



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102405286 A

(43) 申请公布日 2012.04.04

(21) 申请号 200980146492.2

代理人 顾晋伟 郑斌

(22) 申请日 2009.09.22

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/192,954 2008.09.22 US

61/149,946 2009.02.04 US

61/224,031 2009.07.08 US

C12N 15/113 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.05.20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/005247 2009.09.22

(87) PCT申请的公布数据

W02010/033247 EN 2010.03.25

(71) 申请人 阿克赛医药公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 阿纳斯塔西娅·赫沃罗娃

威廉·萨洛蒙 乔安妮·卡门斯

德米特里·萨马尔斯基

托德·M·伍尔夫 詹姆斯·卡迪亚

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限

公司 11227

权利要求书 6 页 说明书 180 页

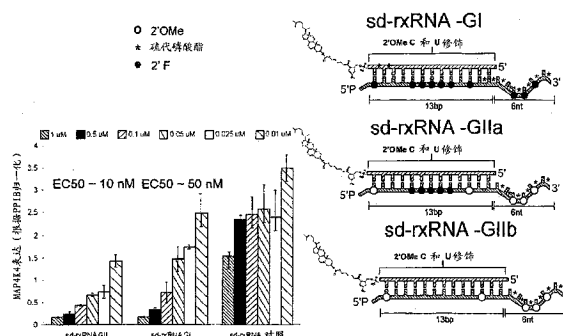
序列表 162 页 附图 92 页

(54) 发明名称

减小大小的自递送 RNAi 化合物

(57) 摘要

本发明涉及具有最小双链区的 RNAi 构建体以及它们在基因沉默中的应用。与本发明相关的 RNAi 构建体包含 8-14 个核苷酸的双链区和多种化学修饰,并且在基因沉默中非常高效。



1. 分离的不对称核酸分子,其包含

最小长度为 16 个核苷酸的引导链,以及负载链,它们形成具有双链区和单链区的双链核酸,所述双链区长度为 8-15 个核苷酸,所述单链区长度为 5-12 个核苷酸,其中所述负载链与亲脂基团连接,其中所述双链核酸中至少 40% 的核苷酸被修饰,并且其中所述单链区具有至少 2 个硫代磷酸酯修饰。

2. 权利要求 1 的分离的不对称核酸分子,其中所述引导链的 1 位被 5' 磷酸化。

3. 权利要求 1 的分离的不对称核酸分子,其中所述引导链的 1 位被 2' O- 甲基修饰并被 5' 磷酸化。

4. 分离的双链核酸分子,其包含

15-21 个核苷酸长的较长链,其与 miRNA 序列互补,

8-16 个核苷酸长的较短链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述较长链和负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述较长链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,其包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰,并且至少 50% 的核苷酸被修饰。

5. 分离的双链核酸分子,其包含

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

8-16 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

6. 分离的双链核酸分子,其包含

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

10-16 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 5-11 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的至少 2 个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸被 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

7. 分离的双链核酸分子,其包含

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

8-16 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 6-8 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述负载链包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

8. 分离的双链核酸分子,其包含

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

8-16 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链中 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸都具有 2' O- 甲基修饰,其中所述负载链的每个核苷酸都被 2' O- 甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

9. 分离的双链核酸分子,其包含

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

8-15 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,其中所述亲脂基团选自胆固醇和具有 5-7 个或 9-18 个碳长度的 C17 多碳链的固醇类分子,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链中 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸都具有 2' O- 甲基修饰,其中所述引导链中 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' F 修饰,其中所述负载链的每个核苷酸都被 2' O- 甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

10. 分离的核酸分子,其包含

与靶基因互补的引导链,

在 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的核酸分子,其中所述引导链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸都具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

11. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述分子的双链区长度为 8-14 个核苷酸,其中所述引导链包含 4-12 个核苷酸长的单链区,并且其中所述引导链的单链区包含 2-12 个硫代磷酸酯修饰。

12. 权利要求 11 的核酸分子,其中所述引导链包含 6-8 个硫代磷酸酯修饰。

13. 权利要求 11 或 12 的核酸分子,其中所述引导链的单链区长度为 6 个核苷酸。

14. 权利要求 11-13 中任一项的核酸分子,其中所述双链区长度为 13 个核苷酸。

15. 权利要求 11-14 中任一项的核酸分子,其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

16. 分离的双链核酸分子,其包含

引导链,其中所述引导链为 16-28 个核苷酸长并与靶基因互补,其中所述引导链 3' 末端的 10 个核苷酸包含至少 2 个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰并包括至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰;以及

负载链,其中所述负载链长度为 8-14 个核苷酸并且与所述引导链互补,其中所述负载链与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

17. 权利要求 1、7-10 或 16 中任一项的核酸分子,其中所述引导链或序列的 1 位核苷酸

具有 2'-O- 甲基修饰。

18. 权利要求 1-4、6-10 或 16-17 中任一项的核酸分子,其中所述引导链或序列 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。

19. 权利要求 18 的核酸分子,其中所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸都具有 2'- 氟代修饰。

20. 权利要求 1-3、5、7、9 或 16-19 中任一项的核酸分子,其中所述引导链或序列 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。

21. 权利要求 20 的核酸分子,其中所述引导链或序列 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸都具有 2'-O- 甲基修饰。

22. 权利要求 1、2、4、5 或 16-21 中任一项的核酸分子,其中所述引导链 3' 末端的 10 个核苷酸包含至少 4 个磷酸酯修饰。

23. 权利要求 22 的核酸分子,其中所述引导链 3' 末端的 10 个核苷酸包含至少 8 个磷酸酯修饰。

24. 权利要求 16 的核酸分子,其中所述引导链包含 4-14 个磷酸酯修饰。

25. 权利要求 16 的核酸分子,其中所述引导链包含 4-10 个磷酸酯修饰。

26. 权利要求 1-5 或 16 中任一项的核酸分子,其中所述引导链的 3' 末端 6 个核苷酸均包含磷酸酯修饰。

27. 权利要求 16-26 中任一项的核酸分子,其中所述磷酸酯修饰为硫代磷酸酯修饰。

28. 权利要求 16-27 中任一项的核酸分子,其中所述负载链的每个 C 和 U 核苷酸都具有 2'-O- 甲基修饰。

29. 权利要求 28 的核酸分子,其中所述负载链的每个核苷酸都具有 2'-O- 甲基修饰。

30. 权利要求 16-30 中任一项的核酸分子,其中所述负载链的至少一个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。

31. 权利要求 30 的核酸分子,其中所述负载链的至少 2 个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。

32. 权利要求 1-5 或 16-31 中任一项的核酸分子,其中所述亲脂分子为固醇。

33. 权利要求 32 的核酸分子,其中所述固醇为胆固醇。

34. 权利要求 16-33 中任一项的核酸分子,其中所述引导链长为 18-19 个核苷酸。

35. 权利要求 16-34 中任一项的核酸分子,其中所述负载链长为 11-13 个核苷酸。

36. 权利要求 16-35 中任一项的核酸分子,其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

37. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有至少 2 个化学修饰。

38. 权利要求 37 的分离的双链核酸分子,其中所述至少 2 个化学修饰包括至少 2 个硫代磷酸酯修饰。

39. 权利要求 37-38 中任一项的核酸分子,其中所述双链核酸分子的一个末端是平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

40. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其

中所述引导链具有 5 个核苷酸长或更长的单链 3' 区以及 1 个核苷酸或更少的单链 5' 区。

41. 权利要求 40 的核酸分子,其中所述单链区可包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰。

42. 分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-16 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有 5 个核苷酸长或更长的单链 3' 区并且所述负载链具有长于 9 的 C17 连接链的固醇类分子。

43. 双链体多核苷酸,其包含

第一多核苷酸,其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补;和

第二多核苷酸,其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短 6 个核苷酸,

其中所述第一多核苷酸包含含有以下修饰的单链区,所述修饰选自 40-90% 疏水碱基修饰、40-90% 硫代磷酸酯和 40-90% 核糖部分修饰或其任何组合。

44. 双链体多核苷酸,其包含:

第一多核苷酸,其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补;以及

第二多核苷酸,其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短 6 个核苷酸,

其中所述双链体多核苷酸在所述第一多核苷酸的 9、11、12、13 或 14 位核苷酸与第二多核苷酸的对应核苷酸之间包含错配。

45. 在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法,其包括将所述哺乳动物细胞与权利要求 1-41 中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求 43 或 44 所述双链体多核苷酸接触。

46. 在对象中诱导 RNAi 的方法,其包括:

向对象施用有效量的用于诱导靶基因 mRNA 之 RNAi 的权利要求 1-41 中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求 43 或 44 所述双链体多核苷酸。

47. 权利要求 46 的方法,其中所述对象是人。

48. 权利要求 45 的方法,其中所述靶基因是 PPIB。

49. 权利要求 45 的方法,其中所述靶基因是 MAP4K4。

50. 权利要求 45 的方法,其中所述靶基因是 SOD1。

51. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含

多核苷酸,其中所述多核苷酸为与疏水分子连接的双链 RNA,其中所述疏水分子与非末端核苷酸的碱基、核糖或骨架连接,并且其中所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链长为 16-29 个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长为 8-14 个核苷酸并且与所述引导链互补。

52. 权利要求 51 所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述疏水分子与所述双链 RNA 的引导链连接。

53. 权利要求 51 所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述引导链的 3' 末端 10 个核苷酸包含至少 2 个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰并包含至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

54. 权利要求 51 所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述疏水分子与所述双链 RNA 的负载链连接。

55. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含:

与疏水分子非共价复合的多核苷酸,其中所述疏水分子是多阳离子分子。

56. 权利要求 55 所述分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

57. 分离的疏水修饰多核苷酸,其包含:

多核苷酸,其中所述多核苷酸为不使用接头而直接与疏水分子复合的双链 RNA,其中所述疏水分子不是胆固醇。

58. 组合物,其包含:

疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸是与疏水分子连接的双链 RNA,其中所述双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链的 1 位被 5' 磷酸化或具有 2'-O- 甲基修饰,其中所述双链核酸中至少 40% 的核苷酸被修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端;

中性脂肪混合物;以及

任选地货物分子,

其中所述疏水修饰多核苷酸与所述中性脂肪混合物形成胶束。

59. 权利要求 58 的组合物,其中所述负载链的 3' 末端与疏水分子相连接。

60. 权利要求 58-60 中任一项的组合物,其中所述组合物为无菌的。

61. 权利要求 58-60 中任一项的组合物,其中所述中性脂肪混合物包含 DOPC(二油酰基磷脂酰胆碱)。

62. 权利要求 58-60 中任一项的组合物,其中所述中性脂肪混合物包含 DSPC(二硬脂酰基磷脂酰胆碱)。

63. 权利要求 58-62 中任一项的组合物,其中所述中性脂肪混合物还包含固醇。

64. 权利要求 62 的组合物,其中所述固醇为胆固醇。

65. 权利要求 57-55 中任一项的组合物,其中所述组合物包含至少 20% 的 DOPC 和至少 20% 的胆固醇。

66. 权利要求 57-64 中任一项的组合物,其中所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分为固醇。

67. 权利要求 65 的组合物,其中所述固醇为胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基。

68. 权利要求 57-64 中任一项的组合物,所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分选自胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯、维生素、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、脂肪酸酯、甘油三酯、萜、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吡啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料(例如 Cy3 或 Cy5)、Hoechst 33258 染料、补骨脂素和布洛芬。

69. 权利要求 57-64 或 67 中任一项的组合物,其中所述疏水修饰多核苷酸中的疏水部分为多阳离子分子

70. 权利要求 18 的组合物,其中所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

71. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为脂质、肽、维生素或小分子。

72. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为市售的脂肪乳剂,其用于

多种选自肠胃外给养的目的。

73. 权利要求 71 的组合物,其中所述市售的脂肪乳剂为英脱利匹特或 nutralipid。

74. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为含有多于 74% 的亚油酸的脂肪酸混合物。

75. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为含有至少 6% 的心磷脂的脂肪酸混合物。

76. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为含有至少 74% 的亚油酸和至少 6% 的心磷脂的脂肪酸混合物。

77. 权利要求 57-75 中任一项的组合物,其中所述多核苷酸中至少 40% 的核苷酸被修饰。

78. 权利要求 57-69 中任一项的组合物,其中所述货物分子为融合脂,优选地为至少 10% 的融合脂。

79. 权利要求 77 的组合物,其中所述融合脂为 DOPE。

80. 在对象中诱导 RNAi 的方法,其包括:

向对象施用有效量的用于诱导靶基因 mRNA 之 RNAi 的权利要求 1-41 中任一项所述分离的双链核酸分子、或权利要求 43 或 44 所述双链体多核苷酸或权利要求 57-78 中任一项所述组合物,其中所述多核苷酸至少具有对应于靶基因的序列区,其中所述施用步骤为全身地、静脉内、腹膜内、真皮内、局部、鼻内、吸入、经口、粘膜内、局部注射、皮下、经口气管或眼内的。

81. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是全身的。

82. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是静脉内的。

83. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是腹膜内的。

84. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是真皮内的。

85. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是局部的。

86. 权利要求 79 的方法,其中所述施用是眼内的。

87. 权利要求 79 的方法,其中所述对象是人。

88. 权利要求 79 的方法,其中所述靶基因是 PPIB。

89. 权利要求 79 的方法,其中所述靶基因是 MAP4K4。

90. 权利要求 79 的方法,其中所述靶基因是 SOD1。

91. 分离的双链核酸分子,其包含:

