수 있다.

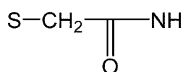


[0503]

[0504] [식 중, R¹, R², B¹, B² 및 X³은 상기한 것과 같고,

[0505] X¹은 O, S 또는 NH이고,

[0506] X²는 O, S, NH 또는 이하의 구조이다.]



[0507]

[0508] 촉합제로서는 예컨대 1,3-디시클로헥산카르보디이미드(DCC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드·염산염(EDC), 카르보닐디이미다졸, 벤조트리아졸-1-일옥시트리스(디메틸아미노)포스포늄헥사플루오로포스파이트, (벤조트리아졸-1-일옥시)트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스파이트, 0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스파이트(HATU), 0-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스파이트(HBTU), 요오드화 2-클로로-1-메틸피리디늄, 1H-이미다졸-1-카르보닐트릴, 1-시아노-1H-벤조이미다졸, 1-시아노-1H-벤조트리아졸을 들 수 있다.

[0509] 상기 축합 반응은, 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 3' 말단 측의 뉴클레오티드쇄 및 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 5' 말단 측의 뉴클레오티드쇄와 상보적인 뉴클레오티드쇄를 포함하는 템플릿 DNA의 존재 하에서 실시하는 것이 바람직하다. 템플릿 DNA는, 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 3' 말단으로부터 바람직하게는 2~50 염기 길이, 보다 바람직하게는 5~40 염기 길이의 뉴클레오티드쇄 및 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 5' 말단으로부터 바람직하게는 2~50 염기 길이, 보다 바람직하게는 5~40 염기 길이의 뉴클레오티드쇄와 상보적인 뉴클레오티드쇄인 것이 바람직하다. 여기서 「상보적」이란, 염기 서열의 동일성이 예컨대 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100%임을 의미한다.

[0510] 상기 축합 반응에 있어서 첨가제를 첨가하여도 좋다. 첨가제로서는 예컨대 1-히드록시벤조트리아졸(HOBt) 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)을 들 수 있다.

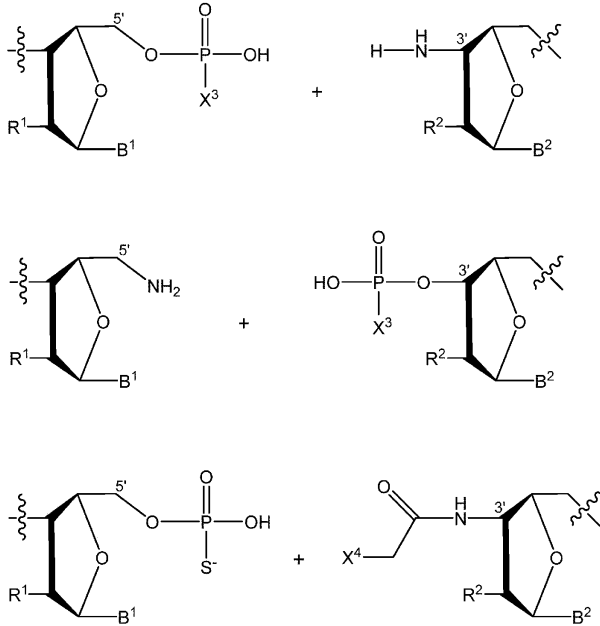
[0511] 상기 축합 반응에 있어서 금속염을 첨가하여도 좋다. 금속염으로서 예컨대 염화아연(II), 브롬화아연(II), 아

세트산아연(II), 염화니켈(II), 염화망간(II) 등을 들 수 있다.

[0512] 상기 축합 반응은 완충액의 존재 하에서 실시하여도 좋다. 완충액으로서는 예컨대 아세트산 완충액, 트리스 완충액, 시트르산 완충액, 인산 완충액 및 물을 들 수 있다.

[0513] 상기 축합 반응의 온도는 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 실온~200℃로 하여도 좋다. 상기 축합 반응의 시간은 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 5분간~100시간으로 하여도 좋다.

[0514] 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 3' 말단(하기 우측)과, 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위의 5' 말단(하기 좌측)의 축합 반응의 구체예로서는 이하의 것을 들 수 있다.



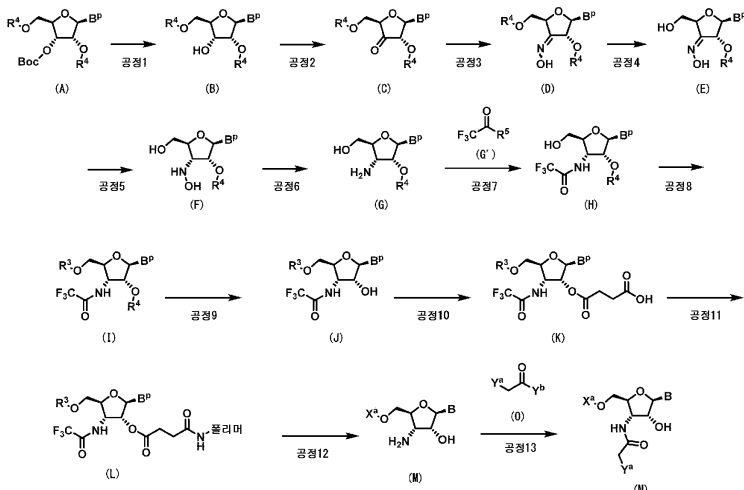
[0515]

[0516] [식 중, R¹, R², B¹, B² 및 X³은 상기한 것과 같고, X⁴는 탈리기이다.]

[0517] 탈리기의 구체예로서는 클로로기, 브로모기, 요오드기, 메탄술폰닐기, p-톨루엔술폰닐기, 트리플루오로메탄술폰닐기를 들 수 있다. 탈리기는 특별히 한정되지는 않지만, 클로로기, 브로모기인 것이 바람직하다.

[0518] 폴리뉴클레오티드 단위의 연결은 목적으로 하는 폴리뉴클레오티드의 길이에 따라서 여러 번 반복하여도 좋다. 연결 횟수는 특별히 한정되지 않고, 예컨대 1~200회, 1~100회, 1~50회, 1~20회, 1~10회, 1~8회, 1~6회, 1~4회, 1~3회, 또는 1 혹은 2회로 하여도 좋다.

[0519] 연결에 이용하는 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위인 화합물(M) 및 화합물(N)의 제조법을 이하에 나타낸다.



[0520]

[0521] [식 중, B^p는 보호기로 보호되어 있어도 좋은 염기이며, B는 염기이고, 폴리머는 고상 지지체이다. R⁴는 선택적으로 탈보호 가능한 보호기이며, 예컨대 tert-부틸디메틸실릴기, 트리에틸실릴기이고, R³은 핵산 고상 합성에서 이용되는 보호기이며, 예컨대 p,p'-디메톡시트리틸기이고, X^a는 핵산 서열이고, Y^a 및 Y^b는 각각 독립적으로 탈리기이며, 예컨대 할로젠이고, 바람직하게는 염소 원자 또는 브롬 원자이다. 본 명세서에서 핵산 서열이란, 각각 결합하는 화합물과 함께 핵산을 형성하는, 핵산에 있어서의 부분 구조이다. 또한, 분자 중에 B가 복수 존재하는 경우, 각각의 B는 동일하더라도 다르더라도 좋다.]

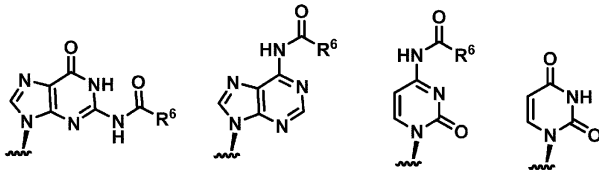
[0522] (공정 1)

[0523] 화합물 (B)는, 화합물 (A)를 용매 중, 60℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0524] 용매로서는 예컨대 톨루엔, 크실렌, 1,2-디클로로에탄, 1,4-디옥산, N,N-디메틸포름아미드(DMF), N-메틸피롤리돈(NMP), 1,2-디클로로벤젠, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0525] 화합물 (A)는 예컨대 J. Am. Chem. Soc. (1999), 121, 5661-5665.에 기재된 방법 등에 의해 제조할 수 있다.

[0526] 화합물 (A)에서의 B^p는 특별히 한정되지 않지만, 하기 구조의 어느 하나인 것이 바람직하다.



[0527]

[0528] R⁶은 염기의 보호기의 일부를 구성하는 기이며, 예컨대 메틸기, 이소프로필기, 치환기를 갖더라도 좋은 페닐기 등을 나타낸다. 치환기를 갖더라도 좋은 페닐기에 있어서의 치환기로서는 예컨대 메틸기, 이소프로필기 또는 tert-부틸기를 나타낸다.

[0529] (공정 2)

[0530] 화합물 (C)는, 화합물 (B)를 용매 중, 1~100 당량의 산화제의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간, 바람직하게는 1~100 당량의 첨가제와 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0531] 용매로서는 예컨대 클로로포름이나 디클로로메탄 등의 비프로톤성 용매 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0532] 산화제로서는 예컨대 존스 시약, 크롬산, 이크롬산피리디늄, 사산화루테늄, 아염소산나트륨, 데스-마틴(Dess-Martin) 시약 등의 유기계 산화제 또는 클로로크롬산피리디늄 등의 무기계 산화제 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0533] 첨가제로서 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0534] (공정 3)

[0535] 화합물 (D)는, 화합물 (C)를 피리딘 등의 용매 중, 히드록실아민염산염의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0536] (공정 4)

[0537] 화합물 (E)는, 화합물 (D)를 용매 중, 1~100000 당량의 탈보호제의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0538] 용매로서는 예컨대 톨루엔, 크실렌, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0539] 탈보호제로서는 예컨대 트리플루오로아세트산, 트리클로로아세트산, 아세트산, 염산 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

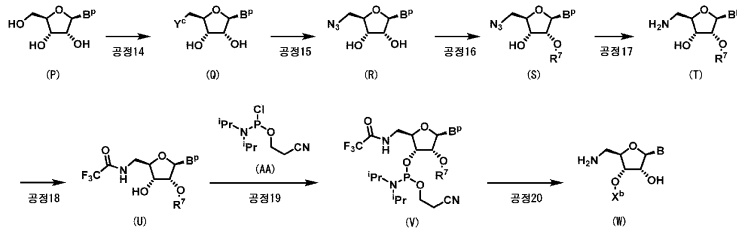
- [0540] (공정 5)
- [0541] 화합물 (F)는, 화합물 (E)를 용매 중, 환원제의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0542] 용매는 예컨대 트리플루오로아세트산, 트리클로로아세트산, 아세트산, 염산, 톨루엔, 크실렌, 톨루엔, 크실렌, 테트라히드로푸란, 메탄올, 에탄올, 1,4-디옥산, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0543] 환원제는 예컨대 수소화붕소나트륨, 수소화시아노붕소나트륨, 수소화붕소리튬, 트리아세톡시수소화붕소나트륨 등을 들 수 있다.
- [0544] (공정 6)
- [0545] 화합물 (G)는, 화합물 (F)를 용매 중, 촉매의 존재 하, 수소 분위기 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0546] 용매는 예컨대 트리플루오로아세트산, 아세트산, 회염산, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0547] 촉매는 예컨대 팔라듐탄소, 루테튬탄소 등을 들 수 있다.
- [0548] 화합물 (G)는 예컨대 국제공개 제2017/123669호에 기재한 방법 등으로도 제조할 수 있다.
- [0549] (공정 7)
- [0550] 화합물 (H)는, 화합물 (G)를 용매 중, 1~100 당량의 화합물 (G') 및 염기의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간, 바람직하게는 1~1000 당량의 염기와 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0551] 용매로서는 예컨대 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, 테트라히드로푸란(THF), 1,4-디옥산, N,N-디메틸포름아미드(DMF), N-메틸피롤리돈(NMP), 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0552] 염기로서는 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민, 2,6-루티딘 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0553] 화합물 (G')는 시판 제품을 이용할 수 있다.
- [0554] (공정 8)
- [0555] 화합물 (I)는, 화합물 (H)와 p,p'-디메톡시트리틸클로리드를, 피리딘 등의 용매 중, 필요에 따라서 공용매의 존재 하에, 0℃와 100℃ 사이의 온도에서 5분간~100시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0556] 공용매로서는 예컨대 메탄올, 에탄올, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄, 톨루엔, 아세트산에틸, 아세토니트릴, 디에틸에테르, 테트라히드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 디옥산, N,N-디메틸포름아미드(DMF), N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0557] (공정 9)
- [0558] 화합물 (J)는, 화합물 (I)를 용매 중, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10분간부터 10일간 1~10 당량의 첨가제와 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0559] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, DMA, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0560] 첨가제로서는 예컨대 테트라부틸암모늄플루오리드, 트리에틸아민삼불화수소산염 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0561] (공정 10)
- [0562] 화합물 (K)는, 화합물 (J)와 숙신산무수물을, 용매 중, 1~30 당량의 염기 존재 하에, 실온과 200℃ 사이의 온도에서 5분간~100시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

- [0563] 용매로서는 예컨대 메탄올, 에탄올, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄, 톨루엔, 아세트산에틸, 아세토니트릴, 디에틸에테르, 테트라히드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 디옥산, N,N-디메틸포름아미드(DMF), N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 피리딘, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0564] 염기로서는 예컨대 탄산세슘, 탄산칼륨, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 나트륨메톡시드, 칼륨 tert-부톡시드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, N-메틸모르폴린, 피리딘, 1,8-디아자비스클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), N,N-디메틸-4-아미노피리딘(DMAP) 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0565] (공정 11)
- [0566] 화합물 (L)은, 화합물 (K)와, 말단이 아미노화된 고상 지지체를, 무용매로 또는 용매 중, 1~30 당량의 염기, 촉합제 및 필요에 따라서 0.01~30 당량의 첨가제의 존재 하에, 실온과 200℃ 사이의 온도에서 5분간~100시간 반응한 후, 무수아세트산/피리딘 용액 중, 실온과 200℃ 사이의 온도에서 5분간~100시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0567] 용매로서는 공정 4에서 예시한 것을 들 수 있다.
- [0568] 염기로서는 예컨대 탄산세슘, 탄산칼륨, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 나트륨메톡시드, 칼륨 tert-부톡시드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, N-메틸모르폴린, 피리딘, 1,8-디아자비스클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), N,N-디메틸-4-아미노피리딘(DMAP) 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0569] 촉합제로서는 예컨대 1,3-디시클로헥산카르보디이미드(DCC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드·염산염(EDC), 카르보닐디이미다졸, 벤조트리아졸-1-일옥시트리스(디메틸아미노)포스포늄헥사플루오로포스파이트, (벤조트리아졸-1-일옥시)트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스파이트, 0-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스파이트(HATU), 0-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스파이트(HBTU), 요오드화 2-클로로-1-메틸피리디늄 등을 들 수 있다.
- [0570] 첨가제로서는 예컨대 1-히드록시벤조트리아졸(HOBT), 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0571] 고상 지지체로서는, 고상 합성을 행함에 있어서 공지된 아미노화된 고상 지지체가 이용되는 한 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 장쇄 알킬아미노기로 수식된 CPG(제어 공극 유리)나 PS(폴리스티렌 수지) 등의 고상 지지체를 들 수 있다.
- [0572] 예컨대 장쇄 알킬아민 세공성 유리(LCAA-CPG)는 시판 제품을 이용할 수 있다.
- [0573] (공정 12)
- [0574] 화합물 (M)은, 화합물 (L)을 이용하여, 공지된 올리고뉴클레오티드 화학합성법으로, 대응하는 뉴클레오티드쇄를 신장한 후에, 고상으로부터의 탈리, 보호기의 탈보호 및 정제를 행함으로써 제조할 수 있다.
- [0575] 고상으로부터의 탈리, 탈보호는, 올리고뉴클레오티드 화학 합성 후, 용매 또는 무용매 중, -80℃부터 200℃ 사이의 온도에서 10초간부터 72시간 염기로 처리함으로써 제조할 수 있다.
- [0576] 염기로서는 예컨대 암모니아, 메틸아민, 디메틸아민, 에틸아민, 디에틸아민, 이소프로필아민, 디이소프로필아민, 피페리딘, 트리에틸아민, 에틸렌디아민, 1,8-디아자비스클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 탄산칼륨 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0577] 용매로서는 예컨대 물, 메탄올, 에탄올, THF 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0578] 올리고뉴클레오티드의 정제는, C18 역상 컬럼 혹은 음이온 교환 컬럼, 바람직하게는 상술한 2개의 수법을 조합하여 정제할 수 있다.
- [0579] 정제 후의 핵산 복합체 순도는 바람직하게는 90% 이상, 보다 바람직하게는 95% 이상이다.
- [0580] (공정 13)
- [0581] 화합물 (N)은, 화합물 (M)을 이용하여, 완충액 중, 1~1000 당량의 화합물 (O)의 존재 하에, 실온과 100℃ 사이의 온도에서 5분간~100시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0582] 완충액으로서는 예컨대 아세트산 완충액, 트리스 완충액, 시트르산 완충액, 인산 완충액, 물 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0583] 화합물 (O)는 시판 제품을 이용할 수 있다.

[0584] 연결에 이용하는 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단위인 화합물 (W)의 제조 방법에 관해서 이하에 나타낸다.



[0585]

[식 중, B^p는 보호기로 보호되어 있어도 좋은 염기이며, B는 염기이고, R⁷은 보호기이며, 예컨대 tert-부틸디메틸실릴기, 트리에틸실릴기이고, Y^c는 예컨대 염소 원자, 브롬 원자, 토실레이트기이고, X^b는 핵산 서열이다. 또한, 분자 내에 B가 복수 존재하는 경우, 각각의 B는 동일하더라도 다르더라도 좋다.]

[0587] (공정 14)

[0588] 화합물 (Q)는, 화합물 (P)를 용매 중, 첨가제 및 염기의 존재 하에, 0℃와 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0589] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, DMA, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0590] 첨가제로서는 예컨대 토실산무수물, 토실클로리드, 티오닐클로리드, 옥살릴클로리드 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0591] 염기로서는 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민, 탄산칼륨 등을 들 수 있고, 이들을 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0592] 화합물 (P)는 시판 제품을 이용할 수 있다.

[0593] (공정 15)

[0594] 화합물 (R)은, 화합물 (Q)를 용매 중, 아지드화제와 필요에 따라서 염기의 존재 하에, 실온과 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0595] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, DMA, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0596] 아지드화제로서는 예컨대 아지드화나트륨 등을 들 수 있다.

[0597] 염기로서는 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민, 탄산칼륨 등을 들 수 있고, 이들을 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0598] (공정 16)

[0599] 화합물 (S)는, 화합물 (R)을 용매 중, 실릴화제와 염기의 존재 하에, 실온과 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0600] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, DMA, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.

[0601] 실릴화제로서는 예컨대 tert-부틸디메틸실릴클로리드, tert-부틸디메틸실릴트리플레이트, 트리에틸실릴클로리드 등을 들 수 있다.

[0602] 염기로서는 예컨대 피리딘, 트리에틸아민, N-에틸-N,N-디이소프로필아민, 탄산칼륨, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 나트륨메톡사이드, 칼륨 tert-부톡사이드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, N-메틸모르폴린, 피리딘, 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), N,N-디메틸-4-아미노피리딘(DMAP) 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는

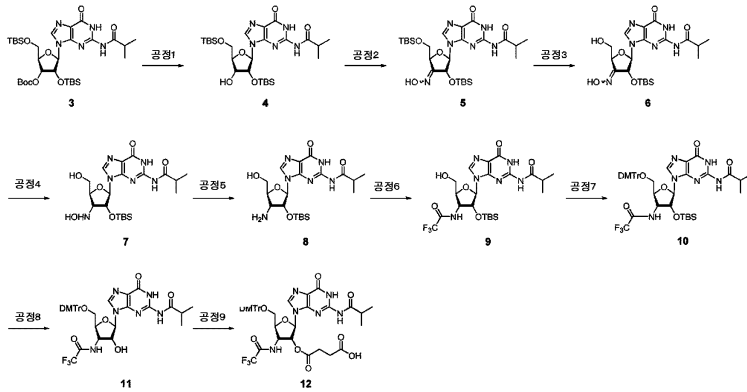
혼합하여 이용할 수 있다.

- [0603] (공정 17)
- [0604] 화합물 (T)는, 화합물 (S)를 용매 중, 환원제를 가하여, 실온과 이용하는 용매의 비점 사이의 온도에서 10초간 부터 3일간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0605] 용매로서는 예컨대 메탄올, 에탄올, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄, 톨루엔, 아세트산에틸, 아세 토니트릴, 디에틸에테르, 테트라히드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 디옥산, N,N-디메틸포름아미드(DMF), N,N-디메 틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민, 아세트산, 물 등을 들 수 있고, 이 들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0606] 환원제로서는 예컨대 수소화붕소나트륨, 수소화시아노붕소나트륨, 수소화붕소리튬, 트리아세톡시수소화붕소나트 른, 수소 분위기 하에서의 팔라듐탄소 등을 들 수 있다.
- [0607] (공정 18)
- [0608] 화합물 (U)는 화합물 (T)를 이용하여 공정 7과 같은 식으로 제조할 수 있다.
- [0609] (공정 19)
- [0610] 화합물 (V)는, 용매 중, 화합물 (U)와 화합물 (AA)를, 염기 존재 하에, 0°C와 100°C 사이의 온도에서 10초간부 터 24시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0611] 용매로서는 예컨대 디클로로메탄, 아세토니트릴, 톨루엔, 아세트산에틸, THF, 1,4-디옥산, DMF, NMP 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0612] 염기로서는 예컨대 트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민, 피리딘 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다.
- [0613] 화합물 (AA)는 시판 제품을 이용할 수 있다.
- [0614] (공정 20)
- [0615] 화합물 (W)는 화합물 (V)를 이용하여 공정 12와 같은 식으로 제조할 수 있다.
- [0616] 본 실시형태의 폴리뉴클레오티드를 복수의 폴리뉴클레오티드 단위를 연결하여 제조하는 경우, IVT로 제조한 폴 리뉴클레오티드 단위를 일부 포함하고 있어도 좋다. IVT로 제조한 폴리뉴클레오티드를 연결하는 방법은 특별히 한정되지 않고, 예컨대 상술한 효소법 및 화학합성법을 들 수 있다. IVT를 이용하여 폴리뉴클레오티드 단위를 제조하는 방법으로서, 프로모터 서열을 갖는 주형 DNA로부터 RNA 폴리메라아제를 이용하여 RNA를 전사하는 방 법을 들 수 있다. 공지된 IVT로서, 보다 구체적으로는 이하의 문헌 등에 기재된 방법을 들 수 있다.
- [0617] · 알엔에이, 메소즈 인 몰레큘러 바이올로지(메소즈 앤드 프로토콜즈)(RNA, Methods in Moleculer Biology(Methods and Protocols)), 제703권, 제3장 (2011년);
- [0618] · 카르디아 쥘 테라피: 메소즈 인 몰레큘러 바이올로지(메소즈 앤드 프로토콜즈)(Cardiac Gene Therapy: Methods in Moleculer Biology(Methods and Protocols)), 제1521권, 제8장 (2016년);
- [0619] · 저널 오브 몰레큘러 바이올로지(Journal of Molecular Biology), 제249권, 398 페이지~408 페이지 (1995).
- [0620] IVT에 이용하는 주형 DNA로서는, 예컨대 화학 합성에 의해서 제조된 것, 폴리메라아제 연쇄 반응에 의해서 제조 된 것, 플라스미드 DNA, 플라스미드 DNA를 제한 효소에 의해서 선형화하여 제조된 것 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다. RNA 폴리메라아제로서는 T3RNA 폴리메라아제, T7RNA 폴리메라아제, SP6RNA 폴리메라아제 등을 들 수 있고, 이들은 단독으로 또는 혼합하여 이용할 수 있다. 전사 시에 이용하는 리 보뉴클레오시드삼인산은 수식되어 있어도 좋고, 복수 종류의 리보뉴클레오시드삼인산을 혼합하여 이용할 수도 있다. Cardiac Gene Therapy: Methods in Moleculer Biology(Methods and Protocols), 제1521권, 제8장 (2016 년)에 기재된 것과 같이, m7G(5')ppp(5')G(트리링크사 제조, 카탈로그 번호 S1404)나 Anti Reverse Cap Analog, 3'-O-Me-m7G(5') ppp(5')G(트리링크사 제조, 카탈로그 번호 N-7003) 등의 화합물을 이용하여 5' Cap 구조를 부여할 수 있다. Journal of Molecular Biology, 제249권, 398 페이지~408 페이지 (1995)에 기재된 것 과 같이, 주형 DNA에 간염 델타 바이러스(HDV) 리보자임 등의 서열을 삽입해 둠으로써, 전사 후에 RNA의 5' 말 단이나 3' 말단을 절단할 수 있다.

- [0621] <의약 조성물>
- [0622] 본 발명의 일 실시형태는 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 의약 조성물에 관한 것이다. 본 실시형태의 의약 조성물을 질환을 갖는 환자에게 투여함으로써 폴리뉴클레오티드가 번역되고, 상기 폴리뉴클레오티드가 코딩하는 폴리펩티드가 합성되어, 상기 질환이 치료된다.
- [0623] 특별히 한정되지는 않지만, 특정 단백질의 기능 또는 활성을 잃었거나 이상(異常)인 것을 특징으로 하는 질환에 대하여, 상기 폴리뉴클레오티드로부터 번역되는 폴리펩티드에 의해서 그 기능이나 활성을 보충함으로써 치료하는 방법이 제공된다. 혹은 외래의 항원 펩티드 및 그 유사체를 상기 폴리뉴클레오티드로부터 번역되는 폴리펩티드에 의해서 생체 내에 발현시킴으로써 면역 응답을 인공적으로 제어하는 치료 방법도 제공된다. 또한, 전사 인자 등의 생체 내 특정 단백질 또는 생체 내에 원래 존재하지 않는 폴리펩티드를, 상기 폴리뉴클레오티드로부터 번역되는 폴리펩티드에 의해서 생체에 발현시킴으로써, 세포의 기능, 분화, 증식 등을 인위적으로 제어, 개변할 수도 있고, 이에 따라, 조직이나 세포가 손상되었거나, 그 기능이나 활성이 저하했거나, 이상으로 된 것을 특징으로 하는 질환에 대하여, 조직이나 세포의 기능을 회복시키는 치료 방법도 제공된다.
- [0624] 질환으로서는, 특별히 한정되지는 않지만, 예컨대 암 및 증식성 질환, 감염증 및 기생충증, 혈액 및 조혈기관의 질환, 자기면역 질환, 내분비, 영양 및 대사 질환(선천성 대사이상증을 포함한다), 정신, 신경계 질환, 피부 및 피하조직의 질환, 눈 질환, 귀 질환, 호흡기계 질환, 소화기계 질환, 신요로생식기계 질환, 심혈관 질환, 뇌혈관 질환, 근골격계 및 결합 조직의 질환, 유산, 주산기 질환, 선천성 기형, 후천적인 손상 및 중독 등을 들 수 있다.
- [0625] 의약 조성물은 소정의 제제 형태로 투여하여도 좋다. 제제로서는 예컨대 경구 투여 또는 비경구 투여를 위한 액체 제형을 들 수 있고, 액체 제형으로서는 예컨대 약학적으로 허용 가능한 유제, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽제 및 엘릭시르제를 들 수 있다. 액체 제형은, 활성 성분에 더하여, 해당 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 불활성 희석제(예컨대 물 또는 다른 용매), 가용화제 및 유화제(예컨대 에틸알코올, 이소프로필알코올, 탄산에틸, 아세트산에틸, 벤질알코올, 안식향산벤질, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 디메틸포름아미드, 오일(특히 면실, 낙화생류, 옥수수, 배아, 올리브, 피마자 및 참깨의 오일), 글리세롤, 테트라히드로푸르푸릴알코올, 폴리에틸렌글리콜 및 소르비탄의 지방산에스테르, 그리고 이들의 혼합물)을 포함하고 있어도 좋다. 경구 투여용 제제는 아췌반트(예컨대 습윤제, 유화제 및 현탁화제), 감미료, 향미료 및 착향제 중 적어도 어느 하나를 포함하고 있어도 좋다. 비경구 투여용 제제는 가용화제(예컨대 Cremophor(등록상표), 알코올, 오일, 변성유, 글리콜, 폴리솔베이트, 시클로텍스트린, 폴리머 및 이들의 조합)를 포함하고 있어도 좋다.
- [0626] 의약 조성물의 투여 방법으로서, 예컨대 림프절 국소 투여, 종양내 국소 투여, 근육내 투여, 피내 투여, 피하 투여, 기관내 투여, 수강내(髓腔內) 투여, 뇌실내 투여, 안내 투여, 고실내(鼓室內) 투여, 관동맥에의 카테터 투여, 간문맥에의 카테터 투여, 심근에의 카테터 투여, 경요도적 카테터 투여 및 정맥내 투여를 들 수 있다.
- [0627] 의약 조성물은 상기 폴리뉴클레오티드에 더하여 임의 성분을 포함하고 있어도 좋다. 임의 성분으로서, 예컨대 용매, 수성 용매, 비수성 용매, 분산매, 희석제, 분산물, 현탁제, 계면활성제, 등장제, 증점제, 유화제, 방부제, 지질, 리피도이드, 리포솜, 지질 나노 입자, 코어·셸형 나노 입자, 폴리머, 리포플렉스(lipoplexe), 펩티드, 단백질, 세포, 히알루로니다아제 및 이들의 혼합물에서 선택된 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 들 수 있다.
- [0628] 실시예
- [0629] 이하, 실시예 및 참고예를 이용하여 본 발명을 보다 상세히 설명하지만, 본 발명의 기술적 범위는 이것에 한정되는 것은 아니다.
- [0630] 화합물의 합성에서 이용한 시약은 시그마알드리치사, 도요가세이교교가부시키가이샤, 와코순야쿠교교가부시키가이샤, 간토가가쿠가부시키가이샤로부터 구입한 것을 정제하지 않고서 사용했다. 무수용매는 활성화한 몰레큘러 시브 4A 상에서 12시간 건조시킴으로써 조제하거나, 시판되는 무수 등급의 용매를 사용했다. 반응의 추적은 박층 실리카겔 크로마토그래피(실리카겔 70F254 TLC 플레이트-와코, 와코순야쿠교교가부시키가이샤)에 의해 실시했다. 화합물의 정제에는 플래시 크로마토그래피용 실리카겔 60N(구상, 중성, 입경 40~50 μm)(간토가가쿠가부시키가이샤)를 사용했다. NMR은 중수소화 용매(CDC₃, CD₃OD, DMSO-d₆)(간토가가쿠가부시키가이샤)를 측정 용매로 하여 JEOL ECS 400 MHz(니혼덴시가부시키가이샤)를 이용하여 측정했다. 취득한 NMR의 데이터는 소프트웨어로서 JEOL Delta(니혼덴시가부시키가이샤)를 이용하여 해석하고, 화학 시프트치는 중수소화 용매 내 잔류 시그널

(CDCl₃: 7.26, CD₃OD: 3.31, DMSO-d₆: 2.50)(Organometallics 2010, 29, 2176-2179)를 이용하여 보정했다. ¹H NMR의 데이터는 화학 시프트치(δ), 적분치(H), 시그널의 분열 양식, 커플링 상수(Hz)로서 기재했다(s: 단일항, d: 이중항, t: 삼중항, sept.: 칠중항, m: 다중항, br.: 광역). 고분해능 질량 분석은 micrOTOF-QII ESI(Bruker Daltonics사)를 이용하여 측정하고, ESI TUNING MIX(Agilent Technologies사)를 내부 표준으로 하여 정밀 질량의 보정을 행했다.

[0631] 폴리뉴클레오티드의 원료가 되는 화합물 12의 합성은 하기 스킴으로 합성했다.



[0632]

[0633] 공정 1: 화합물 4의 합성

[0634] N-(9-((2R,3S,4S,5R)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-5-((tert-부틸디메틸실릴옥시)메틸)-4-히드록시-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0635] 문헌에 기재된 방법(J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 5661-5665) 등에 의해 얻어지는 화합물 3을 이용하여, 1,2-디클로로벤젠(2.0 mL)에 용해시키고, 유욕(油浴)(160℃) 상에서 4시간 교반했다. 반응액을 실온까지 되돌린 후, 농축하지 않고서 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=40:1)로 정제하여, 화합물 4를 백색 고체로서 얻었다(0.31 g, 수율 53%).

[0636] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 12.01(1H, s), 8.50(1H, s), 8.07(1H, s), 5.86(1H, d, J=6.0 Hz), 4.47(1H, s), 4.24-4.23(1H, m), 4.22-4.21(1H, m), 3.93(1H, dd, J=11.6, 2.0 Hz), 3.82(1H, dd, J=11.6, 2.0 Hz), 2.66(1H, sept., J=6.8 Hz), 1.27(3H, d, J=6.8 Hz), 1.25(3H, d, J=6.8 Hz), 0.93(9H, s), 0.82(9H, s), 0.13(3H, s), 0.12(3H, s), -0.07(3H, s), -0.20(3H, s)

[0637] ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 179.0, 155.7, 148.5, 148.7, 147.8, 136.8, 121.0, 87.4, 85.4, 77.6, 71.8, 63.6, 36.2, 25.9, 25.4, 19.1, 18.7, 18.3, 17.8, -5.3, -5.4, -5.5, -5.6

[0638] ESI-HRMS: 계산치 C₂₆H₄₈N₅O₆Si₂ 582.31[M+H]⁺, 실측치: 582.31[M+H]⁺

[0639] 공정 2: 화합물 5의 합성

[0640] N-(9-((2R,3S,5S)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-5-((tert-부틸디메틸실릴옥시)메틸)-4-(히드록시이미노)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0641] 크롬산(129 mg, 1.29 mmol)의 무수디클로로메탄(2.0 mL) 용액에 몰레큘러 시브 3A(분말형)(258 mg)을 가하여 빙욕(氷浴) 상에서 냉각했다. 이 용액에, 교반 하에 무수피리딘(207 μL, 1.29 mmol)을 적하하여 빙욕 상에서 교반했다. 30분 후, 무수아세트산(122 μL, 1.29 mmol)을 적하하여 빙욕 상에서 교반했다. 30분후, 화합물 4(250 mg, 0.43 mmol)의 디클로로메탄(1.3 mL) 용액을 적하하여 실온에서 2시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 아세트산에틸로 희석하여 실리카 패드(2 cm 두께)로 여과하고, 여과액을 감압 농축하여 무색 고체를 얻었다. 이 조생성물 4'는 이대로 다음 반응에 이용했다.

[0642] 조생성물 4'(0.43 mmol로서)의 피리딘(4 mL) 용액에 히드록실아민염산염(299 mg, 4.30 mmol)을 가하여 실온에서 교반했다. 24시간 후, 반응액을 감압 농축하고, 잔사에 물을 가하여 아세트산에틸로 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정하여, 무수황산나트륨 상에서 건조시켰다. 유기층을 감압 농축하고, 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그

래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=40:1)로 정제하여, 화합물 5를 백색 고체로서 얻었다(255 mg, 2단계에 대해 수율 68%).

[0643] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 12.14(1H, s), 9.27(1H, s), 8.78(1H, s), 8.11(1H, s), 5.78(1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.09(1H, s), 4.92(1H, d, $J=7.2$ Hz), 4.14(1H, d, $J=11.4$ Hz), 3.92(1H, d, $J=11.4$ Hz), 2.79-2.74(1H, m), 1.27-1.21(6H, m), 0.91(9H, s), 0.71(9H, s), 0.10(3H, s), 0.07(3H, s), -0.10(3H, s), -0.23(3H, s)

[0644] ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 178.9, 157.8, 155.6, 148.7, 147.8, 136.8, 120.8, 87.5, 86.5, 62.2, 36.3, 25.9, 25.5, 25.2, 19.1, 18.8, 18.3, 18.0, -5.0, -5.5, -5.6, -5.7

[0645] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{26}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_6\text{Si}_2$ 595.31[M+H]⁺, 실측치: 595.31[M+H]⁺

[0646] 공정 3: 화합물 6의 합성

[0647] N-(9-((2R,3S,5S)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-4-(히드록시이미노)-5-(히드록시메틸)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0648] 화합물 5(129 mg, 0.22 mmol)에 빙냉한 90% 트리플루오로아세트산 수용액(1.0 mL)을 가하여 빙욕 상에서 30분간 교반했다. 반응액을 감압 농축하고, 얻은 잔사를 톨루엔과 물(1:1, v/v)로 감압 하에서 3회 공비(共沸)시켰다. 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=50:1~40:1)로 정제하여, 화합물 6을 백색 고체로서 얻었다(96 mg, 수율 92%).

[0649] ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD) δ 8.36(1H, s), 5.87(1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.18(1H, dd, $J=7.6, 2.0$ Hz), 5.02(1H, d, $J=2.0$ Hz), 4.11(1H, dd, $J=12.0, 2.0$ Hz), 3.92(1H, d, $J=12.0, 2.0$ Hz), 2.71(1H, sept., $J=7.2$ Hz), 1.21(6H, d, $J=7.2$ Hz), 0.72(9H, s), 0.00(3H, s), -0.16(3H, s)

[0650] ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ 181.8, 157.4, 156.8, 151.0, 150.0, 139.8, 121.3, 88.4, 79.7, 76.5, 61.6, 36.9, 25.9, 19.4, 19.2, -4.5, -5.5

[0651] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{NaO}_6\text{Si}$ 503.21[M+Na]⁺, 실측치: 503.20[M+Na]⁺

[0652] 공정 4: 화합물 7의 합성

[0653] N-(9-((2R,3S,4S,5S)-4-아미노-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-5-(히드록시메틸)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0654] 화합물 6(93 mg, 0.19 mmol)의 아세트산(1.9 mL) 용액에 수소화붕소나트륨(15 mg, 0.38 mmol)을 가하여 실온에서 1시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 감압 농축하고, 잔사를 아세트산에틸에 용해시키고, 포화식염수로 세정하여, 무수황산나트륨 상에서 건조시켰다. 유기층을 감압 농축하고, 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=20:1)로 정제하여, 화합물 7을 백색 고체로서 얻었다(51 mg, 수율 55%).

[0655] ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD) δ 8.34(1H, s), 6.06(1H, d, $J=6.0$ Hz), 4.75(1H, t, $J=6.4$ Hz), 4.27(1H, d, $J=2.8$ Hz), 3.86(1H, dd, $J=12.4, 2.0$ Hz), 3.73(1H, d, $J=12.4, 2.0$ Hz), 3.62-3.60(1H, m), 2.71(1H, sept., $J=6.8$ Hz), 1.21(6H, d, $J=6.8$ Hz), 0.82(9H, s), -0.02(3H, s), -0.23(3H, s)

[0656] ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ 181.8, 157.4, 150.8, 149.8, 139.6, 139.4, 121.1, 89.7, 84.5, 77.7, 65.4, 65.2, 36.9, 26.0, -5.2, -5.3

[0657] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_6\text{Si}$ 483.24[M+H]⁺, 실측치: 483.23[M+H]⁺

[0658] 공정 5: 화합물 8의 합성

[0659] N-(9-((2R,3S,4S,5S)-4-아미노-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-5-(히드록시메틸)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

- [0660] 화합물 7(50 mg, 0.10 mmol)의 90% 아세트산 수용액(1.5 mL) 용액에 10% 팔라듐탄소(20 mg)를 가하여, 수소 분위기 하에 실온에서 18시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 메탄올로 희석하여, 팔라듐탄소를 셀라이트 여과로 제거했다. 여과액을 감압 농축하고, 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=15:1~10:1)로 정제하여, 화합물 8을 백색 고체로서 얻었다(아세트산염으로서 41 mg, 수율 75%).
- [0661] ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD) δ 8.32(1H, s), 5.99(1H, s), 4.60(1H, s), 3.95-3.68(4H, m), 2.73(1H, br. s), 1.22(6H, br. s), 0.05(3H, s), -0.06(3H, s)
- [0662] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{NaO}_5\text{Si}$ 489.2258[M+Na]⁺, 실측치: 489.2231[M+Na]⁺
- [0663] 공정 6: 화합물 9의 합성
- [0664] N-(9-((2R,3S,4R,5S)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-5-(히드록시메틸)-4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드
- [0665] 문헌 기지(WO2017/123669)의 화합물 8(40 mg, 0.076 mmol)과 트리에틸아민(45 L, 0.38 mmol)의 메탄올 용액(0.76 mL)에 트리플루오로아세트산에틸(0.76 mL)을 가하여, 실온에서 24시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 감압 농축하고, 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=20:1~12:1)로 정제하여, 화합물 9를 백색 고체로서 얻었다(12 mg, 수율 28%).
- [0666] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 12.26(1H, s), 10.11(1H, s), 7.76(1H, s), 7.26(1H, d, J=3.6 Hz), 5.71(1H, d, J=3.6 Hz), 4.98(1H, dd, J=6.8 Hz), 4.78(1H, dd, J=6.8, 3.6 Hz), 4.21(1H, d, J=6.8 Hz), 4.03(1H, dd, J=11.2 Hz), 3.82(1H, dd, J=11.2 Hz), 2.79(1H, sept., J=6.8 Hz), 1.26(3H, d, J=6.8 Hz), 1.24(3H, d, J=6.8 Hz), 0.85(9H, s), -0.01(3H, s), -0.11(3H, s)
- [0667] ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 179.8, 158.0, 157.7, 157.3, 156.9, 155.2, 148.3, 147.3, 138.6, 122.0, 120.0, 117.1, 114.2, 111.3, 91.6, 83.7, 74.5, 61.3, 51.0, 36.1, 25.2, 18.9, 17.7, -5.0, -5.4
- [0668] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_6\text{NaO}_6\text{Si}$ 585.21[M+Na]⁺, 실측치: 585.21[M+Na]⁺
- [0669] 공정 7: 화합물 10의 합성
- [0670] N-(9-((2R,3S,4R,5S)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-3-(tert-부틸디메틸실릴옥시)-4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드
- [0671] 화합물 9(10 mg, 0.017 mmol)의 무수피리딘(1 mL) 용액에 디메톡시트리틸클로리드(18 mg, 0.053 mmol)를 가하여, 실온에서 1.5시간 교반했다. 그 후, 디메톡시트리틸클로리드(18 mg, 0.053 mmol)를 추가하여, 실온에서 30분간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액에 메탄올(1 mL)을 가한 후, 감압 농축했다. 잔사를 아세트산에틸에 용해시키고, 물, 이어서 포화식염수로 세정했다. 유기층을 무수황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 농축하고, 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 헥산/아세트산에틸=5:1~2:1)로 정제하여, 화합물 10을 백색 고체로서 얻었다(15.2 mg, 수율 99%).
- [0672] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 11.99(1H, s), 10.11(1H, s), 8.07(1H, s), 7.81(1H, s), 7.45(2H, dd, J=8.2, 2.0 Hz), 7.32(4H, dd, J=9.2, 3.6 Hz), 7.24-7.29(3H, m), 7.01(1H, d, J=7.2 Hz), 6.76(4H, J=9.2, 3.6 Hz), 5.71(1H, d, J=4.2 Hz), 5.16(1H, dd, J=6.4, 4.2 Hz), 4.20-4.17(1H, m), 3.76(3H, s), 3.75(3H, s), 3.56(1H, dd, J=11.2, 2.8 Hz), 3.22(1H, dd, J=11.2, 2.8 Hz), 1.82(1H, d, J=6.8 Hz), 0.97(3H, d, J=6.8 Hz), 0.68(9H, s), 0.79(3H, d, J=6.8 Hz), 0.04(3H, s), -0.06(3H, s)
- [0673] ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 171.2, 158.7, 158.0, 157.6, 157.2, 156.8, 155.4, 147.6, 147.2, 144.8, 139.2, 135.9, 135.4, 130.0, 127.9, 127.1, 122.6, 120.0, 117.0, 114.1, 111.2, 90.1, 86.3, 81.7, 73.4, 62.4, 60.4, 55.2, 51.4, 36.1, 25.4, 18.4, 17.8, -5.0, -5.3

[0674] ESI-HRMS: 계산치 $C_{43}H_{52}F_3N_6O_8Si$ 865.36[M+H]⁺, 실측치: 865.35[M+H]⁺

[0675] 공정 8: 화합물 11의 합성

[0676] N-(9-((2R,3S,4S,5S)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-3-히드록시-4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)-테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0677] 화합물 10(14 mg, 0.016 mmol)의 테트라히드로푸란(1 mL) 용액에 테트라부틸암모늄플루오리드(1M 테트라히드로푸란 용액, 19 μ L, 0.019 mmol)를 가하여, 실온에서 1시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 감압 농축했다. 얻은 잔사를 플래시 컬럼 크로마토그래피(중성 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올=30:1~15:1)로 정제하여, 화합물 11을 백색 고체로서 얻었다(10.8 mg, 수율 83%).

[0678] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 12.12(1H, br. s), 8.76(1H, br. s), 7.74(1H, s), 7.81(1H, s), 7.68(1H, d, J=5.4 Hz), 7.48(2H, d, J=7.6 Hz), 7.37(2H, d, J=9.2 Hz), 7.34(2H, d, J=9.2 Hz), 7.25-7.21(2H, m), 7.17(1H, t, J=7.2 Hz), 6.81(2H, d, J=9.2 Hz), 6.78(2H, d, J=9.2 Hz), 5.80(1H, d, J=4.0 Hz), 5.35(1H, br. s), 5.08(1H, dd, J=12.4, 6.4 Hz), 4.30-4.29(1H, m), 3.76(3H, s), 3.74(3H, s), 3.57-3.53(1H, m), 3.29-3.26(1H, m), 1.84-1.57(1H, m), 0.94(3H, d, J=6.8 Hz), 0.68(3H, d, J=6.8 Hz)

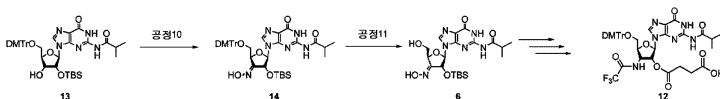
[0679] ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 179.4, 158.6, 158.4, 158.0, 157.6, 157.3, 147.8, 147.2, 144.8, 139.4, 136.3, 135.7, 130.1, 129.9, 128.1, 128.0, 127.0, 121.0, 120.0, 117.1, 114.2, 111.3, 91.2, 86.1, 82.5, 71.5, 62.7, 55.1, 51.2, 35.9, 18.5, 18.2

[0680] ESI-HRMS: 계산치 $C_{37}H_{33}F_3N_6O_8$ 751.27[M+H]⁺, 실측치: 751.27[M+H]⁺

[0681] 공정 9: 화합물 12의 합성

[0682] 화합물 11(0.90 g, 1.20 mmol), 트리에틸아민(0.42 mL, 3.0 mmol)의 아세트니트릴(12 mL) 용액에 숙신산부수물(0.24 g, 2.40 mmol), 디메틸아미노피리딘(29 mg, 0.24 mmol)을 가하여, 실온에서 1시간 교반했다. 박층 크로마토그래피로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 감압 농축했다. 잔사를 아세트산에틸에 용해시키고, 포화탄산수소나트륨 수용액으로 2회, 이어서 포화식염수로 세정했다. 유기층을 무수황산나트륨 상에서 건조시켜, 감압 농축했다. 잔사에 대하여 디클로로메탄/메탄올 용액(1:1, v/v)으로 감압 농축에 의한 공비 조작을 행함으로써 백색 거품형 고체(트리에틸아민염으로서 1.11 g, 97%)를 얻었다. 이 화합물 12는 이대로 다음 반응에 이용했다.

[0683] 화합물 12는 하기 출발 원료 13으로부터 중간체 6을 얻어 합성할 수도 있다.



[0684]

[0685] 공정 10: 화합물 14의 합성

[0686] N-(9-((2R,3R,5S)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-3-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-4-(히드록시아미노)테트라히드로푸란-2-일)-6-옥소-6,9-디히드로-1H-푸린-2-일)이소부티르아미드

[0687] 아르곤 분위기 하, 화합물 13(ChemGenes사 제조, 5.0 g, 6.5 mmol)을 탈수 디클로로메탄(50 mL)에 용해시켜, 빙욕으로 냉각하면서 교반했다. 반응액을 냉각하면서 탄산수소나트륨(8.2 g, 97.3 mmol), nor-AZADO(36 mg, 0.260 mmol)를 가하고, 요오도벤젠디아세테이트(3.14 g, 9.73 mmol)를 내부 온도 상승에 주의하면서 분할하여 가하고, 실온으로 승온하면서 21시간 10분간 교반했다. 원료의 소실을 확인한 후, 이소프로필알코올(7.5 mL)을 반응액에 가하여 4시간 교반했다(과잉 산화제의 켄치). 반응액을 얼음물에 가하고, 추가로 클로로포름을 가하여 분액하여, 물층을 재차 클로로포름으로 추출했다. 유기층을 일체화한 후, 물로 1회, 포화식염수로 1회 세정한 후, 무수황산나트륨으로 탈수했다. 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축함으로써 조생성물(9.01 g, 일부 DMTr기가 탈보호된 화합물을 포함한다)을 갈색 고체로서 얻었다.

[0688] 아르곤 분위기 하, 조생성물(9.01 g)을 탈수 피리딘(40 mL)에 용해하고, 빙욕으로 냉각하면서 교반했다. 반응액을 냉각하면서 히드록시아민염산염(4.06 g, 58.7 mmol)을 가하여, 실온으로 승온하면서 17시간 25분간 교반했다. 원료의 소실을 확인한 후, 반응액을 가지플라스크에 클로로포름(1% 트리에틸아민 함유)으로 씻으면서

옅게 농축했다. 잔사를 포화중조수에 가하여 15분간 교반한 후, 클로로포름으로 2회 추출했다. 유기층을 일체화한 후, 포화식염수로 1회 세정한 후, 무수황산나트륨으로 탈수했다. 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축함으로써 화합물 14(4.13 g, 디아스테레오머 혼합물, 2 단계 수율 81%)를 굵색 거품형 물질로서 얻었다.

[0689] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 12.04(1H, d, $J=23.3$ Hz), 9.23(1H, s), 8.49(1H, s), 7.89(1H, s), 7.79(1H, s), 7.66-7.58(2H, m), 7.49-7.39(4H, m), 7.31-7.14(5H, m), 6.81-6.76(2H, m), 6.73-6.68(2H, m), 5.92(1H, dd, $J=8.0, 1.6$ Hz), 5.83(1H, d, $J=3.7$ Hz), 5.64(1H, d, $J=8.2$ Hz), 5.54(1H, dd, $J=3.9, 1.1$ Hz), 5.01(1H, t, $J=7.3$ Hz), 3.80-3.73(6H, m), 3.54-3.46(2H, m), 1.28(1H, m), 1.08(1H, d, $J=6.9$ Hz), 0.99(1H, d, $J=6.9$ Hz), 0.86-0.76(9H, m), 0.47(2H, m), 0.11(1H, s), 0.02--0.02(3H, m), -0.07(2H, s) [디아스테레오머 혼합물]

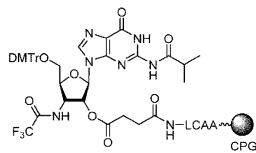
[0690] ESI-HRMS: 계산치 $\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{N}_6\text{O}_8\text{Si}$ 781.97[M-H]⁻, 실측치: 781.84[M-H]⁻

[0691] 공정 11: 화합물 14부터 화합물 6의 합성

[0692] 공정 10에서 얻은 화합물 14(3.80 g)를 이용하여, 공정 3과 같은 식으로 화합물 6(2.12 g, 4.41 mmol, 수율 91%)을 얻었다.

[0693] 또한, 화합물 6의 상세 데이터에 관해서는 공정 3에 기재한 것과 같다.

[0694] 화합물 15의 합성

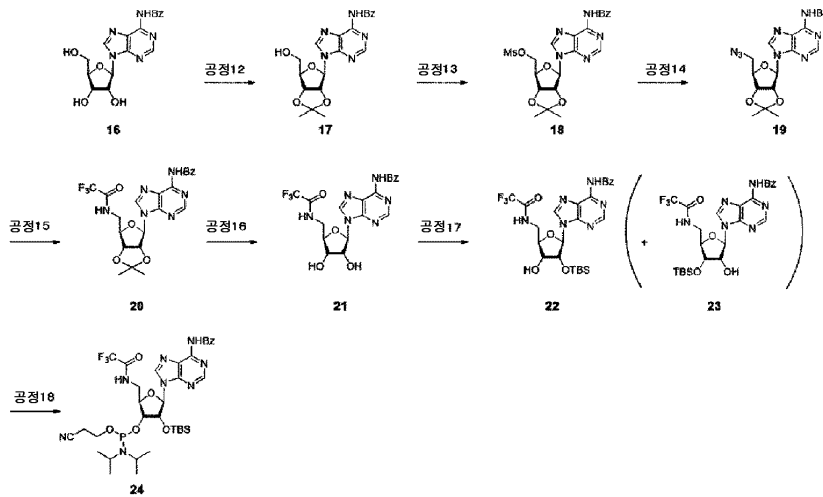


[0695]

[0696] 화합물 12(380 mg, 0.50 mmol)의 N,N-디메틸아미포름아미드(2.5 mL) 용액에 Native amino lcaa CPG(1000A, ChemGenes사)(84 $\mu\text{mol/g}$, 1.20 g, 0.10 mmol), 이어서 HOBt(136 mg, 1.01 mmol), EDC-HCl(193 mg, 1.01 mmol)의 DMF(2.5 mL) 용액을 가하여 실온에서 진탕했다. 20시간 후, 반응액을 버리고, 고상 담체를 N,N-디메틸아미포름아미드(5 mL, 4회), 이어서 디클로로메탄(5 mL, 4회)으로 세정했다. 고상 담체 상의 미반응 아미노기는 10% 무수아세트산/피리딘 용액(5 mL)에 의해서 캡핑했다(실온, 16시간 진탕). 반응액을 버리고, 고상 담체를 피리딘(5 mL, 1회), 이어서 디클로로메탄(5 mL, 4회)으로 세정한 후, 진공 하에서 건조시킴으로써, 화합물 12를 고상 담체에 담지한 화합물 15를 얻었다(1.20 g).

[0697] 화합물 12의 고상 상의 담지량은 이하에 나타내는 방법에 의해서 산출했다. 얻은 고상 담체를 규정량 잡아, 디블로킹(deblocking) 시약(3 w/v% 트리클로로아세트산/디클로로메탄 용액)의 첨가에 의해 생긴 4,4'-디메톡시트리틸 양이온의 발색을 자외가시 흡광광도 측정(석영 셀, 셀 길이 : 10 mm)에 의해서 측정했다. 504 nm에서의 흡광도와 4,4'-디메톡시트리틸 양이온의 몰 흡광 계수(파장 504 nm: 76,000)로부터 고상 상의 화합물 12의 담지량을 Lambert-Beer식에 의해 산출했다. 즉, 얻은 고상 담체(2.0 mg)를 2 mL 메스플라스크에 재어 취하고, 디블로킹 시약을 가하여 전량을 2 mL로 하여 전도 혼화한 것을 측정 샘플로 했다. 3 w/v% 트리클로로아세트산/디클로로메탄 용액을 이용하여 블랭크 측정을 행한 후, 측정 샘플을 이용하여 측정했다.(504 nm에서의 흡광도: 0.377로부터 담지량: 24.8 $\mu\text{mol/g}$)

[0698] 화합물 24는 하기 스킴으로 합성했다.



[0699]

[0700] 공정 12: 화합물 17의 합성

[0701] N-(9-((3aR,4R,6R,6aR)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸테트라히드로푸로[3,4-d][1,3]디옥솔-4-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드

[0702] 아르곤 분위기 하, 10 L의 4구 플라스크에 시판되는 N6-벤질아데노신(화합물 16)(100 g, 269 mmol, 1.0 eq.), 아세톤(2.70 L), 디메톡시프로판(166 mL, 1.35 mol, 5.0 eq.)을 순차 가했다. 반응 용액에 농황산(1.44 mL, 26.9 mmol, 0.10 eq.)을 가하여, 실온에서 15시간 교반했다. 원료의 잔존을 확인했으므로, 농황산(1.44 mL, 26.9 mmol, 0.10 eq.)을 추가하여, 24시간 교반했다. 원료의 잔존을 확인했으므로, 농황산(1.44 mL, 26.9 mmol, 0.10 eq.)을 첨가하여 1시간 30분 교반한 후, 농황산(2.87 mL, 53.8 mmol, 0.20 eq.)을 첨가하여, 4시간 교반했다.

[0703] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액을 빙욕으로 냉각하고, 내부 온도가 3~5℃가 되도록 포화탄산수소나트륨 수용액(400 mL)을 5분간 걸쳐 적하하여, 용액을 중성으로 했다. 감압 하에 반응액을 농축하고, 잔사에 증류수(2.0 L)를 가했다. 용액을 클로로포름(1.0 L)으로 3회 추출하여, 유기층을 무수황산나트륨으로 탈수했다. 여과 후, 용매를 감압 유거하여 화합물 17(222 g)을 얻었다. 얻은 화합물 17은 추가적인 정제 조작을 실시하지 않고서 다음 공정에 이용했다.

[0704] 공정 13: 화합물 18의 합성

[0705] ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-벤즈아미도-9H-푸린-9-일)-2,2-디메틸테트라히드로푸로[3,4-d][1,3]디옥솔-4-일)메틸 메탄설포네이트

[0706] 아르곤 분위기 하, 2 L의 4구 플라스크에, 공정 12에서 얻은 화합물 17(222 g), 피리딘(520 mL)을 가하여, 반응액을 빙욕으로 냉각하고, 내부 온도가 4℃~9℃가 되도록 메탄술포닐클로리드(25.0 mL, 321 mmol, 1.2 eq.)를 15분간 걸쳐 적하하여, 2시간 교반했다.

[0707] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액에 증류수(500 mL)를 가하고, 용액을 아세트산에틸(1.0 L)로 3회 추출한 후, 유기층을 1N 염산(1.0 L×1, 500 mL×2), 포화탄산수소나트륨 수용액(500 mL×2), 포화식염수(500 mL×2)로 순차 세정하여, 무수황산나트륨으로 탈수했다. 여과 후, 용매를 감압 유거하고, 얻은 잔사를 톨루엔으로 공비함으로써 화합물 18(150 g, 17.6 wt % 톨루엔 함유)을 얻었다. 얻은 화합물 18은 추가적인 정제 조작을 실시하지 않고서 다음 공정에 이용했다.

[0708] 공정 14: 화합물 19의 합성

[0709] N-(9-((3aR,4R,6R,6aR)-6-(아지도메틸)-2,2-디메틸테트라히드로푸로[3,4-d][1,3]디옥솔-4-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드

[0710] 아르곤 분위기 하, 3 L의 4구 플라스크에, 공정 13에서 얻은 화합물 18(150 g)과 탈수 DMF(1.26 L)를 가했다. 반응액에 아지드화나트륨(82.8 g, 1.26 mol, 5.0 eq.)을 첨가하고, 30분간 걸쳐 60℃까지 승온하여, 60℃에서 3

시간30분간 교반했다.

- [0711] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액을 실온까지 서냉하여, 증류수(1.0 L)와 아세트산에틸(600 mL)을 가했다. 얻은 용액에 증류수(3.0 L)를 가하여, 물층을 아세트산에틸(500 mL)로 6회 추출했다. 유기층을 증류수(800 mL)로 2회, 포화식염수(800 mL)로 2회 세정하여, 무수황산나트륨으로 탈수했다. 여과 후, 용매를 감압 유거하고, 얻은 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(SiO₂ 700 g, 아세트산에틸)로 정제함으로써, 화합물 19(55.7 g, 128 mmol, 수율 48%(화합물 16으로부터 3단계))를 얻었다.
- [0712] 공정 15: 화합물 20의 합성
- [0713] N-(9-((3aR,4R,6R,6aR)-2,2-디메틸-6-((2,2,2-트리플루오로아세트아미도)메틸)테트라히드로푸로[3,4-d][1,3]디옥솔-4-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드
- [0714] 아르곤 분위기 하, 3 L의 4구 플라스크에, 공정 14에서 얻은 화합물 19(55.7 g, 128 mmol, 1.0 eq.), 메탄올(1.28 L)을 가했다. 반응액에 10% Pd/C(76.8 g, 21.2 mmol, 0.17 eq.)을 첨가하여, 반응액 내부를 수소로 치환하고, 실온에서 16시간 교반했다.
- [0715] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액 내부를 아르곤 가스로 치환하여, 반응액을 셀라이트 여과했다. 여과액을 감압 농축한 후, 얻은 잔사를 메탄올(985 mL)에 용해하여, 3 L의 4구 플라스크로 옮겼다. 용액을 빙욕으로 냉각하여, 내부 온도가 2~4℃가 되도록 1-(트리플루오로아세틸)이미다졸(17.0 mL, 149 mmol, 1.2 eq.)을 15분간 걸쳐 적하하여, 4℃에서 2시간 교반했다. LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액을 감압 농축했다. 얻은 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(SiO₂ 800 g, 헵탄/아세트산에틸=1:4)로 정제함으로써 화합물 20(21.4 g, 42.2 mmol, 수율 33%)을 얻었다.
- [0716] 공정 16: 화합물 21의 합성
- [0717] N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-((2,2,2-트리플루오로아세트아미도)메틸)테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드
- [0718] 1 L의 가지플라스크에, 공정 15에서 얻은 화합물 20(10.0 g, 19.8 mmol, 10 eq.), 증류수(50.0 mL)를 가하여, 용액을 빙욕으로 냉각했다. 빙냉 하에, 트리플루오로아세트산(50.0 mL, 640 mmol, 32.4 eq.)을 5분간 걸쳐 적하하고, 반응액을 실온까지 승온하여, 4시간 30분간 교반했다.
- [0719] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액을 감압 농축하여, 잔사를 톨루엔 공비했다. 얻은 잔사에 이소프로필 에테르를 가하여, 고체를 석출시키고, 여과하여 취했다. 얻은 고체를 감압 하에 실온에서 건조하여 화합물 21(8.86 g, 19.0 mmol, 수율 96%)을 얻었다.
- [0720] 공정 17: 화합물 22의 합성
- [0721] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-4-히드록시-5-((2,2,2-트리플루오로아세트아미도)메틸)테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드
- [0722] 아르곤 분위기 하, 500 mL의 가지플라스크에, 공정 16에서 얻은 화합물 21(15.6 g, 33.6 mmol, 1.0 eq.), 탈수 DMF(111 mL)를 가하여, 용액을 빙욕으로 냉각했다. 빙냉 하에, 내부 온도가 6℃ 미만이 되도록 이미다졸(9.16 g, 134 mmol, 4.0 eq.), t-부틸디메틸실릴클로리드(15.2 g, 101 mmol, 3.0 eq.)를 첨가하여, 같은 온도에서 30분간 교반했다.
- [0723] LC/MS로 반응의 진행을 확인한 후, 반응액에 얼음물을 가했다. 물층을 아세트산에틸로 3회 추출하고, 포화식염수로 세정하여, 무수황산나트륨으로 탈수했다. 여과 후, 용매를 감압 유거하고, 얻은 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(SiO₂ 800 g, 클로로포름/2-부타논=100:0~85:15)로 정제함으로써, 화합물 22와 화합물 23의 혼합물(10.9 g)을 얻었다. 얻은 화합물 22와 화합물 23의 혼합물은 추가적인 정제 조작을 실시하지 않고, 다음 공정에 이용했다.
- [0724] 공정 18: 화합물 24의 합성
- [0725] (2R,3R,4R,5R)-5-(6-벤즈아미도-9H-푸린-9-일)-4-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-2-((2,2,2-트리플루오로아세트아미도)메틸)테트라히드로푸란-3-일(2-시아노에틸)다이소프로필포스포르아미다이트
- [0726] 아르곤 분위기 하, 200 mL의 가지플라스크에, 공정 17에서 얻은 화합물 22와 화합물 23의 혼합물(1.19 g, 2.05

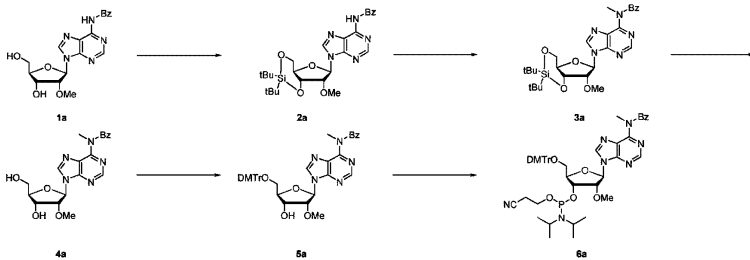
mmol, 화합물 22:화합물 23=9:1), 탈수 디클로로메탄(6.83 mL)을 가하여, 용액을 빙욕으로 냉각했다. 빙냉 하에, 디이소프로필에틸아민(0.537 mL, 3.07 mmol, 1.5 eq.), 3-((클로로(디이소프로필아미노)포스파닐)옥시)프로판니트릴(0.857 mL, 3.07 mmol, 1.5 eq.)의 디클로로메탄 혼합 용액을 적하한 후, 반응액을 실온까지 승온하여, 실온에서 2시간 교반했다.

[0727] TLC로 원료의 소실을 확인한 후, 반응액에 증류수를 가하고, 클로로포름(50 mL)으로 2회 추출하여, 유기층을 무수황산나트륨으로 탈수했다. 여과 후, 용매를 감압 유거하고, 얻은 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸=50:50~30:70, 0.5% 트리에틸아민 함유)로 여러 번 정제함으로써, 목적으로 하는 화합물 24(608 mg, 0.779 mmol, 수율 38%)를 담황색 아모르퍼스형 물질로서 얻었다.

[0728] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 9.82(1H, d, J=8.8 Hz), 9.07(1H, s), 8.83-8.80(1H, m), 8.06-8.01(3H, m), 7.66-7.52(3H, m), 5.86(1H, d, J=7.8 Hz), 4.88(1H, dd, J=7.8, 5.2 Hz), 4.50(1H, br s), 4.39-4.29(1H, m), 4.21-3.88(3H, m), 3.74-3.63(1H, m), 3.48-3.35(1H, m), 2.73-2.66(2H, m), 1.28-1.23(12H, m), 1.08-1.04(1H, m), 0.72-0.68(9H, m), -0.17(3H, s), -0.45(3H, s).

[0729] ³¹P NMR(CDCl₃) δ : 149.95

[0730] 폴리뉴클레오티드의 원료가 되는 화합물 6a는 하기 스킴으로 합성했다.



[0731]

[0732] 공정 1: 화합물 2a의 합성

[0733] N-(9-((3aR,5R,6R,6aS)-2,2-디-tert-부틸-6-메톡시테트라히드로푸로[2,3-d][1,3,2]디옥사실롤-5-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드

[0734] 시판되는 화합물 1a(30.0 g, 78.0 mmol)의 DMF(300 mL) 용액에, 빙냉 하에, 디-t-부틸실릴비스(트리플루오로메탄술포네이트)(68.6 g, 156 mmol)를 천천히 가했다. 빙냉 하에, 1시간 교반 후, 반응액을 포화탄산수소나트륨 수용액에 가하고, 헵탄/아세트산에틸의 혼합 용매를 가하여, 2회 추출했다. 유기층을 물로 2회, 포화식염수로 1회 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조했다. 여과 후, 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸=7/3→3/7)로 정제하여, 화합물 2a(38.7 g, 73.7 mmol)를 무색 고체로서 얻었다(수율 95%).

[0735] ESI-MS: 계산치: 524.23[M-H]⁻, 실측치: 524.5[M-H]⁻

[0736] ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 9.32(s, 1H), 8.76(s, 1H), 8.05(s, 1H), 8.03(t, J=6.6Hz, 2H), 7.60(t, J=7.3Hz, 1H), 7.51(t, J=7.8Hz, 2H), 6.01(s, 1H), 4.66(dd, J=9.6, 5.0Hz, 1H), 4.48(dd, J=8.9, 4.8Hz, 1H), 4.31(d, J=4.6Hz, 1H), 4.20(ddd, J=10.1, 5.0, 5.0Hz, 1H), 4.03(t, J=9.8Hz, 1H), 3.70(s, 3H), 1.10(s, 9H), 1.06(s, 9H).

[0737] 공정 2: 화합물 3a의 합성

[0738] N-(9-((3aR,5R,6R,6aS)-2,2-디-tert-부틸-6-메톡시테트라히드로푸로[2,3-d][1,3,2]디옥사실롤-5-일)-9H-푸린-6-일)-N-메틸벤즈아미드

[0739] 화합물 2a(10.0 g, 19.0 mmol)를 디클로로메탄(50 mL)에 용해하여, 테트라부틸암모늄브로마이드(9.20 g, 28.5 mmol), 1M 수산화나트륨 수용액(50 ml)을 가했다. 요오드화메틸(4.76 ml, 76.0 mmol)을 천천히 적하했다. 그 후, 실온에서 1시간 10분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 물/클로로포름=1/1에 가하여 쉐킷했다. 유기층을 물로 2회 세정한 후, 무수황산나트륨으로 탈수하고, 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸=90/10→50/50)로 정제함으로써, 화합

물 3a(6.25 g, 11.6 mmol)을 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 61%)

[0740]

ESI-MS: 계산치: 540.26[M+H]⁺, 실측치: 540.4[M+H]⁺

[0741]

¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.56(s, 1H), 7.94(s, 1H), 7.49-7.46(m, 2H), 7.34-7.29(m, 1H), 7.21(t, J=7.6Hz, 2H), 5.94(s, 1H), 4.61(dd, J=9.6, 5.0Hz, 1H), 4.46(dd, J=9.2, 5.0Hz, 1H), 4.22(d, J=4.6Hz, 1H), 4.17(ddd, J=10.0, 5.2, 5.0Hz, 1H), 4.00(dd, J=10.5, 9.2Hz, 1H), 3.79(s, 3H), 3.67(s, 3H), 1.08(s, 9H), 1.05(s, 9H).

[0742]

공정 3: 화합물 4a의 합성

[0743]

N-(9-((2R,3R,4S,5S)-4,5-디히드록시-3-메톡시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-메틸벤즈아미드

[0744]

화합물 3a(6.25 g, 11.6 mmol)를 테트라히드로푸란(63 mL)에 용해하여, 빙욕으로 냉각했다. 트리에틸아민(8.07 mL, 57.9 mmol), 트리에틸아민삼불화소산염(1.89 mL, 11.6 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각하면서 1시간5분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 트리에틸아민(10 mL, 76.0 mmol)을 가하여 켄치하고, 클로로포름으로 희석한 후에, 반응액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=100/0→90/10)로 정제함으로써, 화합물 4a(4.25 g, 10.6 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 quant.)

[0745]

ESI-MS: 계산치: 400.16[M+H]⁺, 실측치: 400.3[M+H]⁺

[0746]

¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.56(s, 1H), 7.97(s, 1H), 7.50-7.48(m, 2H), 7.35-7.31(m, 1H), 7.22(t, J=7.8Hz, 2H), 5.87(d, J=7.3Hz, 1H), 5.86(dd, J=11.4, 2.3Hz, 1H), 4.63(dd, J=7.3, 4.6Hz, 1H), 4.57-4.56(m, 1H), 4.36-4.34(m, 1H), 3.99-3.94(m, 1H), 3.81(s, 3H), 3.77(td, J=12.3, 1.7Hz, 1H), 3.31(s, 3H), 2.77(d, J=1.4Hz, 1H).

[0747]

공정 4: 화합물 5a의 합성

[0748]

N-(9-((2R,3R,4S,5S)-5-(비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)-4-히드록시-3-메톡시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-메틸벤즈아미드

[0749]

화합물 4a(4.25 g, 10.6 mmol)를 피리딘(43 mL)에 용해하여 빙욕으로 교반했다. 반응액에 4,4'-디메톡시트리틸 클로리드(5.41 g, 20.0 mmol)를 가하여, 실온에서 2시간 25분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 증조수에 가하여 켄치하고, 아세트산에틸로 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=70/30→50/50)로 정제함으로써, 화합물 5a(5.35 g, 7.62 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 71%)

[0750]

ESI-MS: 계산치: 702.29[M+H]⁺, 실측치: 702.6[M+H]⁺

[0751]

¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.50(s, 1H), 8.14(s, 1H), 7.45-7.40(m, 4H), 7.33-7.22(m, 8H), 7.16(t, J=7.6Hz, 2H), 6.81(dd, J=8.9, 1.1Hz, 4H), 6.15(d, J=3.7Hz, 1H), 4.48(dd, J=11.9, 5.0Hz, 1H), 4.35(dd, J=5.3, 3.9Hz, 1H), 4.21-4.19(m, 1H), 3.80(s, 3H), 3.79(s, 6H), 3.53(s, 3H), 3.50(dd, J=10.8, 3.0Hz, 1H), 3.40(dd, J=10.8, 4.4Hz, 1H), 2.66(d, J=6.4Hz, 1H).

[0752]

공정 5: 아미다이트 6a의 합성

[0753]

(2S,3S,4R,5R)-2-(비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)-4-메톡시-5-(6-(N-메틸벤즈아미도)-9H-푸린-9-일)테트라히드로푸란-3-일(2-시아노에틸)디소프로필포스포르아미다이트

[0754]

화합물 5a(5.30 g, 7.55 mmol)를 디클로로메탄(48 mL)에 용해하고, 디소프로필에틸아민(2.64 mL, 15.1 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각했다. 디클로로메탄(5 mL)에 용해한 2-시아노에틸디소프로필클로로포스포르아미다이트(2.68 g, 11.3 mmol)를 5분간 걸쳐 적하했다. 그 후, 실온까지 승온하면서 1시간 10분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 포화증조수에 가하여 켄치했다. 아세트산에틸을 가하여 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시키고, 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=70/30→50/50)로 정제함

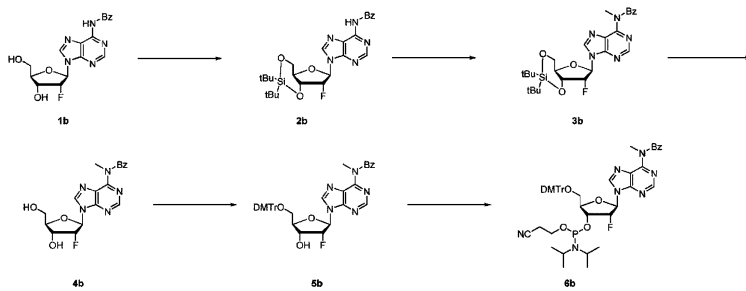
으로써, 아마다이트 6a(6.22 g, 6.90 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 91%)

[0755] ESI-MS: 계산치: 902.40[M+H]⁺, 실측치: 902.5[M+H]⁺

[0756] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.47(s, 0.35H), 8.47(s, 0.65H), 8.14(s, 0.35H), 8.09(s, 0.65H), 7.44-7.39(m, 4H), 7.33-7.21(m, 8H), 7.16-7.12(m, 2H), 6.93-6.78(m, 4H), 6.12(d, J=5.5, 0.65H), 6.10(d, J=5.0, 0.35H), 4.66-4.53(m, 2H), 4.41-4.38(m, 0.35H), 4.34-4.32(m, 0.65H), 3.97-3.78(m, 10H), 3.70-3.44(m, 7H), 3.36-3.30(m, 1H), 2.64(t, J=6.2Hz, 1.3H), 2.38(t, J=6.4Hz, 0.70H), 1.22-1.17(m, 8H), 1.06(d, J=6.9Hz, 4H).

[0757] ³¹P-NMR(CDC1₃, 162 MHz) δ: 150.70, 150.94.

[0758] 폴리뉴클레오티드의 원료가 되는 화합물 6b는 하기 스킴으로 합성했다.