17-21 个核苷酸长的引导链,其与靶基因互补,

10-17 个核苷酸长的负载链,其在 3' 末端与亲脂基团连接,

其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 5-11 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中至少 2 个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸被 2' O 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

减小大小的自递送 RNAi 化合物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据 35 U.S.C. § 119(e) 要求以下申请的优先权：于 2008 年 9 月 22 号提交的美国临时申请序列号 US 61/192,954, 题为“Chemically Modified Polynucleotides and Methods of Using the Same”；于 2009 年 2 月 4 日提交的 US 61/149,946, 题为“Minimum Length Triggers of RNA Interference”以及于 2009 年 7 月 8 日提交的 US 61/224,031, 题为“Minimum Length Triggers of RNA Interference”，它们每个的公开内容通过引用整体并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及 RNA 干扰 (RNAi) 领域。本发明更具体地涉及不使用递送试剂而具有改善的体内递送特性的核酸分子，以及它们在有效的 RNA 沉默中的用途。

背景技术

[0004] 互补寡核苷酸序列是有前景的治疗剂和阐释基因功能的有用研究工具。然而，现有技术的寡核苷酸分子存在几个可能阻碍其临床开发的问题，并且经常导致难以在体内使用这些组合物实现预期的对基因表达（包括蛋白质合成）的有效抑制。

[0005] 一个主要问题是这些化合物向细胞和组织的递送。19-29 个碱基长的常规双链 RNAi 化合物形成约 1.5×10^{-15} nm 大小的高度带负电的刚性螺旋。该棒形分子不能穿过细胞膜，因此在体外和体内的效力非常有限。因此，所有常规 RNAi 化合物都需要某种递送载体以促进其组织分布和细胞摄取。认为这是 RNAi 技术的主要局限性。

[0006] 对寡核苷酸进行化学修饰以促进它们的细胞摄取特性在之前已有尝试。这种修饰的一种是将胆固醇分子连接到寡核苷酸。该方法在 1989 年由 Letsinger 等第一次报道。随后，ISIS Pharmaceuticals, Inc. (Carlsbad, CA) 报道了将胆固醇分子连接到寡核苷酸的更先进技术 (Manoharan, 1992)。

[0007] 随着 90 年代后期 siRNA 的发现，对这些分子尝试了相似类型的修饰以提高它们的递送特性。文献中出现了将胆固醇分子缀合到少量修饰 (Soutschek, 2004) 和大量修饰 (Wolfrum, 2007) 的 siRNA 的报道。Yamada 等, 2008 也报道了改进的化学接头的应用，其进一步改善了胆固醇介导的 siRNA 摄取。尽管有这些努力，这些类型化合物的摄取看来被生物流体的存在所抑制，导致对体内基因沉默效力的极大限制，限制了这些化合物在临床中的应用。

[0008] 因此，通过设计具有改进的体内递送特性的寡核苷酸来改进现有技术的寡核苷酸具有很大益处，并且很有临床意义。

[0009] 发明概述

[0010] 本文公开了具有尽可能小的双链区的不对称化学修饰的核酸分子，以及这些分子在基因沉默中的应用。与本发明相关的 RNAi 分子包含单链区和双链区，并可在分子的单链区和双链区两者中包含多种化学修饰。此外，可将 RNAi 分子连接到疏水缀合物（如常规和

改进的固醇类分子)上。这种 RNAi 分子新类型与上述 RNAi 分子相比在体外和体内均具有更好的效力。

[0011] 本发明的一些方面涉及不对称核酸分子,其包含最小长度为 16 核苷酸的引导链(guide strand),以及负载链(passenger strand),它们形成具有双链区和单链区的双链核酸,所述双链区长度为 8-15 个核苷酸,所述单链区长度为 5-12 个核苷酸,其中所述负载链与亲脂基团连接,其中所述双链核酸中至少 40%的核苷酸被修饰,并且其中单链区具有至少 2 个硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中,引导链的 1 位被 5'磷酸化。在一些实施方案中,引导链的 1 位被 2' O- 甲基修饰和 5' 磷酸化。

[0012] 本发明的一些方面涉及分离的双链核酸分子,其包含 15-21 个核苷酸长并与 miRNA 序列互补的较长链、8-15 个核苷酸长并在 3' 末端与亲脂基团连接的较短链,其中所述较长链和负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述较长链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,其包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰,并且至少 50%的核苷酸被修饰。

[0013] 本发明的另一些方面涉及分离的双链核酸分子,其包含 17-21 个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16 个核苷酸长并且 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50%的 C 和 U 核苷酸包含至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

[0014] 在另一个方面,本发明为分离的双链核酸分子,其包含 17-21 个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、10-16 个核苷酸长并且 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 5-11 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的至少 2 个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50%的 C 和 U 核苷酸被 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

[0015] 本发明的另一方面为分离的双链核酸分子,其具有 17-21 个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16 个核苷酸长并且 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 6-8 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述负载链包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50%的 C 和 U 核苷酸包含 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 个核苷酸的突出端。

[0016] 本发明的另一些方面提供了分离的双链核酸分子,其具有 17-21 个核苷酸长并与靶基因互补的引导链、8-16 个核苷酸长并且 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰,其中所述负载链的每个核苷酸为 2' O- 甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0017] 本发明的另一个方面为分离的双链核酸分子,其具有 17-21 个核苷酸长并与靶基

因互补的引导链、8-15 个核苷酸长并且 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述亲脂基团选自胆固醇和具有 5-7 或 9-18 个碳长度的 C17 多碳链的固醇类分子,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰,其中所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' F 修饰,其中所述负载链的每个核苷酸为 2' -O- 甲基修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0018] 本发明的又一个方面为分离的核酸分子,其具有与靶基因互补的引导链和 3' 末端与亲脂基团连接的负载链,其中所述引导链和所述负载链形成具有双链区和单链区的双链核酸分子,其中所述引导链具有 2-13 个核苷酸长的 3' 单链区,所述单链区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰,其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含至少一个 2' -O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0019] 本发明的另一些方面提供了分离的双链核酸分子,其具有引导链和负载链,其中所述分子的双链区长度为 8-14 个核苷酸,其中所述引导链包含 4-12 个核苷酸长的单链区,并且其中所述引导链的单链区包含 2-12 个硫代磷酸酯修饰。

[0020] 在一些实施方案中,所述引导链包含 6-8 个硫代磷酸酯修饰。在另一些实施方案中,所述引导链的单链区长度为 6 个核苷酸。

[0021] 在另一些实施方案中,双链区长度为 13 个核苷酸。任选地,所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0022] 本发明的另一个方面是分离的双链核酸分子,其具有引导链和负载链,其中所述引导链为 16-28 个核苷酸长并与靶基因互补,其中所述引导链的 3' 末端 10 个核苷酸包含至少 2 个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰并包括至少一个 2' -O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰;其中所述负载链长度为 8-14 核苷酸并且与所述引导链互补,其中所述负载链与亲脂基团连接,其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

[0023] 在一些实施方案中,所述引导链或序列的 1 位核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。在另一些实施方案中,所述引导链或序列 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2' - 氟代修饰。在另一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' - 氟代修饰。所述引导链或序列 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸可具有 2' -O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链或序列 11-18 位的每个 C 或 U 核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。

[0024] 在另一些实施方案中,所述引导链 3' 末端的 10 个核苷酸包含至少 4 个磷酸酯修饰。任选地,所述引导链 3' 末端 10 个核苷酸包含至少 8 个磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链包含 4-14 个磷酸酯修饰。在另一些实施方案中,所述引导链包含 4-10 个磷酸酯修饰。在另一些实施方案中,所述引导链的 3' 末端 6 个核苷酸均包含磷酸酯修饰。所述磷酸酯修饰可为硫代磷酸酯修饰。

[0025] 在一些实施方案中,所述负载链的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。在另一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。在一个实施方案中,所述负载链的至少一个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。在另一些实施方案中,所述负载链的至少 2 个核苷酸为硫代磷酸酯修饰。

[0026] 所述亲脂分子可为固醇,如胆固醇。

[0027] 在一些实施方案中,所述引导链长为 18-19 个核苷酸。在另一些实施方案,所述负载链长为 11-13 个核苷酸。

[0028] 在另一些实施方案,双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0029] 本发明的另一些方面为分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有至少 2 个化学修饰。在一些实施方案中,所述至少 2 个化学修饰包括至少 2 个硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中,双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端。

[0030] 本发明的一些方面为分离的双链核酸分子,其包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有 5 个核苷酸长或更长的单链 3' 区和 1 个核苷酸或更少的单链 5' 区。所述单链区可包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰。

[0031] 本发明的另一些方面提供分离的双链核酸分子,其具有引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-16 个核苷酸长并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有 5 个核苷酸长或更长的单链 3' 区,并且所述负载链具有长度大于 9 的 C17 连接链的固醇类分子。

[0032] 本发明的另一些方面提供了双链体多核苷酸。所述多核苷酸具有第一多核苷酸和第二多核苷酸,其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补,其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短 6 个核苷酸,其中所述第一多核苷酸包含含有以下修饰的单链区,所述修饰选自 40-90% 的疏水碱基修饰、40-90% 的硫代磷酸酯和 40-90% 的核糖部分修饰或任何其组合。

[0033] 本发明的另一些方面为双链体多核苷酸。所述多核苷酸具有第一多核苷酸和第二多核苷酸,其中所述第一多核苷酸与第二多核苷酸和靶基因互补,其中所述第二多核苷酸比所述第一多核苷酸至少短 6 个核苷酸,其中所述双链体多核苷酸在所述第一多核苷酸的 9、11、12、13 或 14 位核苷酸与所述第二多核苷酸的对应核苷酸之间包含错配。

[0034] 本发明的另一些方面是在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法,其包括将所述哺乳动物细胞与权利要求 1-41 中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求 43 或 44 所述双链体多核苷酸接触。

[0035] 本发明的另一些方面提供了在对象中诱导 RNAi 的方法。所述方法涉及向对象施用有效量的用于诱导靶基因 mRNA 之 RNAi 的权利要求 1-41 中任一项所述分离的双链核酸分子或权利要求 43 或 44 所述双链体多核苷酸。在另一些实施方案中,所述对象是人。在另一些实施方案中,所述靶基因是 PPIB、MAP4K4 或 SOD1。

[0036] 在另一些方面中提供了含有多核苷酸的分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸为与疏水分子连接的双链 RNA,其中所述疏水分子与非末端核苷酸的碱基、核糖或骨架连接,并且其中所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链长为 16-29 个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长为 8-14 个核苷酸并且与所述引导链互补。

[0037] 在一个实施方案中,所述疏水分子与所述双链 RNA 的引导链连接。在另一个实施方案中,所述引导链的 3' 末端 10 个核苷酸包含至少 2 个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链具有 5' 磷酸酯修饰并包含至少一个 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。在又一个实施方案中,所述疏水分子与所述双链 RNA 的负载链连接。

[0038] 本发明提供分离的疏水修饰的多核苷酸,其具有与疏水分子非共价复合的多核苷酸,其中所述疏水分子是多阳离子分子。在一些实施方案中,所述多阳离子分子选自精蛋白、精氨酸富含肽和精胺。

[0039] 本发明的另一些方面为具有多核苷酸的分离的疏水修饰多核苷酸,其中所述多核苷酸为不使用接头而直接与疏水分子复合的双链 RNA,其中所述疏水分子不是胆固醇。

[0040] 本发明的另一些方面提供了组合物,其含有疏水修饰多核苷酸、中性脂肪混合物以及任选地货物分子(cargo molecule),其中所述多核苷酸是与疏水分子连接的双链 RNA,其中所述双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链为 16-29 个核苷酸长并与靶基因基本互补,其中所述负载链为 8-14 个核苷酸长并与所述引导链互补,其中所述引导链的 1 位为 5' 磷酸化或具有 2' O- 甲基修饰,其中所述双链核酸中至少 40% 的核苷酸被修饰,并且其中所述双链核酸分子的一个末端为平末端或包含 1-2 核苷酸的突出端;其中所述疏水修饰多核苷酸和中性脂肪混合物形成胶束。

[0041] 在一些实施方案中,负载链的 3' 末端与疏水分子相连接。在另一些实施方案中,所述组合物为无菌的。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物包含 DOPC(二油酰基磷脂酰胆碱)。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物包含 DSPC(二硬脂酰基磷脂酰胆碱)。在另一些实施方案中,所述中性脂肪混合物还包含固醇,如胆固醇。

[0042] 在另一些实施方案中,所述组合物包含至少 20% 的 DOPC 和至少 20% 的胆固醇。在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分为固醇。所述固醇可为胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基。在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分选自胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸(oleyl lithocholic acid)、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯(isoprenoids)、维生素、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、脂肪酸酯、甘油三酯、萜、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吡啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基(digoxigenin)、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料(例如 Cy3 或 Cy5)、Hoechst 33258 染料、补骨脂素和布洛芬。