[0759]

[0760] 공정 1: 화합물 2b의 합성

[0761] N-(9-((4aR,6R,7R,7aS)-2,2-디-tert-부틸-7-플루오로테트라히드로-4H-푸로[3,2-d][1,3,2]디옥사실린-6-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드

[0762] 시판되는 화합물 1b(30.0 g, 80.4 mmol)의 DMF(300 mL) 용액에, 빙냉 하에, 디-*t*-부틸실릴비스(트리플루오로메탄술포네이트)(70.8 g, 161 mmol)를 천천히 가했다. 빙냉 하에, 1시간 교반 후, 반응액을 포화탄산수소나트륨 수용액에 가하고, 헵탄/아세트산에틸의 혼합 용매를 가하여, 2회 추출했다. 유기층을 물로 2회, 포화식염수로 1회 세정 후, 무수황산나트륨으로 건조했다. 여과 후, 농축 잔사를 헵탄/아세트산에틸=9/1로 슬러리 정제하여, 화합물 2b(38.7 g, 75.4 mmol)를 무색 고체로서 얻었다(수율 94%).

[0763] ESI-MS: 계산치: 514.23[M+H]⁺, 실측치: 514.5[M+H]⁺

[0764] ¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 11.27(s, 1H), 8.74(s, 1H), 8.65(s, 1H), 8.04(d, J=8.7Hz, 2H), 7.65(t, J=7.5Hz, 1H), 7.55(t, J=7.5Hz, 2H), 6.45(d, J=23Hz, 1H), 5.71(dd, J=54.5, 4.1Hz, 1H), 5.03(m, 1H), 4.44(q, J=3.7Hz, 1H), 4.09(m, 2H), 1.11(s, 9H), 1.02(s, 9H).

[0765] 공정 2: 화합물 3b의 합성

[0766] N-(9-((4aR,6R,7R,7aS)-2,2-디-tert-부틸-7-플루오로테트라히드로-4H-푸로[3,2-d][1,3,2]디옥사실린-6-일)-9H-푸린-6-일)-*N*-메틸벤즈아미드

[0767] 화합물 2b(10.0 g, 19.5 mmol)를 디클로로메탄(50 mL)에 용해하고, 테트라부틸암모늄브로미드(9.41 g, 29.2 mmol), 1M 수산화나트륨 수용액(50 mL)을 가했다. 요오드화메틸(1.83 mL, 29.2 mmol)을 천천히 적하했다. 그 후, 실온에서 1시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 물/클로로포름=1/1에 가하여 쉐이크했다. 유기층을 물로 2회 세정 후, 무수황산나트륨으로 탈수하고, 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸=90/10→50/50)로 정제함으로써, 화합물 3b(6.86 g, 12.8 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 65%)

[0768] ESI-MS: 계산치: 528.24[M+H]⁺, 실측치: 538.6[M+H]⁺

[0769] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.54(s, 1H), 7.94(s, 1H), 7.47(d, J=8.1Hz, 2H), 7.32(t, J=7.3Hz, 2H), 7.21(t, J=7.6Hz, 2H), 6.10(d, J=22.0Hz, 1H), 5.46(dd, J=54.5, 4.1Hz, 1H), 4.86(ddd, J=27.2, 9.8,

4.1Hz, 1H), 4.47(dd, J=9.2, 5.0Hz, 1H), 4.14(m, 1H), 4.03(t, J=9.8Hz, 1H), 3.78(s, 3H), 1.11(s, 9H), 1.05(s, 9H).

[0770] 공정 3: 화합물 4b의 합성

[0771] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-메틸벤즈아미드

[0772] 화합물 3b(6.67 g, 12.6 mmol)를 테트라히드로푸란(66 mL)에 용해하여, 빙욕으로 냉각했다. 트리에틸아민(8.81 mL, 63.2 mmol), 트리에틸아민삼불화소산염(2.05 mL, 12.6 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각하면서 1시간 5분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 트리에틸아민(10.6 mL, 76.0 mmol)을 가하여 켄치하고, 클로로포름으로 희석한 후에, 반응액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=100/0→90/10)로 정제함으로써, 화합물 4b(4.98 g, 12.9 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 quant.)

[0773] ESI-MS: 계산치: 388.14[M+H]⁺, 실측치: 388.4[M+H]⁺

[0774] ¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.70(s, 1H), 8.58(s, 1H), 7.30(m, 5H), 6.31(dd J=16.9, 2.3Hz, 1H), 5.75(d, J=6.4Hz, 1H), 5.41(m, 1H), 5.15(t, J=5.3Hz, 1H), 4.46(m, 1H), 3.98(m, 1H), 3.75(dq, J=12.4, 2.6Hz, 1H), 3.67(s, 3H), 3.61-3.56(m, 1H).

[0775] 공정 4: 화합물 5b의 합성

[0776] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-3-플루오로-4-히드록시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-메틸벤즈아미드

[0777] 화합물 4b(4.93 g, 12.7 mmol)를 피리딘(49 mL)에 용해하여 빙욕으로 교반했다. 반응액에 4,4'-디메톡시트리틸 클로리드(6.47 g, 29.2 mmol)를 가하여, 실온에서 1시간20분간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 중조수에 가하여 켄치하고, 아세트산에틸로 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시키고, 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민함유)=70/30→50/50)로 정제함으로써, 화합물 5b(8.34 g, 12.1 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 95%)

[0778] ESI-MS: 계산치: 690.27[M+H]⁺, 실측치: 690.7[M+H]⁺

[0779] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.51(s, 1H), 8.10(s, 1H), 7.43(dd, J=8.2, 1.4Hz, 2H), 7.37(dd, 8.2, 1.4Hz, 2H), 7.28-7.20(m, 8H), 7.12(t, J=7.5Hz, 2H), 6.79(d, J=8.7 Hz), 6.23(dd, J=17.1, 2.5Hz, 1H), 5.58(dq, J=52.9, 2.3Hz, 1H), 4.78(m, 1H), 4.19(m, 1H), 3.78(s, 6H), 3.47(ddd, J=57.9, 10.6, 3.5Hz, 2H), 2.44(dd, J=7.5, 2.5Hz, 1H).

[0780] 공정 5: 아마다이트 6b의 합성

[0781] (2R,3R,4R,5R)-2-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-4-플루오로-5-(6-(N-메틸벤즈아미도)-9H-푸린-9-일)테트라히드로푸란-3-일(2-시아노에틸)디소프로필포스포르아미다이트

[0782] 화합물 5b(10.0 g, 14.6 mmol)를 디클로로메탄(80 mL)에 용해하고, 디소프로필에틸아민(5.08 mL, 29.1 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각했다. 디클로로메탄(15 mL)에 용해한 2-시아노에틸디소프로필클로로포스포르아미다이트(4.18 g, 21.8 mmol)를 5분간 걸쳐 적하했다. 그 후, 실온까지 승온하면서 1시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 포화중조수에 가하여 켄치했다. 아세트산에틸을 가하여 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시키고, 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=70/30→50/50)로 정제함으로써, 아마다이트 6b(12.1 g, 13.6 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 93%)

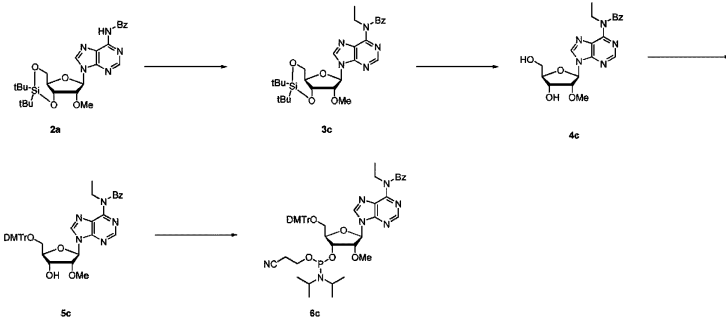
[0783] ESI-MS: 계산치: 890.38[M+H]⁺, 실측치: 890.8[M+H]⁺

[0784] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.53(s, 0.49H), 8.50(s, 0.51H), 8.14(s, 1H), 7.43-7.39(m, 2H), 7.37-7.33(m, 2H), 7.27-7.20(m, 8H), 7.09-7.04(m, 2H), 6.77(t, J=9.1Hz, 4H), 6.28-6.19(m, 1H), 5.74(dq, J=18.5,

2.2Hz, 0.50H), 5.61(dq, J=19.2, 2.3Hz, 0.50H), 5.10-5.00(m, 0.47H), 4.94-4.85(m, 0.53H), 4.31(m, 1H), 3.97-3.82(m, 1H), 3.79(s, 3H), 3.79(s, 3H), 3.63-3.53(m, 4H), 3.31-3.27(m, 1H), 2.59(t, J=6.2Hz, 1H), 2.41(t, J=6.4Hz, 1H), 1.20-1.15(m, 9H), 1.04(d, J=6.4Hz, 3H).

[0785] ³¹P-NMR(CDC1₃, 162 MHz) δ : 151.97, 151.92, 151.19, 151.11.

[0786] 폴리뉴클레오티드의 원료가 되는 화합물 6c는 하기 스킴으로 합성했다.



[0787]

[0788] 공정 1: 화합물 3c의 합성

[0789] N-(9-((4aR,6R,7R,7aS)-2,2-디-tert-부틸-7-메톡시테트라히드로-4H-푸로[3,2-d][1,3,2]디옥사실린-6-일)-9H-푸린-6-일)-N-에틸벤즈아미드

[0790] 화합물 2a(11.7 g, 22.3 mmol)를 디클로로메탄(58.5 mL)에 용해하고, 테트라부틸암모늄브로마이드(10.8 g, 33.4 mmol), 1M 수산화나트륨 수용액(58.5 ml)을 가했다. 요오드화에틸(10.8 ml, 134 mmol)을 천천히 적하했다. 그 후, 실온에서 2시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 물/클로로포름=1/1에 가하여 켄치했다. 유기층을 물로 2회 세정 후, 무수황산나트륨으로 건조시켰다. 여과 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 톨루엔에 의해 슬러리 정제하여, 재차 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산 에틸=90/10→70/30)로 정제함으로써, 화합물 3c(6.14 g, 11.1 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 49%)

[0791] ESI-MS: 계산치: 554.28[M+H]⁺, 실측치: 554.6[M+H]⁺

[0792] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ : 8.56(s, 1H), 7.91(s, 1H), 7.47-7.45(m, 2H), 7.31-7.27(m, 1H), 7.19(t, J=7.5Hz, 2H), 5.94(s, 1H), 4.61(dd, J=9.6, 4.6Hz, 1H), 4.46(dd, J=9.1, 5.0Hz, 1H), 4.40(q, J=7.0Hz, 2H), 4.22(d, J=4.6Hz, 1H), 4.16(ddd, J=10.1, 4.9, 4.8Hz, 1H), 4.00(dd, J=10.5, 9.6Hz, 1H), 3.67(s, 3H), 1.34(t, J=7.1Hz, 3H), 1.09(s, 9H), 1.05(s, 9H).

[0793] 공정 2: 화합물 4c의 합성

[0794] N-에틸-N-(9-((2R,3R,4R,5R)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)-3-메톡시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드

[0795] 화합물 3c(6.14 g, 11.1 mmol)를 테트라히드로푸란(61.4 mL)에 용해하여, 빙욕으로 냉각했다. 트리에틸아민(7.73 ml, 55.4 mmol), 트리에틸아민삼불화수소산염(1.81 ml, 11.1 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각하면서 2시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 트리에틸아민(10 ml, 76.0 mmol)을 가하여 켄치하고, 클로로포름으로 희석한 후에, 반응액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=100/0→90/10)로 정제함으로써, 화합물 4c(4.60 g, 11.1 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 quant.)

[0796] ESI-MS: 계산치: 414.18[M+H]⁺, 실측치: 414.3[M+H]⁺

[0797] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ : 8.56(s, 1H), 7.92(s, 1H), 7.50-7.46(m, 2H), 7.32-7.28(m, 1H), 7.20(t, J=7.5Hz, 2H), 5.89(dd, J=11.6, 2.1Hz, 1H), 5.85(d, J=7.3Hz, 1H), 4.62(dd, J=7.3, 4.6Hz, 1H), 4.57-4.56(m, 1H), 4.45-4.39(m, 2H), 4.36-4.34(m, 1H), 3.96(dt, J=12.9, 1.9, 1H), 3.80-3.73(m, 1H), 3.29(s, 3H), 2.70(d, J=1.4Hz, 1H), 1.37(t, J=7.1Hz, 3H).

[0798]

공정 3: 화합물 5c의 합성

[0799]

N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-4-히드록시-3-메톡시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-에틸벤즈아미드

[0800]

화합물 4c(4.58 g, 11.1 mmol)를 피리딘(46 mL)에 용해하여 빙욕으로 교반했다. 반응액에 4,4'-디메톡시트리틸 클로리드(5.63 g, 16.6 mmol)를 가하여, 실온에서 2시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 증 조수에 가하여 켄치하고, 아세트산에틸로 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조했다. 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=70/30→50/50)로 정제함으로써, 화합물 5c(7.55 g, 10.6 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 95%)

[0801]

ESI-MS: 계산치: 716.31[M+H]⁺, 실측치: 716.2[M+H]⁺

[0802]

¹H-NMR(CDC₁₃, 400 MHz) δ: 8.51(s, 1H), 8.11(s, 1H), 7.43-7.40(m, 4H), 7.32-7.22(m, 8H), 7.13(t, J=7.5Hz, 2H), 6.81(dd, J=9.1, 1.4Hz, 4H), 6.14(d, J=3.7Hz, 1H), 4.47(dd, J=5.7, 5.6Hz, 1H), 4.41(q, J=7.0Hz, 2H), 4.34(dd, J=8.4, 4.1Hz, 1H), 4.21-4.17(m, 1H), 3.79(s, 6H), 3.53(s, 3H), 3.50(dd, J=10.5, 3.2Hz, 1H), 3.39(dd, J=10.7, 4.3Hz, 1H), 2.64(d, J=6.4Hz, 1H), 1.34(t, J=7.1Hz, 3H).

[0803]

공정 4: 아미다이트 6c의 합성

[0804]

(2R,3R,4R,5R)-2-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-5-(6-(N-에틸벤즈아미도)-9H-푸린-9-일)-4-메톡시 테트라히드로푸란-3-일(2-시아노에틸)다이소프로필포스포르아미다이트

[0805]

화합물 5c(8.83 g, 12.3 mmol)를 디클로로메탄(74 mL)에 용해하고, 다이소프로필에틸아민(4.31 mL, 24.7 mmol)을 가하여, 빙욕으로 냉각했다. 탈수 디클로로메탄(14 mL)에 용해한 2-시아노에틸다이소프로필클로로포스포르아미다이트(4.40 g, 18.6 mmol)를 9분간 걸쳐 적하했다. 그 후, 실온까지 승온하면서 1시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 포화증조수에 가하여 켄치했다. 아세트산에틸을 가하여 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시켰다. 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=70/30→50/50)로 정제함으로써, 아미다이트 6c(10.4 g, 11.3 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 92%)

[0806]

ESI-MS: 계산치: 916.42[M+H]⁺, 실측치: 917.3[M+H]⁺

[0807]

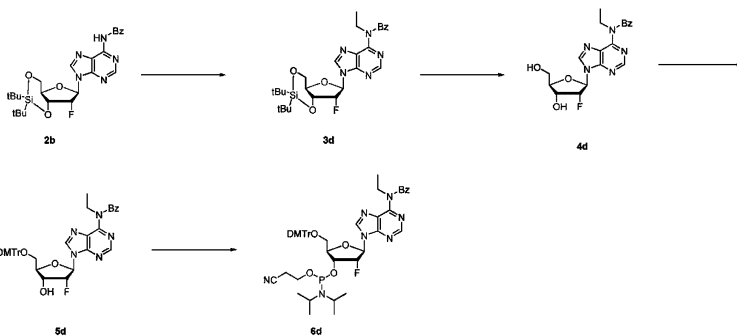
¹H-NMR(CDC₁₃, 400 MHz) δ: 8.49(s, 0.37H), 8.48(s, 0.63H), 8.11(s, 0.34H), 8.05(s, 0.66H), 7.43-7.38(m, 4H), 7.32-7.21(m, 8H), 7.11(t, J=7.8Hz, 2H), 6.80(m, 4H), 6.10(m, 1H), 4.64-4.52(m, 2H), 4.43-4.32(m, 3H), 3.94-3.83(m, 1H), 3.79-3.78(m, 6H), 3.67-3.46(m, 4H), 3.35-3.29(m, 1H), 2.64(t, J=6.4Hz, 1.3H), 2.37(t, J=6.4Hz, 0.70H), 1.33(t, J=7.1Hz, 3H), 1.18(m, 8H), 1.06(d, J=6.9Hz, 4H).

[0808]

³¹P-NMR(CDC₁₃, 162 MHz) δ: 151.67, 150.92.

[0809]

폴리뉴클레오티드의 원료가 되는 화합물 6d는 하기 스킴으로 합성했다.



[0810]

[0811]

공정 1: 화합물 3d의 합성

- [0812] N-(9-((4aR,6R,7R,7aS)-2,2-디-tert-부틸-7-플루오로테트라히드로-4H-푸로[3,2-d][1,3,2]디옥사실린-6-일)-9H-푸린-6-일)-N-에틸벤즈아미드
- [0813] 화합물 2b(1.00 g, 1.95 mmol)를 디클로로메탄(5.0 mL)에 용해하고, 테트라부틸암모늄브로미드(0.942 g, 2.92 mmol), 1M 수산화나트륨 수용액(5.0 ml)을 가했다. 요오드화메틸(0.942 ml, 11.7 mmol)을 천천히 적하했다. 그 후, 실온에서 2시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 물/클로로포름=1/1에 가하여 쉐킷했다. 유기층을 물로 2회 세정한 후, 무수황산나트륨으로 탈수하고, 건조제를 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸=80/20→70/30)로 정제함으로써, 화합물 3d(629 mg, 1.16 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 60%)
- [0814] ESI-MS: 계산치: 542.26[M+H]⁺, 실측치: 542.6[M+H]⁺
- [0815] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.55(s, 1H), 7.91(s, 1H), 7.46(d, J=7.3Hz, 2H), 7.30(t, J=7.1Hz, 1H), 7.19(t, J=7.8 Hz, 2H), 6.09(d, J=22.4Hz, 1H), 5.45(dd, J=54.1, 3.9Hz, 1H), 4.86(ddd, J=27.2, 9.8, 4.1Hz, 1H), 4.48(dd, J=9.1, 5.0, 1H), 4.40(q, J=7.2Hz, 2H), 4.04(t, J=9.8Hz, 1H), 1.34(t, J=7.1Hz, 3H), 1.11(s, 9H), 1.05(s, 9H).
- [0816] 공정 2: 화합물 4d의 합성
- [0817] N-에틸-N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)벤즈아미드
- [0818] 화합물 4c를 얻는 공정과 같은 식으로 하여 화합물 4d를 얻었다.
- [0819] ESI-MS: 계산치: 401.40[M+H]⁺, 실측치: 402.1[M+H]⁺
- [0820] 공정 3: 화합물 5d의 합성
- [0821] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-3-플루오로-4-히드록시테트라히드로푸란-2-일)-9H-푸린-6-일)-N-에틸벤즈아미드
- [0822] 화합물 5c를 얻는 공정과 같은 식으로 하여 화합물 5d를 얻었다.
- [0823] ESI-MS: 계산치: 738.25[M+C1]⁻, 실측치: 738.7[M+C1]⁻
- [0824] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.52(s, 1H), 8.07(s, 1H), 7.43-7.41(m, 2H), 7.38-7.35(m, 2H), 7.30-7.20(m, 8H), 7.10(t, J=7.8Hz, 2H), 6.79(d, J=8.2Hz, 4H), 6.22(dd, J=17.4, 2.3Hz, 1H), 5.58(ddd, J=53.0, 2.4, 1.2Hz, 1H), 4.93-4.74(m, 1H), 4.40(q, J=7.2Hz, 2H), 4.19-4.16(m, 1H), 3.78(s, 6H), 3.54(dd, J=11.0, 3.2Hz, 1H), 3.40(dd, J=10.5, 3.1Hz, 1H), 2.23(dd, J=6.9, 2.3Hz, 1H), 1.33(t, J=7.1Hz, 3H).
- [0825] 공정 4: 아미다이트 6d의 합성
- [0826] (2R,3R,4R,5R)-2-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-5-(6-(N-에틸벤즈아미도)-9H-푸린-9-일)-4-플루오로테트라히드로푸란-3-일(2-시아노에틸)디소프로필포스포르아미다이트
- [0827] 화합물 5d(1.93 g, 2.74 mmol)를 디클로로메탄(16 mL)에 용해하고, 디소프로필에틸아민(0.958 mL, 5.48 mmol)을 가하여, 빙냉으로 냉각했다. 탈수 디클로로메탄(3.8 mL)에 용해한 2-시아노에틸디소프로필클로로포스포르아미다이트(970 mg, 4.11 mmol)를 적하했다. 그 후, 실온까지 승온하면서 1시간 교반했다. 원료 소실을 확인한 후, 반응액을 빙냉한 포화중조수에 가하여 쉐킷했다. 아세트산에틸을 가하여 추출했다. 유기층을 포화식염수로 세정한 후, 무수황산나트륨으로 건조시켰다. 여과하여 분별한 후, 여과액을 농축했다. 농축 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/아세트산에틸(1% 트리에틸아민 함유)=90/10→60/40)로 정제함으로써, 아미다이트 6d(2.29 g, 2.53 mmol)를 무색 아모르퍼스로서 얻었다.(수율 92%)
- [0828] ESI-MS: 계산치: 938.36[M+C1]⁻, 실측치: 938.7[M+C1]⁻
- [0829] ¹H-NMR(CDC1₃, 400 MHz) δ: 8.53(s, 0.5H), 8.51(s, 0.5H), 8.11(s, 1H), 7.41-7.33(m, 4H), 7.27-7.16(m, 8H), 7.03(t, J=7.8Hz, 2H), 6.79-6.75(m, 4H), 6.27-6.18(m, 1H), 5.78-5.58(m, 1H), 5.10-4.85(m, 1H),

4.42-4.38(m, 2H), 4.31-4.30(m, 1H), 3.96-3.72(m, 7H), 3.68-3.51(m, 4H), 3.29-3.27(m, 1H), 2.59(t, J=6.2Hz, 1H), 2.40(t, J=6.4Hz, 1H), 1.33-1.31(m, 3H), 1.19-1.15(m, 9H), 1.04(d, J=6.9Hz, 3H).

[0830] ³¹P-NMR(CDC1₃, 162 MHz) δ : 151.94, 151.89, 151.20, 151.11.

[0831] RNA 올리고뉴클레오티드는 2'-TOM(트리이소프로필실릴옥시메틸) 보호 β-시아노에틸포스포르아미다이트(DMT-2'-O-TOM-rA(Ac), DMT-2'-O-TOM-rG(Ac), DMT-2'-O-TOM-rC(Ac), DMT-2'-O-TOM-rU)(각각 Glen Research사 혹은 ChemGenes사)를 이용하고, DNA 올리고뉴클레오티드는 β-시아노에틸포스포르아미다이트(DMT-dA(Bz), DMT-dG(iBu), DMT-dC(Ac), DMT-T)를 이용했다. 각각의 포스포르아미다이트 모노머는 0.05 mol/L 아세트니트릴 용액이 되도록 조제하고, 고상 담체를 0.2 μmol 혹은 0.8 μmol 이용하여 DNA/RNA 고상 합성 장치(NTS M-2-MX, 니혼테크노서비스사)에 의해 합성했다.

[0832] DNA 올리고뉴클레오티드는 고상 담체로서 CPG 1000A(dA-CPG, dG-CPG, Ac-dC-CPG, dT-CPG)(Glen Research사)를 이용하고, 축합 시간은 2분간으로 했다.

[0833] 5' 말단에 인산기를 갖는 RNA(5'-모노인산 RNA)는 고상 담체로서 Universal UnyLinker Support 2000A(ChemGenes사)를 이용하고, 1번째 염기의 축합 시간은 15분간, 그 이후는 각 3분간으로 했다. 5' 말단의 수산기의 인산화는 화학 인산화 시약(0.05 mol/L 아세트니트릴 용액)(Glen Research사 혹은 ChemGenes사)를 이용하여 행했다.

[0834] 3'-아미노구아노신 모노머가 3' 말단에 도입된 RNA 올리고뉴클레오티드의 고상 합성은 화합물 15를 이용하여 행했다. 1번째 염기의 축합 시간은 15분간, 그 이후는 각 3분간으로 했다.

[0835] 고상 합성 장치에서 사용한 시약에 관해서는 이하의 것을 사용했다. 5' 말단의 수산기의 디메톡시트리틸기는, 시판되는 디블로킹 시약(Deblocking Solution-1, 3 w/v% 트리클로로아세트산/디클로로메탄 용액)(와코순야쿠가부시기가이샤)을 이용하여, 10초간 반응시킴으로써 제거했다. 포스포르아미다이트의 활성화제(activator)로서 시판되는 액티베이터 용액(액티베이터 용액 3)(와코순야쿠가부시기가이샤)을 이용했다. 미반응의 5' 말단의 수산기는, 시판되는 캡핑 용액(캡 A 용액-2 및 캡 B 용액-2)(와코순야쿠가부시기가이샤)을 이용하여, 10초간 반응시킴으로써 캡핑했다. 인산에스테르를 제조할 때의 산화제로서는, 피리딘, THF, 물 및 요오드를 함유하는 용액(Oxidizer, 0.01M 요오드, 29.2% 물, 6.3% 피리딘, 64.5% 아세트니트릴), Honeywell사)을 이용하여, 10초간 반응시켰다. 고상 합성 후, RNA 올리고뉴클레오티드의 5' 말단의 수산기의 디메톡시트리틸기는 고상 담체 상에서 탈보호했다. 합성한 DNA 및 RNA 올리고뉴클레오티드는 전부 정해진 방법에 따라 탈수지·탈보호를 행했다(농암모니아수, 55℃, 12시간). DNA 올리고뉴클레오티드는 카트리지 컬럼(MicroPure II Column, LGC Biosearch Technology사)을 이용하여 제품 프로토콜에 따라서 정제했다. RNA 올리고뉴클레오티드는 탈수지에 의해서 얻은 용액을 원심 에바포레이터에 의한 농축에 의해 완전히 건조한 후, 테트라부틸암모늄플루오리드(1M 테트라히드로푸란 용액)(1 mL)을 이용하여 2' 수산기의 TOM 보호기를 제거했다(50℃, 10분간, 이어서 실온에서 12시간. 혹은 50℃, 10분간, 이어서 35℃에서 6시간). 용액에 트리스염산 완충액(이하, Tris-HCl)(1M, pH 7.4)(1 mL)을 가하여 혼화한 후, 원심 에바포레이터에 의한 농축에 의해 테트라히드로푸란을 제거했다. 얻은 용액을 초순수에 의해서 평형화한 겔 여과 컬럼(NAP-25, GE Healthcare사)을 이용하여, 제품 프로토콜에 따라서 처리했다. 얻은 RNA 올리고뉴클레오티드를 포함하는 희분을 원심 에바포레이터에 의해서 농축한 후, 변성 폴리아크릴아미드 겔(이하, dPAGE)을 이용하여 정제했다.

[0836] (dPAGE를 이용한 RNA 단편의 정제)

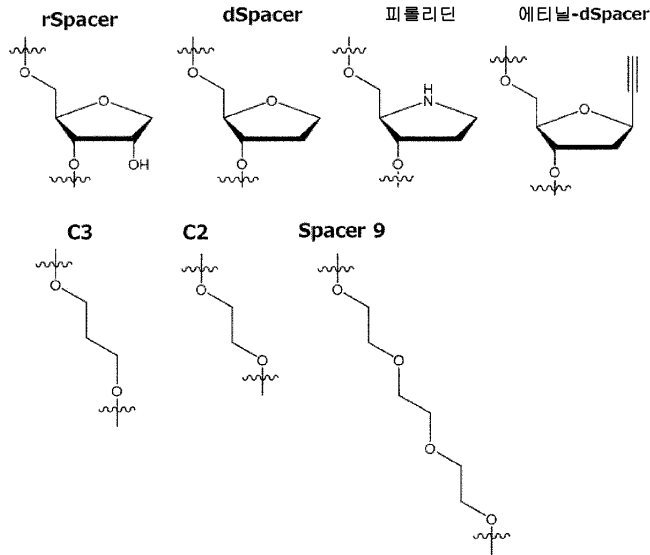
[0837] 아크릴아미드 겔 용액(변성제로서 7M 요소를 포함한다)에 과황산암모늄(이하, APS)의 수용액과 N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민(이하, TEMED)을 중합제로서 첨가하고, 고형화(실온, 6~12시간)시킴으로써 겔을 제작했다. RNA 샘플은 겔 로딩 버퍼(80% 포름아미드, TBE)와 혼합하여, 90℃에서 3분간 가열한 후, 겔에 로드했다. 전기영동 후, RNA의 밴드는 UV광 조사(254 nm)에 의해서 검출하고, 면도날을 이용하여 겔로부터 잘라냈다. 잘라낸 겔 조각은 미세하게 파쇄한 후, 초순수로 겔로부터 추출했다(실온에서 6~12시간 진탕). RNA의 추출액은 Amicon Ultra 10K(Millipore사)를 이용하여 탈염·농축하고, 에탄올 침전(0.3M 아세트산나트륨(pH 5.2)/70% 에탄올)을 행함으로써 RNA의 펠릿을 얻었다. RNA 펠릿은 80% 에탄올로 린스한 후, 실온에서 1시간 바람에 말렸다. 얻은 RNA 펠릿은 초순수에 용해시켜, 적절한 농도로 희석한 후, 자외가시 흡광광도 측정(NanoDrop, Thermo scientific사)에 의해서 260 nm의 흡광도를 측정하여, 각 RNA 서열의 몰 흡광 계수로부터 농도를 결정했다(각 염기의 몰 흡광 계수로서 이하의 수치를 사용했다. A=15300, G=11800, C=7400, T=9300, U=9900).

- [0838] 정제한 올리고뉴클레오타이드의 구조는 MALDI-TOF MS(Ultraflex III, Bruker Daltonics사)(매트릭스: 3-히드록시 피콜린산)을 이용한 질량분석법 혹은 변성 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동을 이용한 분석에 의해 결정했다.
- [0839] (dPAGE를 이용한 케미칼 라이게이션 반응의 분석)
- [0840] 케미칼 라이게이션 반응의 분석에서는, 반응액을 초순수로 적절하게 희석한 것을 샘플로서 사용했다. 희석한 샘플은 겔 로딩 버퍼(80% 포름아미드/TBE)와 혼합하여, 90℃에서 3분간 가열한 후, 겔에 로드했다. 전기 영동 후, 초순수로 10,000배 희석한 SYBR(등록상표) Green II Nucleic Acid Stain(Lonza사)을 이용하여 겔 염색(실온, 15분간)함으로써 RNA의 밴드를 검출했다(사용 기기 : ChemiDoc, BIORAD사).
- [0841] 케미칼 라이게이션 반응의 수율은, RNA 연결 산물의 밴드 강도를 dPAGE로 단리 정제한 연결 산물을 기준 물질로 하여 비교함으로써 산출했다.
- [0842] (dPAGE를 이용한 케미칼 라이게이션 산물의 정제)
- [0843] 케미칼 라이게이션 반응에 의해서 얻은 RNA 연결 산물은, 반응액으로부터 에탄올 침전(0.3M 아세트산나트륨(pH 5.2)/70% 에탄올)에 의해서 RNA 펠릿으로서 회수한 후, dPAGE에 의해서 정제했다.
- [0844] 이하, 표 1~표 27-5에서의 각 뉴클레오타이드 N(대문자)은 RNA를, 각 뉴클레오타이드 n(소문자)은 DNA를, N(M)은 2'-O-메틸 수식 RNA를, N(F)는 2'-F화 수식 RNA를, N(L)은 LNA를, N(MOE)는 2'-O-메톡시에틸 수식 RNA를 나타낸다. Am6은 염기부가 N6-메틸아데닌임을 나타낸다. 또한, DNA는 dn으로서 기재하는 경우도 있다. p는 3' 말단 또는 5' 말단이 인산화되어 있음을 나타낸다. ^는 당부 사이를 잇는 인산기가 포스포로티오에이트임을 나타낸다. 밑줄이 그어진 「AUG」는 개시 코돈을, 밑줄이 그어진 「UGA」 또는 「TGA」는 종지 코돈을 나타낸다.
- [0845] 이하 표 1에, 실시예 1 및 실시예 2에서 이용한 화합물(폴리뉴클레오타이드)의 서열 정보를 나타낸다.
- [0846] 표 1:

결 산물 E2(2.5 nmol, 수율 25%)를 얻었다.

[0853] 실시예 3

[0854] 이하 표 2-1~2-60에서의 rSpacer, dSpacer, 피롤리딘, 에티닐-dSpacer, C3, C2 및 Spacer9는 뉴클레오티드 당 부 대신의 스페이서 수식은 아래 그림의 구조이다.



[0855]

[0856] 이하 표 2-1~표 2-60에, 실시예 3에서 이용한 화합물(폴리뉴클레오티드)의 서열 정보 및 그 합성법을 나타낸다. 이하 표 3-1~3-14에, 실시예 3의 화합물(폴리뉴클레오티드)의 수율(%) 및 MS(실측치)를 나타낸다.

[0857] 여기서, MS(실측치)는 Agilent Technologies사의 LC(1260 Infinity II)/MSD XT(G6135B)를 이용하여 측정했다.

[0858] 표 2-1~표 2-60:

[0859] [표 2-1]

| 화합물명 | 합성법 | 서열 (5'→3') | 서열 번호 |
|------|-----------|--|-------|
| E3 | 실시예 1과 동일 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUCUUCGACUUAAGGACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGA CGACGACAAACACCACCACCACCACCACUGA | 8 |
| E3-1 | 고상 합성 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUCUUCGACUUAAGG | 9 |
| E3-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACUGA | 10 |
| E4 | 실시예 1과 동일 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUCUUCGACUUAAGGACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGA CGACGACAAACACCACCACCACCACUGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 11 |
| E4-1 | 고상 합성 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUCUUCGACUUAAGG | 12 |
| E4-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACUGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 13 |
| E5 | 실시예 1과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAGGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 14 |
| E5-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGJUCUJUUUUGCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAG | 15 |
| E5-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 16 |
| E6 | 실시예 1과 동일 | G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F) C(M)C(F)AUGGACUACAAGGACGACGACGACAAGAUCUUCGACUUAAGGACGACGAC GAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACCACUGA | 17 |
| E6-1 | 고상 합성 | G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F) C(M)C(F)AUGGACUACAAGGACGACGACGACAAGAUCUUCGACUUAAGG | 18 |

[0860]

[0861] [표 2-2]

| | | | |
|------|---------------|--|----|
| E6-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACUGA | 19 |
| E7 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGGACGACGACGAUAAAGGUGG CGACUUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)AAAA AAAAAAAAAAAAAAAA | 20 |
| E7-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGG | 21 |
| E7-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)AAAAAAAAAAAAAAAA | 22 |
| E8 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGGACGACGACGAUAAAGGUGG CGACUUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)A(M)A (M)AA(M)A(M)AA(M)AA(M)A(F)AA(M)AAA(F)AA(M)AAA(F) | 23 |
| E8-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGG | 24 |
| E8-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)A(M)A(M)AA(M)A(M)AA(M)AA(M)A(F)AA(M)AAA(F)AA(M)AA A(F) | 25 |
| E9 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGGACGACGACGAUAAAGGUGG CGACUUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)AAA(M)AA(F)A(F)AAA(M)A(F)A(F)A(F)A(M)AA(F)A(M)A(M)A(F)A(F)A(M) | 26 |
| E9-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUUAAGG | 27 |
| E9-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)AAA(M)AA(F)A(F)AAA(M)A(F)A(F)A(M)AA(F)A(M)A(M)A (F)A(F)A(M) | 28 |
| E10 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUJGC AGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA (F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU (F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 29 |

[0862]

[0863]

[표 2-3]

| | | | |
|-------|---------------|---|----|
| E10-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGC AGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 30 |
| E10-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A (MOE) | 31 |
| E11 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGC AGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE)AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 32 |
| E11-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGC AGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 33 |
| E11-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A (MOE)AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 34 |
| E12 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)AC U(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA (MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 35 |
| E12-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 36 |
| E12-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 37 |
| E13 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUAACAAGCUACUUGUUCUUUUJGCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M)AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 38 |

[0864]

[0867]

[표 2-5]

| | | | |
|-------|---------------|--|----|
| E16 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)CAAGCUACUUGUUCUUUUJGAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) A(F)A(M)A(F)A(M) | 47 |
| E16-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)CAAGCUACUUGUUCUUUUJGAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAG | 48 |
| E16-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) A(F)A(M) | 49 |
| E17 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)CAAGCUACUUGUUCUUUUJGAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M))A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M))A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) | 50 |
| E17-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)CAAGCUACUUGUUCUUUUJGAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F) AUA(F)AAG | 51 |
| E17-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M) | 52 |
| E18 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCACCA UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)A CU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)A GG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU (M)G(M)A(M) | 53 |

[0868]

[0869] [표 2-6]

| | | | |
|-------|------------|---|----|
| E18-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 54 |
| E18-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 55 |
| E19 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(M)G(M)Am6(M)Am6(M)U(M)Am6(M)C(M)Am6(M)Am6(M)G(M)C(M)U(M)Am6(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(M)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 56 |
| E19-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(M)G(M)Am6(M)Am6(M)U(M)Am6(M)C(M)Am6(M)Am6(M)G(M)C(M)U(M)Am6(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(M)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 57 |
| E19-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 58 |
| E20 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(M)Am6(F)C(M)Am6(F)Am6(F)G(M)C(M)U(M)Am6(F)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(F)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 59 |
| E20-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(M)Am6(F)C(M)Am6(F)Am6(F)G(M)C(M)U(M)Am6(F)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(F)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 60 |
| E20-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 61 |

[0870]

[0871] [표 2-7]

| | | | |
|-------|---------------|---|----|
| E21 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)UAm6(F)CAm6(F)Am6(F)GCUAm6(F)C UUGUUCUUUUUGCAm6(F)GCCAm6(F)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AU A(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 62 |
| E21-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)UAm6(F)CAm6(F)Am6(F)GCUAm6(F)C UUGUUCUUUUUGCAm6(F)GCCAm6(F)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 63 |
| E21-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 64 |
| E22 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(F)Am6(F)CAm6(F)Am6(F)GC(F)UAm 6(F)C(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAm6(F)G(F)CCAm6(F)CCAUGG(F)ACU(F) ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)A AGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 65 |
| E22-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(F)Am6(F)CAm6(F)Am6(F)GC(F)UAm 6(F)C(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAm6(F)G(F)CCAm6(F)CCAUGG(F)ACU(F) ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)A AG | 66 |
| E22-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 67 |
| E23 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(M)C(M) C(M)A(M)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AG A(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GC G(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 68 |
| E23-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(M)C(M) C(M)A(M)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AG A(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 69 |
| E23-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 70 |

[0872]

[0873]

[표 2-8]

| | | | |
|-------|---------------|---|----|
| E24 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(M)G(M)Am6(M)Am6(M)U(M)Am6(M)C(M)Am6(M)Am6(M)G(M)C(M)U(M)Am6(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(M)G(M)C(M)C(M)Am6(M)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)A(A)C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 71 |
| E24-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(M)G(M)Am6(M)Am6(M)U(M)Am6(M)C(M)Am6(M)Am6(M)G(M)C(M)U(M)Am6(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(M)G(M)C(M)C(M)Am6(M)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 72 |
| E24-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 73 |
| E25 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(M)Am6(F)C(M)Am6(F)Am6(F)G(M)C(M)U(M)Am6(F)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(F)G(M)C(M)C(M)Am6(F)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)A(A)C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 74 |
| E25-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(F)U(M)Am6(F)C(M)Am6(F)Am6(F)G(M)C(M)U(M)Am6(F)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)Am6(F)G(M)C(M)C(M)Am6(F)C(M)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 75 |
| E25-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 76 |
| E26 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUAACAAGCUACUUGUUCUUCUUCUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUAUAAGACGACGACGAUAAAGGUGG CGACUAUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCACU(M)G(M)A(M)A(F)A(M)AA(F)AA(F)A(F)A(M)AA(F)AA(M)AAA(M)A(M)A(M)A(F)A | 77 |
| E26-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)AUAACAAGCUACUUGUUCUUCUUCUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUAUAAG | 78 |
| E26-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGACUAUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCACCACU(M)G(M)A(M)A(F)A(M)AA(F)AA(F)A(F)A(M)AA(F)AA(M)AAA(M)A(M)A(M)A(F)A | 79 |

[0874]

[0875] [표 2-9]

| | | | |
|-------|---------------|---|----|
| E27 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAGACGACGACGUAUAAAGGUGG CGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)AA(M) A(M)A(F)A(F)AA(F)A(F)AA(F)A(F)A(M)A(F)A(F)A(F)AA(F)AA(F)AAA(M)A(M) | 80 |
| E27-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAG | 81 |
| E27-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)AA(M)A(M)A(F)A(F)AA(F)A(F)AA(F)A(F)A(M)A(F)A(F)AA(F) AAA(M)A(M) | 82 |
| E28 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAGACGACGACGUAUAAAGGUGG CGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)A(F)A(F) A(F)A(F)A(F)AA(F)A(M)A(M)AAA(F)A(F)AA(F)AA(M)A(F)AA(M) | 83 |
| E28-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAG | 84 |
| E28-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)A(F)A(F)A(F)A(F)A(F)AA(F)A(M)A(M)AAA(F)A(F)AA(F)A(M) A(F)AA(M) | 85 |
| E29 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAGACGACGACGUAUAAAGGUGG CGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)AA(M) A(M)A(M)AA(F)A(M)AA(F)A(M)AA(M)AAAA(M)A(M)A | 86 |
| E29-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGA CUACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUUAUAAAG | 87 |
| E29-2 | 고상 합성 | pACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACC ACCACU(M)G(M)A(M)AAA(M)A(M)A(M)AA(F)A(M)AA(F)A(M)AAA(M)A(M)A(M) A | 88 |
| E30 | 고상 합성 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGACUUAUAAAGGACGACGA CGACAAGGUGGCCACCACCACCACCACCU(M)G(M)A(M)AA(M) | 89 |
| E31 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGC AGCCACCAUGGACUUAUAAAGGACGACGACGACAAGGUGGCCACCACCACCACCACCU U(MOE)G(MOE)A(MOE) | 90 |

[0876]

[0877]

[표 2-10]

| | | | |
|-------|---------------|---|----|
| E32 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 91 |
| E32-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 92 |
| E32-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 93 |
| E33 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 94 |
| E33-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 95 |
| E33-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 96 |
| E34 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(M)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 97 |
| E34-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(M)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 98 |

[0878]

[0879] [표 2-11]

| | | | |
|-------|------------|---|-----|
| E34-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 99 |
| E35 | 실시예 1 과 동일 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 100 |
| E35-1 | 고상 합성 | G(M)G(M)G(M)A(M)G(M)A(M)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 101 |
| E35-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 102 |
| E36 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 103 |
| E36-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 104 |
| E36-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 105 |
| E37 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 106 |

[0880]

[0881]

[표 2-12]

| | | | |
|-------|------------|---|-----|
| E37-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(MOE)C(MOE)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 107 |
| E37-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 108 |
| E38 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(MOE)C(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)U(MOE)U(MOE)G(MOE)U(MOE)U(MOE)C(MOE)U(MOE)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 109 |
| E38-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(MOE)C(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)U(MOE)U(MOE)G(MOE)U(MOE)U(MOE)C(MOE)U(MOE)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 110 |
| E38-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 111 |
| E39 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(MOE)C(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)U(MOE)U(MOE)G(MOE)U(MOE)U(MOE)U(MOE)C(MOE)U(MOE)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE) | 112 |
| E39-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)A(MOE)A(MOE)G(MOE)C(MOE)U(MOE)A(MOE)C(MOE)U(MOE)U(MOE)G(MOE)U(MOE)U(MOE)C(MOE)U(MOE)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 113 |

[0882]

[0885]

[표 2-14]

| | | | |
|-------|---------------|---|-----|
| E42 | 실시예 1 과 동일 | G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 121 |
| E42-1 | 고상 합성 | G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 122 |
| E42-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 123 |
| E43 | 실시예 1 과 동일 | G(F)^G(M)^G(F)^A(M)^G(F)^A(M)^A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 124 |
| E43-1 | 고상 합성 | G(F)^G(M)^G(F)^A(M)^G(F)^A(M)^A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 125 |
| E43-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 126 |
| E44 | 실시예 1 과 동일 | G(F)^G(M)^G(F)^A(M)^G(F)^A(M)^A(F)U(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(M)G(M)A(M) | 127 |
| E44-1 | 고상 합성 | G(F)^G(M)^G(F)^A(M)^G(F)^A(M)^A(F)U(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 128 |

[0886]

[0889] [표 2-16]

| | | | |
|-------|-------------------------|--|-----|
| E48 | GeneDesi gn사에서 구입 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(U)G(U)U(U)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F) UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F) AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)AC C(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 137 |
| E49 | GeneDesi gn사에서 구입 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(M)G(F)U(M)U(F)C(M)U(F)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M))A(M)GCCA(M)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA (F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG (F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 138 |
| E50 | GeneDesi gn사에서 구입 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(M)G(F)U(M)U(F)C(M)U(F)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M))A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)AC G(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AA G(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 139 |
| E51 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(rSpacer)G(F)U(rSpacer)U(F)C(rSpacer)U(F)U(rSpacer) U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)A UA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AA C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 140 |
| E51-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(rSpacer)G(F)U(rSpacer)U(F)C(rSpacer)U(F)U(rSpacer) U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 141 |
| E51-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 142 |

[0890]

[0891]

[표 2-17]

| | | | |
|-------|---------------|---|-----|
| E52 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)UUGUUCUUU(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(MOE)C(MOE)C(M OE)A(M)C(MOE)C(MOE)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 143 |
| E52-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)UUGUUCUUU(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(MOE)C(MOE)C(M OE)A(M)C(MOE)C(MOE)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 144 |
| E52-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 145 |
| E53 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUAACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)AC U(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(M OE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A (MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 146 |
| E53-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUAACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 147 |
| E53-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MO E)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 148 |

[0892]

[0893] [표 2-18]

| | | | |
|-------|---------------|---|-----|
| E54 | 실시에 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)ACA(F)JAGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)AC U(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 149 |
| E54-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)ACA(F)JAGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 150 |
| E54-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M) ^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 151 |
| E55 | 실시에 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)ACA(F)JAGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)AC U(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F) ^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE) ^A(MOE) | 152 |
| E55-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUUUU GCAGCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)ACA(F)JAGA(F)UC A(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 153 |
| E55-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 154 |

[0894]

[0895] [표 2-19]

| | | | |
|-------|---------------|--|-----|
| E56 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG (F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F) ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F))^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 155 |
| E56-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 156 |
| E56-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F))^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 157 |
| E57 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^U(M)^A(M)^C(M) ^A(M)^A(M)^G(M)^C(M)^U(M)^A(M)^C(M)UUGUUCUU(M)^U(M)^U(M)^G(M))^C(M)^A(M)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F) AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F) GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)AC C(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE) ^A(MOE)^A(MOE) | 158 |
| E57-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^U(M)^A(M)^C(M) ^A(M)^A(M)^G(M)^C(M)^U(M)^A(M)^C(M)UUGUUCUU(M)^U(M)^U(M)^G(M))^C(M)^A(M)GCCACCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F) AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 159 |
| E57-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F))^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 160 |

[0896]

[0901]

[표 2-22]

| | | | |
|-------|---------------|---|-----|
| E63 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGGACUACAAGGACGACGACGAC AAGAUCAUUCGACUUAAGACGACGACGACUAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGAC GACAAACACCACCACCACCACCACC(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 174 |
| E63-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGGACUACAAGGACGACGACGAC AAGAUCAUUCGACUUAAG | 175 |
| E63-2 | 고상 합성 | pACGACGACGACUUAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACGACAAACACCACCACCACC ACCACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 176 |
| E64 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(MOE)A(MOE)A(MOE) | 177 |
| E64-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 178 |
| E64-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(MOE)A(MOE) | 179 |

[0902]

[0905]

[표 2-24]

| | | | |
|-------|------------|---|-----|
| E67 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^(M)^(G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 186 |
| E67-1 | 고상 합성 | G(MOE)^(M)^(G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 187 |
| E67-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 188 |
| E68 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^(M)^(G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 189 |
| E68-1 | 고상 합성 | G(MOE)^(M)^(G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)p | 190 |

[0906]

[0907]

[표 2-25]

| | | | |
|-------|---------------|---|-----|
| E68-2 | 고상 합성 | ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^A GG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^AC C(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) ^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 191 |
| E69 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M) U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F))G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F) ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F) GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)A CC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)G(MOE)A(MOE)AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 192 |
| E69-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M) U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F))G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F) ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 193 |
| E69-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A (MOE)AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 194 |
| E70 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F) ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACU(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 195 |
| E70-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 196 |
| E70-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A ^A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 197 |

[0908]

[0909]

[표 2-26]

| | | | |
|-----|-------|---|-----|
| E71 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 198 |
| E72 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(rSpacer)G(M)(rSpacer)U(M)(rSpacer)U(M)(rSpacer)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 199 |
| E73 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(dSpacer)G(M)(dSpacer)U(M)(dSpacer)U(M)(dSpacer)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 200 |
| E74 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(C3)G(M)(C3)U(M)(C3)U(M)(C3)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 201 |
| E75 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(Pyrrolidine)G(M)(Pyrrolidine)U(M)(Pyrrolidine)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 202 |
| E76 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(Ethyanyl-dSpacer)G(M)(Ethyanyl-dSpacer)U(M)(Ethyanyl-dSpacer)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 203 |

[0910]

[0911]

[표 2-27]

| | | | |
|-------|---------------|--|-----|
| E77 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)(rSpacer)C(M)(rSpace r)A(M)(rSpacer)C(M)(rSpacer)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M) U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AG G(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 204 |
| E78 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)A(F)(rSpacer)C(F)(rSpacer)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 205 |
| E79 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F))AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AC(F)A CC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F) ^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) ^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 206 |
| E79-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)jp | 207 |
| E79-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 208 |
| E80 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG (F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F))AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AC(F)A CC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)aaaaaaaaaaaa aaaaa | 209 |

[0912]

[0917]

[표 2-30]

| | | | |
|-------|-------|---|-----|
| E84-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 223 |
| E85 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUAACAAGCUACUUGUUCUUCUUUU GCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F))GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 224 |
| E86 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(M)U (M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MO E)G(MOE)A(MOE) | 225 |
| E87 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)UG(F)UU(F)CU(F)UU(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F) GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 226 |
| E88 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)C(F)(rSpacer)U(F)U(M)U (F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F) ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 227 |
| E89 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)(rSpacer)C(M)(rSpace r)A(M)(rSpacer)C(M)(rSpacer)A(M)C(F)U(M)(rSpacer)G(M)(rSpacer)U(M)(rSpacer)U(M)(rSpacer)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F) ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 228 |
| E90 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F))C(M)U(F)A(M)C(F)(rSpacer)(rSpacer)(rSpacer)(rSpacer)(rSpacer)(rSpa cer)(rSpacer)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F) ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)A CC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 229 |

[0918]

[0921]

[표 2-32]

| | | | |
|-------|-------|--|-----|
| E95-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(M OE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A (MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 236 |
| E96 | 고상 합성 | GGG(MOE)^AG(MOE)^A(MOE)^AU(M)^A(F)^C(M)^A(F)^AG(F)^CU(F)^A(M)^C UUGUU(M)^CUUUUG(F)^C(M)^AG(M)^C(F)^C(M)^A(F)^C(M)^CAUGGACUUA AAGGACGACGACAAAGGUGGCCACCACCACCACCACUGA | 237 |
| E97 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^AUACAAGCUACUUGUUC UUUUGCAGCCACCAUGGACUUAAGGACGACGACAAAGGUGGCCACCACCACC ACCACCACUGA | 238 |
| E98 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(G(M)U)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F) AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MO E) | 239 |
| E99 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUAACAAGCUACUUGUUCUUUU GCAGCCACCA(F)JUGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE) | 240 |
| E100 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M) A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)A CG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE) ^G(MOE)^A(MOE) | 241 |
| E101 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^ A(F)^A(M)^G(F)^C(M)^U(F)^A(M)^C(F)^U(M)^U(F)^G(M)^U(F)^U(M)^C(F)^ U(M)^U(F)^U(M)^U(F)^U(M)^G(F)^C(M)^A(F)^G(M)^C(F)^C(M)^A(F)^C(M) ^C(F)^A(F)U(GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG (F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE) | 242 |

[0922]

[0923]

[표 2-33]

| | | | |
|------|-------|---|-----|
| E102 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^U(M)^A(F)^C(M)^A(F)^A(M)^G(F)^C(M)^U(F)^A(M)^C(F)^U(M)^U(F)^U(M)^G(F)^C(M)^A(F)^G(M)^C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE) | 243 |
| E103 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)^C(F)^C(M)^A(F)^C(M)^C(F)^A(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE) | 244 |
| E104 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(rSpacer)AC(rSpacer)AG(rSpacer)UA(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UUGCAGCCACCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 245 |
| E105 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUU(J)GC A(rSpacer)CC(rSpacer)CCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 246 |
| E106 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(dSpacer)AC(dSpacer)AG(dSpacer)UA(dSpacer)UU(dSpacer)UU(dSpacer)UU(dSpacer)UUGCAGCCACCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 247 |
| E107 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUU(J)GC A(dSpacer)CC(dSpacer)CCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 248 |
| E108 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(C3)AC(C3)AG(C3)UA(C3)UU(C3)UU(C3)UU(C3)UUGCAGCCACCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 249 |
| E109 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCUUU(J)GC A(C3)CC(C3)CCA(F)U(J)GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 250 |

[0924]

[0925]

[표 2-34]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E110 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 251 |
| E111 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUA(F)CAA(F)GCU(F)ACU(F)UUG(F)UUCU(F)UUU(F)UUG(F)AGC(F)CAC(F)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 252 |
| E112 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)UAC(F)AAG(F)CUA(F)CUU(F)GUU(F)CUU(F)UUU(F)GCA(F)GCC(F)ACC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 253 |
| E113 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(M)ACA(M)AGC(M)UAC(M)UUG(M)UUC(M)UUU(M)UUG(M)CAG(M)CCA(M)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 254 |
| E114 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUA(M)CAA(M)GCU(M)ACU(M)UGU(M)UCU(M)UUU(M)UUG(M)AGC(M)CAC(M)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 255 |
| E115 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)UAC(M)AAG(M)CUA(M)CUU(M)GUU(M)CUU(M)UUU(M)GCA(M)GCC(M)ACC(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 256 |
| E116 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AtACaAGcUAcUUGUUCUUtUUGcAgCCaCCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 257 |
| E117 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AUaCaAGcActUGtUctUUtUUGcAGcCaCa(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 258 |
| E118 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)aUAcAAGcUaCUGtUctUUtUUGcAGccAcCa(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 259 |

[0926]

[0927]

[표 2-35]

| | | | |
|------|-------|---|-----|
| E119 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AT(MOE)ACA(MOE)AGC(MOE)UAC(MOE)UUG(MOE)UUC(MOE)UUT(MOE)UUG(MOE)CAG(MOE)CCA(MOE)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 260 |
| E120 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AT(L)ACA(L)JAGC(L)UAC(L)UUG(L)UUC(L)UUT(L)UUG(L)CAG(L)CCA(L)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 261 |
| E121 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(rSpacer)AC(rSpacer)AG(rSpacer)UA(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 262 |
| E122 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CA(rSpacer)CC(rSpacer)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 263 |
| E123 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(dSpacer)AC(dSpacer)AG(dSpacer)UA(dSpacer)UU(dSpacer)UU(dSpacer)UU(dSpacer)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 264 |
| E124 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(C3)AC(C3)AG(C3)UA(C3)UU(C3)UU(C3)UU(C3)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 265 |
| E125 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)A(F)CA(F)A(F)GC(F)U(F)AC(F)U(F)UG(F)U(F)UC(F)U(F)UU(F)U(F)UG(F)C(F)AG(F)C(F)CA(F)C(F)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 266 |
| E126 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)A(M)CA(F)A(M)GC(F)U(M)AC(F)U(M)UG(F)U(M)UC(F)U(M)UU(F)U(M)UG(F)C(M)AG(F)C(M)CA(F)C(M)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 267 |

[0928]

[0929]

[표 2-36]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E127 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)UU(F)G(F)UU(F)C(F)UU(F)U(F)U(F)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 268 |
| E128 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)AC(M)A(F)AG(M)C(F)UA(M)C(F)UU(M)G(F)UU(M)C(F)UU(M)U(F)UU(M)G(F)CA(M)G(F)CC(M)A(F)CC(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 269 |
| E129 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)A(M)C(F)A(F)A(M)G(F)C(F)U(M)A(F)C(F)U(M)U(F)G(F)U(M)U(F)C(F)U(M)U(F)U(F)U(M)U(F)G(F)C(M)A(F)G(F)C(M)C(F)A(F)C(M)C(F)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 270 |
| E130 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(M)C(M)A(F)A(M)G(M)C(F)U(M)A(M)C(F)U(M)U(M)G(F)U(M)U(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)C(M)C(M)A(F)C(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 271 |
| E131 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)C(M)A(F)A(F)G(M)C(F)U(F)A(M)C(F)U(F)U(M)G(F)U(F)U(M)C(F)U(F)U(M)U(F)U(F)U(M)G(F)C(F)A(M)G(F)C(F)C(M)A(F)C(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 272 |
| E132 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)C(F)A(F)A(F)G(F)C(F)U(F)A(F)C(F)U(F)U(F)G(F)U(F)U(F)C(F)U(F)U(F)U(F)U(F)G(F)C(F)A(F)G(F)C(F)C(F)A(F)C(F)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 273 |
| E133 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)CA(M)A(F)GC(M)U(F)AC(M)U(F)UG(M)U(F)UC(M)U(F)UU(M)U(F)UG(M)C(F)AG(M)C(F)CA(M)C(F)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 274 |

[0930]

[0931]

[표 2-37]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E134 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(M)A(M)CA(M)A(M)GC(M)U(M)A C(M)U(M)UG(M)U(M)UC(M)U(M)UU(M)U(M)UG(M)C(M)AG(M)C(M)CA(M)C(M)CA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F) ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 275 |
| E135 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)AC(F)A(M)AG(F)C(M)UA(F)C(M)UU(F)G(M)UU(F)C(M)UU(F)U(M)UU(F)G(M)CA(F)G(M)CC(F)A(M)CC(F)A(F) UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)A CC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 276 |
| E136 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)AC(M)A(M)AG(M)C(M)UA (M)C(M)UU(M)G(M)UU(M)C(M)UU(M)U(M)UU(M)G(M)CA(M)G(M)CC(M)A(M)CC(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GC C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 277 |
| E137 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(M)C(F)A(M)A(M)G(F)C(M)U(M)A(F)C(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)U(F)U(M)U(F)G(M)C(M)A(F)G(M)C(M)C(F)A(M)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)AC G(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 278 |
| E138 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(M)U(M)G(M)U(M)U(M)C(M)U(M)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)G(M)C(M)C(M)A(M)C(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG (F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(M OE)G(MOE)A(MOE) | 279 |
| E139 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(F)C(M)A(M)A(F)G(M)C (M)U(F)A(M)C(M)U(F)U(M)G(M)U(F)U(M)C(M)U(F)U(M)U(M)U(M)U(M)G(M)C(F)A(M)G(M)C(F)C(M)A(M)C(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)AC G(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 280 |
| E140 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(F)A(M)A(F)G(F)C(M)U(F)A(F)C(M)U(F)U(F)G(M)U(F)U(F)C(M)U(F)U(F)U(M)U(F)U(F)G(M)C(F)A(F)G (M)C(F)C(F)A(M)C(F)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F) ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 281 |

[0932]

[0933]

[표 2-38]

| | | | |
|------|-------|---|-----|
| E141 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)(rSpacer)A(M)C(M)(rSpacer)A(M)G(M)(rSpacer)U(F)A(M)(rSpacer)U(M)U(M)(rSpacer)U(M)U(M)(rSpacer)U(M)U(M)(rSpacer)U(M)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 282 |
| E142 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)(rSpacer)A(F)C(M)(rSpacer)A(F)G(M)(rSpacer)U(F)A(M)(rSpacer)U(F)U(M)(rSpacer)U(F)U(M)(rSpacer)U(F)U(M)(rSpacer)U(F)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 283 |
| E143 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)(dSpacer)A(F)C(M)(dSpacer)A(F)G(M)(dSpacer)U(F)A(M)(dSpacer)U(F)U(M)(dSpacer)U(F)U(M)(dSpacer)U(F)U(M)(dSpacer)U(F)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 284 |
| E144 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)(C3)A(F)C(M)(C3)A(F)G(M)(C3)U(F)A(M)(C3)U(F)U(M)(C3)U(F)U(M)(C3)U(F)U(M)(C3)U(F)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 285 |
| E145 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(M)C(M)A(F)A(M)G(M)C(F)U(M)A(M)C(F)U(M)U(M)G(F)U(M)U(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 286 |
| E146 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)C(M)A(F)A(F)G(M)C(F)U(F)A(M)C(F)U(F)U(M)G(F)U(F)U(M)C(F)U(F)U(M)U(F)U(F)U(M)G(F)C(M)A(M)G(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 287 |
| E147 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)C(M)C(M)A(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 288 |

[0934]

[0935]

[표 2-39]

| | | | |
|------|-------|---|-----|
| E148 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)C(F)C(M)A(F)C(C)C(M)A(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 289 |
| E149 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(M)C(M)A(F)A(M)G(M)C(F)U(M)A(M)C(F)U(M)U(M)G(F)U(M)U(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(M)G(F)C(M)A(M)GCC(F)CAC(F)CA(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 290 |
| E150 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)C(M)A(F)A(F)G(M)C(F)U(F)A(M)C(F)U(F)U(M)G(F)U(F)U(M)C(F)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(F)A(M)G(C)C(F)CAC(F)CA(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 291 |
| E151 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(M)C(M)A(F)A(M)G(M)C(F)U(M)A(M)C(F)U(M)U(M)G(F)U(M)U(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(M)G(F)C(M)A(M)GCC(F)ACC(F)A(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 292 |
| E152 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(F)A(F)C(M)A(F)A(F)G(M)C(F)U(F)A(M)C(F)U(F)U(M)G(F)U(F)U(M)C(F)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(F)A(M)GCC(F)ACC(F)A(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 293 |
| E153 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)atA(M)caA(M)gcU(M)acU(M)tgU(M)tcU(M)ttU(M)tgC(M)agC(M)caC(M)ca(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 294 |
| E154 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)A(M)C(M)A(M)G(M)cu(M)A(M)cu(M)U(M)gU(M)U(M)cu(M)U(M)U(M)U(M)U(M)gC(M)A(M)gC(M)C(M)ac(M)C(M)A(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 295 |
| E155 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)taC(M)aaG(M)ctA(M)ctU(M)gtU(M)ctU(M)ttU(M)gcA(M)gcC(M)acC(M)A(F)UUG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 296 |

[0936]

[0937]

[표 2-40]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E156 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)atacaagctactgttctttttgcagccaccA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 297 |
| E157 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)A(M)ca(M)A(M)gC(M)U(M)aC(M)U(M)tG(M)U(M)tC(M)U(M)tU(M)U(M)tG(M)C(M)aG(M)C(M)cA(M)C(M)cA(F)U GG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 298 |
| E158 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)aC(M)A(M)aG(M)C(M)tA(M)C(M)tU(M)G(M)tU(M)C(M)tU(M)U(M)tU(M)G(M)cA(M)G(M)cC(M)A(M)cC(M)A(F)JUGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 299 |
| E159 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)aU(M)acA(M)agC(M)taC(M)tG(M)tC(M)tU(M)tG(M)caG(M)caA(M)ccA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 300 |
| E160 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)tA(M)C(M)aA(M)G(M)cU(M)A(M)cU(M)U(M)gU(M)U(M)cU(M)U(M)tU(M)U(M)gC(M)A(M)G(F)C(M)C(M)A(F)C(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 301 |
| E161 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)taC(M)aaG(M)ctA(M)ctU(M)gtU(M)ctU(M)tU(M)gca(M)G(F)C(F)C(M)A(F)C(F)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 302 |
| E162 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)tA(M)C(M)aA(M)G(M)cU(M)A(M)cU(M)U(M)gU(M)U(M)cU(M)U(M)gU(M)U(M)gC(M)A(M)G(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 303 |
| E163 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)taC(M)aaG(M)ctA(M)ctU(M)gtU(M)ctU(M)tU(M)gca(M)G(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 304 |

[0938]

[0939]

[표 2-41]

| | | | |
|--------|---------------|---|-----|
| E164 | 실시예 1 과 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(rSpacer)G(F)U(rSpacer)U(F)C(rSpacer)U(F)U(rSpacer) U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAGACGACG(F)ACG(F)A UA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AA C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)AAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 305 |
| E164-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M) C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)U(rSpacer)G(F)U(rSpacer)U(F)C(rSpacer)U(F)U(rSpacer) U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCAUGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG | 306 |
| E164-2 | 고상 합성 | pACGACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 307 |
| E165 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCU UUUJGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F) AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)G UG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AAC(F)ACC(F)AC C(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^ A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 308 |
| E165-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCU UUUJGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F) AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 309 |
| E165-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE))^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 310 |

[0940]

[0941]

[표 2-42]

| | | | |
|--------|---------------|--|-----|
| E166 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCU UUUUGCAGCCACCA(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^A CT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 311 |
| E166-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCU UUUUGCAGCCACCA(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)p- | 312 |
| E166-2 | 고상 합성 | ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^A GG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^AC C(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) ^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 313 |
| E167 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M))G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F))ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F) AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)A AC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 314 |
| E167-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M))G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F))ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 315 |
| E167-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE))^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE) | 316 |

[0942]

[0943]

[표 2-43]

| | | | |
|--------|---------------|---|-----|
| E168 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M))G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG (F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^ AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^A CC(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A (MOE)^A(MOE) | 317 |
| E168-1 | 교상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M))G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG (F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)p- | 318 |
| E168-2 | 교상 합성 | ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^A GG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^AC C(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A (MOE)^A(MOE) | 319 |
| E169 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)A (M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F))ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F) ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)A CA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A (F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M))^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A (MOE)^A(MOE) | 320 |
| E169-1 | 교상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)A (M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F))ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 321 |

[0944]

[0945]

[표 2-44]

| | | | |
|--------|---------------|--|-----|
| E169-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 322 |
| E170 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F) ^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^A UA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^AC C(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 323 |
| E170-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(M)U(M)A(M)C(M)A(M)A(M)G(M)C(M)U(M)A(M)C(M)U(F)(rSpacer)G(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(F)(rSpacer)U(M)U(M)U(M)G(M)C(M)A(M)GCCA(M)CCA(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F) ^AAG(F)p | 324 |
| E170-2 | 고상 합성 | ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^A GG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^AC C(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) ^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 325 |
| E171 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA(F)^AGG(F)^ACG (F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^ AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^A CC(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(MO E)^A(MOE)^A(MOE) | 326 |

[0946]

[0947]

[표 2-45]

| | | | |
|--------|---------------|--|-----|
| E171-1 | 고상 합성 | G(MOE) [^] G(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F) [^] UGG(F) [^] ACU(F) [^] ACA(F) [^] AGG(F) [^] ACG(F) [^] ACG(F) [^] ACG(F) [^] ACA(F) [^] AGA(F) [^] UCA(F) [^] UCG(F) [^] ACU(F) [^] AUA(F) [^] AAG(F) [^] p- | 327 |
| E171-2 | 고상 합성 | ACG(F) [^] ACG(F) [^] ACG(F) [^] AUA(F) [^] AAG(F) [^] GUG(F) [^] GCG(F) [^] ACU(F) [^] AUA(F) [^] AGG(F) [^] ACG(F) [^] ACG(F) [^] ACG(F) [^] ACA(F) [^] AAC(F) [^] ACC(F) [^] ACC(F) [^] ACC(F) [^] ACC(F) [^] ACC(F) [^] ACT(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(M) [^] A(MOE) [^] A(MOE) | 328 |
| E172 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(MOE) [^] A(MOE) | 329 |
| E172-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(U)ACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 330 |
| E172-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(MOE) [^] A(MOE) | 331 |
| E173 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE) [^] G(MOE) [^] A(MOE) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(F) [^] A(M) [^] A(MOE) [^] A(MOE) | 332 |

[0948]

[0951] [표 2-47]

| | | | |
|--------|-------------------------|---|-----|
| E177 | GeneDesi gn사에서 구입 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUAUCGACUAUAAAGACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUAUAAAGGACGA CGACGACAAACACCACCACCACCACCACUGAA(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(M OE)^A(MOE) | 340 |
| E178 | GeneDesi gn사에서 구입 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)AUACAAGCUACUUGUUCU UUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAUCGACUAUAAAGA CGACGACGAUAAAGGUGGCGACUAUAAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCAC CACUGAA(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) ^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE) | 341 |
| E179 | GeneDesi gn사에서 구입 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C (M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)AUGGACUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAU CGACUAUAAAGGACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUAUAAAGGACGACGACGACAACA CCACCACCACCACCACUGAA(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F) ^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 342 |
| E180 | 실시예 2와 동일 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)A GG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)AC G(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG (F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^ A(MOE)^AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 343 |
| E180-1 | 고상 합성 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)A GG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 344 |
| E180-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 345 |
| E181 | 실시예 2와 동일 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCA(F)^UGG(F)^ACU(F)^ACA (F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AGA(F)^UCA(F)^UCG(F)^ACU(F)^AUA(F)^AAG(F)ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^AUA(F)^AAG(F)^GUG(F)^GCG(F)^ ACU(F)^AUA(F)^AGG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACG(F)^ACA(F)^AAC(F)^ACC(F)^A CC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACC(F)^ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^AAAAAAAAAAAA AAAAAAAA | 346 |

[0952]

[0955] [표 2-49]

| | | | |
|--------|-------------------------|---|-----|
| E184-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M))A(F)G(M)A(F)A(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A (M)G(F)A(M)A(F)A(M)U(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UJGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG (F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 354 |
| E184-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) | 355 |
| E185 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)A(MOE)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F) A(M)A(F)A(M)U(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JG G(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F) AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)AC T(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) | 356 |
| E185-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)A(MOE)A(MOE)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F) A(M)A(F)A(M)U(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JG G(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 357 |
| E185-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M) | 358 |
| E186 | GeneDesi gn사에서 구입 | GGGAGACCUUCUUGGUCUCCACAGACUCAGAGAGAACCCACCGGCCACCAUGGACU ACAAGGACGACGACGACAAGAUAUCGACUAUAAAAGACGACGACGAUAAAAGGUGGCG ACUAUAAAGGACGACGACGACAAACACCACCACCACCACCACUGAAAAA AAAAAA | 359 |

[0956]

[0957]

[표 2-50]

| | | | |
|--------|---------------|---|-----|
| E187 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F))C(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A (F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)G(F)G(M)C(F)C(M))A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F) GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)AC C(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE) ^A(MOE)^A(MOE) | 360 |
| E187-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F))C(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A (F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)G(F)G(M)C(F)C(M))A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 361 |
| E187-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE))^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 362 |
| E188 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A(F)G(M) A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F) ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)AC C(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A (F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(M OE)^A(MOE) | 363 |
| E188-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A(F)G(M) A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 364 |

[0958]

[0959]

[표 2-51]

| | | | |
|--------|-------------------------|---|-----|
| E188-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 365 |
| E189 | GeneDesi gn사에서 구입 | GGGAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGACAAGAUCAUCGACUAAAAGACGA CGACGAUAAAAGGUGGCGACUUAAGGACGACGACGACAACACCACCACCACCAC UGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 366 |
| E190 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)^G(MOE)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JUGG(F)ACU(F)ACA (F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F) ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MO E)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 367 |
| E190-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JUGG(F)ACU(F)ACA (F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 368 |
| E190-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 369 |
| E191 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JUGG(F)ACU(F)ACA(F) AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)A CG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)AC G(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE) ^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 370 |
| E191-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)JUGG(F)ACU(F)ACA(F) AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 371 |
| E191-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 372 |

[0960]

[0961] [표 2-52]

| | | | |
|--------|-------------------------|---|-----|
| E192 | GeneDesi gn사에서 구입 | GGGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGGACUACAAGGACGACGA CGACAAGAUCAUCGACUUAUAAAGACGACGACGAUAAAGGUUGCGACUUAAGGACGA CGACGACAAACACCACCACCACCACACUGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAA | 373 |
| E193 | 실시예 2 외 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F) UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)AC G(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA (F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 374 |
| E193-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F) UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 375 |
| E193-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE) A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 376 |
| E194 | 실시예 2 외 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(rSpacer)AC(rSpacer)AG(rSpacer) UA(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UG G(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F) AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)AC T(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A (MOE) | 377 |
| E194-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(rSpacer)AC(rSpacer)AG(rSpacer) UA(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UU(rSpacer)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UG G(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 378 |
| E194-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)A CG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE) A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 379 |

[0962]

[0963]

[표 2-53]

| | | | |
|--------|-----------|--|-----|
| E195 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CA(rSpacer)CC(rSpacer)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 380 |
| E195-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CA(rSpacer)CC(rSpacer)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 381 |
| E195-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 382 |
| E196 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CC(rSpacer)UG(rSpacer)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 383 |
| E196-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CC(rSpacer)UG(rSpacer)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 384 |
| E196-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 385 |
| E197 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AG(rSpacer)AC(rSpacer)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 386 |
| E197-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 387 |

[0964]

[0965]

[표 2-54]

| | | | |
|--------|------------|---|-----|
| E197-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AG(rSpacer)AC(rSpacer)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 388 |
| E198 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 389 |
| E198-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 390 |
| E198-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)AAA(F)AAA(F)AAA(F)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 391 |
| E199 | 실시예 2 와 동일 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 392 |
| E199-1 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)AU(F)ACA(F)AGC(F)UAC(F)UUG(F)UUC(F)UUU(F)UUG(F)CAG(F)CCA(F)CCA(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 393 |
| E199-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(rSpacer)AA(MOE)A(MOE)A(MOE) | 394 |

[0966]

[0967] [표 2-55]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E200 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(C2)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 395 |
| E201 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(C2)G(M)U(F)U(M)C2)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 396 |
| E202 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)(Spacer9)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 397 |
| E203 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)(Spacer9)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 398 |
| E204 | 고상 합성 | GG(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 399 |
| E205 | 고상 합성 | GGGA(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 400 |
| E206 | 고상 합성 | G^G^G^A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A(C)C(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 401 |

[0968]

[0969]

[표 2-56]

| | | | |
|------|-------|--|-----|
| E207 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)AAG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACUGA | 402 |
| E208 | 고상 합성 | GGGA(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACUGA | 403 |
| E209 | 고상 합성 | GG(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 404 |
| E210 | 고상 합성 | GGGA(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AAGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 405 |
| E211 | 고상 합성 | G^G^G^A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)U(F)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE) | 406 |
| E212 | 고상 합성 | G(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)G(F)U(U)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACUGA | 407 |
| E213 | 고상 합성 | GGGA(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AAGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACUGA | 408 |
| E214 | 고상 합성 | GGG(MOE)G(MOE)G(MOE)A(MOE)G(MOE)A(MOE)A(F)U(F)AC(F)A(F)AG(F)C(F)UA(F)C(F)U(U)G(F)U(U)G(F)U(U)C(F)U(U)U(F)U(U)G(F)CA(F)G(F)CC(F)A(F)CC(F)A(F)UGG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAG(F)GUG(F)GCC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)G(MOE)A(MOE)AA | 409 |

[0970]

[0971]