[0043] 在另一些实施方案中,所述疏水修饰多核苷酸的疏水部分为多阳离子分子,如,精蛋白、精氨酸富含肽和 / 或精胺。

[0044] 所述组合物任选地包含货物分子(cargo molecule),如脂质、肽、维生素和 / 或小分子。在一些实施方案中,所述货物分子为市售脂肪乳剂,其用于多种选自肠胃外给养的目的。在一些实施方案中,所述市售脂肪乳剂为英脱利匹特(intralipid)或 nutralipid。在另一些实施方案中,所述货物分子为含有多于 74% 的亚油酸的脂肪酸混合物、含有至少 6% 心磷脂的脂肪酸混合物、或含有至少 74% 的亚油酸和至少 6% 的心磷脂的脂肪酸混合物。在另一个实施方案中,所述货物分子为融合脂(dusogenic lipid)(例如 DOPE),优选地为至少 10% 的融合脂。

[0045] 在一些实施方案中,所述多核苷酸包含化学修饰。例如其可有至少 40% 被修饰。

[0046] 本发明的另一方面提供了在对象中诱导 RNAi 的方法。所述方法涉及向对象施用有效量的用于诱导靶基因 mRNA 之 RNAi 的本发明分离的双链核酸分子或双链体多核苷酸或组合物,其中所述多核苷酸至少具有对应于靶基因的序列区,其中施用步骤为全身地、静脉内、腹膜内、真皮内、局部、鼻内、吸入、经口、粘膜内、局部注射、皮下、经气管或眼内。

[0047] 在另一些实施方案中,所述对象是人。在另一些实施方案中,所述靶基因是 PPIB、MAP4K4 或 SOD1。

[0048] 在一些方面中,本发明为形成发夹结构的长度少于 35 个核苷酸的单链 RNA,所述发夹包含双链茎和单链环,所述双链茎包含具有 5' 末端的 5' - 茎序列和具有 3' 末端的 3' - 茎序列;并且所述 5' - 茎序列和所述环的至少一部分形成与靶基因转录本互补的引导序列,其中所述多核苷酸介导所述靶基因表达的序列依赖基因沉默,其中单链环区的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰。

[0049] 另一些方面提供了多核苷酸构建体,所述多核苷酸具有两个相同的单链多核苷酸,每个所述单链多核苷酸包含具有 5' 末端的 5' 茎序列、具有 3' 末端的 3' 茎序列以及连接 5' 茎序列和 3' 茎序列的接头序列,其中:(1) 第一单链多核苷酸的 5' 茎序列与第二单链多核苷酸的 3' 茎序列杂交,形成第一双链茎区;(2) 第二单链多核苷酸的 5' 茎序列与第一单链多核苷酸的 3' 茎序列杂交,形成第二双链茎区;并且(3) 所述第一和第二单链多核苷酸的接头序列形成连接所述第一和所述第二双链茎区的环或凸出部(bulge),其中所述 5' 茎序列和接头序列的至少一部分形成与靶基因转录本互补的引导序列,其中所述多核苷酸构建体介导所述靶基因表达的序列依赖基因沉默,其中所述单链环区中的每个核苷酸具有硫代磷酸酯修饰,并且其中所述双链区中至少 50% 的 C 和 U 核苷酸包含 2' O- 甲基修饰或 2' - 氟代修饰。

[0050] 在一个实施方案中,所述引导序列 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰。

[0051] 在一些实施方案中,所述引导链长为 16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28 或 29 个核苷酸。在一些实施方案中,所述负载链长为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸。在一些实施方案中,所述核酸分子具有小于 -20kcal/mol 的热力学稳定性(ΔG)。

[0052] 本发明的一些方面涉及化学修饰的核酸分子。在一些实施方案中,所述化学修饰选自 5' 磷酸酯、2' -O- 甲基、2' -O- 乙基、2' - 氟代、核糖胸苷、C-5 丙炔基 -dC(pdC)、C-5 丙炔基 -dU(pdU)、C-5 丙炔基 -C(pC)、C-5 丙炔基 -U(pU)、5- 甲基 C、5- 甲基 U、5- 甲基 dC、5- 甲基 dU 甲氧基、(2,6- 二氨基嘌呤)、5' - 二甲氧基三苯甲基 -N4- 乙基 -2' - 脱氧胞苷、C-5 丙炔基 -fC(pfC)、C-5 丙炔基 -fU(pfU)、5- 甲基 fC、5- 甲基 fU、C-5 丙炔基 -mC(pmC)、C-5 丙炔基 -fU(pmU)、5- 甲基 mC、5- 甲基 mU、LNA(locked nucleic acid,锁核酸)、MGB(minor groove binder,小沟结合剂)和其它提高碱基疏水性的碱基修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中,化学修饰提高稳定性和/或提高热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中,核酸分子上至少 90% 的 CU 残基被修饰。

[0053] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2' O- 甲基修饰和/或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2' - 氟代修

饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。

[0054] 在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子包含至少为 4 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,该硫代磷酸酯修饰核苷酸区段的长度为至少 12 个核苷酸。在一些实施方案中,该硫代磷酸酯修饰核苷酸区段不完全是单链的。

[0055] 与本发明相关的核酸分子可与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物连接到引导链,而在另一些实施方案中,所述辍合物连接到负载链。在一些实施方案中,所述辍合物是疏水的。在一些实施方案中,所述辍合物是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子为平末端的。

[0056] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链双链核酸分子,其中所述分子的双链区长为 8-14 个核苷酸,并且其中所述分子具有小于 -13kcal/mol 的热力学稳定性 (ΔG)。

[0057] 在一些实施方案中,所述分子的双链区长为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸。在一些实施方案中,所述分子具有小于 -20kcal/mol 的热力学稳定性 (ΔG)。在一些实施方案中,所述核酸分子是化学修饰的。在一些实施方案中,所述化学修饰选自 5' 磷酸酯、2'-O-甲基、2'-O-乙基、2'-氟代、核糖胸苷、C-5 丙炔基 -dC(pdC)、C-5 丙炔基 -dU(pdU)、C-5 丙炔基 -C(pC)、C-5 丙炔基 -U(pU)、5-甲基 C、5-甲基 U、5-甲基 dC、5-甲基 dU 甲氧基、(2,6-二氨基嘌呤)、5'-二甲氧基三苯甲基 -N4-乙基 -2'-脱氧胞苷、C-5 丙炔基 -fC(pfC)、C-5 丙炔基 -fU(pfU)、5-甲基 fC、5-甲基 fU、C-5 丙炔基 -mC(pmC)、C-5 丙炔基 -fU(pmU)、5-甲基 mC、5-甲基 mU、LNA(锁核酸)、MGB(小沟结合剂)和其它提高碱基疏水性的碱基修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中,化学修饰提高稳定性和 / 或提高热力学稳定性 (ΔG)。在一些实施方案中,核酸分子上至少 90% 的 CU 残基被修饰。

[0058] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2'-O-甲基修饰和 / 或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'-氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2'-O-甲基修饰。

[0059] 与本发明相关的核酸分子可包含至少为 4 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段长至少 12 核苷酸。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段不完全是单链的。在一些实施方案中,所述核酸分子与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物连接到引导链,而在另一些实施方案,所述辍合物连接到负载链。在一些实施方案中,所述辍合物是疏水的。在一些实施方案中,所述辍合物是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子为平末端的。在一些实施方案中,所述核酸分子的 5' 末端为平末端。在一些实施方案中,所述核酸分子的 5' 末端为平末

端,并且该分子两链之间的互补区从这里开始。

[0060] 本发明的一些方面涉及抑制哺乳动物细胞中靶基因表达的方法。该方法包括将所述哺乳动物细胞与分离的双链核酸分子接触,所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述引导链长 16-29 个核苷酸并与靶基因互补,其中所述负载链长 8-14 个核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述双链核酸分子的热力学稳定性 (ΔG) 为小于 -13kcal/mol。

[0061] 所述细胞可在体内或体外接触。在一些实施方案中,所述引导链长度为 16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28 或 29 个核苷酸。在一些实施方案中,所述负载链长为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸。在一些实施方案中,所述核酸分子具有小于 -20kcal/mol 的热力学稳定性 (ΔG)。

[0062] 与本文所述方法相关的核酸分子可以是化学修饰的。在一些实施方案中,所述化学修饰选自 5' 磷酸酯、2'-O- 甲基、2'-O- 乙基、2'- 氟代、核糖胸苷、C-5 丙炔基 -dC(pdC)、C-5 丙炔基 -dU(pdU)、C-5 丙炔基 -C(pC)、C-5 丙炔基 -U(pU)、5- 甲基 C、5- 甲基 U、5- 甲基 dC、5- 甲基 dU 甲氧基、(2,6- 二氨基嘌呤)、5' - 二甲氧基三苯甲基 -N4- 乙基 -2' - 脱氧胞苷、C-5 丙炔基 -fC(pfC)、C-5 丙炔基 -fU(pfU)、5- 甲基 fC、5- 甲基 fU、C-5 丙炔基 -mC(pmC)、C-5 丙炔基 -fU(pmU)、5- 甲基 mC、5- 甲基 mU、LNA(锁核酸)、MGB(小沟结合剂)和其它提高碱基疏水性的碱基修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中,化学修饰提高稳定性和 / 或提高热力学稳定性 (ΔG)。在一些实施方案中,核酸分子上至少 90% 的 CU 残基被修饰。

[0063] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2' O- 甲基修饰和 / 或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。

[0064] 在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子包含至少为 4 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段长至少 12 核苷酸。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰的核苷酸区段不完全是单链的。

[0065] 与本发明相关的核酸分子可与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物连接到引导链,而在另一些实施方案中,所述辍合物连接到负载链。在一些实施方案中,所述辍合物是疏水的。在一些实施方案中,所述辍合物是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子为平末端的。

[0066] 本文所述的用于抑制哺乳动物细胞中靶基因表达的方法包括将所述哺乳动物细胞与分离的双链核酸分子接触,所述分离的双链核酸分子包含引导链和负载链,其中所述分子的双链区长 8-14 个核苷酸,并且其中所述分子的热力学稳定性 (ΔG) 小于 -13kcal/mol。

[0067] 在一些实施方案中,所述分子的双链区长为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸。在一些实施方案中,所述分子具有小于 -20kcal/mol 的热力学稳定性 (ΔG)。在一些实施

方案中,所述核酸分子是化学修饰的。在一些实施方案中,所述化学修饰选自 5' 磷酸酯、2'-O- 甲基、2'-O- 乙基、2'- 氟代、核糖胸苷、C-5 丙炔基 -dC(pdC)、C-5 丙炔基 -dU(pdU)、C-5 丙炔基 -C(pC)、C-5 丙炔基 -U(pU)、5- 甲基 C、5- 甲基 U、5- 甲基 dC、5- 甲基 dU 甲氧基、(2,6- 二氨基嘌呤)、5' - 二甲氧基三苯甲基 -N4- 乙基 -2' - 脱氧胞苷、C-5 丙炔基 -fC(pfC)、C-5 丙炔基 -fU(pfU)、5- 甲基 fC、5- 甲基 fU、C-5 丙炔基 -mC(pmC)、C-5 丙炔基 -fU(pmU)、5- 甲基 mC、5- 甲基 mU、LNA(锁核酸)、MGB(小沟结合物)和其它提高碱基疏水性的碱基修饰。在同一分子中可存在多于一种化学修饰。在一些实施方案中,化学修饰提高稳定性和 / 或提高热力学稳定性 (ΔG)。在一些实施方案中,核酸分子上至少 90% 的 CU 残基被修饰。

[0068] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2' O- 甲基修饰和 / 或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2' -O- 甲基修饰。

[0069] 与本发明相关的核酸分子可包含至少为 4 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段长至少 12 核苷酸。在一些实施方案中,硫代磷酸酯修饰核苷酸区段不完全是单链的。在一些实施方案中,所述核酸分子可与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物连接到引导链,而在另一些实施方案中,所述辍合物连接到负载链。在一些实施方案中,所述辍合物是疏水的。在一些实施方案中,所述辍合物是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,与本发明相关的核酸分子为平末端的。

[0070] 在另一个实施方案中,本发明提供选择用于基因沉默的 siRNA 的方法,其通过以下来实现:(a) 选择靶基因,其中所述靶基因包含靶序列;(b) 选择候选 siRNA,其中所述候选 siRNA 包含 16-29 个核苷酸碱基对的引导链和 8-14 个核苷酸碱基对的负载链,所述引导链和负载链形成含有反义区和有义区的双链体,并且所述候选 siRNA 的所述反义区与所述靶序列的区域至少 80% 互补;(c) 测定候选 siRNA 的热力学稳定性 (ΔG);和 (e) 如果所述热力学稳定性小于 -13kcal/mol,则选择所述候选 siRNA 作为用于基因沉默的 siRNA。

[0071] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 18-19 核苷酸并与靶基因互补,其中所述互补链长 11-13 核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述双链核酸分子的热力学稳定性 (ΔG) 小于 -13kcal/mol。

[0072] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2' O- 甲基修饰和 / 或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2' O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2' -O 甲基修饰。

[0073] 在一些实施方案中,所述引导链包含至少为 4 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,所述引导链包含至少为 8 个硫代磷酸酯修饰核苷酸的区段。在一些实施方案中,所述负载链每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负

载链的每个核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的至少 1 或至少 2 个核苷酸被硫代磷酸酯修饰。所述核酸分子可在引导链或负载链上与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物是固醇,如胆固醇。

[0074] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 16-28 个核苷酸并与靶基因互补,其中所述引导链 3' 末端 10 个核苷酸包含至少 2 个磷酸酯修饰,并且其中所述引导链包含至少一个 2'-O- 甲基修饰或 2'- 氟代修饰;其中所述负载链长 8-28 个核苷酸并与所述引导链互补,其中所述负载链与亲脂基团连接,其中所述引导链和所述负载链形成双链核酸分子。

[0075] 在一些实施方案中,所述引导链的 1 位核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰和 / 或 5' 磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 2-10 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'- 氟代修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的至少一个 C 或 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述引导链 11-18 位的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O 甲基修饰。

[0076] 在一些实施方案中,所述引导链 3' 末端的 10 个核苷酸包括至少 4 或至少 8 个磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链包含 2-14 或 4-10 个磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述引导链 3' 末端的 6 个核苷酸均包含磷酸酯修饰。在一些实施方案中,所述磷酸酯修饰是硫代磷酸酯修饰。

[0077] 在一些实施方案中,所述负载链的每个 C 和 U 核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的每个核苷酸具有 2'-O- 甲基修饰。在一些实施方案中,所述负载链的至少 1 或至少 2 个核苷酸被硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中,亲脂分子是固醇,如胆固醇。在一些实施方案中,所述引导链长 18-19 个核苷酸并且所述负载链长 11-13 个核苷酸。

[0078] 本发明的一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 16-29 个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长 8-14 个核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有至少 2 个化学修饰。在一些实施方案中,所述 2 个化学修饰为硫代磷酸酯修饰。

[0079] 本发明的另一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 16-29 个核苷酸并且基本与靶基因互补,其中所述负载链长 8-14 个核苷酸并且与所述引导链互补,并且其中所述引导链具有 5 个核苷酸或更长的单链 3' 区。在一些实施方案中,所述单链区包含至少 2 个硫代磷酸酯修饰。

[0080] 本发明的另一些方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 18-21 个核苷酸并与靶基因基本互补,其中所述负载链长 11-14 个核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述引导链的 1 位具有 2-OMe 和 5' 磷酸酯修饰,所述引导链 2 至 11 位的每个 C 和 U 为 2-F 修饰,所述引导链 12-18 位的每个 C 和 U 为 2' OMe 修饰,并且所述负载链上 80% 的 C 和 U 为 2' OMe 修饰。

[0081] 本发明的另一个方面涉及包含引导链和负载链的分离的双链核酸分子,其中所述引导链长 18-21 个核苷酸并且与靶基因基本互补,其中所述负载链长 11-14 个核苷酸并与所述引导链互补,并且其中所述引导链的 1 位具有 2-OMe 和 5' 磷酸酯修饰,所述引导链 2 至 11 位的每个 C 和 U 为 2-F 修饰,所述引导链 12-18 位的每个 C 和 U 为 2' OMe 修饰,所述

负载链中 80% 的 C 和 U 为 2' OMe 修饰并且负载链的 3' 末端与辍合物连接。在一些实施方案中,所述辍合物选自固醇、固醇类分子、疏水维生素或脂肪酸。

[0082] 本发明的每种限定可涵盖本发明的多种实施方案。因此,预计本发明涉及任一要素或要素组合的每个限定可包含在本发明的每个方面中。本发明在其应用中不受限于以下说明中所公开或附图所展示组件的构建和排列的细节。本发明可包括其它实施方案或者以多种方式操作或实施。

附图说明

[0083] 附图并未按比例绘制。在附图中,在多个图中显示的每个相同或几乎相同的组件由相似的标号表示。为清楚起见,并没有标出每个图中的每个组件。在图中:

[0084] 图 1 是显示所提出的不对称双链 RNA 分子 (asymmetric double stranded RNA, adsRNA) 的示意图。粗线表示带有与 RISC 装载相容的修饰模式的序列。条纹线表示带有与负载链相容的修饰的多核苷酸。平线表示针对细胞相互作用和摄取而优化了修饰模式的单链多核苷酸。图 1A 显示了具有延长的引导或负载链的 adsRNA。图 1B 显示了具有不同长度的细胞透过性多核苷酸的 adsRNA;图 1C 显示了具有 3' 和 5' 辍合物的 adsRNA;图 1D 显示了具有错配的 adsRNA。

[0085] 图 2 是显示具有不同化学修饰模式的不对称 dsRNA 分子的示意图。所显示的可用于提高疏水性的几种化学修饰的实例包括 4- 吡啶基、2- 吡啶基、异丁基和吲哚基的 5 位尿苷修饰。

[0086] 图 3 是显示采用 dsRNA 结合结构域、精蛋白 (或其它 Arg 富含肽)、亚精胺或相似化学结构来屏蔽双链体电荷以便于细胞进入的示意图。

[0087] 图 4 是显示可用于多核苷酸电荷屏蔽的带正电化学品的示意图。

[0088] 图 5 是显示进入 RISC 的单链多核苷酸的结构和化学组成的示意图。可采用一种或多种修饰 (包括 2' d、2' Ome、2' F、疏水和硫代磷酸酯修饰) 的组合来优化单链的 RISC 进入。

[0089] 图 6 是显示 RISC 底物抑制剂的结构和化学组成的实例的示意图。可采用一种或多种化学修饰的组合来介导有效摄取和与预装载的 RISC 复合物的有效结合。

[0090] 图 7 是显示连接有固醇类分子的多核苷酸的结构示意图,其中 R 表示 9 个碳或更长的多碳尾。图 7A 表示 adsRNA 分子;图 7B 表示约 17-30bp 长的 siRNA 分子;图 7C 表示进入 RISC 的链;图 7D 表示底物类似物链。可优化如图 7 所示的化学修饰模式以促进期望的功能。

[0091] 图 8 是显示天然植物固醇的实例的示意图,所述植物固醇具有长于 8 的多碳链,连接到 17 位。已知多于 250 种不同类型的植物固醇。

[0092] 图 9 是显示固醇样结构的实例的示意图,所述固醇样结构中连接到 17 位的多碳链的大小不同。

[0093] 图 10 显示的示意图和图表证明,连接到 17 位的多碳链的大小直接影响包含固醇类分子的脂质乳剂的肝摄取和血浆清除百分比。该图修改自 Martins 等, Journal of Lipid Research (1998) 的图。

[0094] 图 11 是显示胶束形成的示意图。图 11A 显示具有疏水辍合物的多核苷酸;图 11B

显示亚油酸 ;图 11C 显示由包含疏水辍合物的多核苷酸与脂肪酸组合的混合物所形成的胶束。

[0095] 图 12 是显示脂质组成的改变可如何影响疏水修饰和 / 或疏水辍合的多核苷酸的药代动力学行为和组织分布的示意图。特别地,采用富含亚油酸和心磷脂的脂质混合物导致心肌的偏好性摄取。

[0096] 图 13 是显示用于靶向 MAP4K4 表达的 RNAi 构建体和对照的实例的示意图。RNAi 构建体 12083 对应于 SEQ ID NO :597 和 598。RNAi 构建体 12089 对应于 SEQ ID NO :599。

[0097] 图 14 是显示转染本发明 RNAi 构建体后 MAP4K4 表达的图。所测试的 RNAi 构建体为 :12083(缺口),12085(13nt 双链体),12089(无茎配对)和 12134(13nt miniRNA)。转染结果与未转染的对照样品相比较。RNAi 构建体 12083 对应于 SEQ ID NO :597 和 598。RNAi 构建体 12085 对应于 SEQ ID NO :600 和 601。RNAi 构建体 12089 对应于 SEQ ID NO :599。RNAi 构建体 12134 对应于 SEQ ID NO :602 和 603。

[0098] 图 15 是显示用本发明 RNAi 构建体转染 24 小时后 MAP4K4 表达的图。所测试的 RNAi 构建体为 :11546(MAP4K4rxRNA)、12083(MAP4K4 缺口构建体)、12134(12bp soloRNA)和 12241(14/3/14 soloRNA)。转染结果与填充物对照样品相比较。RNAi 构建体 11546 对应于 SEQ ID NO :604 和 605。RNAi 构建体 12083 对应于 SEQ ID NO :597 和 598。RNAi 构建体 12134 对应于 SEQ ID NO :602 和 603。RNAi 构建体 12241 对应于 SEQ ID NO :606 和 607。

[0099] 图 16 是显示转染本发明 RNAi 构建体后 MAP4K4 表达沉默相关参数之比较的图和几个表格。rxRNA 构建体对应于 SEQ ID NO :604 和 605。14-3-14 soloRNA 构建体对应于 SEQ ID NO :606 和 607。13/19 双链体(缺口构建体)对应于 SEQ ID NO :597 和 598。12-bp soloRNA 构建体对应于 SEQ ID NO :602 和 603。

[0100] 图 17 是显示用于靶向 SOD1 表达的 RNAi 构建体和对照的实例的示意图。12084RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :612 和 613。

[0101] 图 18 是显示转染本发明 RNAi 构建体后 SOD1 表达的图。所测试的 RNAi 构建体为 12084(缺口)、12086(13nt 双链体)、12090(无茎配对)和 12035(13nt MiniRNA)。转染结果与未转染对照样品相比较。12084RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :612 和 613。12086RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :608 和 609。12035RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :610 和 611。

[0102] 图 19 是显示转染本发明 RNAi 构建体后 24 小时 SOD1 表达的图。所测试的 RNAi 构建体为 :10015(SOD1 rxRNA)和 12084(SOD1 缺口构建体)。转染结果与填充物对照样品相比较。10015RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :614 和 615。12084RNAi 构建体对应于 SEQ ID NO :612 和 613。

[0103] 图 20 是说明具有小于 10 个核苷酸的双链区的 RNA 分子不被 Dicer 切割的示意图。

[0104] 图 21 为显示用于 RNA 诱导基因沉默的假想 RNAi 模型的示意图。

[0105] 图 22 为显示不对称 RNAi 化合物的化学优化的图。化学修饰的存在(尤其是引导链上的 2'F UC、硫代磷酸酯修饰以及负载链上的完全 CU2'OMe 修饰)产生了功能性化合物。显示了采用特定修饰的 RNAi 分子进行的脂质介导转染后的 MAP4K4 沉默。所测试的 RNAi 分子具有 13 个核苷酸长的有义链并包含以下修饰:未修饰;C 和 U 2'OMe;C 和 U 2'OMe 并且 3'Ch1;rxRNA 2'OMe 模式;除 1 位碱基外全部 2'OMe。此外,所测试的 RNAi 分子的引导(反义)链包含以下修饰:未修饰;未修饰并具有 5'P;C 和 U 2'F;C 和 U 2'F 并且 3'末

端 8PS ;以及未修饰 (长 17nt)。还显示了 rxRNA 12/10 双链体和阴性对照的结果。

[0106] 图 23 证明,本文所述的化学修饰显著提高了 HeLa 细胞中 RNAi 分子的体外无协助递送的效力。没有改变化合物的结构和序列;只改变了分子的化学修饰模式。无 2' F、2' O-me、硫代磷酸酯修饰或胆固醇缀合物的化合物完全没有被动摄取活性。所有 4 种这些修饰类型的组合产生了最高水平的活性 (化合物 12386)。

[0107] 图 24 是显示在被动摄取转染了 NT Accell 修饰 siRNA、MAP4K4 Accell siRNA、Non-Ch1 nanoRNA(12379) 和 sd-nanoRNA(12386) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达的图。

[0108] 图 25 是显示在被动摄取转染了包含以下参数的多种浓度的 RNA 分子后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达的图:Nano Lead 无 3' Ch1;Nano Lead;Accell MAP4K4;21mer GS,8PS 尾;21mer GS,12PS 尾;以及 25mer GS,12PS 尾。

[0109] 图 26 为证明寡核苷酸含量的降低提高了无协助摄取效率的图。对不对称化合物、传统 siRNA 化合物和 25mer RNAi 化合物进行相似的化学修饰。证明不对称小化合物具有最显著的效力。

[0110] 图 27 为证明硫代磷酸酯含量对无协助递送的重要性的图。图 27A 显示了系统性筛选的结果,其揭示引导链中至少 2-12 个硫代磷酸酯的存在显著提高了摄取;在一些实施方案中,发现 4-8 个硫代磷酸酯修饰是优选的。图 27B 揭示有义链中硫代磷酸酯修饰的存在与否不改变效力。

[0111] 图 28 是显示被动摄取转染 Accell Media-Ctrl-UTC;MM APOB Alnylam;活性 APOB Alnylam;nanoRNA 无 chl;nanoRNA MAP4K4;小鼠 MAP4K4 Accell Smartpool;DY547Accell 对照;具有 Dy547 的 Luc 对照 rxRNA;具有 DY547 的 MAP4K4 rxRNA;和单独的 AS 链 (nano) 后原代小鼠肝细胞中 MAP4K4 表达的图。

[0112] 图 29 是显示被动摄取转染 Accell Media-Ctrl-UTC;MM APOB Alnylam;活性 APOB Alnylam;nanoRNA 无 chl;nanoRNA MAP4K4;小鼠 MAP4K4 Accell Smartpool;DY547 Accell 对照;具有 Dy547 的 Luc 对照 rxRNA;具有 DY547 的 MAP4K4 rxRNA;和单独的 AS 链 (nano) 后原代小鼠肝细胞中 ApoB 表达的图。