[표 2-57]

| | | | |
|--------|--------------|---|-----|
| E215 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^t^A(M)^C(M)^a^A(M)^G(M)cU(M)A(M)cU(M)U(M)gU(M)U(M)cU(M)U(M)U(M)gC(M)A(M)gC(M)C(M)A(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)A(A)GA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GU(G)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M) | 410 |
| E215-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^t^A(M)^C(M)^a^A(M)^G(M)cU(M)A(M)cU(M)U(M)gU(M)U(M)cU(M)U(M)U(M)gC(M)A(M)gC(M)C(M)A(M)C(M)A(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)A(A)GA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 411 |
| E215-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M) | 412 |
| E216 | 실시예 2와 동일 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^a^t^A(M)^c^a^A(M)^gC(U(M)acU(M)tgU(M)tcU(M)ttU(M)tgC(M)agC(M)caC(M)ca(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M) | 413 |
| E216-1 | 고상 합성 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^a^t^A(M)^c^a^A(M)^gC(U(M)acU(M)tgU(M)tcU(M)ttU(M)tgC(M)agC(M)caC(M)ca(F)UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)p | 414 |
| E216-2 | 고상 합성 | ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUA(F)AGG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M)^A(M) | 415 |

[0972]

[0980] [표 3-1]

| 화합물명 | 서열 번호 | 수율(%) | MS(실측치) | MS(계산치) |
|-------|-------|-------|----------|----------|
| E3 | 8 | 42 | | |
| E3-1 | 9 | | 25741.90 | 25738.44 |
| E3-2 | 10 | | 21023.11 | 21020.70 |
| E4 | 11 | 35 | | |
| E4-1 | 12 | | 25742.31 | 25738.44 |
| E4-2 | 13 | | 27607.82 | 27604.90 |
| E5 | 14 | 35 | | |
| E5-1 | 15 | | 25851.38 | 25848.62 |
| E5-2 | 16 | | 21104.22 | 21100.79 |
| E6 | 17 | 38 | | |
| E6-1 | 18 | | 26032.49 | 26028.98 |
| E6-2 | 19 | | 21023.19 | 21020.70 |
| E7 | 20 | 34 | | |
| E7-1 | 21 | | 25826.35 | 25822.62 |
| E7-2 | 22 | | 27650.91 | 27646.99 |
| E8 | 23 | 39 | | |
| E8-1 | 24 | | 25826.58 | 25822.62 |
| E8-2 | 25 | | 27769.59 | 27765.23 |
| E9 | 26 | 35 | | |
| E9-1 | 27 | | 25826.44 | 25822.62 |
| E9-2 | 28 | | 27752.63 | 27747.17 |
| E10 | 29 | 34 | | |
| E10-1 | 30 | | 26116.33 | 26112.92 |
| E10-2 | 31 | | 21249.39 | 21246.97 |
| E11 | 32 | 31 | | |
| E11-1 | 33 | | 26116.06 | 26112.92 |
| E11-2 | 34 | | 27834.62 | 27831.17 |
| E12 | 35 | 31 | | |
| E12-1 | 36 | | 26148.32 | 26145.06 |
| E12-2 | 37 | | 28088.14 | 28081.69 |

[0981]

[0982] [표 3-2]

| | | | | |
|-------|----|----|----------|----------|
| E13 | 38 | 34 | | |
| E13-1 | 39 | | 25851.92 | 25848.62 |
| E13-2 | 40 | | 27688.31 | 27684.99 |
| E14 | 41 | 34 | | |
| E14-1 | 42 | | 25851.92 | 25848.62 |
| E14-2 | 43 | | 27728.18 | 27724.99 |
| E15 | 44 | 34 | | |
| E15-1 | 45 | | 25851.99 | 25848.62 |
| E15-2 | 46 | | 27968.93 | 27965.59 |
| E16 | 47 | 26 | | |
| E16-1 | 48 | | 25852.02 | 25848.62 |
| E16-2 | 49 | | 27848.67 | 27845.29 |
| E17 | 50 | 27 | | |
| E17-1 | 51 | | 25851.88 | 25848.62 |
| E17-2 | 52 | | 28169.48 | 28166.69 |
| E18 | 53 | 36 | | |
| E18-1 | 54 | | 26203.38 | 26199.37 |
| E18-2 | 55 | | 21103.36 | 21100.79 |
| E19 | 56 | 40 | | |
| E19-1 | 57 | | 26315.40 | 26311.53 |
| E19-2 | 58 | | 21103.32 | 21100.79 |
| E20 | 59 | 42 | | |
| E20-1 | 60 | | 26218.93 | 26215.29 |
| E20-2 | 61 | | 21103.24 | 21100.79 |
| E21 | 62 | 40 | | |
| E21-1 | 63 | | 25968.41 | 25964.74 |
| E21-2 | 64 | | 21103.18 | 21100.79 |
| E22 | 65 | 37 | | |
| E22-1 | 66 | | 25985.36 | 25980.74 |
| E22-2 | 67 | | 21103.28 | 21100.79 |
| E23 | 68 | 17 | | |
| E23-1 | 69 | | 26287.55 | 26283.55 |
| E23-2 | 70 | | 21103.34 | 21100.79 |

[0983]

[0984] [표 3-3]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E24 | 71 | 27 | | |
| E24-1 | 72 | | 26413.24 | 26409.73 |
| E24-2 | 73 | | 21103.10 | 21100.79 |
| E25 | 74 | 42 | | |
| E25-1 | 75 | | 26304.89 | 26301.46 |
| E25-2 | 76 | | 21103.24 | 21100.79 |
| E26 | 77 | 36 | | |
| E26-1 | 78 | | 25822.79 | 25822.62 |
| E26-2 | 79 | | 27745.91 | 27745.17 |
| E27 | 80 | 35 | | |
| E27-1 | 81 | | 25823.15 | 25822.62 |
| E27-2 | 82 | | 27735.83 | 27735.14 |
| E28 | 83 | 33 | | |
| E28-1 | 84 | | 25822.86 | 25822.62 |
| E28-2 | 85 | | 27723.52 | 27723.11 |
| E29 | 86 | 24 | | |
| E29-1 | 87 | | 25822.85 | 25822.62 |
| E29-2 | 88 | | 27763.43 | 27763.23 |
| E30 | 89 | | 29201.49 | 29198.50 |
| E31 | 90 | | | 29375.25 |
| E32 | 91 | 23 | | |
| E32-1 | 92 | | 26092.95 | 26091.07 |
| E32-2 | 93 | | 21101.35 | 21100.79 |
| E33 | 94 | 38 | | |
| E33-1 | 95 | | 26128.89 | 26127.16 |
| E33-2 | 96 | | 21101.26 | 21100.79 |
| E34 | 97 | 32 | | |
| E34-1 | 98 | | | 26199.34 |
| E34-2 | 99 | | | 21100.79 |
| E35 | 100 | 40 | | |
| E35-1 | 101 | | | 26247.46 |
| E35-2 | 102 | | | 21100.79 |

[0985]

[0986] [표 3-4]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E36 | 103 | 41 | | |
| E36-1 | 104 | | 26357.11 | 26355.37 |
| E36-2 | 105 | | 21248.01 | 21246.97 |
| E37 | 106 | 38 | | |
| E37-1 | 107 | | | 26683.82 |
| E37-2 | 108 | | | 21246.97 |
| E38 | 109 | 38 | | |
| E38-1 | 110 | | | 27410.87 |
| E38-2 | 111 | | | 21246.97 |
| E39 | 112 | 37 | | |
| E39-1 | 113 | | | 27837.49 |
| E39-2 | 114 | | | 21246.97 |
| E40 | 115 | 38 | | |
| E40-1 | 116 | | | 27002.21 |
| E40-2 | 117 | | | 21100.79 |
| E41 | 118 | 41 | | |
| E41-1 | 119 | | | 27246.77 |
| E41-2 | 120 | | | 21100.79 |
| E42 | 121 | 37 | | |
| E42-1 | 122 | | 26060.05 | 26054.98 |
| E42-2 | 123 | | 21101.34 | 21100.79 |
| E43 | 124 | 30 | | |
| E43-1 | 125 | | 26151.59 | 26151.40 |
| E43-2 | 126 | | 21101.31 | 21100.79 |
| E44 | 127 | 20 | | |
| E44-1 | 128 | | 26247.81 | 26247.82 |
| E44-2 | 129 | | 21101.31 | 21100.79 |
| E45 | 130 | 34 | | |
| E45-1 | 131 | | | 25848.62 |
| E45-2 | 132 | | | 27756.99 |
| E46 | 133 | 32 | | |
| E46-1 | 134 | | 25849.38 | 25848.62 |
| E46-2 | 135 | | 28847.69 | 28846.59 |

[0987]

[0988] [표 3-5]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E47 | 136 | | | 47580.38 |
| E48 | 137 | | | 47628.47 |
| E49 | 138 | | | 47658.53 |
| E50 | 139 | | | 47692.59 |
| E51 | 140 | 35 | | |
| E51-1 | 141 | | | 25934.17 |
| E51-2 | 142 | | | 21246.97 |
| E52 | 143 | 22 | | |
| E52-1 | 144 | | | 26711.98 |
| E52-2 | 145 | | | 21246.97 |
| E53 | 146 | 13 | | |
| E53-1 | 147 | | 26150.66 | 26145.06 |
| E53-2 | 148 | | 29341.39 | 29346.31 |
| E54 | 149 | 25 | | |
| E54-1 | 150 | | 26145.49 | 26145.06 |
| E54-2 | 151 | | 28582.21 | 28597.46 |
| E55 | 152 | 25 | | |
| E55-1 | 153 | | 26145.43 | 26145.06 |
| E55-2 | 154 | | 28491.66 | 28489.19 |
| E56 | 155 | 24 | | |
| E56-1 | 156 | | 26390.31 | 26387.51 |
| E56-2 | 157 | | 28490.44 | 28489.19 |
| E57 | 158 | 24 | | |
| E57-1 | 159 | | | 26688.90 |
| E57-2 | 160 | | | 28489.19 |
| E58 | 161 | 29 | | |
| E58-1 | 162 | | 26113.95 | 26112.92 |
| E58-2 | 163 | | 34417.04 | 34415.37 |
| E59 | 164 | 17 | | |
| E59-1 | 165 | | | 26145.06 |
| E59-2 | 166 | | | 35555.09 |

[0989]

[0990] [표 3-6]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E60 | 167 | 23 | | |
| E60-1 | 168 | | | 26592.48 |
| E60-2 | 169 | | | 28794.52 |
| E61 | 170 | | 29760.87 | 29769.25 |
| E62 | 171 | 34 | | |
| E62-1 | 172 | | | 26329.37 |
| E62-2 | 173 | | | 28097.65 |
| E63 | 174 | 33 | | |
| E63-1 | 175 | | | 26522.21 |
| E63-2 | 176 | | | 28451.19 |
| E64 | 177 | 19 | | |
| E64-1 | 178 | | 26438.71 | 26437.35 |
| E64-2 | 179 | | 28059.72 | 28057.67 |
| E65 | 180 | 17 | | |
| E65-1 | 181 | | 26438.81 | 26439.35 |
| E65-2 | 182 | | 28059.00 | 28057.67 |
| E66 | 183 | 34 | | |
| E66-1 | 184 | | 26482.87 | 26481.44 |
| E66-2 | 185 | | 28115.38 | 28113.79 |
| E67 | 186 | 35 | | |
| E67-1 | 187 | | 26633.16 | 26632.19 |
| E67-2 | 188 | | 28413.40 | 28411.21 |
| E68 | 189 | 28 | | |
| E68-1 | 190 | | 26858.18 | 26857.17 |
| E68-2 | 191 | | 28731.35 | 28732.61 |
| E69 | 192 | 35 | | |
| E69-1 | 193 | | 26357.11 | 26355.37 |
| E69-2 | 194 | | 27834.62 | 27831.17 |
| E70 | 195 | 28 | | |
| E70-1 | 196 | | 26390.31 | 26387.51 |
| E70-2 | 197 | | 28088.14 | 28081.69 |
| E71 | 198 | | 30044.72 | 30043.84 |
| E72 | 199 | | 28597.28 | 29596.55 |

[0991]

[0992] [표 3-7]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E73 | 200 | | 29533.43 | 29532.55 |
| E74 | 201 | | 29365.19 | 29364.39 |
| E75 | 202 | | 29529.48 | 29524.55 |
| E76 | 203 | | 29629.31 | 29628.63 |
| E77 | 204 | | | 29510.45 |
| E78 | 205 | | | 29510.39 |
| E79 | 206 | 41 | | |
| E79-1 | 207 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E79-2 | 208 | | 28413.80 | 28411.21 |
| E80 | 209 | 39 | | |
| E80-1 | 210 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E80-2 | 211 | | 27468.04 | 27465.33 |
| E81 | 212 | 35 | | |
| E81-1 | 213 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E81-2 | 214 | | 27788.89 | 27786.73 |
| E82 | 215 | 39 | | |
| E82-1 | 216 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E82-2 | 217 | | 28251.61 | 28249.21 |
| E83 | 218 | 36 | | |
| E83-1 | 219 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E83-2 | 220 | | 28162.29 | 28159.12 |
| E84 | 221 | 34 | | |
| E84-1 | 222 | | 26551.48 | 26549.47 |
| E84-2 | 223 | | 28413.80 | 28411.21 |
| E85 | 224 | | | 29801.39 |
| E86 | 225 | | | 29590.50 |
| E87 | 226 | | | 30029.79 |
| E88 | 227 | | | 29508.41 |
| E89 | 228 | | | 29063.16 |
| E90 | 229 | | | 29061.12 |
| E91 | 230 | | | 28553.80 |
| E92 | 231 | | | 28472.50 |
| E93 | 232 | | | 30011.70 |

[0993]

[0994] [표 3-8]

| | | | | |
|-------|-----|----|----------|----------|
| E94 | 233 | | | 30606.29 |
| E95 | 234 | 37 | | |
| E95-1 | 235 | | 26473.07 | 26469.49 |
| E95-2 | 236 | | 29271.38 | 29268.33 |
| E96 | 237 | | 29789.00 | 29788.24 |
| E97 | 238 | | 29644.33 | 29643.40 |
| E98 | 239 | | 30036.67 | 30035.84 |
| E99 | 240 | | | 29833.53 |
| E100 | 241 | | | 30075.98 |
| E101 | 242 | | | 30638.43 |
| E102 | 243 | | | 30542.01 |
| E103 | 244 | | | 30172.40 |
| E104 | 245 | | 28940.81 | 28939.66 |
| E105 | 246 | | | 29487.04 |
| E106 | 247 | | 28829.04 | 28827.66 |
| E107 | 248 | | | 29455.04 |
| E108 | 249 | | 28534.84 | 28533.38 |
| E109 | 250 | | | 29370.96 |
| E110 | 251 | | | 29789.25 |
| E111 | 252 | | | 29789.25 |
| E112 | 253 | | | 29791.25 |
| E113 | 254 | | | 29909.55 |
| E114 | 255 | | | 29909.55 |
| E115 | 256 | | | 29923.58 |
| E116 | 257 | | | 29637.34 |
| E117 | 258 | | | 29679.40 |
| E118 | 259 | | | 29649.38 |
| E119 | 260 | | | 30420.20 |
| E120 | 261 | | | 29959.40 |
| E121 | 262 | | | 28945.66 |
| E122 | 263 | | | 29503.04 |
| E123 | 264 | | | 28833.66 |
| E124 | 265 | | | 28539.38 |

[0995]

[0996] [표 3-9]

| | | | | |
|------|-----|--|----------|----------|
| E125 | 266 | | | 29809.25 |
| E126 | 267 | | | 29929.55 |
| E127 | 268 | | 29812.73 | 29811.25 |
| E128 | 269 | | | 29943.58 |
| E129 | 270 | | | 29951.55 |
| E130 | 271 | | 30081.52 | 30083.88 |
| E131 | 272 | | 29964.62 | 29963.58 |
| E132 | 273 | | | 29831.25 |
| E133 | 274 | | | 29929.55 |
| E134 | 275 | | | 30049.85 |
| E135 | 276 | | | 29931.55 |
| E136 | 277 | | | 30063.88 |
| E137 | 278 | | | 30071.85 |
| E138 | 279 | | | 30204.18 |
| E139 | 280 | | | 30083.88 |
| E140 | 281 | | | 29951.55 |
| E141 | 282 | | 29241.57 | 29240.29 |
| E142 | 283 | | 29121.04 | 29119.99 |
| E143 | 284 | | 29008.69 | 29007.99 |
| E144 | 285 | | 28714.90 | 28713.71 |
| E145 | 286 | | | 30027.76 |
| E146 | 287 | | | 29931.52 |
| E147 | 288 | | | 29845.37 |
| E148 | 289 | | | 29821.31 |
| E149 | 290 | | | 30027.76 |
| E150 | 291 | | | 29931.52 |
| E151 | 292 | | | 30027.76 |
| E152 | 293 | | | 29931.52 |
| E153 | 294 | | | 29657.77 |
| E154 | 295 | | 29933.20 | 29931.97 |
| E155 | 296 | | 29702.81 | 29701.82 |
| E156 | 297 | | | 29427.62 |
| E157 | 298 | | | 29929.98 |

[0997]

[0998] [표 3-10]

| | | | | |
|--------|-----|----|----------|----------|
| E158 | 299 | | | 29974.03 |
| E159 | 300 | | | 29699.83 |
| E160 | 301 | | | 29967.96 |
| E161 | 302 | | | 29773.81 |
| E162 | 303 | | | 29936.85 |
| E163 | 304 | | | 29741.75 |
| E164 | 305 | 29 | | |
| E164-1 | 306 | | 25935.53 | 25934.17 |
| E164-2 | 307 | | 34415.78 | 34415.37 |
| E165 | 308 | 38 | | |
| E165-1 | 309 | | 26277.38 | 26277.25 |
| E165-2 | 310 | | 28410.45 | 28411.21 |
| E166 | 311 | 22 | | |
| E166-1 | 312 | | 26502.04 | 26502.23 |
| E166-2 | 313 | | 28732.35 | 28732.61 |
| E167 | 314 | 25 | | |
| E167-1 | 315 | | 26519.56 | 26519.70 |
| E167-2 | 316 | | 28410.62 | 28411.21 |
| E168 | 317 | 30 | | |
| E168-1 | 318 | | 26744.10 | 26744.68 |
| E168-2 | 319 | | 28732.31 | 28732.61 |
| E169 | 320 | 9 | | |
| E169-1 | 321 | | 26098.47 | 26098.50 |
| E169-2 | 322 | | 28411.47 | 28411.21 |
| E170 | 323 | 11 | | |
| E170-1 | 324 | | 26324.51 | 26323.48 |
| E170-2 | 325 | | 28733.32 | 28732.61 |
| E171 | 326 | 18 | | |
| E171-1 | 327 | | 26745.90 | 26744.68 |
| E171-2 | 328 | | 28841.81 | 28840.88 |
| E172 | 329 | 14 | | |
| E172-1 | 330 | | 26197.62 | 26196.90 |
| E172-2 | 331 | | 28412.69 | 28411.21 |

[0999]

[1000] [표 3-11]

| | | | | |
|--------|-----|----|----------|----------|
| E173 | 332 | 13 | | |
| E173-1 | 333 | | 26439.77 | 28439.35 |
| E173-2 | 334 | | 28411.59 | 28411.21 |
| E174 | 335 | 10 | | |
| E174-1 | 336 | | 26018.71 | 26018.15 |
| E174-2 | 337 | | 28410.90 | 28411.21 |
| E175 | 338 | | | |
| E176 | 339 | | | |
| E177 | 340 | | | |
| E178 | 341 | | | |
| E179 | 342 | | | |
| E180 | 343 | 39 | | |
| E180-1 | 344 | | 25848.81 | 25848.42 |
| E180-2 | 345 | | 27801.90 | 27801.40 |
| E181 | 346 | 38 | | |
| E181-1 | 347 | | 26072.74 | 26073.40 |
| E181-2 | 348 | | 28122.75 | 28122.80 |
| E182 | 349 | | | |
| E183 | 350 | 28 | | |
| E183-1 | 351 | | 29930.55 | 29930.73 |
| E183-2 | 352 | | 28410.81 | 28411.21 |
| E184 | 353 | 38 | | |
| E184-1 | 354 | | 30252.99 | 30253.33 |
| E184-2 | 355 | | 28410.44 | 28411.21 |
| E185 | 356 | 37 | | |
| E185-1 | 357 | | 30172.51 | 30172.98 |
| E185-2 | 358 | | 28410.83 | 28411.21 |
| E186 | 359 | | | |
| E187 | 360 | 26 | | |
| E187-1 | 361 | | 30824.36 | 30824.47 |
| E187-2 | 362 | | 28410.35 | 28411.21 |

[1001]

[1002] [표 3-12]

| | | | | |
|--------|-----|----|----------|----------|
| E188 | 363 | 33 | | |
| E188-1 | 364 | | 30743.93 | 30744.12 |
| E188-2 | 365 | | 28410.48 | 28411.21 |
| E189 | 366 | | | |
| E190 | 367 | 25 | | |
| E190-1 | 368 | | 17525.61 | 17525.85 |
| E190-2 | 369 | | 28410.36 | 28411.21 |
| E191 | 370 | 26 | | |
| E191-1 | 371 | | 17493.47 | 17493.71 |
| E191-2 | 372 | | 28410.96 | 28411.21 |
| E192 | 373 | | | |
| E193 | 374 | 20 | | |
| E193-1 | 375 | | 26216.77 | 26216.90 |
| E193-2 | 376 | | 27940.07 | 27939.43 |
| E194 | 377 | 32 | | |
| E194-1 | 378 | | 25373.27 | 25373.31 |
| E194-2 | 379 | | 27940.10 | 27939.43 |
| E195 | 380 | 32 | | |
| E195-1 | 381 | | 25930.83 | 25930.69 |
| E195-2 | 382 | | 27940.27 | 27939.43 |
| E196 | 383 | 30 | | |
| E196-1 | 384 | | 25930.59 | 25930.69 |
| E196-2 | 385 | | 27940.25 | 27939.43 |
| E197 | 386 | 32 | | |
| E197-1 | 387 | | 26216.56 | 26216.90 |
| E197-2 | 388 | | 27637.91 | 27637.23 |
| E198 | 389 | 37 | | |
| E198-1 | 390 | | 26216.96 | 26216.90 |
| E198-2 | 391 | | 27669.13 | 27669.21 |
| E199 | 392 | 44 | | |
| E199-1 | 393 | | 26216.79 | 26216.90 |
| E199-2 | 394 | | 27129.39 | 27128.77 |
| E200 | 395 | | 29860.16 | 29859.70 |

[1003]

[1004] [표 3-13]

| | | | | |
|--------|-----|--|----------|----------|
| E201 | 396 | | 29677.75 | 29676.50 |
| E202 | 397 | | 29589.55 | 29588.58 |
| E203 | 398 | | 29629.67 | 29628.60 |
| E204 | 399 | | | 29969.69 |
| E205 | 400 | | | 29837.46 |
| E206 | 401 | | | 29885.67 |
| E207 | 402 | | | 29855.57 |
| E208 | 403 | | | 29649.19 |
| E209 | 404 | | | 29753.17 |
| E210 | 405 | | 29637.84 | 29637.01 |
| E211 | 406 | | 29685.10 | 29685.22 |
| E212 | 407 | | 29623.80 | 29622.98 |
| E213 | 408 | | 29450.09 | 29448.74 |
| E214 | 409 | | 31162.10 | 31160.07 |
| E215 | 410 | | | |
| E215-1 | 411 | | | |
| E215-2 | 412 | | | |
| E216 | 413 | | | |
| E216-1 | 414 | | | |
| E216-2 | 415 | | | |

[1005]

[1006] [표 3-14]

| | | | | | |
|--------|-----|----|----------|--|----------|
| E220 | 448 | 51 | | | |
| E220-1 | 449 | | 25738.08 | | 25738.44 |
| E220-2 | 450 | | 22666.65 | | 22666.75 |
| E221 | 451 | 42 | | | |
| E221-1 | 452 | | 25738.02 | | 25738.44 |
| E221-2 | 453 | | 24312.63 | | 24312.80 |
| E222 | 454 | 35 | | | |
| E222-1 | 455 | | 26438.06 | | 26439.35 |
| E222-2 | 456 | | 23128.13 | | 23129.83 |
| E223 | 457 | 32 | | | |
| E223-1 | 458 | | 26438.10 | | 26439.35 |
| E223-2 | 459 | | 24925.92 | | 24926.38 |
| E224 | 460 | 31 | | | |
| E224-1 | 461 | | 26438.89 | | 26439.35 |
| E224-2 | 462 | | 28409.93 | | 28411.21 |
| E225 | 463 | 34 | | | |
| E225-1 | 464 | | 26354.29 | | 26355.37 |
| E225-2 | 465 | | 28583.28 | | 28597.46 |
| E226 | 466 | | 21600.06 | | 21599.05 |
| E227 | 467 | | 21684.46 | | 21683.23 |
| E228 | 468 | | 21720.56 | | 21719.23 |
| E229 | 469 | | 21719.88 | | 21719.23 |
| E230 | 470 | | 29325.79 | | 29324.77 |
| E231 | 471 | | 29360.60 | | 29358.77 |
| E232 | 472 | | 29359.83 | | 29358.77 |
| E233 | 473 | | 29359.41 | | 29358.77 |
| E234 | 474 | | 29067.47 | | 29066.87 |
| E235 | 475 | | 29736.14 | | 29735.25 |
| E236 | 476 | | 29217.34 | | 29216.50 |
| E237 | 477 | | 29069.55 | | 29068.58 |
| E238 | 478 | | 29389.66 | | 29389.05 |
| E239 | 479 | | 29800.31 | | 29799.53 |
| E240 | 480 | | 29133.00 | | 29132.86 |

[1007]

[1008] 이하 표 4-1~표 4-3에, 실시예 4에서 이용한 화합물(폴리뉴클레오티드)의 서열 정보를 나타낸다.

[1009] 표 4-1~표 4-3:

[1010] [표 4-1]

| 화합물명 | 서열 (5'→3') | 서열 번호 |
|--------------|--|-------|
| E217 | CAUAAACCCUGGCGCGCUCGCGGGCCGGCACUCUUCUGGUCCCCACAG ACUCAGAGAGAACCACCAUGGACUACAAGGACGACGACACAAGAUC AUCGACUAUAAAGACGACGACGAUAAAGGUGGCGACUAUAAAGGACGAC GACGACAAACACCACCACCACCACCAUGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA A | 416 |
| E217-1 | CAUAAACCCUGGCGCGCUCGCGGGCCGGCACUCUUCUGGUCCCCACAG ACUCAGAGAGAACCACCAUGGACUACAAGGAC | 417 |
| E217-2 | pGACGACGACAAGAUCGACUAUAAAGACGACGACGAUAAAGGUGG CGACUAUAAAG | 418 |
| E217-3 | pGACGACGACGACAAACACCACCACCACCACUGAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAA | 419 |
| 템플릿 DNA 2 | gatcttgcgtcgtcctttagtccat | 420 |
| 템플릿 DNA 3 | tttgtcgtcgtccttatagtcgccacc | 421 |

[1011]

[1012] [표 4-2]

| | | |
|--------|---|-----|
| E218 | C(MOE)^A(MOE)^T(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)C(M)C(F)C(M) U(F)G(M)G(F)C(M)G(F)C(M)G(F)C(M)U(F)C(M)G(F)C(M)G(F)G(M)G(F) C(M)C(F)G(M)G(F)C(M)A(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)G(F) G(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M) G(F)A(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F) UGG(F)ACU(F)ACA(F)AGGACGACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)U CG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG (F)GCG(F)ACU(F)AUAAGGACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F))ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^ A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 422 |
| E218-1 | C(MOE)^A(MOE)^T(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)C(M)C(F)C(M) U(F)G(M)G(F)C(M)G(F)C(M)G(F)C(M)U(F)C(M)G(F)C(M)G(F)G(M)G(F) C(M)C(F)G(M)G(F)C(M)A(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)G(F) G(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M) G(F)A(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)U GG(F)ACU(F)ACA(F)AGGAC | 423 |
| E218-2 | pGACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUAAG | 424 |
| E218-3 | pGACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A CC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 425 |

[1013]

[1014] [표 4-3]

| | | |
|--------|---|-----|
| E219 | C(MOE)A(MOE)T(MOE)A(MOE)A(MOE)A(MOE)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M))G(F)C(M)G(F)C(M)G(F)C(M)U(F)C(M)G(F)C(M)G(F)G(M)G(F)C(M)C(F)G(M)G(F)C(M)A(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)G(F)G(M)U(F) C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M)G(F)A(M))G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)AC U(F)ACA(F)AGGACGACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F)ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)A CU(F)AUAAGGACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC (F)ACC(F)ACC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(M)^A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 426 |
| E219-1 | C(MOE)A(MOE)T(MOE)A(MOE)A(MOE)A(MOE)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M))G(F)C(M)G(F)C(M)G(F)C(M)U(F)C(M)G(F)C(M)G(F)G(M)G(F)C(M)C(F)G(M)G(F)C(M)A(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)G(F)G(M)U(F) C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M)G(F)A(M))G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGG(F)AC U(F)ACA(F)AGGAC | 427 |
| E219-2 | pGACG(F)ACG(F)ACA(F)AGA(F)UCA(F)UCG(F)ACU(F)AUA(F)AAG(F) ACG(F)ACG(F)ACG(F)AUA(F)AAG(F)GUG(F)GCG(F)ACU(F)AUAAG | 428 |
| E219-3 | pGACG(F)ACG(F)ACG(F)ACA(F)AAC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)ACC(F)A CC(F)ACT(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A (M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^A(F)^A(M)^ A(F)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE) | 429 |

[1015]

[1016] 실시예 4(3 단편의 효소 연결)

[1017] 고상 합성에 의해 얻은 RNA 단편 E217-1, E217-2, E217-3, 템플릿 DNA2 및 템플릿 DNA3을 동시에 이용하고, 그 밖에는 실시예 1과 같은 식으로 하여 RNA 연결 산물 E217(8.9 nmol, 수율 45%)을 얻었다.

[1018] 고상 합성에 의해 얻은 RNA 단편 E218-1, E218-2, E218-3, 템플릿 DNA2 및 템플릿 DNA3을 동시에 이용하고, 그 밖에는 실시예 1과 같은 식으로 하여 RNA 연결 산물 E218(2.6 nmol, 수율 13%)을 얻었다.

[1019] 고상 합성에 의해 얻은 RNA 단편 E219-1, E219-2, E219-3, 템플릿 DNA2 및 템플릿 DNA3을 동시에 이용하고, 그 밖에는 실시예 1과 같은 식으로 하여 RNA 연결 산물 E219(1.4 nmol, 수율 7%)을 얻었다.

[1020] 시험예 1

[1021] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주 라이세이트를 이용한 번역 반응 시험)

[1022] 이하 표 5-1~표 5-25에 기재한 각 mRNA에 관해서 1-Step Human Coupled IVT Kit(서모피셔사아엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 88882)를 이용하여 인간세포계에서의 번역 활성을 평가했다. 우선, 각 mRNA의 농도가 0.3 μ M 이 되도록 THE RNA storage solution(서모피셔사아엔티픽사, 카탈로그 번호 AM7001)으로 희석한 각 mRNA를, 96 웰 PCR 플레이트(아즈원사 제조)에 1 μ L씩 분주했다. 이어서, 1 반응 당 5.0 μ L의 HeLa 라이세이트, 1 반응 당 1.0 μ L의 부속 단백질, 1 반응 당 2.0 μ L의 반응물 믹스, 1 반응 당 0.2 μ L의 RNase Inhibitor, Murine

(뉴잉글랜드바이오라보사 제조, 카탈로그 번호 M0314) 및 1 반응 당 0.8 μL의 정제수를 혼합하여 마스터 믹스를 조제하고, mRNA 샘플을 첨가한 PCR 플레이트에 9 μL씩 분주하고, 첨가, 혼합한 후, 37°C에서 45분간 정치함으로써 번역 반응을 행했다.

[1023] 번역 반응 후의 반응 용액 내 번역 산물은 이하에 기재한 샌드위치 ELISA법에 의해 검출했다. 우선, 6*His, His-Tag 항체(프로테인테크사, 카탈로그 번호 66005-1-Ig)를 0.1M 카르보네이트 버퍼(pH 9.4)로 3 μg/mL에 희석하고, 96 웰 ELISA용 플레이트(눈크사 제조)에 1 웰 당 50 μL씩 분주하여, 4°C에서 하룻밤 정치함으로써, 항체의 고정화를 행한 플레이트를 제작했다. 이어서, 플레이트를 정제수로 1배 농도로 희석한 Tris Buffered Saline with Tween 20(산타크루즈사, 카탈로그 번호 sc-24953)(이하, 세정 용액이라고 기재한다)으로 세정한 후, 소혈청 알부민(와코준야쿠사, 카탈로그 번호 017-22231)을 총농도 3%가 되도록 희석한 세정 용액(이하, 블로킹 용액이라고 기재한다)을 1 웰 당 200 μL씩 분주하여, 실온에서 1시간 정치했다. 플레이트를 세정 용액으로 세정한 후, 블로킹 용액으로 희석한 번역 반응 용액을 1 웰 당 50 μL씩 분주하여, 실온에서 1시간 정치했다. 이때, 이하에 나타내는 번역 산물 폴리펩티드 표품(코스모바이오사 제조)를 마찬가지로 블로킹 용액으로 각 농도로 희석하여 플레이트에 분주했다. 플레이트를 세정 용액으로 세정한 후, 블로킹 용액으로 10,000 배로 희석한 Monoclonal ANTI-FLAG M2-Peroxidase(HRP) Ab produced in mouse(SIGMA사 제조, 카탈로그 항체 A8592-1MG)를 1 웰 당 50 μL씩 분주하여, 실온에서 1시간 정치했다. 플레이트를 세정 용액으로 세정한 후, 1-Step Ultra TMB-ELISA(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 34028)를 1 웰 당 50 μL씩 분주하여, 실온에서 수분 정치했다. 그 후, 0.5M 황산(와코준야쿠고교사 제조)를 1 웰 당 50 μL씩 분주하여 반응을 정지시킨 후, 흡광광도계(바이오라드사 제조)를 이용하여, 측정 파장 450 nm, 참조 파장 570 nm의 흡광도를 측정했다. 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM) 및 당 수식을 갖지 않는 화합물 E3을 1로 했을 때의 상대 번역 산물량을 하기 표 5에 기재했다.