[0113] 图 30 是显示被动摄取转染 11550 MAP4K4 rxRNA;12544 MM MAP4K4 nanoRNA;12539 活性 MAP4K4 nanoRNA;Accell 培养基;和 UTC 后原代人肝细胞中 MAP4K4 表达的图。

[0114] 图 31 显示被动摄取转染 12505 活性 ApoB chol-siRNA;12506 MM ApoB chol-siRNA;Accell Media;和 UTC 后原代人肝细胞中 ApoB 表达的图。

[0115] 图 32 是显示 sd-rxRNA^{nano} 定位位置的图。

[0116] 图 33 是显示 Chol-siRNA (Alnylam) 定位的图。

[0117] 图 34 为本发明第一代 (G1) sd-rxRNA^{nano} 分子的示意图,显示了修饰所靶向的区域以及分子不同区域的相关功能。

[0118] 图 35 显示为优化 sd-rxRNA^{nano} (G1) 而筛选的修饰模式。在引导链上筛选的修饰包括 19、21 和 25 个核苷酸的长度,0-18 个核苷酸的硫代磷酸酯修饰,以及用 2' OMe、5 甲基 C 和 / 或核糖胸苷修饰替换 2' F 修饰。所筛选的有义链修饰包括 11、13 和 19 个核苷酸的长度,0-4 个核苷酸的硫代磷酸酯修饰和用 2' OMe 进行修饰。

[0119] 图 36 为显示为优化而进行筛选的 sd-rxRNA^{nano} 修饰的示意图。

[0120] 图 37 为显示转染 Risc 游离 siRNA;rxRNA;Nano (未修饰);单独的 GS;Nano

Lead(无 Ch1); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 8PS, 19nt); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 8PS, 21nt); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 12PS, 21nt); 和 Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 12PS, 25nt) 后 Hek293 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0121] 图 38 为显示被动摄取转染了单独的 GS; Nano Lead; Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 8PS, 19nt); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 8PS, 21nt); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 12PS, 21nt); Nano(GS:1、18 和 19 位的 (3)2' OMe, 12PS, 25nt) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0122] 图 39 为显示脂质介导转染了单独的引导链 (GS:8PS, 19nt); 单独的引导链 (GS:18PS, 19nt); Nano(GS: 无 PS, 19nt); Nano(GS:2PS, 19nt); Nano(GS:4PS, 19nt); Nano(GS:6PS, 19nt); Nano Lead(GS:8PS, 19nt); Nano(GS:10PS, 19nt); Nano(GS:12PS, 19nt); 和 Nano(GS:18PS, 19nt) 后 Hek293 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0123] 图 40 为显示脂质介导转染了单独的引导链 (GS:8PS, 19nt); 单独的引导链 (GS:18PS, 19nt); Nano(GS: 无 PS, 19nt); Nano(GS:2PS, 19nt); Nano(GS:4PS, 19nt); Nano(GS:6PS, 19nt); Nano Lead(GS:8PS, 19nt); Nano(GS:10PS, 19nt); Nano(GS:12PS, 19nt); 和 Nano(GS:18PS, 19nt) 后 Hek293 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0124] 图 41 为显示被动摄取转染了 Nano Lead(无 Ch1); 单独的引导链 (18PS); Nano(GS:0PS, 19nt); Nano(GS:2PS, 19nt); Nano(GS:4PS, 19nt); Nano(GS:6PS, 19nt); Nano Lead(GS:8PS, 19nt); Nano(GS:10PS, 19nt); Nano(GS:12PS, 19nt); 和 Nano(GS:18PS, 19nt) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0125] 图 42 为显示被动摄取转染了 Nano Lead(无 Ch1); 单独的有义链 (18PS); Nano(GS:0PS, 19nt); Nano(GS:2PS, 19nt); Nano(GS:4PS, 19nt); Nano(GS:6PS, 19nt); Nano Lead(GS:8PS, 19nt); Nano(GS:10PS, 19nt); Nano(GS:12PS, 19nt); 和 Nano(GS:18PS, 19nt) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0126] 图 43 为显示为优化而筛选的引导链化学修饰的示意图。

[0127] 图 44 为显示反向转染 (reverse transfection) 了 RISC 游离 siRNA; 单独的 GS(2' F C 和 U); 单独的 GS(2' OMe C 和 U); Nano Lead(2' F C 和 U); nano(GS:(3)2' OMe, 16-18 位); nano(GS:(3)2' OMe, 16、17 和 19 位); nano(GS:(4)2' OMe, 11、16-18 位); nano(GS:(10)2' OMe, C 和 U); nano(GS:(6)2' OMe, 1 和 5-9 位); nano(GS:(3)2' OMe, 1、18 和 19 位); 以及 nano(GS:(5)2' OMe C) 后 Hek293 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0128] 图 45 为展示多种化学修饰模式的效力的图。特别地, 1 和 11-18 位的 2-OMe 修饰的容忍度很高。种子区的 2'OMe 修饰导致效力的轻微降低 (但效力仍旧很高)。种子区的核糖修饰的容忍度很高。这些数据使得可以产生减少 2' F 修饰或无 2' F 修饰的自递送化合物。这具有重要意义, 因为 2' F 修饰可与体内毒性相关。

[0129] 图 46 为有义链修饰的示意图。

[0130] 图 47 为显示有义链长度优化的图。在该测定中发现 10-15 个碱基长的有义链是最佳的。增加有义链长度导致这些化合物被动摄取的降低, 但对于其它化合物来说是可容忍的。包含 LNA 修饰的有义链显示出与不包含 LNA 的化合物具有相似的效力。在一些实施方案中, 加入 LNA 或其它热动力稳定性化合物可为有益的, 导致将非功能性序列转化为功能性序列。

[0131] 图 48 为显示被动摄取转染了单独的有义链 (2' F C 和 U) ;Nano Lead ;Nano Lead (无 Ch1) ;Nano (SS :11nt 2' OMe C 和 U, Ch1) ;Nano (SS :11nt, 完全 2' OMe, Ch1) ; Nano (SS :19nt, 2' OMe C 和 U, Ch1) ;Nano (SS :19nt, 2' OMe C 和 U, 无 Ch1) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0132] 图 49 为显示被动摄取转染 Nano Lead (无 Ch1) ;Nano (SS 无 PS) ;Nano Lead (SS : 2PS) ;Nano (SS :4PS) 后 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的图。

[0133] 图 50 是表示第二代 (GII) sd-rxRNA^{nano}lead 分子的示意图。

[0134] 图 51 为显示 sd-rxRNA 存在下 MAP4K4 沉默的 EC50 值的图, 和显示 DY547 标记的 rxRNA^{ori} 和 DY547 标记的 sd-rxRNA 的定位的图。

[0135] 图 52 为优化的 sd-rxRNA 分子存在下 HeLa 细胞中 MAP4K4 表达百分比的显示图。

[0136] 图 53 为表示化学修饰含量在 sd-rxRNA 效力优化中的相关性的图。

[0137] 图 54 为表示固醇类分子的示意图, 和表明具有多种接头化学结构的 sd-rxRNA 化合物具有完整功能的图。用通过 TEG 和氨基己酸接头连接固醇类分子来合成 GII 不对称化合物。两种接头显示相同的效能。这种接头化学结构的功能独立性显示了本文所述分子和之前所述分子的显著不同, 并为本文所述分子的规模扩大和合成提供了显著优势。

[0138] 图 55 展示了与未修饰 RNA 相比, 化学修饰的 sd-rxRNA 化合物在人血清中的稳定性。将寡核苷酸在 37°C 下在 75% 的血清中孵育所示的小时数。通过将样品在非变性凝胶上电泳并用 SYBGR 染色来确定降解水平。

[0139] 图 56 为通过使寡核苷酸含量尽可能小来优化 sd-rxRNA 细胞摄取的图。

[0140] 图 57 为显示小鼠 PEC 衍生巨噬细胞中 sd-rxRNA 自发细胞摄取后 MAP4K4 表达的百分比的图, 以及显示 sd-rxRNA 定位的相和荧光图。

[0141] 图 58 为显示小鼠原代肝细胞中 sd-rxRNA (靶向) 和 sd-rxRNA (错配) 自发细胞摄取后 MAP4K4 表达百分比的图, 以及显示 sd-rxRNA 位置的相和荧光图。

[0142] 图 59 为显示不使用制剂递送到 RPE 细胞的 DY547 标记 sd-rxRNA 的定位的示意图。

[0143] 图 60 为显示不使用制剂用 sd-rxRNA^{nano} 处理的 RPE 细胞中 MAP4K4 表达沉默的图。

[0144] 图 61 为 RNAi 化合物的图和示意图, 其显示了高效 sd-rxRNA 化合物的化学 / 结构组成。发现高效化合物具有以下特征 :17-21 个核苷酸的反义链, 10-15 个核苷酸的有义链, 含有 2-12 个硫代磷酸酯修饰 (优选 6-8 个硫代磷酸酯修饰) 的单链区, 和大部分核苷酸被 2' OMe 修饰 (有或没有硫代磷酸酯修饰) 的有义链。可采用任何接头化学结构将这些分子在有义链 3' 末端与疏水部分 (如胆固醇) 连接。这些 RNA 化合物的 GII a-b 形式证明 2' F 含量的消除对效力无影响。

[0145] 图 62 显示了 RNAi 化合物的图和示意图, 其证明与 Wolfrum 等 Nature Biotech, 2007 发表的化合物, 相比 sd-rxRNA 化合物具有更好的性能。本文开发的 I 代和 II 代化合物 (GI 和 GIIa) 均显示很好的效力。与之不同, 当将 Wolfrum 等所述的化学结构 (所有寡聚物包含缀合到有义链 3' 末端的胆固醇) 应用于常规 siRNA (19bp 双链体, 有 2 突出端) 的相同序列上时, 化合物基本无活性。这些数据强调了将本文所述的化学修饰和不对称分子组合而产生高效 RNA 化合物的重要性。

[0146] 图 63 为显示 sd-rxRNA 在细胞内累积, 而其它效力较低的缀合 RNA 在细胞表面累积的图。

[0147] 图 64 为显示 sd-rxRNA 分子在几分钟内内化入细胞中,而其他分子则不然。

[0148] 图 65 显示了证明与常规胆固醇缀合 siRNA(如在 Soucheck 等中发表的那些)相比, sd-rxRNA 化合物具有明显更佳的细胞和组织摄取特征的图。图 65A、B 比较了 RPE 细胞中的摄取,图 65C、D 比较了局部施用到皮肤后的摄取,图 65E、F 比较了全身施用后的肝摄取。与普通 siRNA-胆固醇化合物相比, sd-rxRNA 化合物的摄取水平至少高一个数量级。

[0149] 图 66 为显示局部递送后 rxRNA^{ori} 和 sd-rxRNA 的定位的图。

[0150] 图 67 为显示局部递送后 sd-rxRNA 和其它缀合 RNA 的定位的图。

[0151] 图 68 为显示筛选结果的图,所述筛选用 sd-rxRNAGII 化学结构进行,以鉴定靶向 SPP1 基因的功能性化合物。鉴定出多种有效化合物,其中 14131 最有效。将化合物加入 A-549 细胞并在 48 小时后通过 B-DNA 确定 SPP1/PP1B 的比值水平。

[0152] 图 69 为显示在几分钟的接触中 sd-rxRNA 的有效细胞摄取的图和几个图像。这是本文所述的 sd-rxRNA 化合物的独特特征,在其它任何 RNAi 化合物中未观察到。用 Soutschek 等的化合物作为阴性对照。

[0153] 图 70 为证明多种细胞类型中多种序列的 sd-rxRNA 化合物有效摄取及沉默的图和几个图像。在每种情况下通过用分支 DNA 测定来观察靶基因表达,以测定沉默。

[0154] 图 71 为显示在存在和不存在血清的情况下 sd-rxRNA 有活性的图。在存在血清时观察到效力的微小降低(2-5 倍)。这种在血清存在时效力的极小降低将本文所述的 sd-rxRNA 化合物与之前所述的 RNAi 化合物区分开来,后者的效力有极大的降低,因此这是本文所述的 sd-rxRNA 分子体内效力的基础。

[0155] 图 72 是证明在单次真皮内注射本文所述 sd-rxRNA 化合物后有效组织渗透和细胞摄取的图。这代表了局部递送 sd-rxRNA 化合物的模型,并有效证明了皮肤施用 sd-rxRNA 化合物的递送和基因沉默。

[0156] 图 73 是证明真皮内注射后 sd-rxRNA 有效细胞摄取和体内沉默的图像和图。

[0157] 图 74 是证明 sd-rxRNA 在全身施用后具有改善的血液清除并在肝中体内诱导有效基因沉默的图。

[0158] 图 75 为证明 5-甲基 C 在 RNAi 化合物中的存在导致脂质介导转染效率提高的图,这证明在 RNAi 化合物中 C 和 U 的疏水修饰可以是有利的。在一些实施方案中,可在 2' 核糖修饰碱基的情况下采用这种类型的修饰,以保证最佳的稳定性和效力。

[0159] 图 76 为显示被动摄取转染了单独的引导链; Nano Lead; Nano Lead(无胆固醇); 引导链 w/5MeC 和单独的 2' F U; Nano Lead w/GS 5MeC 和 2' F U; Nano Lead w/GS riboT 和 5 甲基 C; 和 Nano Lead w/ 引导 dT 和 5 甲基 C 后 MAP4K4 表达百分比的图。

[0160] 图 77 为在全身递送至肝后比较 sd-rxRNA 和其它 RNA 缀合物的定位的图。

[0161] 图 78 为证明 5-尿苷修饰具有改进的疏水特征的示意图。将这种修饰掺入 sd-rxRNA 化合物可提高细胞和组织摄取特性。图 78B 为可应用于化合物以提高细胞摄取和药代动力学行为的新型 RNAi 化合物修饰。当用于 sd-rxRNA 化合物时,该类型的修饰可促使这种化合物经口使用。

[0162] 图 79 为显示合成的经修饰固醇类分子的结构示意图,其中 C17 连接尾的长度和结构被修饰。不希望局限于任何理论, C17 连接尾的长度可提高 sd-rxRNA 化合物的体外和体内效力。

[0163] 图 80 为显示用石胆酸作为长侧链胆固醇的示意图。

[0164] 图 81 为显示 5-尿苷亚磷酸酰胺合成途径的示意图。

[0165] 图 82 显示用于 3'-胆固醇连接的三功能羟基脯氨酸接头的合成示意图。

[0166] 图 83 为显示用于制造更短的不对称 RNAi 化合物链的固体支持物合成示意图。

[0167] 图 84 显示了 SPP1 sd-rxRNA 化合物的选择。将靶向 SPP1 的 sd-rxRNA 化合物加入 A549 细胞（采用被动转染）中，并在 48 小时后评价 SPP1 的表达水平。鉴定了在 SPP1 沉默中有效的几种新化合物，其中最具效力的为化合物 14131。

[0168] 图 85 显示 sd-rxRNA 化合物 14116、14121、14131、14134、14139、14149 和 14152 在 SPP1 沉默中效力的独立验证。

[0169] 图 86 显示了鉴定在 CTGF 敲低中具有功能的 sd-rxRNA 化合物的 sd-rxRNA 化合物筛选结果。

[0170] 图 87 显示了鉴定在 CTGF 敲低中具有功能的 sd-rxRNA 的 sd-rxRNA 化合物筛选结果。

[0171] 图 88 显示了鉴定不对称化合物最小长度的系统性筛选。将 10-19 碱基的负载链与 17-25 碱基的引导链杂交。在本测定中，发现双链体区短至 10 碱基的化合物在诱导中有效。

[0172] 图 89 证明有义链与引导链的相对位置对 RNAi 活性很重要。在该测定中，发现平末端是最佳的，3' 突出端是可容忍的，而 5' 突出端导致功能的完全丧失。

[0173] 图 90 证明只在 2-17 位核苷酸与靶标同源的引导链在与不同长度的有义链杂交时能产生有效的 RNAi。通过脂质介导的转染将化合物引入 HeLa 细胞。

[0174] 图 91 为可代替胆固醇用作疏水实体的一组固醇类分子的示意图。在一些情况下，采用包含更长链的固醇类分子产生了具有显著更佳的细胞摄取和组织分布特性的 sd-rxRNA 化合物。

[0175] 图 92 为可代替胆固醇用作疏水实体的一组疏水分子的示意图。这些列举只提供代表性实例；可采用本质上具有疏水性的任何小分子。

[0176] 发明详述

[0177] 本发明的一些方面涉及与基因沉默相关的方法和组合物。本发明至少部分基于以下惊人的发现，即具有极小长度（如 8-14 个核苷酸）双链区的不对称核酸分子在基因表达沉默中有效。之前没有证明具有如此之短的双链区的分子在介导 RNA 干扰中有效。之前推测，双链区必须为 19 个核苷酸或更长。本文所述的分子通过化学修饰进行优化，并且在一些情况下通过连接疏水辍合物进行优化。

[0178] 本发明至少部分基于另一个惊人的发现，即与常规 siRNA 相比，双链区减小的不对称核酸分子的细胞摄取更加高效得多。这些分子在沉默靶基因表达中具有很高效，并且与之前所述的 RNAi 分子相比提供了显著的益处，包括在血清存在下具有高活性、有效的自递送、与多种接头相容、与毒性相关的化学修饰更少或完全不存在。

[0179] 与单链多核苷酸不同，很难将双链体多核苷酸递送到细胞，这是因为它们具有刚性结构以及大量的负电荷，这使膜转运很困难。出人意料的是，发现本发明的多核苷酸尽管部分为双链，却在体内被识别为单链，因此，其能透过细胞膜有效递送。因此本发明的多核苷酸在多种自递送的情况下可用。因此，本发明的多核苷酸可以类似于常规 RNAi 试剂的方

式被制备,或可将它们单独地(或与非递送型载体一起)递送到细胞或对象,并使其自递送。在本发明的一个实施方案中,提供了自递送不对称双链 RNA 分子,其中所述分子的一部分类似于常规 RNA 双链体,而所述分子的第二部分为单链。

[0180] 本发明多核苷酸在本文中称为为本发明的分离的双链或双链体核酸、寡核苷酸或多核苷酸、纳米分子、纳米 RNA、sd-rxRNA^{nano}、sd-rxRNA 或 RNA 分子。

[0181] 本发明的寡核苷酸在一些方面中具有以下特征的组合:包含双链区和 5 个核苷酸或更长的单链区的不对称结构、特定化学修饰模式以及与亲脂或疏水分子缀合。这种新类型的 RNAi 样化合物在体外和体内具有极佳的效力。根据本文所述的数据,认为减小刚性双链体区域大小与应用于单链区的硫代磷酸酯修饰相组合是新颖的,并对所观察到的极佳效力是重要的。因此,本文所述的 RNA 分子在结构和组成以及体外和体内活性方面均不同。

[0182] 在一个优选的实施方案中,本发明的 RNAi 分子包含不对称化合物,其包含双链区(有效 RISC 进入所需,10-15 个碱基长)和 4-12 个核苷酸长的单链区;并具有 13 核苷酸的双链体。在一些实施方案中优选 6 个核苷酸的单链区。新 RNAi 化合物的单链区还包含 2-12 个硫代磷酸酯核苷酸间连接(称为硫代磷酸酯修饰)。在一些实施方案中优选 6-8 个硫代磷酸酯核苷酸间连接。此外,本发明的 RNAi 化合物还包含独特的化学修饰模式,这提供了稳定性并与 RISC 进入相容。这些要素的组合产生了对 RNAi 试剂体外和体内递送非常有用的出人意料的特性。

[0183] 提供稳定性并与 RISC 进入相容的化学修饰模式包括对有义链(或负载链)以及反义链(或引导链)的修饰。例如可采用加强稳定性并且不干扰活性的任何化学实体修饰负载链。这些修饰包括 2' 核糖修饰(0-甲基、2' F、2 脱氧和其它)和骨架修饰,如硫代磷酸酯修饰。负载链中优选的化学修饰模式包括负载链中 C 和 U 核苷酸的 0 甲基修饰,或者负载链可完全被 0 甲基修饰。

[0184] 例如,引导链也可被任何加强稳定性而不干扰 RISC 进入的化学修饰进行修饰。引导链中优选的化学修饰模式包括大部分 C 和 U 核苷酸被 2' F 修饰并且 5' 末端被磷酸化。引导链中另一个优选的化学修饰模式包括 1 位和 11-18 位的 C/U 的 2' 0 甲基修饰以及 5' 末端的化学磷酸化。引导链的另一个优选的化学修饰模式包括 1 位和 11-18 位的 2' 0 甲基修饰和 5' 末端的化学磷酸化以及 2-10 位的 C/U 的 2' F 修饰。

[0185] 本发明出乎意料地发现,上述本发明寡核苷酸的化学修饰模式被很好地容忍,并且实际上增强了不对称 RNAi 化合物的效力。参见如图 22。

[0186] 本文还通过实验证明,在多核苷酸中使用 RNAi 修饰的组合时获得了 RNAi 被动摄取的最佳效力。去除任何上述元素(引导链稳定化、硫代磷酸酯区段、有义链稳定化和疏水缀合物)或增加大小导致了亚最佳的效力,并且在一些情况下完全失去效力。要素的组合导致开发了在被动递送到细胞(如 HeLa 细胞)后具有完全活性的化合物(图 23)。要素组合所导致的 RNAi 分子有效自递送程度是完全意想不到的。

[0187] 图 26、27 和 43 中显示的数据证明了 RNAi 的多种修饰在实现稳定性和活性中的重要性。例如,图 26 证明采用不对称构型对被动摄取中效力的实现非常重要。当将相同的化学组成应用于传统构型的化合物(19-21 个碱基的双链体和 25mer 双链体)时,效力以长度依赖性方式显著降低。图 27 显示了硫代磷酸酯化学修饰对活性之影响的系统性筛选。将序列、结构、稳定化学修饰、疏水缀合物保持不变,并改变化合物的硫代磷酸酯含量(0 至 18

个 PS 键)。无硫代磷酸酯键和具有 18 个硫代磷酸酯键的化合物均在被动摄取中完全无活性。具有 2-16 个硫代磷酸酯键的化合物是有活性的,其中具有 4-10 个硫代磷酸酯键的化合物为活性最高的化合物。

[0188] 以下实施例中的数据证明了本发明寡核苷酸在体外多种细胞类型中(支持数据)和体内在局部和全身施用后均具有高效力。例如,在数据中比较了具有不同化学结构的几种竞争 RNAi 分子使基因沉默的能力。将应用于相同靶标区域的 sd-rxRNA(本发明寡核苷酸)和 Soucheck 等和 Wolfrum 等所述 RNA 进行的比较证明,只有 sd-rxRNA 化学结构在被动摄取中显示出显著的功能性。本发明的组合物达到 10-50pM 的 EC50 值。该效力水平是如 Sauthceck 等所述和 Accell 的常规化学结构不能达到的。在其它系统和其它基因中进行了类似的比较(图 65 和 68),所述系统如体外(RPE 细胞系),体内局部施用(受伤皮肤)和全身施用(50mg/kg)。在每种情况下本发明的寡核苷酸均达到更佳的结果。图 64 所包含的数据证明 sd-rxRNA 化合物在仅 1 分钟的接触后就发生有效的细胞摄取并导致沉默。这种效力是该组合物独有的,并且在该种类其他类型的分子中未发现。图 70 证明了在多种细胞类型中多种序列的 sd-rxRNA 化合物的有效摄取和沉默。所述 sd-rxRNA 化合物在存在或不存在血清和其它生物流体的情况下在细胞中也具有活性。图 71 证明在血清存在下活性只有少量降低。这种在不利生物环境中有效行使功能的能力进一步将 sd-rxRNA 化合物与其它该类所述化合物(如 Accell 和 Soucheck 等)区分开来,后者在血清存在下摄取被强烈抑制。

[0189] 大量数据还证明了本发明化合物的体内效力。例如图 72-74 涉及本发明化合物体内递送的多种途径均产生明显活性。例如图 72 证明在单次真皮内注射后有效的组织渗透和细胞摄取。这是 sd-rxRNA 化合物局部递送的模型和在任何皮肤施用中 sd-rxRNA 递送和基因沉默的有效模式。图 73 证明了体内局部真皮内注射 sd-rxRNA 化合物后的有效组织渗透、细胞摄取和沉默。图 74 的数据证明, sd-rxRNA 化合物在 IV 施用后导致高效的肝摄取。与 Souicheck 等的分子进行的比较显示,相同剂量水平下肝摄取水平相当惊人, sd-rxRNA 化合物比 Souicheck 等的分子至少高 50 倍。

[0190] 在一些情况下,可通过用新型化学结构改善化合物的疏水性来进一步改进 sd-rxRNA。例如一个化学结构涉及采用疏水碱基修饰。只要修饰导致碱基的分配系数提高,则任何位置的任何碱基都可被修饰。修饰化学结构的优选位置为嘧啶碱基的 4 和 5 位。这些位置的主要优点为(a)易于合成,并且(b)对碱基配对和 A 型螺旋形成没有干扰,这对 RISC 复合体装载和靶标识别很重要。图 75-83 显示了这些化学结构的实例。所采用的一种 sd-rxRNA 化合物形式为存在多个脱氧尿苷并且不干扰整体化合物效力。此外,可通过优化疏水辍合物的结构来实现组织分布和细胞摄取的重大改进。在一些优选的实施方案中,修饰固醇的结构以改变(增加/减少)C17 连接链。该类修饰导致细胞摄取的显著增加以及体内组织摄取特性的改进。

[0191] 本发明在应用中不受在以下说明或图示中给出的构建细节和组件安排的限制。本发明可以有其它的实施方案并以多种方式操作或实施。并且,本文所用的措辞和术语是为说明目的而不应作为限制。本文中“包括”、“包含”或“具有”、“含有”、“涉及”及其改变形式的使用旨在涵盖其后列举的条目和其等同方案以及另外的条目。