[1024] 번역 산물 폴리펩티드 표품: NH₂-MDYKDDDDKI IDYKDDDDKGGDYKDDDDKHHHHHHH-COOH (서열 번호 430)

[1025] 표 5-1~표 5-25:

[1026] [표 5-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E5 | 14 | 2.047 | 1.84 |
| E13 | 38 | 7.100 | 6.38 |
| E14 | 41 | 7.700 | 6.92 |
| E15 | 44 | 6.713 | 6.03 |
| E16 | 47 | 7.420 | 6.66 |
| E17 | 50 | 11.187 | 10.05 |
| E3 | 8 | 1.113 | 1.00 |

[1027]

[1028] [표 5-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E5 | 14 | 2.420 | 2.16 |
| E18 | 53 | 0.860 | 0.77 |
| E19 | 56 | 1.693 | 1.51 |
| E20 | 59 | 1.613 | 1.44 |
| E3 | 8 | 1.120 | 1.00 |

[1029]

[1030] [표 5-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E5 | 14 | 0.867 | 8.67 |
| E21 | 62 | 2.653 | 26.53 |
| E22 | 65 | 3.293 | 32.93 |
| E3 | 8 | 0.100 | 1.00 |

[1031]

[1032] [표 5-4]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E5 | 14 | 0.980 | 8.17 |
| E18 | 53 | 0.333 | 2.78 |
| E20 | 59 | 0.727 | 6.06 |
| E23 | 68 | 0.133 | 1.11 |
| E24 | 71 | 0.420 | 3.50 |
| E25 | 74 | 0.407 | 3.39 |
| E3 | 8 | 0.120 | 1.00 |

[1033]

[1034] [표 5-5]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.973 | 1.48 |
| E7 | 20 | 3.807 | 2.86 |
| E26 | 77 | 4.607 | 3.46 |
| E27 | 80 | 7.433 | 5.58 |
| E28 | 83 | 3.727 | 2.80 |
| E29 | 86 | 7.140 | 5.36 |
| E3 | 8 | 1.333 | 1.00 |

[1035]

[1036] [표 5-6]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E5 | 14 | 3.740 | 3.17 |
| E23 | 68 | 0.687 | 0.58 |
| E32 | 91 | 1.240 | 1.05 |
| E33 | 94 | 1.800 | 1.53 |
| E34 | 97 | 0.960 | 0.81 |
| E35 | 100 | 0.767 | 0.65 |
| E3 | 8 | 1.180 | 1.00 |

[1037]

[1038] [표 5-7]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E10 | 29 | 2.813 | 1.91 |
| E32 | 91 | 1.040 | 0.71 |
| E36 | 103 | 0.953 | 0.65 |
| E37 | 106 | 0.313 | 0.21 |
| E38 | 109 | 0.027 | 0.02 |
| E39 | 112 | 0.020 | 0.01 |
| E3 | 8 | 1.473 | 1.00 |

[1039]

[1040] [표 5-8]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E6 | 17 | 0.720 | 0.96 |
| E40 | 115 | 0.287 | 0.38 |
| E41 | 118 | 0.073 | 0.10 |
| E42 | 121 | 1.487 | 1.99 |
| E43 | 124 | 3.467 | 4.64 |
| E44 | 127 | 3.800 | 5.09 |
| E3 | 8 | 0.747 | 1.00 |

[1041]

[1042] [표 5-9]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E10 | 29 | 3.087 | 2.91 |
| E36 | 103 | 0.993 | 0.94 |
| E47 | 136 | 0.373 | 0.35 |
| E48 | 137 | 0.227 | 0.21 |
| E49 | 138 | 0.953 | 0.90 |
| E50 | 139 | 0.620 | 0.58 |
| E3 | 8 | 1.060 | 1.00 |

[1043]

[1044] [표 5-10]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 3.133 | 15.67 |
| E15 | 44 | 67.533 | 337.67 |
| E45 | 130 | 35.400 | 177.00 |
| E46 | 133 | 77.333 | 386.67 |
| E3 | 8 | 0.200 | 1.00 |

[1045]

[1046] [표 5-11]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 0.933 | 4.67 |
| E12 | 35 | 119.467 | 597.33 |
| E55 | 152 | 84.067 | 420.33 |
| E56 | 155 | 34.800 | 174.00 |
| E57 | 158 | 76.200 | 381.00 |
| E60 | 167 | 51.800 | 259.00 |
| E3 | 8 | 0.200 | 1.00 |

[1047]

[1048] [표 5-12]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E11 | 32 | 40.667 | 203.33 |
| E55 | 152 | 73.600 | 368.00 |
| E58 | 161 | 41.933 | 209.67 |
| E59 | 164 | 72.867 | 364.33 |
| E3 | 8 | 0.200 | 1.00 |

[1049]

[1050] [표 5-13]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E10 | 29 | 6.333 | 12.67 |
| E36 | 103 | 0.667 | 1.33 |
| E47 | 136 | 0.333 | 0.67 |
| E49 | 138 | 0.500 | 1.00 |
| E51 | 140 | 16.667 | 33.33 |
| E52 | 143 | 0.833 | 1.67 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1051]

[1052] [표 5-14]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E10 | 29 | 5.500 | 11.00 |
| E11 | 32 | 39.000 | 78.00 |
| E12 | 35 | 118.167 | 236.33 |
| E53 | 146 | 78.000 | 156.00 |
| E54 | 149 | 104.167 | 208.33 |
| E55 | 152 | 83.167 | 166.33 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1053]

[1054] [표 5-15]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.833 | 3.67 |
| E12 | 35 | 228.167 | 456.33 |
| E55 | 152 | 87.000 | 174.00 |
| E56 | 155 | 49.333 | 98.67 |
| E70 | 195 | 72.333 | 144.67 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1055]

[1056] [표 5-16]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.833 | 2.75 |
| E11 | 32 | 75.000 | 112.50 |
| E69 | 192 | 15.167 | 22.75 |
| E3 | 8 | 0.667 | 1.00 |

[1057]

[1058] [표 5-17]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 111 | 1.167 | 2.33 |
| E56 | 155 | 51.500 | 103.00 |
| E62 | 171 | 99.333 | 198.67 |
| E63 | 174 | 98.333 | 196.67 |
| E64 | 177 | 43.833 | 87.67 |
| E65 | 180 | 48.833 | 97.67 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1059]

[1060] [표 5-18]

각 mRNA로부터 얻은 변역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.333 | 2.67 |
| E10 | 29 | 6.167 | 12.33 |
| E47 | 136 | 0.500 | 1.00 |
| E51 | 140 | 19.667 | 39.33 |
| E58 | 161 | 59.000 | 118.00 |
| E164 | 305 | 109.000 | 218.00 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1061]

[1062] [표 5-19]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.500 | 3.00 |
| E64 | 177 | 25.833 | 51.67 |
| E65 | 180 | 23.333 | 46.67 |
| E66 | 183 | 14.833 | 29.67 |
| E67 | 186 | 25.000 | 50.00 |
| E68 | 189 | 10.667 | 21.33 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1063]

[1064] [표 5-20]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.500 | 3.00 |
| E56 | 155 | 32.500 | 65.00 |
| E2 | 5 | 22.000 | 44.00 |
| E67 | 188 | 21.333 | 42.67 |
| E79 | 206 | 16.833 | 33.67 |
| E95 | 234 | 20.833 | 41.67 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1065]

[1066] [표 5-21]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.500 | 3.00 |
| E79 | 206 | 22.500 | 45.00 |
| E80 | 209 | 12.667 | 25.33 |
| E81 | 212 | 19.500 | 39.00 |
| E82 | 215 | 21.833 | 43.67 |
| E83 | 218 | 23.167 | 46.33 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1067]

[1068] [표 5-22]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.000 | - |
| E165 | 308 | 42.000 | - |
| E166 | 311 | 29.667 | - |
| E167 | 314 | 19.167 | - |
| E169 | 320 | 37.167 | - |
| E172 | 329 | 28.833 | - |
| E3 | 8 | 0.000 | - |

[1069]

[1070] [표 5-23]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.167 | - |
| E166 | 311 | 35.833 | - |
| E167 | 314 | 22.000 | - |
| E168 | 317 | 8.833 | - |
| E171 | 326 | 9.667 | - |
| E173 | 332 | 7.333 | - |
| E3 | 8 | 0.000 | - |

[1071]

[1072] [표 5-24]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.667 | 5.00 |
| E165 | 308 | 63.667 | 191.00 |
| E167 | 314 | 21.833 | 65.50 |
| E169 | 320 | 55.500 | 166.50 |
| E170 | 323 | 35.833 | 107.50 |
| E174 | 335 | 38.167 | 114.50 |
| E3 | 8 | 0.333 | 1.00 |

[1073]

[1074] [표 5-25]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E4 | 11 | 1.000 | 2.00 |
| E84 | 221 | 11.167 | 22.33 |
| E3 | 8 | 0.500 | 1.00 |

[1075]

[1076] 상기 표 5-1~표 5-25에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생했다.

[1077] 시험예 2

[1078] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1079] 이하 표 6-1~6-9에 기재한 각 mRNA에 관해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 우선, 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지(나카라이테스크사 제조)로 현탁한 HeLa 세포를 1 웰 당 세포수 10,000 세포/100 μ L가 되도록 96 웰 접착 세포용 배양 플레이트에 파종하여, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건 하에서 하룻밤 배양했다. 하룻밤 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 1 웰 당 40 μ L의 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지를 첨가한 후, 각 mRNA의 종농도가 3 nM, 10 nM 및 30 nM이 되도록 각 mRNA와 종농도 0.3%의 Lipofectamin MessengerMAX Transfection Reagent(서모피서사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: LMRNA008)를 옵티멤(서모피서사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: 31985-070)으로 희석하여 혼합하고, 혼합액을 1 웰 당 10 μ L가 되도록 각각의 배양 플레이트에 첨가하여, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건 하에서 5시간 배양했다. 5시간 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 빙냉한 D-PBS(-)(나카라이테스크사 제조)로 한 번 세정한 후, 2%의 프로테아제 저해제 각테일(동물세포 추출물용, 나카라이테스크사 제조)을 포함하는 iScript RT-qPCR Sample Preparation Reagent(바이오라드사, 1708898)를 1 웰 당 20 μ L 가하고, 30초간 격하게 칩투시커 세포를 용해했다.

[1080] 얻은 세포 용해액 내 번역 산물은 시험예 1에 기재한 샌드위치 ELISA법과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 6에 기재했다.

[1081] 표 6-1~표 6-9:

[1082] [표 6-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|--------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.020 |
| E13 | 38 | 0.010 | 0.083 | 0.317 |
| E15 | 44 | 0.120 | 0.717 | 1.173 |
| E46 | 133 | 0.127 | 0.550 | 0.857 |

[1083]

[1084] [표 6-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E12 | 35 | 0.077 | 1.030 | 1.367 |
| E55 | 152 | 0.183 | 0.893 | 1.697 |
| E56 | 155 | 0.233 | 1.113 | 1.847 |
| E70 | 195 | 0.053 | 0.580 | 1.123 |
| E4 | 11 | | | 0.010 |

[1085]

[1086] [표 6-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E62 | 171 | 0.073 | 0.453 | 0.780 |
| E63 | 174 | 0.033 | 0.410 | 0.960 |
| E65 | 180 | 0.063 | 0.757 | 0.823 |
| E66 | 183 | 0.030 | 0.273 | 0.593 |

[1087]

[1088] [표 6-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E10 | 29 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E51 | 140 | 0.000 | 0.010 | 0.013 |
| E58 | 161 | 0.010 | 0.180 | 0.347 |
| E164 | 305 | 0.010 | 0.160 | 0.343 |
| E4 | 11 | | | 0.010 |

[1089]

[1090] [표 6-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E79 | 206 | 0.140 | 0.780 | 1.483 |
| E80 | 209 | 0.010 | 0.040 | 0.073 |
| E81 | 212 | 0.107 | 0.787 | 1.243 |
| E95 | 234 | 0.053 | 0.710 | 1.313 |
| E4 | 11 | | | 0.020 |

[1091]

[1092] [표 6-6]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E79 | 206 | 0.117 | 0.803 | 1.503 |
| E81 | 212 | 0.100 | 0.787 | 1.223 |
| E82 | 215 | 0.120 | 0.757 | 1.350 |
| E83 | 218 | 0.130 | 0.780 | 1.377 |
| E4 | 11 | | | 0.020 |

[1093]

[1094] [표 6-7]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E63 | 174 | 0.107 | 0.757 | 1.673 |
| E65 | 180 | 0.067 | 0.430 | 0.733 |
| E67 | 186 | 0.050 | 0.577 | 1.047 |
| E68 | 189 | 0.010 | 0.190 | 0.397 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |

[1095]

[1096] [표 6-8]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E56 | 155 | 0.143 | 0.947 | 1.610 |
| E64 | 177 | 0.117 | 0.553 | 0.670 |
| E2 | 5 | 0.063 | 0.483 | 0.920 |
| E79 | 206 | 0.063 | 0.300 | 0.903 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |

[1097]

[1098] [표 6-9]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E47 | 136 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E51 | 140 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E58 | 161 | 0.023 | 0.327 | 0.447 |
| E164 | 305 | 0.020 | 0.300 | 0.353 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |

[1099]

[1100] 상기 표 6-1~표 6-9에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 생성하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1101] 시험예 3

[1102] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1103] 하기 표 7-1~표 7-4에 기재한 각 mRNA에 관해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성의 지속성을 평가했다. 세포의 배양과 mRNA의 도입은, 각 mRNA의 총농도가 30 nM이 되도록 조제한 것 이외에는 시험예 2와 같은 방법으로 실시했다. 각 mRNA를 첨가하여 4시간 배양한 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지(나카라이테스크사 제조)를 1 웰 당 50 μ L 가하여, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양을 계속했다. 각 mRNA의 첨가 시점에서부터 5시간 후, 8시간 후 및 24시간 후에 각각 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하여, 시험예 2와 같은 방법으로 세포를 용해했다.

[1104] 얻은 세포 용해액 내 번역 산물은 시험예 1에 기재한 샌드위치 ELISA법과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도 (nM)를 이하의 표 7에 기재했다.

[1105] 표 7-1~표 7-4:

[1106] [표 7-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.013 | 0.010 | 0.010 |
| E13 | 38 | 0.263 | 0.117 | 0.003 |
| E15 | 44 | 1.347 | 1.037 | 0.150 |
| E16 | 47 | 1.133 | 0.683 | 0.040 |
| E17 | 50 | 2.713 | 2.570 | 0.970 |
| E46 | 133 | 1.217 | 0.927 | 0.153 |

[1107]

[1108] [표 7-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.013 | 0.010 | 0.010 |
| E12 | 35 | 2.553 | 2.523 | 1.130 |
| E53 | 146 | 2.267 | 2.557 | 1.747 |
| E54 | 149 | 3.263 | 3.187 | 2.627 |
| E55 | 152 | 2.723 | 2.847 | 2.087 |
| E56 | 155 | 2.383 | 2.663 | 2.093 |
| E4 | 11 | 0.013 | 0.010 | 0.010 |

[1109]

[1110] [표 7-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.003 | 0.000 |
| E79 | 206 | 0.843 | 1.020 | 0.597 |
| E95 | 234 | 0.813 | 1.017 | 0.670 |

[1111]

[1112] [표 7-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.000 | 0.000 |
| E58 | 161 | 0.373 | 0.490 | 0.043 |
| E67 | 186 | 0.817 | 0.983 | 0.547 |
| E68 | 189 | 0.333 | 0.473 | 0.283 |
| E164 | 305 | 0.367 | 0.517 | 0.200 |

[1113]

[1114] 상기 표 7-1~표 7-4에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1115] 시험예 4

[1116] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1117] 하기 표 8-1~표 8-8에 기재한 각 mRNA에 관해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로로서의 번역 활성을 평가했다.

[1118] 우선, 각 mRNA를 19 μM이 되도록 THE RNA Storage Solution(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 AM7000)으로 희석했다. HeLa 세포주는 종농도 1%의 소혈청 알부민(와코준야쿠사, 카탈로그 번호 017-22231)를 포함하는 Opti-MEM I Reduced Serum Media(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 31985070)에 현탁한 후, 90 xg, 실온에서 10분간 원심하고, 상청을 주의깊게 제거한 후, 1% SE Cell Line 96-well Nucleofector Kit(Lonza사 제조, 카탈로그 번호 V4SC-1096) 부속의 SE Cell Line Nucleofector Solution 및 Supplement 1의 혼합액으로 200,000 세포/19 μL가 되도록 현탁했다. 조제한 mRNA 용액과 HeLa 세포 현탁액을 체적비 1:19로 혼합한 후, Nucleofector™ 96-well Shuttle 시스템(Lonza사 제조)을 이용하여, 펄스 조건 FF-150으로 일렉트로포레이션을 실시했다. 일렉트로포레이션 10분 후의 세포를 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지(나카라이테스크사 제조)에 현탁하고, 1 웰 당 세포수 50,000 세포/145 μL가 되도록 96 웰 접착 세포용 배양 플레이트에 과중하여, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양했다. 배양 후 3시간, 8시간, 24시간 후의 세포 각각에 관해서 배양 상청을 제거하고, 빙냉한 D-PBS(-)(나카라이테스크사 제조)로 한 번 세정한 후, 2%의 프로테아제 저해제 각테일(동물세포 추출물용, 나카라이테스크사 제조)을 포함하는 iScript RT-qPCR Sample Preparation Reagent(바이오라드사, 1708898)를 1 웰 당 20 μL 가하고, 30초간 격하게 침투시켜 세포를 용해했다.

[1119] 얻은 세포 용해액 내 번역 산물은 시험예 1에 기재한 샌드위치 ELISA법과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 8에 기재했다.

[1120] 표 8-1~표 8-8:

[1121] [표 8-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E12 | 35 | 0.627 | 0.318 | 0.020 |
| E55 | 180 | 0.633 | 0.577 | 0.370 |
| E56 | 183 | 0.730 | 0.733 | 0.663 |
| E70 | 195 | 0.403 | 0.240 | 0.037 |

[1122]

[1123] [표 8-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.000 | 0.010 |
| E62 | 171 | 1.270 | 0.997 | 0.203 |
| E63 | 174 | 1.027 | 0.873 | 0.453 |
| E64 | 177 | 0.840 | 0.747 | 0.283 |
| E67 | 186 | 1.017 | 0.890 | 0.597 |
| E68 | 189 | 0.460 | 0.477 | 0.237 |

[1124]

[1125] [표 8-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.000 | 0.007 |
| E79 | 206 | 0.543 | 0.540 | 0.300 |
| E80 | 209 | 0.047 | 0.027 | 0.010 |
| E81 | 212 | 0.620 | 0.500 | 0.280 |
| E82 | 215 | 0.507 | 0.507 | 0.273 |
| E95 | 234 | 0.640 | 0.567 | 0.297 |

[1126]

[1127] [표 8-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.010 | 0.010 |
| E13 | 38 | 0.037 | 0.010 | 0.007 |
| E14 | 41 | 0.010 | 0.010 | 0.007 |
| E15 | 44 | 0.517 | 0.183 | 0.020 |
| E16 | 47 | 0.050 | 0.010 | 0.000 |
| E17 | 50 | 0.670 | 0.380 | 0.037 |

[1128]

[1129] [표 8-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E7 | 20 | 0.043 | 0.000 | 0.000 |
| E26 | 77 | 0.537 | 0.183 | 0.000 |
| E27 | 80 | 0.317 | 0.050 | 0.000 |
| E28 | 83 | 0.183 | 0.040 | 0.000 |
| E29 | 86 | 0.093 | 0.017 | 0.000 |

[1130]

[1131] [표 8-6]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E7 | 20 | 0.023 | 0.000 | 0.000 |
| E9 | 26 | 0.413 | 0.123 | 0.000 |
| E26 | 77 | 0.397 | 0.117 | 0.000 |
| E27 | 80 | 0.230 | 0.037 | 0.000 |
| E28 | 83 | 0.137 | 0.030 | 0.000 |

[1132]

[1133] [표 8-7]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E56 | 155 | 0.613 | 0.537 | 0.343 |
| E79 | 206 | 0.360 | 0.373 | 0.190 |
| E95 | 234 | 0.407 | 0.447 | 0.203 |

[1134]

[1135] [표 8-8]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E58 | 161 | 0.130 | 0.100 | 0.000 |
| E164 | 305 | 0.143 | 0.147 | 0.010 |

[1136]

[1137]

상기 표 8-1~표 8-8에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 mRNA는, HeLa 세포에 일렉트로포레이션 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 생성하고, 그 활성은 당 수식을 갖지 않는 mRNA와 비교하여 우수했다. 그 중에서도 표 8-5에 나타내는 시험 결과로부터, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 50%가 당 수식되어 있는 E29보다, 폴리A쇄를 구성하는 뉴클레오티드의 65% 이상이 당 수식되어 있는 E26, E27 및 E28 쪽이 우수한 번역 활성을 보이는 것이 분명하게 되었다.

[1138]

시험예 5

[1139]

(mRNA 샘플의 인간 대동맥평활근 세포를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1140]

표 9-1~표 9-3에 기재한 각 mRNA에 관해서 인간 대동맥평활근 세포(Human Aortic Smooth Muscle Cells, Lonza사 제조, CC-2571. 이후, hAoSMC라고 기재하는 경우도 있다)를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 우선, SmGM-2 BulletKit 배지(Lonza사 제조, CC-3182)를 이용하여 제조자의 매뉴얼에 기재된 것과 같이 배양한 hAoSMC를 이용하여, SmGM-2 BulletKit 배지로 현탁한 hAoSMC를 1 웰 당 세포수 10,000 세포/100 μL가 되도록 96 웰 접착 세포용 배양 플레이트에 파종하여, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 하룻밤 배양했다. 하룻밤 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 1 웰 당 40 μL의 SmGM-2 BulletKit 배지를 첨가한 후, 각 mRNA의 종농도가 3 nM, 10 nM 및 30 nM이 되도록 각 mRNA와 종농도 0.3%의 Lipofectamin MessengerMAX Transfection Reagent(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: LMRNA008)를 옵티멤(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: 31985-070)으로 희석하여 혼합하고, 혼합액을 1 웰 당 10 μL가 되도록 각각의 배양 플레이트에 첨가하여, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 5시간 배양했다. 5시간 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 빙냉한 D-PBS(-)(나카라이테스크사 제조)로 한 번 세정한 후, 2%의 프로테아제 저해제 각테일(동물세포 추출물용, 나카라이테스크사 제조)을 포함하는 iScript RT-qPCR Sample Preparation Reagent(바이오라드사, 1708898)를 1 웰 당 20 μL 가하고, 30초간 격하게 침투시켜 세포를 용해했다.

[1141]

얻은 세포 용해액 내 번역 산물은 시험예 1에 기재한 샌드위치 ELISA법과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물농도(nM)를 이하의 표 9에 기재했다.

[1142]

표 9-1~표 9-3:

[1143] [표 9-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E12 | 35 | 0.023 | 0.333 | 0.247 |
| E55 | 152 | 0.047 | 0.347 | 0.437 |
| E56 | 155 | 0.030 | 0.327 | 0.517 |

[1144]

[1145] [표 9-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.007 | 0.010 |
| E79 | 206 | 0.017 | 0.233 | 0.350 |
| E81 | 212 | 0.013 | 0.157 | 0.367 |
| E95 | 234 | 0.023 | 0.243 | 0.457 |

[1146]

[1147] [표 9-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E65 | 180 | 0.010 | 0.110 | 0.177 |
| E67 | 186 | 0.020 | 0.243 | 0.210 |
| E68 | 189 | 0.007 | 0.043 | 0.060 |

[1148]

[1149] 상기 표 9-1~표 9-3에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, hAoSMC에 첨가한 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1150] 시험예 6

[1151] (mRNA 샘플의 인간 대동맥평활근 세포를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1152] 하기 표 10-1~표 10-5에 기재한 각 mRNA에 관해서 인간대동맥평활근 세포를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다.

[1153] 우선, 각 mRNA를 19 μM이 되도록 THE RNA Storage Solution(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 AM7000)으로 희석했다. hAoSMC는 총농도 1%의 소혈청 알부민(와코쥬야쿠사, 카탈로그 번호 017-22231)을 포함하는 Opti-MEM I Reduced Serum Media(서모피셔사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호 31985070)에 현탁한 후, 90 xg, 실온에서 10분간 원심하고, 상청을 주의깊게 제거한 후, P1 Primary Cell 96-well Nucleofector Kit(Lonza 사 제조, 카탈로그 번호 V4SP-1096) 부속의 P1 Primary Cell Nucleofector Solution 및 Supplement 1의 혼합액으로 100,000 세포/19 μL가 되도록 현탁했다. 조제한 mRNA 용액과 hAoSMC 현탁액을 체적비 1:19로 혼합한 후, Nucleofector™ 96-well Shuttle 시스템(Lonza사 제조)을 이용하여, 펄스 조건 FF-130으로 일렉트로포레이션을 실시했다. 일렉트로포레이션 10분 후의 세포를 SmGM-2 BulletKit 배지(Lonza사 제조, CC-3182)에 현탁하고, 1 웰 당 세포수 20,000 세포/145 μL가 되도록 96 웰 접착 세포용 배양 플레이트에 파종하여, 37℃, 5% CO₂ 조건 하에서 배양했다. 배양 후 4시간, 8시간, 24시간 후의 세포 각각에 관해서 배양 상청을 제거하고, 빙냉한 D-PBS(-)(나카라이테스크사 제조)로 한 번 세정한 후, 2%의 프로테아제 저해제 각테일(동물세포 추출물용, 나카라이테스크사 제조)을 포함하는 iScript RT-qPCR Sample Preparation Reagent(바이오라드사, 1708898)를 1 웰 당 20 μL 가하고, 30초간 격하게 칩투시켜 세포를 용해했다.

[1154] 얻은 세포 용해액 내 번역 산물은 시험예 1에 기재한 샌드위치 ELISA법과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 폴리펩티드 표품의 흡광도를 바탕으로 작성한 검량선을 이용하여 정량한 각 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 10에 기재했다.

[1155] 표 10-1~표 10-5:

[1156] [표 10-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.003 | 0.000 | 0.000 |
| E13 | 38 | 0.007 | 0.003 | 0.000 |
| E14 | 41 | 0.003 | 0.000 | 0.000 |
| E15 | 44 | 0.023 | 0.027 | 0.010 |
| E16 | 47 | 0.023 | 0.023 | 0.003 |
| E17 | 50 | 0.017 | 0.017 | 0.007 |

[1157]

[1158] [표 10-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E12 | 35 | 0.027 | 0.033 | 0.010 |
| E55 | 152 | 0.033 | 0.050 | 0.027 |
| E56 | 155 | 0.027 | 0.043 | 0.043 |
| E70 | 195 | 0.023 | 0.033 | 0.013 |

[1159]

[1160] [표 10-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E65 | 180 | 0.043 | 0.077 | 0.047 |
| E66 | 183 | 0.040 | 0.083 | 0.060 |
| E68 | 189 | 0.010 | 0.010 | 0.010 |
| E67 | 186 | 0.020 | 0.030 | 0.023 |

[1161]

[1162] [표 10-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.003 | 0.003 | 0.000 |
| E79 | 206 | 0.124 | 0.122 | 0.079 |
| E80 | 209 | 0.030 | 0.023 | 0.007 |
| E81 | 212 | 0.127 | 0.142 | 0.085 |
| E95 | 234 | 0.139 | 0.170 | 0.094 |

[1163]

[1164] [표 10-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E56 | 155 | 0.197 | 0.220 | 0.163 |
| E79 | 206 | 0.103 | 0.120 | 0.093 |

[1165]

[1166] 상기 표 10-1~표 10-5에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 mRNA는, hAoSMC에 일렉트로포레이션 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 활성은 번역 영역에 당 수식을 갖지 않는 mRNA와 비교하여 우수했다.

[1167] 시험예 7

[1168] (mRNA 샘플의 혈청 내 안정성 시험)

[1169] 하기 표 11에 기재한 각 mRNA에 관해서 시판되는 마우스 혈청(코진바이오, 카탈로그 번호 12081001)을 이용하여 혈청 내 핵산 안정성을 평가했다. 우선, 마우스 혈청을 UltraPure DNase/RNase-Free Distilled Water(DW)(invitrogen, 카탈로그 번호 10977-015)로 50배 희석하여, 희석 혈청 용액을 조제했다. 각 mRNA는 5 μM이 되도록 THE RNA storage solution(서도피서사이엔티픽사, 카탈로그 번호 AM7001)으로 희석했다.

[1170] 효소 미반응(0 min)용으로서 별도의 96 웰 PCR 플레이트에 희석 혈청 용액 8 μL, 6 U/μL Ribonuclease

[1186] [표 12-1]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도(nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E31 | 90 | 25.993 | 4.71 |
| E71 | 198 | 10.892 | 1.97 |
| E72 | 199 | 19.436 | 3.52 |
| E73 | 200 | 20.622 | 3.73 |
| E74 | 201 | 19.338 | 3.50 |
| E75 | 202 | 8.980 | 1.63 |
| E76 | 203 | 15.411 | 2.79 |
| E77 | 204 | 15.536 | 2.81 |
| E78 | 205 | 10.471 | 1.90 |
| E85 | 224 | 19.894 | 3.60 |
| E86 | 225 | 13.435 | 2.43 |
| E87 | 226 | 11.132 | 2.02 |
| E88 | 227 | 12.522 | 2.27 |
| E89 | 228 | 18.310 | 3.32 |
| E90 | 229 | 11.413 | 2.07 |
| E91 | 230 | 14.883 | 2.69 |
| E92 | 231 | 21.319 | 3.86 |
| E30 | 89 | 5.523 | 1.00 |
| E61 | 170 | 16.168 | 2.93 |

[1187]

[1188] [표 12-2]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도(nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|--------------|-----------|
| E93 | 232 | 3.464 | 0.61 |
| E94 | 233 | 6.309 | 1.11 |
| E96 | 237 | 14.861 | 2.60 |
| E97 | 238 | 22.251 | 3.90 |
| E98 | 239 | 9.450 | 1.66 |
| E99 | 240 | 14.573 | 2.55 |
| E100 | 241 | 8.723 | 1.53 |
| E101 | 242 | 13.510 | 2.37 |
| E102 | 243 | 11.197 | 1.96 |
| E103 | 244 | 4.959 | 0.87 |
| E104 | 245 | 25.710 | 4.50 |
| E105 | 246 | 12.564 | 2.20 |
| E106 | 247 | 16.057 | 2.81 |
| E107 | 248 | 13.531 | 2.37 |
| E108 | 249 | 20.671 | 3.62 |
| E30 | 89 | 5.709 | 1.00 |
| E61 | 170 | 11.057 | 1.94 |

[1189]

[1190] [표 12-3]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E019 | 250 | 18.672 | 4.04 |
| E110 | 251 | 12.976 | 2.81 |
| E111 | 252 | 13.883 | 3.00 |
| E112 | 253 | 11.138 | 2.41 |
| E113 | 254 | 13.333 | 2.88 |
| E114 | 255 | 11.570 | 2.50 |
| E115 | 256 | 13.348 | 2.89 |
| E116 | 257 | 20.125 | 4.35 |
| E117 | 258 | 14.713 | 3.18 |
| E118 | 259 | 19.148 | 4.14 |
| E119 | 260 | 7.051 | 1.52 |
| E120 | 261 | 1.294 | 0.28 |
| E121 | 262 | 22.516 | 4.87 |
| E122 | 263 | 16.092 | 3.48 |
| E123 | 264 | 22.733 | 4.92 |
| E124 | 265 | 23.290 | 5.04 |
| E125 | 266 | 10.663 | 2.31 |
| E30 | 89 | 4.625 | 1.00 |
| E61 | 170 | 13.887 | 3.00 |

[1191]

[1192] [표 12-4]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 변역 산물 농도 (nM) | 상대 변역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E126 | 267 | 7.770 | 1.84 |
| E127 | 268 | 7.617 | 1.81 |
| E128 | 269 | 6.520 | 1.55 |
| E129 | 270 | 4.105 | 0.97 |
| E130 | 271 | 4.843 | 1.15 |
| E131 | 272 | 3.846 | 0.91 |
| E132 | 273 | 2.425 | 0.58 |
| E133 | 274 | 6.694 | 1.59 |
| E134 | 275 | 8.231 | 1.95 |
| E135 | 276 | 6.688 | 1.59 |
| E136 | 277 | 7.887 | 1.87 |
| E137 | 278 | 6.767 | 1.61 |
| E138 | 279 | 4.118 | 0.98 |
| E139 | 280 | 2.913 | 0.69 |
| E140 | 281 | 6.503 | 1.54 |
| E141 | 282 | 17.884 | 4.24 |
| E142 | 283 | 18.111 | 4.30 |
| E30 | 89 | 4.216 | 1.00 |
| E61 | 170 | 9.462 | 2.24 |

[1193]

[1194] [표 12-5]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E143 | 284 | 11.167 | 3.13 |
| E144 | 285 | 15.514 | 4.34 |
| E145 | 286 | 5.484 | 1.53 |
| E146 | 287 | 5.053 | 1.41 |
| E147 | 288 | 13.516 | 3.78 |
| E148 | 289 | 12.278 | 3.44 |
| E149 | 290 | 4.911 | 1.37 |
| E150 | 291 | 4.017 | 1.12 |
| E151 | 293 | 3.751 | 1.05 |
| E152 | 293 | 3.476 | 0.97 |
| E153 | 294 | 16.010 | 4.48 |
| E154 | 295 | 12.791 | 3.58 |
| E155 | 296 | 14.127 | 3.95 |
| E156 | 297 | 15.781 | 4.42 |
| E157 | 298 | 10.380 | 2.90 |
| E158 | 299 | 10.570 | 2.96 |
| E159 | 300 | 16.523 | 4.62 |
| E30 | 89 | 3.574 | 1.00 |
| E61 | 170 | 10.746 | 3.01 |

[1195]

[1196] [표 12-6]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E160 | 301 | 9.461 | 3.65 |
| E161 | 302 | 10.070 | 3.88 |
| E162 | 303 | 8.835 | 3.41 |
| E163 | 304 | 13.862 | 5.35 |
| E30 | 89 | 2.593 | 1.00 |
| E61 | 170 | 7.277 | 2.81 |

[1197]

[1198] [표 12-7]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E71 | 198 | 11.680 | 2.31 |
| E72 | 199 | 20.707 | 4.10 |
| E74 | 201 | 22.307 | 4.41 |
| E85 | 224 | 24.987 | 4.94 |
| E98 | 239 | 10.253 | 2.03 |
| E200 | 395 | 19.160 | 3.79 |
| E201 | 396 | 19.480 | 3.85 |
| E202 | 397 | 16.533 | 3.27 |
| E203 | 394 | 15.347 | 3.04 |
| E30 | 89 | 5.053 | 1.00 |

[1199]

[1200] 상기 표 12-1~12-7에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생했다.

[1201] 실시예 5

[1202] (VEGF를 번역하는 mRNA의 합성)

[1203] VEGF 단백질로 번역되는 mRNA의 합성에 이용한 재료(폴리뉴클레오티드)의 서열 정보를 나타낸다.

[1204] 표 13:

[1205] [표 13]

| 화합물명 | 서열 (5'→3') | 서열 번호 |
|---------------------|---|-------|
| 5'말단 폴리뉴클레오티드 서열 N1 | GGGAAUUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUUAUAGGCCACCAUG AACUUUCUGCUGUCUU | 436 |
| 5'말단 폴리뉴클레오티드 서열 N2 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)U(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGA(F)ACU(F)UUC(F)UGC(F)UGU(F)CUU | 437 |
| 5'말단 폴리뉴클레오티드 서열 N3 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)U(F)Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(M)Am6(F)Am6(M)G(F)Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(F)G(M)U(F)Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(M)G(F)Am6(M)Am6(F)Am6(M)U(F)Am6(M)U(F)Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(F)G(M)C(F)C(M)Am6(F)C(M)C(F)A(F)UGA(F)ACU(F)UUC(F)UGC(F)UGU(F)CUU | 438 |
| 인공 합성 유전자 서열 GN | AATTCAGTACTTAATACGACTCACTATAGGGTGCATTGGAGCCTTGCCTGCTGCTCTACCTCCACCATGCCAAGTGGTCCCAGGCTGCACCCATGGCAGAGGGAGGGCAGAAATCATCAGCAAGTGGTGAAGTTCATGGATGTCTATCAGCGAGCTACTGCCATCCAATCGAGACCCTGGTGGACATCTCCAGGAGTACCCTGATGAGATCGAGTACATCTTCAAGCCATCCTGTGTGCCCTGATGCGATGCGGGGGCTGTGCAATGACGAGGGCCTGGAGTGTGTGCCACTGAGGATGCCAACATCACCATGCAGATTATGCGGATCAAACCTCACCAAGGCCAGCACA TAGGAGAGATGAGCTTCTACAGCACAAATGTGAATGCAGACCAAA GAAAGATAGAGCAAGACAAGAAAATCCCTGTGGGCCTTGCTCAGAGCGGAGAAAGCATTGTGTTGTACAAGATCCGACAGCTGTAATGTTCTGCAAAA ACACAGACTCGCGTTGCAAGGCGAGGCAGCTTGAGTTAAACGAACTACTTGCAGATGTGACAAGCCGAGGCGGTGATAATAGGCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTGTGCCCTTGGGCCTCCCCCAGCCCCCTCTCCCCTTCTGCACCCTACCCCGTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTGGGCGGCAAAAAAAAAAAAAA AA AAT | 439 |
| 템플릿 DNA-4 | dGdGdCdTdCdAdAdTdGdCdAdCdCdAdAdGdAdCdAdGdAdGdAdAdAdGdT | 440 |

[1206]

[1207]

[1208]

[1209]

이하의 일련의 조작에 의해 mRNA(VEGF-1, VEGF-2, VEGF-3)를 얻었다.

(공정 1: 선형화 플라스미드 DNA의 조제와 인비트로 전사법에 의한 RNA 단편의 조제)

플라스미드 DNA는 시판되는 pUC19 벡터의 EcoRV 사이트 및 XbaI 사이트에, 표 13에 나타내는 인공 합성 유전자 서열 GN을 삽입한 것을 이용했다(가부시키가이샤 진위즈 제조). 플라스미드 DNA를 제한 효소 XbaI를 이용하여 직쇄화했다. 반응액의 총농도는, 플라스미드 DNA 20 ng/μL, 0.01% BSA, Xba I 0.15 U/μL(Takara 1093A), 1 x 첨부 버퍼로 했다. 37도에서 2시간 인큐베이트한 후, 페놀클로로포름 추출, 이소프로판올 침전을 행하여, 직쇄화 플라스미드의 조생성물을 얻었다. 얻은 주형 DNA와 T7 RNA 폴리메라아제를 이용하여 전사 반응을 행했다. 반응액의 총농도는 이하와 같다. 주형 DNA 10 ng/μL, DTT 5 mM, ATP 2 mM, CTP 2 mM, UTP 2 mM, GMP 2 mM, GTP 0.5 mM, Murine RNase inhibitor 0.2 U/μL(NEB, M0314), T7 RNA 폴리메라아제 2.5 U/μL(Takara, 2540A), 1 x 첨부 버퍼. 37도에서 2시간 인큐베이트한 후, DNase 총농도 0.1 U/μL(Takara, 2270A)분 첨가하여, 같은 온도에서 30분 인큐베이트했다. 페놀클로로포름 추출, 아미콘 10K 처리(Merck Millipore), 이소프로판올 침전을 행하여, 전사 산물의 조생성물을 얻었다. 변성 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동으로 영동 후, 해당 밴드를 잘라 내고, MQ물로 추출, 아미콘 정제 및 이소프로판올 침전에 의해 정제 RNA를 얻었다. 이어서 RNA 5' 피로포스포히드로라아제(RppH) 처리에 의해 말단 트리인산체의 모노인산체로의 변환을 행했다. 반응 용액의 총농도는 이하와 같다; RNA 0.1 μg/μL, RppH 0.1 U/μL, Murine RNase inhibitor 1 U/μL(NEB, M 0314), 1 x NE Buffer 2(NEB, B7992S). 37도에서 30분 인큐베이트한 후, 페놀클로로포름 추출, 이소프로판올 침전을 행하여, 목적으로 하는 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단편인 폴리뉴클레오티드의 조생성물을 얻었다.

[1210]

[1211]

(공정 2: RNA 라이게이션에 의한 RNA 연결 산물의 조제)

정해진 방법에 따라서 화학 합성에 의해 얻은 표 13에 나타내는 각 5' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단편(N1, N2, N3), 공정 1의 인비트로 전사법에 의해 얻은 3' 말단 측 폴리뉴클레오티드 단편 및 템플릿 DNA-4를 이용하여, RNA ligase 2에 의한 연결 반응을 행했다. 총농도는 이하와 같다. 5' 말단 측 RNA 2 μM, 3' 말단 측 RNA 1 μM, 템플릿 DNA 4 μM, PEG8000 10%, T4 RNA ligase 2 1 U/μL(NEB, M 0239), 1 x 첨부 버퍼, Murine RNase inhibitor 1 U/μL(NEB, M0314). 효소 및 PEG 첨가 전의 혼합물을 90도에서 3분 가열하고, 서서히 실온으로 되돌리고, 효소 및 PEG를 첨가하여, 45도에서 1시간 인큐베이트했다. 페놀클로로포름 추출, 아미콘 10K 처리

(Merck Millipore), 이소프로판올 침전을 행하여, 전사 산물의 조생성물을 얻었다. 변성 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동으로 영동 후, 해당 밴드를 잘라내고, MQ물로 추출, 아미콘 정제 및 이소프로판올 침전에 의해 정제 mRNA를 얻었다.