[0192] 因此,本发明的一些方面涉及包含引导(反义)链和负载(有义)链的分离的双

链核酸分子。本文所用术语“双链”是指一个或更多个核酸分子,其中至少部分核酸单体为互补的并且具有氢键而形成双链区。在一些实施方案中,所述引导链长度为 16-29 个核苷酸。在一些实施方案中,所述引导链长度为 16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28 或 29 个核苷酸。所述引导链与靶基因具有互补性。引导链和靶基因之间的互补性可存在于所述引导链的任何部分中。本文所用的互补性可为完全互补性或不完全互补性,只要引导链与靶标的互补足以介导 RNAi 即可。在一些实施方案中,互补性是指引导链和靶标之间有少于 25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2% 或 1% 的错配。完全互补性是指 100% 互补性。因此,本发明具有能容忍序列改变的优点,预计所述改变可由于基因突变、种系多态性或进化分支而产生。例如,也发现相对于靶序列具有插入、缺失和单点突变的 siRNA 序列在抑制中有效。此外,不是 siRNA 上的所有位置对靶标识别都具有等效的作用。siRNA 中央的错配是最致命的并且基本消除了靶标 RNA 切割。中央部分上游和对应反义链切割位点上游的错配可被允许,但显著降低靶 RNA 切割。中央部分或对应反义链的切割位点下游的错配(优选地位于反义链的 3' 末端附近,例如距离反义链 3' 末端 1、2、3、4、5 或 6 个核苷酸)可被允许,并且只是轻微地降低靶 RNA 的切割。

[0193] 不期望限制于任何特定理论,在一些实施方案中,所述引导链至少长 16 个核苷酸并且锚定于 RISC 中的 Argonaute 蛋白。在一些实施方案中,当引导链装载入 RISC 时,其具有确定的种子区(seed region)并且 mRNA 靶向切割发生在引导链 10-11 位。在一些实施方案中,引导链的 5' 末端被磷酸化或能被磷酸化。本文所述的核酸分子可称为最小触发 RNA。

[0194] 在一些实施方案中,所述负载链的长度范围为 8-14 个核苷酸。在一些实施方案中,所述负载链为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸长。所述负载链与引导链互补。负载链和引导链之间的互补性可存在于所述负载链或引导链的任何部分中。在一些实施方案中,在分子的双链区中引导链和负载链之间具有 100% 的互补性。

[0195] 本发明的一些方面涉及具有最小双链区的双链核酸分子。在一些实施方案中,所述分子的双链区的范围为 8-14 个核苷酸长。在一些实施方案中,所述分子的双链区为 8、9、10、11、12、13 或 14 个核苷酸长。在一些实施方案中所述双链区为 13 个核苷酸长。引导和负载链之间可有 100% 的互补性,或者引导链和负载链之间可有一个或更多个错配。在一些实施方案中,在双链分子的一个末端,所述分子为平末端或具有一个核苷酸的突出端。在一些实施方案中所述分子的单链区长 4-12 个核苷酸。例如所述单链区可为 4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 个核苷酸长。然而,在一些实施方案中,单链区还可短于 4 个或长于 12 个核苷酸。在一些实施方案中,单链区长 6 个核苷酸。

[0196] 本发明的 RNAi 构建体可具有小于 -13kcal/mol 的热力学稳定性(ΔG)。在一些实施方案中,所述热力学稳定性(ΔG) 小于 -20kcal/mol。在一些实施方案中,当(ΔG) 小于 -21kcal/mol 时有效力丧失。在一些实施方案中,高于 -13kcal/mol 的(ΔG) 值适用于本发明的一些方面。不希望限制于任何理论,在一些实施方案中,具有相对更高(ΔG) 值的分子可在相对更高的浓度下变为有活性,而具有相对更低(ΔG) 值的分子可在相对更低的浓度下变为有活性。在一些实施方案中,(ΔG) 值可高于 -9kcal/mol。包含最小双链区的本发明 RNAi 构建体所介导的基因沉默作用是意想不到的,这是由于已证明设计几乎相同但热力学稳定性更低的分子无活性(Rana 等,2004)。

[0197] 不希望限制于任何理论,本文所述的结果表明 8-10bp 的 dsRNA 或 dsDNA 区段将在

结构上被 RISC 的蛋白组件或 RISC 的辅因子识别。此外,对于触发化合物有自由能需求,从而其可被蛋白质组分感应和 / 或足够稳定以与这些组分相互作用,从而使其可装载入 Argonaute 蛋白中。如果具有优化的热力学并且具有优选至少 8 个核苷酸的双链区,则双链体将被识别并装载入 RNAi 机器中。

[0198] 在一些实施方案中,通过采用 LNA 碱基提高热力学稳定性。在一些实施方案中,引入另外的化学修饰。化学修饰的一些非限制性实例包括:5' 磷酸酯、2'-O- 甲基、2'-O- 乙基、2'- 氟代、核糖胸苷、C-5 丙炔基 -dC(pdC) 和 C-5 丙炔基 -dU(pdU);C-5 丙炔基 -C(pC) 和 C-5 丙炔基 -U(pU)、5- 甲基 C、-5- 甲基 U、5- 甲基 dC、5- 甲基 dU 甲氧基、(2,6- 二氨基嘌呤)、5' - 二甲氧基三苯甲基 -N4- 乙基 -2' - 脱氧胞苷和 MGB(minor groove binder, 小沟结合剂)。应理解,可在同一分子中组合多于一种化学修饰。

[0199] 优化本发明的分子以增强效力和 / 或降低毒性。例如,引导链和 / 或负载链的核苷酸长度、和 / 或引导链和 / 或负载链的硫代磷酸酯修饰数可在一些方面影响 RNA 分子的效力,而用 2'-O- 甲基 (2' OMe) 修饰替换 2'- 氟 (2' F) 修饰可在一些方面影响分子的毒性。特别地,预计减少分子的 2' F 含量将减轻分子的毒性。实施例部分展示了去除 2' F 修饰的分子,其与之前所述的 RNAi 化合物相比,由于预计毒性降低而具有优势。此外,RNA 分子的硫代磷酸酯修饰数可影响分子的细胞摄取,例如分子被细胞被动摄取的效力。本文所述分子的优选实施方案不具有 2' F 修饰,而其特征为在细胞摄取和组织渗透中具有同样的效力。这些分子代表了相对于现有技术 (如 Accell 和 Wolfrum 所述的分子,其通过大量使用 2' F 进行大规模修饰) 的显著进步。

[0200] 在一些实施方案中,引导链长度约 18-19 核苷酸并具有约 2-14 个磷酸酯修饰。例如,引导链可包含 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 个或多于 14 个磷酸酯修饰的核苷酸。引导链可包含增加稳定性而不干扰 RISC 进入的一种或多种修饰。磷酸酯修饰的核苷酸 (如硫代磷酸酯修饰的核苷酸) 可在 3' 末端、5' 末端或分散在整个引导链上。在一些实施方案中,所述引导链的 3' 末端 10 个核苷酸包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个硫代磷酸酯修饰核苷酸。所述引导链还可包含 2' F 和 / 或 2' OMe 修饰,其可位于整个分子上。在一些实施方案中,引导链 1 位的核苷酸 (引导链最 5' 末端位置的核苷酸) 被 2' OMe 修饰和 / 或磷酸化。引导链中的 C 和 U 核苷酸可被 2' F 修饰。例如,19nt 引导链中 2-10 位 (或不同长度引导链的相应位置) 的 C 和 U 核苷酸可被 2' F 修饰。引导链中的 C 和 U 核苷酸也可被 2' OMe 修饰。例如,19nt 引导链 11-18 位 (或不同长度引导链的对应位置) 的 C 和 U 核苷酸可被 2' OMe 修饰。在一些实施方案中,引导链 3' 最末端的核苷酸未被修饰。在一些实施方案中,引导链中大部分 C 和 U 为 2' F 修饰并且引导链的 5' 末端被磷酸化。在另一些实施方案中,1 位和 11-18 位的 C 或 U 被 2' OMe 修饰并且引导链的 5' 末端被磷酸化。在另一些实施方案中,1 位和 11-18 位的 C 或 U 被 2' OMe 修饰,引导链 5' 末端被磷酸化,并且 2-10 位的 C 或 U 被 2' F 修饰。

[0201] 在一些方面中,最佳的负载链长约 11-14 个核苷酸。负载链可包含增强稳定性的修饰。负载链的一个或更多个核苷酸可被 2' OMe 修饰。在一些实施方案中,负载链中一个或更多个 C 和 / 或 U 核苷酸被 2' OMe 修饰,或负载链中的所有 C 和 U 核苷酸被 2' OMe 修饰。在一些实施方案中,负载链的所有核苷酸被 2' OMe 修饰。负载链的一个或更多个核苷酸还可被磷酸酯修饰,如硫代磷酸酯修饰。负载链还可包含 2' 核糖、2' F 和 2' 脱氧修饰或任何

以上的组合。如在实施例证明的,引导链和负载链两者上的化学修饰模式都被很好地容忍,并且本文表明化学修饰的组合产生增强的效力和 RNA 分子的自递送。

[0202] 本发明的一些方面涉及 RNAi 构建体,其与之前用于 RNAi 的分子相比,具有相对于双链区延长的单链区。可修饰分子的单链区以促进细胞摄取或基因沉默。在一些实施方案中,单链区的硫代磷酸酯修饰影响细胞摄取和 / 或基因沉默。引导链中硫代磷酸酯修饰的区域可包括分子双链和单链区中的核苷酸。在一些实施方案中,单链区包含 2-12 个硫代磷酸酯修饰。例如,单链区可包含 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 个硫代磷酸酯修饰。在一些实施方案中,单链区包含 6-8 个硫代磷酸酯修饰。

[0203] 还优化了本发明分子的细胞摄取。在本文所述的 RNA 分子中,引导和 / 或负载链可与辍合物结合。在一些实施方案中所述辍合物为疏水的。疏水辍合物可为分配系数高于 10 的小分子。辍合物可为固醇类分子,如胆固醇,或在 C17 上连接有长度提高的多碳链的分子,并且辍合物的存在可影响 RNA 分子在有或无脂质转染试剂的情况下被摄取入细胞的能力。辍合物可通过疏水接头与负载或引导链连接。在一些实施方案中,疏水接头的长度为 5-12C,和 / 或基于羟基吡咯烷。在一些实施方案中,疏水辍合物连接到负载链,并且负载和 / 或引导链的 CU 残基被修饰。在一些实施方案中,负载链和 / 或引导链中至少 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95% 的 CU 残基被修饰。在一些方面,本发明的分子是自递送 (self-delivering, sd) 的。本文所用的“自递送”是指分子无需另外的递送载体 (如转染试剂) 被递送入细胞的能力。

[0204] 本发明的一些方面涉及选择用于 RNAi 的分子。根据本文所述的数据,具有 8-14 个核苷酸的双链区的分子可被选用于 RNAi。在一些实施方案中,根据分子的热力学稳定性 (ΔG) 选择分子。在一些实施方案中,可选择 (ΔG) 小于 -13kcal/mol 的分子。例如, (ΔG) 值可为 -13、-14、-15、-16、-17、-18、-19、-21、-22 或小于 -22kcal/mol。在另一些实施方案中, (ΔG) 值可高于 -13kcal/mol。例如, (ΔG) 值可为 -12、-11、-10、-9、-8、-7 或大于 -7kcal/mol。应理解,可采用本领域已知任何方法计算 ΔG 。在一些实施方案中,采用从 Mfold 网站 (<http://mfold.bioinfo.rpi.edu/cgi-bin/rna-form1.cgi>) 获得的 Mfold 计算 ΔG 。在一些参考文献中描述了计算 ΔG 的方法,并且将这些参考文献通过引用并入本文: Zuker, M. (2003) *Nucleic Acids Res.*, 31(13):3406-15; Mathews, D. H., Sabina, J., Zuker, M. and Turner, D. H. (1999) *J. Mol. Biol.* 288:911-940; Mathews, D. H., Disney, M. D., Childs, J. L., Schroeder, S. J., Zuker, M., and Turner, D. H. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:7287-7292; Duan, S., Mathews, D. H., and Turner, D. H. (2006) *Biochemistry* 45:9819-9832; Wuchty, S., Fontana, W., Hofacker, I. L., and Schuster, P. (1999) *Biopolymers* 49:145-165。

[0205] 本发明的一些方面涉及将本文所述的核酸分子用于基因沉默,所述核酸分子具有最小双链区和 / 或 (ΔG) 小于 -13kcal/mol。RNAi 分子可在体内或体外施用,并且可在体内或体外实现基因沉默效果。

[0206] 在一些实施方案中,多核苷酸包含 5' 和 / 或 3' 末端突出端。多核苷酸一个末端的突出端核苷酸的数量和 / 或序列可与多核苷酸另一末端的相同或不同。在一些实施方案中,一个或更多个突出端核苷酸可包含化学修饰,如硫代磷酸酯修饰或 2' OMe 修饰。

[0207] 在一些实施方案中,多核苷酸未被修饰。在另一些实施方案,至少一个核苷酸被修

饰。在另一些实施方案,所述修饰包括引导链 5' 末端第二个核苷酸的 2' H 或 2' 修饰核糖。所述“第二个核苷酸”被定义为多核苷酸 5' 末端的第二个核苷酸。

[0208] 本文所用“2' 修饰核糖”包括不具有 2' OH 基团的那些核糖。“2' 修饰核糖”不包括 2' 脱氧核糖(可见于未修饰的常规 DNA 核苷酸中)。例如,2' 修饰核糖可为 2'-O- 烷基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟代核苷酸、2'-脱氧核苷酸或其组合。