- [1212] 시험예 9
- [1213] (mRNA 샘플의 번역 반응)
- [1214] 상기 실시예 5에서 얻은 mRNA 서열 정보를 표 14-1~표 14-2에 나타낸다.
- [1215] 표 14-1~표 14-2:
- [1216] [표 14-1]

| 화합물명 | 서열 (5'→3') | 서열 번호 |
|--------|--|-------|
| VEGF-1 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)A(M)U(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(F)UGA(F)ACU(F)UUC(F)UGC(F)UGU(F)CUUUGGGUGCAUUGGAGCCUUGCCUUGCUGCUUACCCACCAUGCCAAAGUGGCCAGGCGCACCACCAUGGCAGAAAGGAGGGCAGAAUCA CACGAAGUGGUGAAGUUCAUUGGAUGUCUAUCAGCGCAGCUACUGCCAU CAAUCGAGACCCUGGUGGACAUUCUCCAGGAGUACCCUGAUGAGAU CGAUACAUUCAGCCAUCCUGUGGCCUUGAUGCGAUGCGGGGCGUCUGCAAU GACGAGGGCCUGGAGUGUGGCCACUGAGGAGUCCAACAUC CCAUGCAGAUUUGCGGAUCAAAACCCACCAAGGCCAGCACAUGGAGAG AUGAGCUUCCUACAGCAACAACAAUGUGAAUGCAGACCAAGAAAGAUAG AGCAAGACAAGAAAUCUUGUGGGCCUUGCUCAGAGCGGAGAAAGCAU UGUUUGUACAAGAUCCGAGACGUGUAAAUGUCCUGCAAAAACACAGAC UCGCGUUGCAAGGCGAGGAGCUUGAGUUAACGAACGUACUUGCAGAU GUGACAAGCCGAGGCGUGAUAAUAGGCUUGGAGCCUGGUGGCCAUGCU UCUUGCCCUUGGGCCUCCCCAGCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCU CCACCCGUGGUCUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGCAAAAAAAAAAAAAA AA AA AA AA | 441 |
| VEGF-2 | G(MOE)^G(MOE)^G(MOE)^A(MOE)^A(MOE)^A(MOE)U(F)Am6(M)Am 6(F)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6(M)Am6(F)Am6(M)G(F) Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(F)G(M)U(F)Am6(M)Am6(F)G(M)Am6(F)Am6 (M)G(F)Am6(M)Am6(F)Am6(M)U(F)Am6(M)U(F)Am6(M)Am6(F)G(M)A m6(F)G(M)C(F)C(M)Am6(F)C(M)C(F)A(F)UGA(F)ACU(F)UUC(F)UGC(F) UGU(F)CUUUGGGUGCAUUGGAGCCUUGCCUUGCUGCUUACCCACCAU GCCAAGUGGCCAGGCGCACCACCAUGGCAGAAAGGAGGGCAGAAUCA UCAGAAAGUGGUGAAGUUCAUUGGAUGUCUAUCAGCGAGCUACUGCCAU CCAUCGAGACCCUGGUGGACAUUCUCCAGGAGUACCCUGAUGAGAU CGAUACAUCUUCAGCCAUCCUGUGUGGCCUUGAUGCGAUGCGGGGCGUC UGCAAU GACGAGGGCCUGGAGUGUGGCCACUGAGGAGUCCAACAUC CCAUGCAGAUUUGCGGAUCAAAACCCACCAAGGCCAGCACAUGGAGAG AUGAGCUUCCUACAGCAACAACAAUGUGAAUGCAGACCAAGAAAGAUAG AGCAAGACAAGAAAUCUUGUGGGCCUUGCUCAGAGCGGAGAAAGCAU UGUUUGUACAAGAUCCGAGACGUGUAAAUGUCCUGCAAAAACACAGAC UCGCGUUGCAAGGCGAGGAGCUUGAGUUAACGAACGUACUUGCAGAU GUGACAAGCCGAGGCGUGAUAAUAGGCUUGGAGCCUGGUGGCCAUGCU UCUUGCCCUUGGGCCUCCCCAGCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCUCCU CCACCCGUGGUCUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGCAAAAAAAAAAAAAA AA AA AA | 442 |

- [1217]

[1218] [표 14-2]

| | | |
|--------|---|-----|
| VEGF-3 | GGGAAAU AAGAGAGAAAAGAGAGU AAGAAGAAUUAAGAGCCCAUG AACUUUCUGUCUCUUGGGUGCAUUGGAGCCUUGCCUUGCUGUCUACC UCCACCAUGCCAAGUGGUCCCAGGUCACCCUUGGAGAGGAGGAGGG CAGAAUCAUCACGAAGUGGUGAAGUUAUGGAUGUCUAUCAGCGCAGCU ACUGCCAUAUUCGAGACCCUGGUGGACAUUCCAGGAGUACCCUGAU GAGAUUGGAGUACAUUUAAGCAUCCUGUGGCCCCUUGGAGGAGGAGC GGGGUCUGCAUUGACGAGGGCCUGGAGUGUGGCCACUGAGGAGUC CAACAUCACCAUGCAGAUUAUGCGGAUCAAACCCUACCAAGGCCAGCACA UAGGAGAGAUAGGCUUCCUACAGCACAACAUAUGGAAUUGCAGACCAAAG AAAGAUAGAGCAAGACAAGAAAUCCUUGUGGGCCUUGCUCAGAGCGGAG AAAGCAUUUUGUUUGUACAAGAUCCGAGACGUGUAAUUGUCCUGCAA AACACAGACUCGCGUUGCAAGGCGAGGCGAGUUAUAAACGAACGUAC UUGCAGAUUGGACAAGCCGAGGCGGUGAUAAUAGGCUUGGAGCCUCGGUG GCCAUUGCUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCUCCUCCU GCACCCGUACCCCUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGCAAAA AA AA AA AAAUCUAG | 443 |
|--------|---|-----|

[1219]

[1220]

각 mRNA에 관해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 우선, 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지(나카라이테스크사 제조)로 현탁한 HeLa 세포를 1 웰 당 세포수 10,000 세포/100 μL가 되도록 96 웰 접착 세포용 배양 플레이트에 파종하여, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 하룻밤 배양했다. 하룻밤 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 1 웰 당 40 μL의 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지를 첨가한 후, 각 화합물의 농도가 0.3, 1, 3 및 10 nM이 되도록 각 화합물과 농도 0.3%의 Lipofectamin MessengerMAX Transfection Reagent(서모피서사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: LMRNA008)를 옵티엠(서모피서사이엔티픽사 제조, 카탈로그 번호: 31985-070)으로 희석하여 혼합하고, 혼합액을 1 웰 당 10 μL가 되도록 각각의 배양 플레이트에 첨가하여, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 24시간 배양했다. 24시간 배양 후의 세포로부터 배양 상청을 회수하고, 얻은 배양 상청 내 VEGF 단백질량은, Human VEGE Quantikine ELISA(R&D사 제조, 카탈로그 번호 DVE00)를 이용하여, 키트 부속의 매뉴얼에 따라서 측정했다. 측정 결과 정량된 각 배양 상청 내 VEGF 단백질 농도(ng/mL)를 이하의 표 15에 기재했다.

[1221]

[표 15]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 번역 산물 농도(nM) | | | |
|--------|--------------|-----------|-----------|------------|
| | mRNA 0.3 nM | mRNA 1 nM | mRNA 3 nM | mRNA 10 nM |
| VEGF-1 | 1.38 | 1.57 | 3.08 | 6.10 |
| VEGF-2 | 1.47 | 1.52 | 3.31 | 12.57 |
| VEGF-3 | 1.52 | 1.33 | 2.18 | 3.88 |

[1222]

[1223]

상기 표 15에 나타내는 평가 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코드된 VEGF 단백질을 생성하고, 그 효율은 당 수식을 갖지 않는 mRNA와 비교하여 우수했다.

[1224]

실시에 6

[1225]

(IVT에 의한 mRNA의 합성)

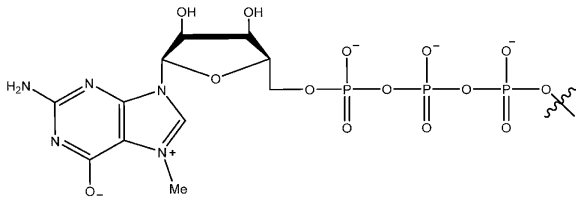
[1226]

IVT에 의한 mRNA의 합성에 이용한 재료(폴리뉴클레오티드)의 서열 정보를 나타낸다.

[1227]

표 16:

[1235] 표 17의 각 뉴클레오티드 N(대문자)은 RNA를, N(M)은 2'-O-메틸 수식 RNA를, m7Gppp은 하기 구조식을 나타낸다.



[1236]

[1237] [표 17]

| 화합물명 | 서열 (5'→3') | 서열 번호 |
|-------|---|-------|
| IVT-1 | m7GpppG(M)GGAGAAUACAAGCUACUUGUUCUUUUUGCAGCCACCAUGG ACUACAAGGACGACGACGACAAGAUCAGCUCUAAAGACGACGACGAU AAAGGUGGCGACUAAAGACGACGACGACAAACACCACCACCACCACCA CUGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 447 |

[1238]

[1239] 시험예 10

[1240] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주 라이세이트를 이용한 번역 반응 시험)

[1241] 이하 표 18-1~표 18-10에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 1과 같은 방법에 의해서 인간세포계에서의 번역 활성을 평가했다. 0.3 μM의 각 mRNA를 첨가한 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 하기 표 18에 기재했다.

[1242] 표 18-1~표 18-10:

[1243] [표 18-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) |
|--------|-------|--------------|
| E4 | 11 | 2.167 |
| E193 | 374 | 50.167 |
| E194 | 377 | 71.333 |
| E195 | 380 | 90.833 |
| E196 | 383 | 4.500 |
| E197 | 386 | 2.167 |

[1244]

[1245] [표 18-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) |
|--------|-------|--------------|
| E4 | 11 | 0.500 |
| E193 | 374 | 27.833 |
| E194 | 377 | 44.333 |
| E195 | 380 | 37.667 |
| E198 | 389 | 49.000 |
| E199 | 392 | 43.833 |

[1246]

[1247] [표 18-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) |
|--------|-------|--------------|
| E4 | 11 | 0.833 |
| E65 | 180 | 24.500 |
| E67 | 186 | 20.667 |
| E68 | 189 | 8.167 |
| E180 | 343 | 13.500 |
| E181 | 346 | 21.833 |

[1248]

[1249] [표 18-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E4 | 11 | 1.000 |
| E175 | 338 | 17.333 |
| E177 | 340 | 15.167 |
| E178 | 341 | 17.333 |
| E180 | 343 | 21.167 |
| E165 | 308 | 70.500 |

[1250]

[1251] [표 18-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E4 | 11 | 1.000 |
| E176 | 339 | 5.500 |
| E177 | 340 | 17.333 |
| E179 | 342 | 8.167 |
| E180 | 343 | 22.000 |
| E167 | 314 | 25.667 |

[1252]

[1253] [표 18-6]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E58 | 161 | 61.167 |
| E59 | 164 | 66.000 |
| E164 | 305 | 108.167 |
| E192 | 373 | 1.333 |

[1254]

[1255] [표 18-7]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E182 | 349 | 1.167 |
| E183 | 350 | 57.167 |
| E184 | 353 | 75.167 |
| E185 | 356 | 69.000 |

[1256]

[1257] [표 18-8]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E186 | 359 | 0.000 |
| E187 | 360 | 0.500 |
| E188 | 363 | 0.500 |

[1258]

[1259] [표 18-9]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E189 | 366 | 1.667 |
| E190 | 367 | 10.000 |
| E191 | 370 | 6.333 |

[1260]

[1261] [표 18-10]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | |
|--------|-------|---------------|-------|
| | | 3 nM | 10 nM |
| E217 | 416 | 0.000 | |
| E218 | 422 | 1.000 | |
| E219 | 426 | 1.000 | |

[1262]

[1263] 상기 표 18-1~표 18-10에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코딩된 폴리펩티드를 산생했다.

[1264] 시험예 11

[1265] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1266] 이하 표 19-1~표 19-13에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 2와 같은 방법에 의해서 인간세포계 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 3~30 nM의 각 mRNA를 첨가하여 5시간 후의 세포로부터 얻어진 세포 용해액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 19에 기재했다.

[1267] 표 19-1~표 19-13:

[1268] [표 19-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.003 | 0.010 |
| E165 | 308 | 0.097 | 0.667 | 1.363 |
| E166 | 311 | 0.027 | 0.390 | 0.920 |
| E167 | 314 | 0.070 | 0.637 | 1.170 |
| E169 | 320 | 0.073 | 0.527 | 1.070 |
| E172 | 329 | 0.050 | 0.487 | 1.087 |

[1269]

[1270] [표 19-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E166 | 311 | 0.030 | 0.517 | 1.100 |
| E167 | 314 | 0.070 | 0.707 | 1.263 |
| E168 | 317 | 0.023 | 0.390 | 0.650 |
| E171 | 326 | 0.017 | 0.233 | 0.570 |
| E173 | 332 | 0.040 | 0.513 | 0.813 |

[1271]

[1272] [표 19-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E165 | 308 | 0.090 | 0.887 | 2.093 |
| E167 | 314 | 0.060 | 0.667 | 1.620 |
| E169 | 320 | 0.060 | 0.520 | 1.123 |
| E170 | 323 | 0.030 | 0.363 | 0.933 |
| E174 | 335 | 0.060 | 0.513 | 0.963 |

[1273]

[1274] [표 19-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|--------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E193 | 374 | 0.010 | 0.073 | 0.187 |
| E194 | 377 | 0.010 | 0.153 | 0.227 |
| E195 | 380 | 0.010 | 0.090 | 0.143 |
| E196 | 383 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E197 | 386 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

[1275]

[1276] [표 19-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|--------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.003 |
| E193 | 374 | 0.010 | 0.087 | 0.143 |
| E194 | 377 | 0.013 | 0.123 | 0.210 |
| E195 | 380 | 0.010 | 0.077 | 0.123 |
| E198 | 389 | 0.060 | 0.370 | 0.497 |
| E199 | 392 | 0.057 | 0.353 | 0.453 |

[1277]

[1278] [표 19-6]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|--------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.010 | 0.010 |
| E65 | 180 | 0.087 | 0.657 | 0.940 |
| E67 | 186 | 0.057 | 0.700 | 0.570 |
| E68 | 189 | 0.020 | 0.337 | 0.190 |
| E180 | 343 | 0.000 | 0.050 | 0.207 |
| E181 | 346 | 0.000 | 0.153 | 0.413 |

[1279]

[1280] [표 19-7]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|--------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E175 | 338 | 0.000 | 0.010 | 0.040 |
| E177 | 340 | 0.023 | 0.133 | 0.323 |
| E178 | 341 | 0.010 | 0.037 | 0.130 |
| E180 | 343 | 0.000 | 0.020 | 0.113 |
| E165 | 308 | 0.053 | 0.327 | 0.940 |

[1281]

[1282] [표 19-8]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E176 | 339 | 0.000 | 0.000 | 0.050 |
| E177 | 340 | 0.017 | 0.150 | 0.360 |
| E179 | 342 | 0.000 | 0.020 | 0.097 |
| E180 | 343 | 0.000 | 0.020 | 0.077 |
| E167 | 314 | 0.033 | 0.370 | 0.957 |

[1283]

[1284] [표 19-9]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E58 | 161 | 0.010 | 0.153 | 0.177 |
| E59 | 164 | 0.090 | 0.737 | 1.147 |
| E164 | 305 | 0.010 | 0.143 | 0.167 |
| E192 | 373 | 0.020 | 0.117 | 0.177 |

[1285]

[1286] [표 19-10]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E182 | 349 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E183 | 350 | 0.013 | 0.153 | 0.930 |
| E184 | 353 | 0.020 | 0.163 | 1.223 |
| E185 | 356 | 0.020 | 0.160 | 0.983 |

[1287]

[1288] [표 19-11]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E186 | 359 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E187 | 360 | 0.000 | 0.010 | 0.037 |
| E188 | 363 | 0.000 | 0.010 | 0.020 |

[1289]

[1290] [표 19-12]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E189 | 366 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E190 | 367 | 0.040 | 0.283 | 1.170 |
| E191 | 370 | 0.033 | 0.300 | 1.070 |

[1291]

[1292] [표 19-13]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E217 | 416 | 0.000 | 0.007 | 0.010 |
| E218 | 422 | 0.010 | 0.073 | 0.320 |
| E219 | 426 | 0.010 | 0.077 | 0.287 |

[1293]

[1294] 상기 표 19-1~표 19-13에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1295] 시험예 12

[1296] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1297] 하기 표 20-1~표 20-8에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 3과 같은 방법에 의해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성의 지속성을 평가했다. 30 nM의 각 mRNA를 첨가한 세포로부터 얻어진 세포 용해액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 20에 기재했다.

[1298] 표 20-1~표 20-8:

[1299] [표 20-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.010 | 0.000 |
| E167 | 314 | 1.263 | 1.513 | 1.047 |
| E169 | 320 | 1.270 | 1.453 | 0.933 |
| E170 | 323 | 1.000 | 1.127 | 0.770 |
| E174 | 335 | 0.940 | 1.043 | 0.717 |

[1300]

[1301] [표 20-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E172 | 329 | 0.983 | 1.147 | 0.673 |
| E173 | 332 | 0.830 | 1.010 | 0.693 |

[1302]

[1303] [표 20-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.010 | 0.003 |
| E175 | 338 | 0.070 | 0.050 | 0.010 |
| E177 | 340 | 0.347 | 0.477 | 0.403 |
| E178 | 341 | 0.203 | 0.253 | 0.130 |
| E180 | 343 | 0.300 | 0.127 | 0.000 |
| E165 | 308 | 1.437 | 1.440 | 0.817 |

[1304]

[1305] [표 20-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.010 | 0.010 | 0.010 |
| E176 | 339 | 0.060 | 0.067 | 0.030 |
| E177 | 340 | 0.303 | 0.307 | 0.187 |
| E179 | 342 | 0.103 | 0.080 | 0.030 |
| E180 | 343 | 0.233 | 0.130 | 0.010 |
| E167 | 314 | 1.220 | 1.357 | 0.767 |

[1306]

[1307] [표 20-5]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E182 | 349 | 0.010 | 0.010 | 0.000 |
| E184 | 353 | 1.483 | 1.663 | 0.933 |
| E185 | 356 | 1.030 | 1.230 | 0.790 |

[1308]

[1309] [표 20-6]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E217 | 416 | 0.003 | 0.007 | 0.000 |
| E218 | 422 | 0.360 | 0.537 | 0.317 |
| E219 | 426 | 0.307 | 0.463 | 0.317 |

[1310]

[1311] [표 20-7]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E189 | 366 | 0.017 | 0.010 | 0.010 |
| E190 | 367 | 1.717 | 1.820 | 1.260 |
| E191 | 370 | 1.303 | 1.390 | 0.933 |

[1312]

[1313] [표 20-8]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E79 | 206 | 0.910 | 1.313 | 0.873 |
| IVT-1 | 447 | 0.010 | 0.010 | 0.000 |

[1314]

[1315] 상기 표 20-1~표 20-8에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1316] 시험예 13

[1317] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1318] 하기 표 21-1~표 21-4에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 4와 같은 방법에 의해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 각 mRNA를 첨가한 세포로부터 얻어진 세포 용해액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 21에 기재했다.

[1319] 표 21-1~표 21-4:

[1320] [표 21-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E165 | 308 | 0.323 | 0.337 | 0.117 |
| E167 | 314 | 0.343 | 0.403 | 0.207 |
| E169 | 320 | 0.300 | 0.350 | 0.130 |
| E173 | 332 | 0.220 | 0.300 | 0.147 |
| E174 | 335 | 0.187 | 0.223 | 0.097 |

[1321]

[1322] [표 21-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E165 | 308 | 0.440 | 0.447 | 0.187 |
| E166 | 311 | 0.367 | 0.397 | 0.150 |
| E172 | 329 | 0.317 | 0.363 | 0.133 |
| E180 | 343 | 0.007 | 0.000 | 0.000 |
| E181 | 346 | 0.010 | 0.000 | 0.000 |

[1323]

[1324] [표 21-3]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E175 | 338 | 0.020 | 0.010 | 0.000 |
| E177 | 340 | 0.113 | 0.290 | 0.207 |
| E178 | 341 | 0.063 | 0.097 | 0.057 |
| E180 | 343 | 0.013 | 0.000 | 0.000 |
| E165 | 308 | 0.460 | 0.497 | 0.233 |
| E181 | 346 | 0.010 | 0.000 | 0.000 |

[1325]

[1326] [표 21-4]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도(nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 3시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E79 | 206 | 0.437 | 0.533 | 0.343 |
| IVT-1 | 447 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

[1327]

[1328] 상기 표 21-1~표 21-4에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 mRNA는, HeLa 세포에 일렉트로포레이션 후, 유전자 서열로 코딩된 폴리펩티드를 산생하고, 그 활성은 번역 영역에 당 수식을 갖지 않는 mRNA와 비교하여 우수했다.

[1329] 시험예 14

[1330] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주 라이세이트를 이용한 번역 반응 시험)

[1331] 하기 표 22-1~표 22-2에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 8과 같은 방법에 의해서 인간세포계에서의 번역 활성을 평가했다. 1 μM의 각 mRNA를 첨가한 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 하기 표 22에 기재했다.

[1332] 표 22-1~표 22-2:

[1333] [표 22-1]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E61 | 170 | 24.693 | 5.02 |
| E71 | 198 | 15.920 | 3.24 |
| E85 | 224 | 33.347 | 6.78 |
| E204 | 399 | 15.040 | 3.06 |
| E205 | 400 | 16.013 | 3.25 |
| E206 | 401 | 20.107 | 4.09 |
| E207 | 402 | 14.013 | 2.85 |
| E208 | 403 | 10.827 | 2.20 |
| E30 | 89 | 4.920 | 1.00 |

[1334]

[1335] [표 22-2]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E61 | 170 | 25.067 | 5.47 |
| E127 | 268 | 25.253 | 5.51 |
| E209 | 404 | 27.840 | 6.07 |
| E210 | 405 | 16.213 | 3.53 |
| E211 | 406 | 36.120 | 7.88 |
| E212 | 407 | 14.000 | 3.05 |
| E213 | 408 | 10.493 | 2.29 |
| E214 | 409 | 14.840 | 3.24 |
| E30 | 89 | 4.587 | 1.00 |

[1336]

[1337] 상기 표 22-1~표 22-2에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생했다.

[1338] 시험예 15

[1339] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 세포 내 핵산 안정성 시험)

[1340] 하기 표 23에 기재한 각 mRNA에 관해서 HeLa 세포주를 이용하여 세포 내에서의 핵산 안정성을 평가했다. 세포의 배양과 mRNA의 도입은 시험예 3와 같은 방법으로 각 mRNA의 총농도가 30 nM이 되도록 조절하여 도입했다. 각 mRNA를 첨가하여 4시간 배양한 후의 세포로부터 배양 상청을 제거하고, 10% 소태아 혈청을 포함하는 RPMI 배지 (나카라이테스크사 제조)를 1 웰 당 50 μ L 가하여, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양을 계속했다. mRNA를 첨가하여 4시간 후, 8시간 후, 24시간 후에 각각 이하와 같은 세포의 용해 조작을 행했다. 구체적으로는 세포로부터 배양 상청을 제거한 후, 빙냉한 D-PBS(-)(나카라이테스크사 제조)로 한 번 세정한 후, 2%의 프로테아제 저해제 콕테일(동물세포 추출물용, 나카라이테스크사 제조)을 포함하는 iScript RT-qPCR Sample Preparation Reagent (바이오라드사, 1708898)를 1 웰 당 20 μ L 가하고, 30초간 격하게 칩투스키 세포를 용해했다.

[1341] 얻은 세포 용해액 내 잔존 mRNA량은 이하에 기재한 RT-qPCR법에 의해 검출했다. 우선, 검체 희석 용액으로서 Ribonuclease Inhibitor를 총농도 0.2 U/mL로 가한 DW를 조제했다. 검량선은 평가한 mRNA마다 각각 작성하고, 각 mRNA를 핵산 미첨가 세포로부터 조제한 세포 용해액을 검체 희석 용액으로 10배 희석한 용액으로 희석함으로써 1 μ M에서 4배 희석으로 11점 농도를 취하여, 희석 계열을 제작했다. 측정하는 각 세포 용해액은 검체 희석 용액으로 10배 희석했다. 이들 검량선 및 측정하는 세포 용해액을 Ribonuclease Inhibitor를 총농도 0.2 U/mL로 가한 DW를 이용하여 1071배 희석했다. 이후의 역전사 반응과 RT-qPCR 반응은 시험예 7과 같은 방법으로 실시했다. 측정 결과, 표품의 CT치를 바탕으로 검량선을 이용하여, 각 시료 내 각 mRNA의 농도를 정량한 것을 이하의 표 23에 기재했다.

[1342] 표 23:

[1343] [표 23]

각 시험에 있어서의 세포 용해액 내 mRNA 잔존 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | mRNA 잔존 농도 (nM) | | |
|--------|-------|-----------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 도입 4시간 후 | mRNA 도입 8시간 후 | mRNA 도입 24시간 후 |
| E79 | 206 | 12.990 | 22.005 | 11.253 |
| E95 | 234 | 10.980 | 12.803 | 9.763 |
| IVT-1 | 447 | 60.214 | 0.433 | 0.129 |

[1344]

[1345] 상기 표 23에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 mRNA는, IVT법으로 조정된 mRNA와 비교하여 세포 내에서의 분해 내성이 향상되었다.

[1346] 시험예 16

[1347] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주 라이세이트를 이용한 번역 반응 시험)

[1348] 이하의 표 24에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 1과 같은 방법에 의해서 인간세포계에서의 번역 활성을 평가했다. 0.3 μM의 각 mRNA를 첨가한 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM)를 하기 표 24에 기재했다.

[1349] [표 24]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E3 | 8 | 0.500 |
| E36 | 103 | 0.500 |
| E220 | 448 | 0.333 |
| E222 | 454 | 0.833 |
| E221 | 451 | 0.500 |
| E223 | 457 | 11.833 |
| E4 | 11 | 1.333 |
| E65 | 180 | 29.333 |
| E224 | 460 | 7.167 |
| E225 | 463 | 32.000 |

[1350]

[1351] 상기 표 24에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생했다.

[1352] 시험예 17

[1353] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1354] 이하의 표 25에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 2와 같은 방법에 의해서 인간세포계 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성을 평가했다. 3~30 nM의 각 mRNA를 첨가하여 5시간 후의 세포로부터 얻어진 세포 용해액 내 번역 산물 농도(nM)를 이하의 표 25에 기재했다.

[1355] [표 25]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|-----------|-----------|
| | | mRNA 3 nM | mRNA10 nM | mRNA30 nM |
| E3 | 8 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E36 | 103 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E220 | 448 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E222 | 454 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E221 | 451 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E223 | 457 | 0.010 | 0.083 | 0.203 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| E65 | 180 | 0.063 | 0.353 | 0.450 |
| E224 | 460 | 0.020 | 0.127 | 0.300 |
| E225 | 463 | 0.053 | 0.400 | 0.797 |
| E192 | 373 | 0.010 | 0.073 | 0.103 |
| E59 | 164 | 0.080 | 0.517 | 0.747 |

[1356]

[1357] 당 수식 폴리A쇄의 쇠 길이가 5인 E222, 당 수식 폴리A쇄의 쇠 길이가 10인 E223, 당 수식 폴리A쇄의 쇠 길이가 20인 E65, E224 및 E225, 당 수식 폴리A쇄의 쇠 길이가 40인 E59는, 각각 동일한 길이의 무수식의 폴리A쇄를 갖는 mRNA와 비교하여 우수한 번역능을 보였다.

[1358] 시험예 18

[1359] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주를 이용한 인비트로 번역 반응 시험)

[1360] 하기 표 26에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 3과 같은 방법에 의해서 HeLa 세포주를 이용하여 인비트로에서의 번역 활성의 지속성을 평가했다. 30 nM의 각 mRNA를 첨가한 세포로부터 얻어진 세포 용해액 내 번역 산물 농도 (nM)를 이하의 표 26에 기재했다.

[1361] [표 26]

각 mRNA로부터 얻은 번역 산물 농도

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | | |
|--------|-------|---------------|---------------|----------------|
| | | mRNA 첨가 5시간 후 | mRNA 첨가 8시간 후 | mRNA 첨가 24시간 후 |
| E3 | 8 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E36 | 103 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E220 | 448 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E222 | 454 | 0.010 | 0.010 | 0.010 |
| E221 | 451 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E223 | 457 | 0.310 | 0.380 | 0.263 |
| E4 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| E65 | 180 | 0.560 | 0.693 | 0.460 |
| E224 | 460 | 0.370 | 0.507 | 0.337 |
| E225 | 463 | 0.983 | 1.307 | 0.907 |
| E192 | 373 | 0.107 | 0.120 | 0.050 |
| E59 | 164 | 0.803 | 0.997 | 0.623 |

[1362]

[1363] 상기 표 26에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 당 수식을 갖는 각 mRNA는, HeLa 세포에 첨가 후, 유전자 서열로 코딩된 폴리펩티드를 생성하고, 그 번역량은 폴리A쇄 길이에 따라, 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하여 우수했다.

[1364] 시험예 19

[1365] (mRNA 샘플의 HeLa 세포주 라이세이트를 이용한 번역 반응 시험)

[1366] 하기 표 27-1~표 27-5에 기재한 각 mRNA에 관해서 시험예 8와 같은 방법에 의해서 인간세포계에서의 번역 활성을 평가했다. 1 μM의 mRNA를 첨가한 번역 반응 용액 내 번역 산물 농도(nM) 및 당 수식을 갖지 않는 mRNA인 E226 또는 E30을 1로 했을 때의 상대 번역 산물량을 이하의 표 27-1~27-5에 기재했다.

[1367] 표 27-1~표 27-5:

[1368] [표 27-1]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E226 | 466 | 0.987 | 1.00 |
| E227 | 467 | 1.787 | 1.81 |
| E228 | 468 | 2.560 | 2.59 |
| E229 | 469 | 2.347 | 2.38 |

[1369]

[1370] [표 27-2]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E30 | 89 | 0.333 | 1.00 |
| E230 | 470 | 1.347 | 4.04 |
| E231 | 471 | 1.520 | 4.56 |
| E232 | 472 | 1.173 | 3.52 |
| E233 | 473 | 0.640 | 1.92 |

[1371]

[1372] [표 27-3]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E30 | 89 | 0.680 | 1.00 |
| E230 | 470 | 2.347 | 3.45 |
| E231 | 471 | 2.080 | 3.06 |
| E234 | 474 | 1.333 | 1.96 |

[1373]

[1374] [표 27-4]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) | 상대 번역 산물량 |
|--------|-------|---------------|-----------|
| E30 | 89 | 0.720 | 1.00 |
| E230 | 470 | 2.307 | 3.20 |
| E235 | 475 | 1.867 | 2.59 |
| E236 | 476 | 1.000 | 1.39 |
| E237 | 477 | 2.107 | 2.93 |

[1375]

[1376] [표 27-5]

| mRNA 명 | 서열 번호 | 번역 산물 농도 (nM) |
|--------|-------|---------------|
| E230 | 470 | 2.227 |
| E235 | 475 | 1.453 |
| E237 | 477 | 2.040 |
| E238 | 478 | 2.253 |
| E239 | 479 | 1.587 |
| E240 | 480 | 2.413 |

[1377]

[1378] 상기 표 27-1~표 27-5에 나타내는 시험 결과로부터 분명한 것과 같이, 각 mRNA는, HeLa 세포 라이세이트에 첨가 후, 진핵세포의 번역계에 의해서 유전자 서열로 코드된 폴리펩티드를 산생하고, 그 번역량은 당 수식을 갖지 않는 mRNA에 대하다 우수했다.

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Kyowa Kirin Co., Ltd.

National University Corporation Tokai National H

<120> Polynucleotide and pharmaceutical composition

<130> K1635ANP0001

<150> JP 2021-109239

<151> 2021-06-30

<150> JP 2021-169846

<151> 2021-10-15

<160> 480

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 145

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E1

<400> 1

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 2

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E1-1

<400> 2

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 3

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E1-2

<400> 3

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 4
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> template DNA 1
 <400> 4
 cctttatcgt cgicgtcttt atagtcgatg 30
 <210> 5
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E2
 <400> 5
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 6
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E2-1
 <400> 6
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 7
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E2-2
 <400> 7
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 8
 <211> 145

<212
 > RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E3
 <400> 8
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 9
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E3-1
 <400> 9
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 10
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E3-2
 <400> 10
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 11
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E4
 <400> 11
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 12
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E4-1
 <400> 12
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 13
 <211> 85
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E4-2
 <400> 13
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 14
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E5
 <400> 14
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 15
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E5-1
 <400> 15
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 16
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E5-2
 <400> 16
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 17
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E6
 <400> 17
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 18
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E6-1
 <400> 18
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 19
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E6-2
 <400> 19
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210> 20

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E7

<400> 20

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 21

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E7-1

<400> 21

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 22

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E7-2

<400> 22

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 23

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E8

<400> 23

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 24

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E8-1

<400> 24

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 25

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E8-2

<400> 25

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 26

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E9

<400> 26

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 27

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E9-1

<400> 27

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 28
 <211> 85
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E9-2
 <400> 28
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 29
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E10
 <400> 29
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 30
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E10-1
 <400> 30
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 31
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E10-2
 <400> 31
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acuga 65

<210> 32

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E11

<400> 32

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acugaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 33

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E11-1

<400> 33

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 34

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E11-2

<400> 34

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acugaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 35

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E12

<400> 35

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 36

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E12-1

<400> 36

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 37

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E12-2

<400> 37

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 38

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E13

<400> 38

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 39

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E13-1

<400> 39

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 40
<211> 85
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E13-2
<400> 40

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 41
<211> 165
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E14
<400> 41

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 42
<211> 80
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E14-1
<400> 42

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 43
<211> 85
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E14-2
<400> 43

| | |
|---|-----|
| acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc | 60 |
| acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa | 85 |
| <210> 44 | |
| <211> 165 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E15 | |
| <400> 44 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga | 120 |
| caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa | 165 |
| <210> 45 | |
| <211> 80 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E15-1 | |
| <400> 45 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuuaaag | 80 |
| <210> 46 | |
| <211> 85 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E15-2 | |
| <400> 46 | |
| acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc | 60 |
| acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa | 85 |
| <210> 47 | |
| <211> 165 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E16 | |
| <400> 47 | |

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 48

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E16-1

<400> 48

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 49

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E16-2

<400> 49

acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 50

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E17

<400> 50

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 51

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E17-1

<400> 51
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 52

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E17-2

<400> 52

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 53

<211> 145

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E18

<400> 53

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 54

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E18-1

<400> 54

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 55

<211> 65

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E18-2

<400> 55
acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
acuga 65
<210> 56

<211> 145
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E19
<220><221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (6)..(7)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (11)..(12)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Am6(M)
<400> 56
ggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc acuga 145
<210> 57
<211> 80
<212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E19-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(M)
 <400> 57
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 58
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E19-2
 <400> 58
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 59
 <211> 145

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E20

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Am6(F)

<400> 59

ggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 60

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E20-1

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(F)
 <400> 60
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 61
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E20-2
 <400> 61
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210> 62
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E21
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Am6(F)

<400> 62

ggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 63

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E21-1

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <
 220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(F)
 <400> 63
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 64
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E21-2
 <400> 64

 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 65
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E22
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(F)

<220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <
 222> (16)..(16)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(F)
 <400> 65
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 66
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E22-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)
 <223> Am6(F)

<220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(F)
 <400> 66
 ggngnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 67
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E22-2
 <400> 67
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210> 68
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E23
 <400> 68
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 69

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E23-1

<400> 69

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 70

<211> 65

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E23-2

<400> 70

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acuga 65

<210> 71

<211> 145

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E24

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(7)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(M)
 <400>
 71
 ggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 72
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E24-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(M)
 <220><
 221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)

<223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(M)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(M)
 <400> 72
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngcnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 73
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E24-2
 <400> 73
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 74
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E25
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)

<223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)

<223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(F)
 <400> 74

| | |
|---|-----|
| gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga | 120 |
| caaacaccac caccaccacc acuga | 145 |

<210> 75
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E25-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(7)

<223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)

<223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (31)..(31)
 <223> Am6(F)
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Am6(F)
 <400> 75
 gggngnnunc nngcuncuug uucuuuuugc ngccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 76
 <211> 65

 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E25-2
 <400> 76
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 77
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E26
 <400> 77
 ggggaaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaagg acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

 <210> 78
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E26-1
 <400> 78

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80
<210> 79
<211> 85
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E26-2
<400> 79
acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
<210> 80
<211> 165
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E27
<400> 80
gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
<210> 81
<211> 80
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E27-1
<400> 81
gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80
<210> 82
<211> 85
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E27-2
<400> 82

acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 83
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E28
 <400> 83
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

 <210> 84
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E28-1
 <400> 84
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80
 <210> 85
 <211> 85
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E28-2
 <400> 85
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 86

 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E29
 <400> 86

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 87

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E29-1

<400> 87

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 88

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E29-2

<400> 88

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 89

<211> 91

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E30

<400> 89

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91

<210> 90

<211> 91

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E31

<400> 90

| | |
|---|-----|
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |
| <210> 91 | |
| <211> 145 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E32 | |
| <400> 91 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga | 120 |
| caaacaccac caccaccacc acuga | 145 |
| <210> 92 | |
| <211> 80 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> 32-1 | |
| <400> 92 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuauaaag | 80 |
| <210> 93 | |
| <211> 65 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E32-2 | |
| <400> 93 | |
| acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc | 60 |
| acuga | 65 |
| <210> 94 | |
| <211> 145 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E33 | |
| <400> 94 | |

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 95
<211> 80
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E33-1
<400> 95

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 96
<211> 65
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E33-2
<400> 96

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
acuga 65

<210> 97
<211> 145
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E34
<400> 97

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 98
<211> 65
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E34-1

<400> 98
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 99
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E34-2
 <400> 99
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 100

 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E35
 <400> 100
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 101
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E35-1
 <400> 101
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80

 <210> 102
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E35-2

<400> 102
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210> 103
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E36

<400> 103
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 104
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E36-1

<400> 104
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 105
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E36-2

<400> 105
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210>
 106
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E37

<400> 106
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 107

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E37-1

<400> 107
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 108

<211> 65

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E37-2

<400> 108
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65

<210> 109

<211> 145

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E38

<400> 109
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

<210> 110

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E38-1
 <400> 110
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 111
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E38-2
 <400> 111
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210>
 112
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E39
 <400> 112
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 113
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E39-1
 <400> 113
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 114
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E39-2
 <400> 114
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 115
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E40
 <400> 115
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

 <210> 116
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E40-1
 <400> 116
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 117
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E40-2
 <400> 117
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210>
 118
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E41
 <400> 118
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccac acuga 145
 <210> 119
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E41-1
 <400> 119
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 120
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E41-2
 <400> 120
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccac 60
 acuga 65
 <210> 121
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E42
 <400> 121
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccac acuga 145
 <210> 122
 <211> 80
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> 42-1
 <400> 122
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 123
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 42-2
 <400> 123
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 124

 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E43
 <400> 124
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145
 <210> 125
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E43-1
 <400> 125
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

 <210> 126
 <211> 65
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E43-2
 <400> 126
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210> 127
 <211> 145
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E44
 <400> 127
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acuga 145

 <210> 128
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E44-1
 <400> 128
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 129
 <211> 65
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E44-2
 <400> 129
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acuga 65
 <210>
 130
 <211> 165
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E45

<400> 130

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 131

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E45-1

<400> 131

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 132

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E45-2

<400> 132

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 133

<211> 165

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E46

<400> 133

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 134

<211> 80

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E46-1
 <400> 134
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 135
 <211> 85
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E46-2
 <400> 135
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 136
 <211> 145
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E47
 <400> 136
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actga 145
 <210> 137
 <211> 145
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E38
 <400> 137
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actga 145
 <210> 138

<211> 145
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E49
 <400> 138
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actga 145
 <210> 139
 <211> 145
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E50
 <400> 139
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actga 145
 <210> 140
 <211> 149
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E51
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> rSpacer

<400> 140
 gggagaauc aagcuacuun gunucnuunu uugcagccac cauggacuac aaggacgacg 60

acgacaagau caucgacuau aaagacgacg acgauaaagg uggcgacuau aaggacgacg 120
 acgacaaaca ccaccaccac caccactga 149

<210> 141
 <211> 84
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E51-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> rSpacer

<400> 141
 gggagaauc aagcuacuun gunucnuunu uugcagccac cauggacuac aaggacgacg 60

acgacaagau caucgacuau aaag 84
 <210> 142
 <211> 65
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E51-2

<400> 142
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actga 65
 <210> 143

<211> 145
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E52
 <400> 143
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

 caaacaccac caccaccacc actga 145
 <210> 144
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E52-1
 <400> 144
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 145
 <211> 65
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E52-2
 <400> 145
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actga 65

 <210> 146
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E53
 <400> 146
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 147
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E53-1
 <400> 147
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 148
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E53-2
 <400> 148
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaaag acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 149
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E54
 <400> 149
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaaag acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 150
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E54-1
 <400> 150
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 151
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E54-2
 <400> 151
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 152
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E55
 <400> 152
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 153
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E55-1
 <400> 153
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80

<210> 154
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E55-2
 <400> 154
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 155
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E56
 <400> 155
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 156
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E56-1
 <400> 156
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 157
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E56-2
 <400> 157
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 158
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E57
 <400> 158
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 159
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E57-1
 <400> 159
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

 <210> 160
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E57-2
 <400> 160
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

 <210> 161
 <211> 185
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E58
 <400> 161
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

 aaaaa 185
 <210> 162
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E58-1
 <400> 162

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80
<210> 163
<211> 105
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E58-2
<400> 163
acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 105
<210> 164
<211> 185
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E59
<400> 164
gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
aaaaa 185
<210> 165
<211> 80
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E59-1
<400> 165
gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80
<210> 166
<211> 105
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E59-2

<400> 166
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 105

<210> 167
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E60

<400> 167
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120

 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 168
 <211> 80
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E60-1

<400> 168
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80

<210> 169
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E60-2

<400> 169
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 170
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E61

<400> 170
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91

<210> 171
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E62

<400> 171
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 172
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E62-1

<400> 172
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 173
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E62-2

<400> 173
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 174
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E63-1

<400> 174
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 175

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E63-1

<400> 175
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 176

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E63-2

<400> 176
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 177

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E64

<400> 177
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 178

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E64-1
 <400> 178
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 179
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E64-2
 <400> 179
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 180
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E65
 <400> 180
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 181
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E65-1
 <400> 181
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 182
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E65-2
 <400> 182
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 183
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E66
 <400> 183
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

 <210> 184
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E66-1
 <400> 184
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80
 <210> 185
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E66-2
 <400> 185
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 186
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E67
 <400> 186
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 187
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E67-1
 <400> 187
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 188
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E67-2
 <400> 188
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 189
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E68
 <400> 189
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 190
 <211> 80
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E68-1
 <400> 190
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 191
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E68-2
 <400> 191
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 192
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E69
 <400> 192
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 193
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E69-1
 <400> 193
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 194
 <211> 85
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E69-2
 <400> 194
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 195
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E70
 <400> 195
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

 <210> 196
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E70-1
 <400> 196
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80
 <210> 197
 <211> 85
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E70-2
 <400> 197
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 198
 <211> 91
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E71
 <400> 198
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 199
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E72
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer

 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 199
 gggagaauc aagcuacung nunuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 200
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E73
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> dSpacer
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> dSpacer
 <400> 200
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 201
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E74
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> C3
 <400> 201
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 202
 <211> 91

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E75
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Pyrrolidine
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> Pyrrolidine
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> Pyrrolidine
 <220><221> misc_feature

 <222> (25)..(25)
 <223> Pyrrolidine
 <400> 202
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuaaaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 203
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E76
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Ethynyl-dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> Ethynyl-dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> Ethynyl-dSpacer
 <220>
 ><221> misc_feature

<222> (25)..(25)
 <223> Ethynyl-dSpacer
 <400> 203
 gggagaauc aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 204
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E77
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> rSpacer
 <220>
 ><221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> rSpacer
 <400> 204
 gggagaaunc nancnacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 205
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E78
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)..(28)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature

<222> (30)..(30)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> rSpacer
 <220><221
 > misc_feature
 <222> (34)..(34)
 <223> rSpacer
 <400> 205
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuungn ancaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 206
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E79
 <400> 206
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 207
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E79-1
 <400> 207
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 208
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E79-2

<400> 208
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 209

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E80

<400> 209
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 210

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E80-1

<400> 210
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80

<210> 211

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E80-2

<400> 211
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 212

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E81

<400> 212
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 213

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E81-1

<400> 213

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 214

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E81-4

<400> 214

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>

215

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E82

<400> 215

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 216

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E82-1
 <400> 216
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 217
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E82-2
 <400> 217
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 218
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E83
 <400> 218
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 219
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E83-1
 <400> 219
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 220
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E83-2
 <400> 220
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 221
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E84
 <400> 221
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 222
 <211> 80
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E84-1
 <400> 222
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaaag 80
 <210> 223
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E84-2
 <400> 223
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 224
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E85
 <400> 224
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 225

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E86
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 225
 gggagaauac aagcuacung nunuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 226

<211>
 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E87
 <400> 226
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 227

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E88
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> rSpacer
 <220>
 ><221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> rSpacer
 <400> 227
 gggagaauac aagcuacnun uncnuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 228
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E89
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> rSpacer

<400> 228

gggagaaunc nancnacung nununuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 229

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E90

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(25)

<223> rSpacer

<400> 229

gggagaauc aagcuacnnn nnnnnuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 230

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E91
<220><221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> rSpacer

<220><221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> rSpacer
<220><221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> n is a, c, g, t or u
<220><221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223>

rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> rSpacer
 <400> 230
 gggaganunc nancnanung nununununc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 231
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E92
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> rSpacer

 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature

<222> (22)..(22)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)..(28)
 <223> rSpacer
 <
 220><221> misc_feature
 <222> (30)..(30)
 <223> rSpacer
 <400> 231
 gggagaanan angnuncnun uncnunungn agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 232
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E93
 <400> 232
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 233
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E94
 <400> 233
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 234
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E95
 <400> 234
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 235
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E95-1
 <400> 235
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 236
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E95-2
 <400> 236
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 237
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E96
 <400> 237
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91

<210> 238
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E97
 <400> 238
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 239
 <
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E98
 <400> 239
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 240
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E99
 <400> 240
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 241
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E100
 <400> 241
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 242

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E101
 <400> 242
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 243
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E102
 <400> 243
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 244
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E103
 <400> 244
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 245
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E104
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)

<223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <400> 245
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 246
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E105
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> rSpacer
 <400> 246
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc anccnccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 247

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E106
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> dSpacer
 <400> 247

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 248
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E107

<220><221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> dSpacer
 <400> 248
 gggagaaauac aagcuacuug uucuuuuugc anccnccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 249
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> E108
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> C3
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)

<223> C3

<400> 249

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 250

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E109

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> C2

<400> 250

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc anccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 251

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E110

<400> 251

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 252

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E111

<400> 252

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 253
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>
 > E112
 <400> 253
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 254
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E113
 <400> 254
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 255
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E114
 <400> 255
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 256
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E115
 <400> 256
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 257

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E116

<400> 257

gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 258

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E117

<400> 258

gggagaauac aagctactug tuctuutugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 259

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E118

<400> 259

gggagaauac aagcuacutg utcutuutgc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 260

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E119

<400> 260

gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 261

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E120
 <400> 261
 gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 262
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E121
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer

<400> 262
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 263
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E122
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> rSpacer
 <400> 263
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc anccnccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 264
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E123
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> dSpacer

<220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> dSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)

 <223> dSpacer
 <400> 264
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 265
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E124
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> C2
 <220><221>
 > misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> C2
 <400> 265
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 266
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E125
 <400> 266
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

 <210> 267
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E126
 <400> 267
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 268
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E127
 <400> 268
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 269

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E128
 <400> 269
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 270
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E129
 <400> 270
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 271
 <211> 91

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E130
 <400> 271
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 272
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E131
 <400> 272
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 273
 <211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E132

<400> 273

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 274

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E133

<400> 274

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 275

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E134

<400> 275

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 276

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E135

<400> 276

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 277

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> E136

<400> 277

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 278

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E137

<400> 278

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 279

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E138

<400> 279

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 280

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E139

<400> 280

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 281

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E140

<400> 281

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 282

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E141

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> rSpacer

<400> 282

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 283

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E142

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> rSpacer

<400> 283

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 284

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E183

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> dSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> dSpacer

<400> 284

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 285

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E144

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> C2

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> C2

<400> 285

gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 286

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E145

<400> 286

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 287

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E146

<400> 287
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 288
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E147
 <400> 288
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 289

 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E148
 <400> 289
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 290
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E149
 <400> 290
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 291
 <211> 91

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E150
 <400> 291

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 292
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E151
 <400> 292
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 293
 <211> 91
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E152
 <400> 293
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 294
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 153
 <400> 294
 gggagaatac aagcuacutg utcuttutgc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 295
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> 154
 <400> 295
 gggagaatac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 296
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E155
 <400> 296
 gggagaatac aagctactug tuctuttugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 297
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>
 > E156
 <400> 297
 gggagaatac aagctacttg tctttttg agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 298
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E157
 <400> 298
 gggagaauac aagcuacutg utcutuutgc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 299
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E158
 <400> 299
 gggagaauac aagctactug tuctuutugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 300
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E159
 <400> 300
 gggagaauac aagctacttg ttcttuttgc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 301
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E160
 <400> 301

 gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 302
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E161
 <400> 302
 gggagaatac aagctactug tuctuttugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 303
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E162
 <400> 303
 gggagaatac aagcuacuug uucuuguugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 304

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E163
 <400> 304
 gggagaatac aagctactug tuctuttugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 305
 <211> 189
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E164
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222>
 (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> rSpacer
 <400> 305
 gggagaauac aagcuacuun gunucnuunu uugcagccac cauggacuac aaggacgacg 60
 acgacaagau caucgacuau aaagacgacg acgauaaagg uggcgacuau aaggacgacg 120
 acgacaaca ccaccaccac caccactgaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
 aaaaaaaaaa 189
 <210> 306
 <211> 84
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E164-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (29)..(29)
 <223> rSpacer
 <400> 306
 gggagaauac aagcuacuun gunucnuunu uugcagccac cauggacuac aaggacgacg 60
 acgacaagau caucgacuau aaag 84
 <210> 307
 <211> 105
 <212> DNA
 <
 213> Artificial Sequence
 <220><223> E164-2
 <400> 307
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 105
 <210> 308
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E165
 <400> 308
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucac gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 309
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E165-1
 <400> 309
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 310
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E165-2
 <400> 310
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 > 311
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E166
 <400> 311
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 312
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E166-1
 <400> 312
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 313
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E166--2
 <400> 313
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 314
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E167
 <400> 314
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 315
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E167-1
 <400> 315
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80
 <210> 316
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E167-2
 <400> 316
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>

> 317

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E168

<400> 317

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 318

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E168-1

<400> 318

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 319

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E168-2

<400> 319

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 320

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E169

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)

 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 320
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 321
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E169-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)

 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 321
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 322

<211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E169-2
 <400> 322
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 323
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E170
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 323
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucac gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 324
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E170-1

<220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 324
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210
 > 325
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E170-2
 <400> 325
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 326
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E171
 <400> 326
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 327

<211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E171-1
 <400> 327
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 328
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E171-2
 <400> 328
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210
 > 329
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E172
 <400> 329
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 330
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E172-1
 <400> 330
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 331

<211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E172-2
 <400> 331
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 332
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E173
 <400> 332
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaagg acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

 <210> 333
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E173-1
 <400> 333
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuuaaag 80
 <210> 334
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E173-2
 <400> 334
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 > 335

<211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E174
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 335

| | |
|---|-----|
| gggagaauc aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga | 60 |
| caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga | 120 |
| caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa | 165 |

<210> 336
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E174-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer

<220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> rSpacer
 <400> 336
 gggagaauac aagcuacung nununuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210
 > 337
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E174-2
 <400> 337
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 338
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E175
 <400> 338
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 339
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E176
 <400> 339
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 340

<211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E177
 <400> 340
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 341
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E178
 <400> 341
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 342
 <211> 165
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E179
 <400> 342
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 343
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E180
 <400> 343
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 344
 <211> 80
 <212>
 > RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E180-1
 <400> 344
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 345
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E180-2
 <400> 345
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 346
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E181
 <400> 346
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 347
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E181-1
 <400> 347

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 348
<211> 85
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E181-2
<400> 348

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 349
<211> 175
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E182
<400> 349

gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug gacuacaagg 60
acgacgacga caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg 120
acgacgacga caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 175

<210> 350
<211> 175
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E183
<400> 350

gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug gacuacaagg 60
acgacgacga caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg 120
acgacgacga caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 175

<210> 351
<211> 90
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> E183-1

<400> 351
 gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug gacuacaagg 60
 acgacgacga caagaucauc gacuauaaag 90

<210> 352
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E183-2

<400> 352
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 353
 <211> 175
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E184

<400> 353
 gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug gacuacaagg 60
 acgacgacga caagaucauc gacuuaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg 120
 acgacgacga caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 175

<210> 354
 <211> 90
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E184-1

<400> 354
 gggaaaauag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug gacuacaagg 60
 acgacgacga caagaucauc gacuuaaag 90

<210> 355
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E184-2

<400> 355
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210

> 356

<211> 175

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E185

<400> 356
 gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug gacuacaagg 60
 acgacgacga caagaucauc gacuuaaagg acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg 120
 acgacgacga caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 175

<210> 357

<211> 90

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E185-1

<400> 357
 gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaaag agccaccaug gacuacaagg 60
 acgacgacga caagaucauc gacuuaaagg 90

<210> 358

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E185-2

<400> 358
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 359

<211> 178

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E186

<400> 359
 gggagaccuc uucugguccc cacagacuca gagagaaccc accggccacc auggacuaca 60
 aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga cgauaaaggu ggcgacuaua 120
 aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accacugaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 178

<210> 360
 <211> 178
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E187

<400> 360
 gggagaccuc uucugguccc cacagacuca gagagaaccc accggccacc auggacuaca 60
 aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga cgauaaaggu ggcgacuaua 120
 aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accactgaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 178

<210> 361
 <211> 93
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E187-1

<400> 361
 gggagaccuc uucugguccc cacagacuca gagagaaccc accggccacc auggacuaca 60
 aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aag 93

<210> 362
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E187-2

<400> 362
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 85

<210> 363
 <211> 178
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E188
 <400> 363
 gggagaccuc uucugguccc cacagacuca gagagaaccc accggccacc auggacuaca 60
 aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga cgauaaaggu ggcgacuaua 120
 aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accactgaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 178

<210> 364
 <211> 93
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E188-1
 <400> 364
 gggagaccuc uucugguccc cacagacuca gagagaaccc accggccacc auggacuaca 60
 aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aag 93

<210> 365
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E188-2
 <400> 365
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210>
 > 366
 <211> 138
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E189
 <400> 366
 gggagccacc auggacuaca aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga 60
 cgauaaaggu ggcgacuaua aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accacugaaa 120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 138

<210> 367
 <211> 138
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E190
 <400> 367
 gggagccacc auggacuaca aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga 60
 cgauaaaggu ggcgacuaua aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accactgaaa 120

 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 138
 <210> 368
 <211> 53
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E190-1
 <400> 368
 gggagccacc auggacuaca aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aag 53
 <210> 369
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E190-2
 <400> 369
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 > 370
 <211> 138
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E191
 <400> 370
 gggagccacc auggacuaca aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aagacgacga 60
 cgauaaaggu ggcgacuaua aggacgacga cgacaaacac caccaccacc accactgaaa 120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 138
 <210> 371
 <211> 53
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E191-1
 <400> 371
 gggagccacc auggacuaca aggacgacga cgacaagauc aucgacuaua aag 53
 <210> 372

<211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E191-2
 <400> 372
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 373
 <211> 185
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E192
 <400> 373
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
 aaaaaa 185
 <210> 374
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E193
 <400> 374
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 375
 <211> 80

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E193-1
 <400> 375
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 376
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E193-2
 <400> 376
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210> 377
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E194
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222>
 (11)..(11)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)

<223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <400> 377
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 378
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E194-1
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (23)..(23)

<223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> rSpacer
 <400> 378
 gggagaanac nagnuanuun uunuunuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 379
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E194-2
 <400> 379
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

 <210> 380
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E195
 <220><221> misc_feature
 <222> (32)..(32)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> rSpacer
 <400> 380
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc anccnccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 381
 <211> 80
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E195-1

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> rSpacer

<400> 381

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc anccccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 382

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E195-2

<400> 382

acgacgacga uaaagguggc gacuauaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 383

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E196

<220><221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> rSpacer

<400> 383

gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccnug nacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 384

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E196-1

<220><221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> rSpacer

<400> 384

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccnug nacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 385

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E196-2

<400> 385

acgacgacga uaaagguggc gacuauaaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 386

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E197

<220><221> misc_feature

<222> (110)..(110)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (113)..(113)

<223> rSpacer
 <400> 386
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuuaagn acnacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165
 <210> 387
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E197-1
 <400> 387
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 388
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E197-2
 <220><221> misc_feature
 <222> (30)..(30)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (33)..(33)
 <223> rSpacer
 <400> 388
 acgacgacga uaaagguggc gacuuaagn acnacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 389
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E198
 <220><221> misc_feature

<222> (158)..(158)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (161)..(161)
 <223> rSpacer
 <400> 389
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaanaa naaaa 165
 <210> 390
 <211> 80
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> E198-1
 <400> 390
 gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 391
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E198-2
 <220><221> misc_feature
 <222> (78)..(78)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (81)..(81)
 <223> rSpacer
 <400> 391
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaanaa naaaa 85
 <210> 392
 <211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E199

<220><221> misc_feature

<222> (146)..(146)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (149)..(149)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (152)..(152)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (155)..(155)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (158)..(158)

<223> rSpacer

<220><221> misc_feature

<222> (161)..(161)

<223> rSpacer

<400> 392

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actganaana anaanaanaa naaaa 165

<210> 393

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E199-1

<400> 393

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 394

<211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E199-2
 <220><221> misc_feature

 <222> (66)..(66)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (69)..(69)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (72)..(72)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (75)..(75)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (78)..(78)
 <223> rSpacer
 <220><221> misc_feature
 <222> (81)..(81)
 <223> rSpacer
 <400> 394
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actganaana anaanaanaa naaaa 85

<210> 395
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E200
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> C2

<400> 395
 gggagaauc aagcuacung uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 396
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E201
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> C2
 <220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> C2

<400> 396
 gggagaauc aagcuacung uuuuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 397
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E202
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Spacer9

<400> 397
 gggagaauc aagcuacunu uuuuuuugca gccaccaugg acuauaagga cgacgacgac 60
 aaagguggcc accaccacca ccaccactga 90
 <210> 398
 <211> 90
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E203

<220><221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> Spacer9
 <400> 398
 gggagaauac aagcuacuug uunuuuugca gccaccaugg acuauaagga cgacgacgac 60
 aaagguggcc accaccacca ccaccactga 90
 <210> 399
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E204
 <400> 399
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

 <210> 400
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E205
 <400> 400
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 401
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E206
 <400> 401
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 402

 <211> 91
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E207
 <400> 402
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 403
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E208
 <400> 403
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 404
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E209
 <400> 404
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 405
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E210
 <400> 405
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 406
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E211
 <400> 406
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 407
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E212
 <400> 407
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 408
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E213
 <400> 408
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 409
 <211> 95
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E214
 <400> 409
 gggggagaau acaagcuacu uguucuuuuu gcagccacca uggacuauaa ggacgacgac 60
 gacaaaggug gccaccacca ccaccaccac tgaaa 95
 <210> 410
 <211> 165
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><
 223> E215

<400> 410
 gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 411

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E215-1

<400> 411
 gggagaatac aagcuacuug uucuutuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<

210> 412

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E215-2

<400> 412
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 413

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E216

<400> 413
 gggagaatac aagcuacutg utcuttutgc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 414

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E216-1
 <400> 414
 gggagaatac aagcuacutg utcuttutgc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 415
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E216-2
 <400> 415
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85
 <210>
 > 416
 <211> 194
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E217
 <400> 416
 cauaaacccu ggcgcgucgc cgggccggca cucuucuggu ccccacagac ucagagagaa 60
 cccaccaugg acuacaagga cgacgacgac aagaucaucg acuauaaaga cgacgacgau 120
 aaagguggcg acuauaagga cgacgacgac aacaccacc accaccacca cugaaaaaaaa 180
 aaaaaaaaaa aaaa 194
 <210> 417
 <211> 81
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E217-1
 <400> 417
 cauaaacccu ggcgcgucgc cgggccggca cucuucuggu ccccacagac ucagagagaa 60

 cccaccaugg acuacaagga c 81
 <210> 418
 <211> 57
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> E217-2
 <400> 418
 gacgacgaca agaucaucga cuauaaagac gacgacgaua aagguggcga cuauaag 57
 <210> 419
 <211> 56
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E217-3
 <400> 419
 gacgacgacg acaaacacca ccaccaccac cacugaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 56
 <210> 420
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> template DNA 2
 <400> 420
 gatcctgtcg tcgtcgtcct tgtagtccat 30
 <210> 421
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> template DNA 3
 <400> 421
 tttgtcgtcg tcgtccttat agtcgccacc 30
 <210> 422
 <211> 194
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E218
 <400> 422
 cataaacccu ggcgcgcucg cgggccggca cucuucuggu cccacagac ucagagagaa 60
 cccaccaugg acuacaagga cgacgacgac aagaucgacg acuaaaaaga cgacgacgau 120

aaagggcg acuaaagga cgacgacgac aaacaccacc accaccacca ctgaaaaaaaa 180
 aaaaaaaaa aaaa 194
 <210> 423
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E218-1
 <400> 423
 cataaacccu ggcgcgucg cgggccggca cucuucuggu cccacagac ucagagagaa 60
 cccaccaugg acuacaagga c 81
 <210> 424
 <211> 57
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E218-2
 <400> 424
 gacgacgaca agaucaucga cuauaaagac gacgacgaua aagguggcga cuauaag 57
 <210> 425
 <211> 56
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E218-3
 <400> 425
 gacgacgacg acaaacacca ccaccaccac cactgaaaaa aaaaaaaaa aaaaaa 56
 <210> 426
 <211> 194
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E219
 <400> 426
 cataaacccu ggcgcgucg cgggccggca cucuucuggu cccacagac ucagagagaa 60
 cccaccaugg acuacaagga cgacgacgac aagaucaucg acuauaaaga cgacgacgau 120
 aaagggcg acuaaagga cgacgacgac aaacaccacc accaccacca ctgaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaa 194

<210> 427
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E219-1
 <400> 427
 cataaacccu ggcgcgcucg cgggccggca cucuucuggu ccccacagac ucagagagaa 60
 cccaccaugg acuacaagga c 81
 <210> 428
 <211> 57
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E219-2
 <400> 428
 gacgacgaca agaucaucga cuauaaagac gacgacgaua aagguggcga cuauaag 57
 <210> 429
 <211> 56
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E219-3
 <400> 429
 gacgacgacg acaaacacca ccaccaccac cactgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 56
 <210> 430
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> translated product standard
 <400> 430
 Met Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ile Ile Asp Tyr Lys Asp Asp
 1 5 10 15
 Asp Asp Lys Gly Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His His His
 20 25 30

His His His

35

<210> 431

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> RT primer

<400> 431

tcagtgggtgg tgggtgggtg gtttg 25

<210> 432

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fw primer

<400> 432

atcttgcgt cgtcgtcctt 20

<210> 433

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Rv primer

<400> 433

gaatacaagc tacttgttct ttt 23

<210> 434

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Taqman MGB Probe

<400> 434

cagccacat g 11

<210> 435

<211> 17

<212> PRT

<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (15)..(18)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (20)..(21)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (26)..(27)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (29)..(30)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature

<222> (32)..(34)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (36)..(36)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (38)..(39)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (41)..(41)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Am6(F)

| | |
|--|-----|
| <400> 438 | |
| gggaaaunng ngngnnnngn ngngunngnn gnnnununng ngccnccaug aacuuucugc | 60 |
| ugucuu | 66 |
| <210> 439 | |
| <211> 802 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> GN | |
| <400> 439 | |
| aattcagtac ttaatacagac tcactatagg gtgcattgga gccttgcctt gctgctctac | 60 |
| ctccaccatg ccaagtggc caggctgca cccatggcag aaggaggagg gcagaatcat | 120 |
| cacgaagtgg tgaagtccat ggatgtctat cagcgcagct actgccatcc aatcgagacc | 180 |
| ctggtggaca tcttccagga gtaccctgat gagatcgagt acatcttcaa gccatcctgt | 240 |
| gtgccctga tgcgatgagg gggctgctgc aatgacgagg gcctggagtg tgtgccact | 300 |
| gaggagtcca acatcacat gcagattatg cggatcaaac ctaccaagg ccagcacata | 360 |
| ggagagatga gcttctaca gcacaacaaa tgtgaatgca gaccaaagaa agatagagca | 420 |
| agacaagaaa atccctgtgg gccttgctca gagcggagaa agcatttgtt tgtacaagat | 480 |
| ccgcagacgt gtaaatgtc ctgcaaaaac acagactcgc gttgcaaggc gaggcagctt | 540 |
| gagttaaagc aacgtacttg cagatgtgac aagccgaggc ggtgataata ggctggagcc | 600 |
| tcggtggcca tgcttcttg cccttgggccc tccccccagc ccctcctccc ctctctgac | 660 |
| ccgtaccccc gtggtctttg aataaagtct gaggggcgg caaaaaaaaa aaaaaaaaa | 720 |
| aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa | 780 |
| aaaaaaaaa aaaaaaaaa at | 802 |
| <210> 440 | |
| <211> 30 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> template DNA 4 | |
| <400> 440 | |
| ggctccaatg cacccaagac agcagaaagt | 30 |
| <210> 441 | |
| <211> 844 | |

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF-1

<400> 441

gggaaauaag agagaaaaga agaguaagaa gaaauuaag agccaccaug aacuuucugc 60

ugucuugggu gcauuggagc cuugccuugc ugcucuaccu ccaccaugcc aagugguccc 120

aggcugcacc cauggcagaa ggaggagggc agaaucauca cgaaguggug aaguucaugg 180

augucuauca ggcgagcuac ugccaucua ucgagaccu gguggacauc uuccaggagu 240

accugauga gaucgaguac aucuuaagc cauccugugu gcccugaug cgaugcgagg 300

gcugcugcaa ugacgagggc cuggagugug ugcccacuga ggaguccaac aucaccaugc 360

agauuagcg gaucaaacu caccaaggcc agcacauagg agagaugagc uuccuacagc 420

acaacaaug ugaauagcaga ccaaagaaag auagagcaag acaagaaaa cccugugggc 480

cuugcucaga gcggagaaag cauuuguuug uacaagauc gcagacgugu aaauguuccu 540

gcaaaaaac agacucgcgu ugcaaggcga ggcagcuuga guuaaacgaa cguacuugca 600

gaugugacaa gccgaggcgg ugauaaauagg cuggagccuc gguggccaug cuucuugccc 660

cuugggccuc cccccagccc cuccucccu uccugcacc guacccccgu ggucuuugaa 720

uaaagucuga gugggcggca aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780

aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaaau 840

cuag 844

<210> 442

<211> 844

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF-2

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Am6(M)
<220><221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> Am6(F)
<220><221> misc_feature
<222> (29)..(29)
<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> Am6(F)

<220><221>

> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Am6(M)

<220><221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Am6(F)

<220><221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> Am6(F)

<400> 442

gggaaaunng ngngnnnnngn ngngunngnn gnnnununng ngccnccaug aacuuucugc 60

ugucuugggu gcduuggagc cuugccuugc ugcucuaccu ccaccaugcc aagugguccc 120

aggcugcacc cauggcagaa ggaggagggc agaaucauca cgaaguggug aaguucaugg 180

augucuauca ggcagcuac ugccaucua ucgagaccu gguggacauc uccaggagu 240

accugauga gaucgaguac aucuuaagc cauccugugu gcccugaug cgaugcgggg 300

gcugcugcaa ugacgagggc cuggagugug ugcccacuga ggaguccaac aucaccaugc 360
 agauuaugcg gaucaaaaccu caccaaggcc agcacauagg agagaugagc uuccuacagc 420
 acaacaaaug ugaauhcaga ccaaagaaag auagagcaag acaagaaaau ccugugggc 480
 cuugcucaga gcggagaaaag cauuuguuug uacaagaacc gcagacgugu aaauguuccu 540

gcaaaaacac agacucgcgu ugcaaggcga ggcagcuuga guuaaacgaa cguacuugca 600
 gaugugacaa gccgaggcgg ugauuuagg cuggagccuc gguggccaug cuucuugccc 660
 cuugggccuc cccccagccc cuccucccu uccugcacc guacccccgu ggucuuugaa 720
 uaaagucuga gugggcgca aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780
 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaaau 840
 cuag 844

<210> 443
 <211> 844
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF-3

<400> 443

gggaaaaag agagaaaaga agaguuaaga gaaauuaag agccaccaug aacuuucugc 60
 ugucuugggu gcuuuggagc cuugccuugc ugcucuaccu ccaccaugcc aagugguccc 120
 aggcugcacc cauggcagaa ggaggagggc agaaucauca cgaaguggug aaguucaugg 180
 augucuauca gcgcagcuac ugccaucuaa ucgagacccu gguggacauc uuccaggagu 240
 acccugauga gaucgaguac aucuucaagc cauccugugu gcccugaug cgaugcgggg 300
 gcugcugcaa ugacgagggc cuggagugug ugcccacuga ggaguccaac aucaccaugc 360
 agauuaugcg gaucaaaaccu caccaaggcc agcacauagg agagaugagc uuccuacagc 420

acaacaaaug ugaauhcaga ccaaagaaag auagagcaag acaagaaaau ccugugggc 480
 cuugcucaga gcggagaaaag cauuuguuug uacaagaacc gcagacgugu aaauguuccu 540
 gcaaaaacac agacucgcgu ugcaaggcga ggcagcuuga guuaaacgaa cguacuugca 600
 gaugugacaa gccgaggcgg ugauuuagg cuggagccuc gguggccaug cuucuugccc 660
 cuugggccuc cccccagccc cuccucccu uccugcacc guacccccgu ggucuuugaa 720
 uaaagucuga gugggcgca aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 780
 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaaau 840

cuag 844

<210> 444
 <211> 635
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GO
 <400> 444
 gatccgaaat taatagcact cactatagat ggactacaag gacgacgacg acaagatcat 60
 cgactataaa gacgacgacg ataaaggtgg cgactataag gacgacgacg acaaacacca 120
 ccaccaccac cacgctgcaa tcagctctgat tgcggcggtta gcggtagatc gcgttatcgg 180
 catggaaaac gccatgccgt ggaacctgcc tgccgatctc gcctggttta aacgcaacac 240
 cttaaataaa cccgtgatta tgggccgcca tacctgggaa tcaatcggtc gtcctgtgcc 300

 aggacgcaaa aatattatcc tcagcagtca accgggtacg gacgatcgcg taacgtgggt 360
 gaagtcggtg gatgaagcca tcgcggcgtg tggtgacgta ccagaaatca tggtgattgg 420
 cggcggtcgc gtttatgaac agttcttgcc aaaagcgcga aaactgtatc tgacgcatat 480
 cgacgcagaa gtggaaggcg acaccattt cccgattac gagccggatg actgggaatc 540
 ggtattcagc gaattccagc atgctgatgc gcagaactct cacagctatt gctttgagat 600
 tctggagcgg cggtaatgaa taactaatcc ctgca 635

 <210> 445
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> primer P1
 <400> 445
 ttggaccctc gtacagaagc taatagcact cactataggg agaatacaag ctactgttc 60
 tttttgcagc caccatggac tacaaggacg 90

 <210> 446
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer P2
 <400> 446
 tttttttttt tttttttttt tcagtgggtg tgggtgggtg gtttg 45
 <210> 447

<211> 166
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IVT-1
 <400> 447
 ggggagaaua caagcuacuu guucuuuuug cagccaccac ggacuacaag gacgacgacg 60

 acaagaucau cgacuauaaa gacgacgacg auaaaggugg cgacuauaag gacgacgacg 120
 acaaacacca ccaccaccac cacugaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 166
 <210> 448
 <211> 150
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E220
 <400> 448
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa 150
 <210> 449
 <211> 80
 <212>
 > RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E220-1
 <400> 449
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80
 <210> 450
 <211> 70
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E220-2
 <400> 450
 acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa 70

<210> 451
 <211> 155
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E221

<400> 451

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120
 caaacaccac caccaccacc acugaaaaaa aaaaa 155

<210> 452

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E221-1

<400> 452

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 453

<211> 75

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E221-2

<400> 453

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60
 acugaaaaaa aaaaa 75

<210> 454

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E222

<400> 454

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60
 caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa 150

<210> 455

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E222-1

<400> 455

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 456

<211> 70

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E222-2

<400> 456

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa 70

<210

> 457

<211> 155

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E223

<400> 457

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaa 155

<210> 458

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E223-1

<400> 458

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 459

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E223-2

<400> 459

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaa 75

<210> 460

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E224

<400> 460

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 461

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E224-1

<400> 461

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 462

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E224-2

<400> 462

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210

> 463

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E225

<400> 463

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga 120

caaacaccac caccaccacc actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 165

<210> 464

<211> 80

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E225-1

<400> 464

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuacaagg acgacgacga 60

caagaucauc gacuauaaag 80

<210> 465

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E225-2

<400> 465

acgacgacga uaaagguggc gacuauaagg acgacgacga caaacaccac caccaccacc 60

actgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 85

<210> 466

<211> 67

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E226

<400> 466

gggagccacc auggacuaua aggacgacga cgacaaaggu ggcagccacc accaccacca 60

| | |
|---|----|
| ccacuga | 67 |
| <210> | |
| 467 | |
| <211> 67 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E227 | |
| <400> 467 | |
| gggagccacc auggacuaua aggacgacga cgacaaaggu ggcagccacc accaccacca | 60 |
| ccactga | 67 |
| <210> 468 | |
| <211> 67 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E228 | |
| <400> 468 | |
| gggagccacc auggacuaua aggacgacga cgacaaaggu ggcagccacc accaccacca | 60 |
| ccactga | 67 |
| <210> 469 | |
| <211> 67 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E229 | |
| <400> 469 | |
| gggagccacc auggacuaua aggacgacga cgacaaaggu ggcagccacc accaccacca | 60 |
| ccactga | 67 |
| <210> 470 | |
| <211> 91 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E230 | |
| <400> 470 | |
| gggagaauc aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |

| | |
|---|----|
| <210> 471 | |
| <211> 91 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E231 | |
| <400> 471 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |
| <210> 472 | |
| <211> 91 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E232 | |
| <400> 472 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |
| <210> 473 | |
| <211> 91 | |
| <212> RNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E233 | |
| <400> 473 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |
| <210> 474 | |
| <211> 91 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| <220><223> E234 | |
| <400> 474 | |
| gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gactauaagg acgacgacga | 60 |
| caaagguggc caccaccacc accaccacug a | 91 |
| <210> 475 | |

<211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E235
 <400> 475
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 476
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E236
 <400> 476
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 477
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223>
 > E237
 <400> 477
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91
 <210> 478
 <211> 91
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> E238
 <400> 478
 gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60
 caaagguggc caccaccacc accaccacug a 91
 <210> 479
 <211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E239

<400> 479

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91

<210> 480

<211> 91

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E240

<400> 480

gggagaauac aagcuacuug uucuuuuugc agccaccaug gacuauaagg acgacgacga 60

caaagguggc caccaccacc accaccactg a 91