[0209] 在一些实施方案中,2' 修饰的核苷酸为嘧啶核苷酸(例如, C/U)。2'-O- 烷基核苷酸的实例包括 2'-O- 甲基核苷酸或 2'-O- 烯丙基核苷酸。

[0210] 在一些实施方案中,具有上述 5' 末端修饰的本发明 miniRNA 多核苷酸与无所述 5' 末端修饰的类似构建体相比,显示显著更少(例如,至少约 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或更多)的“脱靶”基因沉默,因此极大地提高了 RNAi 试剂或疗法的整体特异性。

[0211] 本文所用“脱靶”基因沉默是指非预期的基因沉默,例如由于反义(引导)序列与非预期靶 mRNA 序列之间的干扰性序列同源性。

[0212] 根据本发明的该方面,一些引导链修饰进一步增强核酸酶稳定性和/或减少干扰素诱导,而不会显著降低 RNAi 活性(或者完全不降低 RNAi 活性)。

[0213] 在一些实施方案中,5' 茎序列可在多核苷酸的 5' 末端第二个核苷酸包含 2' 修饰核糖(如 2'-O- 甲基修饰核苷酸),并且在一些实施方案中,无其它被修饰的核苷酸。具有这种修饰的发夹结构与所述位点无 2'-O- 甲基修饰的类似构建体相比,可具有增强的靶标特异性或减少的脱靶沉默。

[0214] 特定 5' 茎序列和 3' 茎序列修饰的一些组合可导致其它未意想不到的益处,部分表现为抑制靶基因表达能力增强、增强的血清稳定性和/或增强的靶标特异性等。

[0215] 在一些实施方案中,引导链在所述引导链 5' 末端的第二个核苷酸包含 2'-O- 甲基修饰的核苷酸,并且没有其它被修饰的核苷酸。

[0216] 在另一些方面中,本发明的 miniRNA 结构通过小 RNA(microRNA) 机制介导序列依赖性基因沉默。本文所用术语“小 RNA”(“miRNA”)在本领域中也称为“小瞬时 RNA”(“small temporal, stRNA”),是指基因编码(例如由病毒、哺乳动物或植物基因组编码)的并能指导或介导 RNA 沉默的小(10-50 个核苷酸)RNA。“miRNA 病症”是指特征为 miRNA 表达或活性异常的疾病或病症。

[0217] 小 RNA 在小鼠、蠕虫和哺乳动物中参与关键途径(如发育和癌症)中靶基因的下调。小 RNA 机制的基因沉默通过 miRNA 与其靶信使 RNA(mRNA) 之间特异性但不完全匹配的碱基配对来实现。小 RNA 介导的靶 mRNA 表达下调中可利用多种机制。

[0218] miRNA 为约 22 个核苷酸长的非编码 RNA,其可在植物和动物发育过程中在转录后或翻译水平调节基因表达。miRNA 一个普遍特征是它们均是从约 70 个核苷酸的前体 RNA 茎环(称为前 miRNA)中切割所得(可能通过 RNase III 型酶 Dicer 或其同源物切割)。天然 miRNA 在体内由内源基因表达,并由 Dicer 或其它 RNase 从发夹或茎环前体(pre-miRNA 或 pri-miRNA)加工而得。miRNA 可在体内以双链体形式瞬时存在,但只有一条链被 RISC 复合体利用以介导基因沉默。

[0219] 在一些实施方案中描述了在细胞摄取和抑制 miRNA 活性方面有效的 sd-rxRNA 化合物形式。基本上所述化合物与进入 RISC 的形式相似,但是优化了长链化学修饰模式以阻

止切割并作为 RISC 作用的有效抑制剂。例如,化合物可被完全或大部分被 O 甲基修饰并具有上述的 PS 含量。对于这种类型的化合物,5' 磷酸化不是必要的。优选具有双链区,由于这促进细胞摄取和高效的 RISC 装载。

[0220] 将小 RNA 用作序列特异调节剂的另一种途径为 RNA 干扰 (RNAi) 途径,其是对细胞中双链 RNA (dsRNA) 存在的进化保守性应答。dsRNA 通过 Dicer 被切割成~ 20 碱基 (bp) 的小干扰 RNA (siRNA)。这些小 RNA 组装成称为 RNA 诱导沉默复合体 (RISC) 的多蛋白效应物。而后 siRNA 引导完全互补的靶 mRNA 的切割。

[0221] siRNA 途径和 miRNA 途径的生物起源、蛋白质复合体和功能的一些方面相同。单链多核苷酸对象可在 siRNA 机制中模拟 dsRNA,或在 miRNA 机制中模拟 microRNA。

[0222] 在一些实施方案中,修饰的 RNAi 构架体与具有相同序列的未修饰 RNAi 构建体相比,可在血清和 / 或脑脊液中具有改进的稳定性。

[0223] 在一些实施方案中, RNAi 构建体的结构不在原代细胞中诱导干扰素应答,所述原代细胞如哺乳动物原代细胞,包括人、小鼠和其它啮齿动物或其它非人哺乳动物的原代细胞。在一些实施方案中,也可用 RNAi 构建体在无脊椎生物中抑制靶基因的表达。

[0224] 为了进一步增强本发明构建体在体内的稳定性,可用保护基团封闭发夹结构的 3' 末端。例如,可采用诸如反向核苷酸、反向无碱基结构或氨基末端修饰的核苷酸的保护基团。反向核苷酸可包括反向脱氧核苷酸。反向无碱基结构可包含反向脱氧无碱基结构,如 3',3' 连接或 5',5' 连接的脱氧无碱基结构。

[0225] 本发明的 RNAi 构建体能抑制靶基因所编码的任何靶蛋白质的合成。本发明包括在体外或体内细胞中抑制靶基因表达的方法。因此,本发明的 RNAi 构建体可用于治疗患有特征为靶基因过表达的疾病的患者。

[0226] 靶基因可为细胞内源或外源的 (例如通过病毒或采用重组 DNA 技术引入细胞的)。这种方法可包括将 RNA 以足以抑制所述靶基因表达的量引入细胞。例如,这种 RNA 分子可具有与靶基因核苷酸序列互补的引导链,以使所述组合物抑制所述靶基因的表达。

[0227] 本发明还涉及表达本发明核酸的载体,以及包含这种载体或核酸的细胞。所述细胞可为体内或培养物中的哺乳动物细胞,如人细胞。

[0228] 本发明还涉及含有本发明 RNAi 构建体以及可药用载体或稀释剂的组合物。

[0229] 本发明的另一方面提供了在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法,其包括使所述哺乳动物细胞与任何本发明 RNAi 构建体接触。

[0230] 所述方法可在体外、离体或体内进行,如在培养的哺乳动物细胞中 (如培养的人细胞)。

[0231] 靶细胞 (例如哺乳动物细胞) 可在递送试剂 (如脂质 (例如阳离子脂质) 或脂质体) 的存在下进行接触。

[0232] 本发明的另一方面提供了在哺乳动物细胞中抑制靶基因表达的方法,其包括使所述哺乳动物细胞与表达本发明 RNAi 构建体的载体接触。

[0233] 在本发明的一个方面,提供了更长的双链体多核苷酸,其包括大小约 16 至约 30 个核苷酸的第一多核苷酸和大小约 26 至约 46 个核苷酸的第二多核苷酸,其中所述第一多核苷酸 (反义链) 与所述第二多核苷酸 (有义链) 和靶基因两者都互补,并且其中两个多核苷酸形成双链体,并且其中所述第一多核苷酸包含长度长于 6 个碱基的单链区并且用备选

化学修饰模式修饰,和/或包含便于细胞递送的辍合物结构。在本实施方案中,约40%至约90%的负载链核苷酸,约40%至约90%的引导链核苷酸和约40%至约90%的第一多核苷酸单链区的核苷酸是化学修饰核苷酸。

[0234] 在一个实施方案中,双链体多核苷酸中的化学修饰核苷酸可为本领域已知的任何化学修饰核苷酸,如以上详细讨论的那些。在一个具体实施方案中,化学修饰核苷酸选自2'F修饰的核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸和2'脱氧核苷酸。在另一个具体实施方案中,化学修饰的核苷酸是由所述核苷酸碱基的“疏水修饰”所产生的。在另一个具体实施方案中,化学修饰的核苷酸为硫代磷酸酯。在另一具体实施方案中,化学修饰的核苷酸为硫代磷酸酯、2'-O-甲基、2'脱氧、疏水修饰和硫代磷酸酯的组合。由于这些修饰基团是指对核糖环、骨架和核苷酸的修饰,可行的是一些经修饰的核苷酸具有所有三种修饰的组合。

[0235] 在另一个实施方案中,在双链体不同区域之间化学修饰不同。在一个具体实施方案中,第一多核苷酸(负载链)在多个位置具有大量不同的化学修饰。对于该多核苷酸而言,多达90%的核苷酸可被化学修饰和/或具有引入的错配。

[0236] 在另一个实施方案中,第一或第二多核苷酸的化学修饰包括但不限于尿苷和胞苷的5'位修饰(4-吡啶基、2-吡啶基、吲哚基、苯基(C₆H₅OH);色氨酸基(C₈H₆N)CH₂CH(NH₂)CO)、异丁基、丁基、氨基苄基;苯基;萘基等),其中化学修饰可能改变核苷酸的碱基配对能力。对于引导链,本发明该方面的一个重要特征是化学修饰相对于反义序列5'末端的位置。例如,引导链5'末端的化学磷酸化通常对效力有利。有义链种子区(对于5'末端的2-7位)的O-甲基修饰通常不易被容忍,而2'F和脱氧修饰被很好地容忍。在应用的化学修饰类型中,引导链的中间部分和引导链的3'末端更易容忍。引导链3'末端的脱氧修饰无法容忍。

[0237] 本发明该方面的独特特点涉及在碱基上使用疏水修饰。在一个实施方案中,疏水修饰优选地位于引导链5'末端附近,在另一些实施方案中,它们位于引导链的中央,在另一些实施方案中,它们位于引导链的3'末端,在又一实施方案中,它们分布在多核苷酸的全长上。对于双链体中的负载链可应用相同类型的模式。

[0238] 分子的其它部分为单链区。预计单链区为7至40个核苷酸。

[0239] 在一些实施方案中,第一多核苷酸的单链区包含选自以下的修饰,40%至90%的疏水碱基修饰,40%至90%的硫代磷酸酯,40%-90%的核糖结构修饰,以及上述的任何组合。

[0240] 引导链(第一多核苷酸)装载入RISC复合体的效力对于大量修饰的多核苷酸来说可能改变,因此在一个实施方案中,双链体多核苷酸在引导链(第一多核苷酸)9、11、12、13或14位核苷酸和有义链(第二多核苷酸)的相对核苷酸之间含有错配,以促进引导链的高效装载。

[0241] 在以下部分描述本发明的更详细方面。

[0242] 双链体特征

[0243] 本发明的双链寡核苷酸可由两个独立的互补核酸链形成。双链体形成可在含有靶基因的细胞之内或之外发生。

[0244] 本文所用术语“双链体”包括与互补序列氢键连接的双链核酸分子区。本发明的双链寡核苷酸可包含与靶基因同义的核苷酸序列和与靶基因反义的互补序列。例如对应于

靶基因的有义和反义核苷酸序列与靶基因序列相同,或具有实现靶基因抑制作用的充分同一性(例如,约具有至少约 98% 的同一性、96% 的同一性、94%、90% 的同一性、85% 的同一性或 80% 的同一性)。

[0245] 在一些实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在其全长上均为双链的,即在分子的两个末端无突出的单链序列,即为平末端。在另一些实施方案,个体核酸分子的长度可不同。也就是说,本发明的双链寡核苷酸并非在其全长上都是双链。例如,当采用两个独立的核酸分子时,一个分子(例如,包含反义序列的第一分子)可比与其杂交的第二分子更长(使得分子的一部分为单链)。同样,当使用单个核酸分子时,该分子任一末端的部分可保持单链。

[0246] 在一个实施方案中,本发明的双链寡核苷酸包含错配和/或环或凸出部,但在所述寡核苷酸的至少约 70% 的长度上为双链。在另一实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在所述寡核苷酸至少约 80% 的长度上为双链的。在另一实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在所述寡核苷酸至少约 90-95% 的长度上为双链的。在另一实施方案中,本发明的双链寡核苷酸在所述寡核苷酸至少约 96-98% 的长度上为双链的。在一些实施方案中,本发明的双链寡核苷酸包含至少或至多 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 个错配。

[0247] 修饰

[0248] 本发明的核苷酸可在多个位点被修饰,包括糖部分、磷酸二酯键和/或碱基。

[0249] 糖部分包括天然、未修饰的糖(例如单糖(如戊糖,如核糖、脱氧核糖))、修饰的糖和糖类似物。一般地,对核酸单体尤其是糖部分的可能修饰包括,例如,用卤素、杂原子、脂肪族基团替换一个或更多个羟基,或将羟基功能化为醚、胺、硫醇等。

[0250] 一组特别有用的修饰核酸单体为 2'-O-甲基核苷酸。这种 2'-O-甲基核苷酸可被称为“甲基化”,相应的核苷酸可从未甲基化的核苷酸进行烷基化而制得,或直接由甲基化的核苷酸试剂制得。修饰的核酸单体可与未修饰的核酸单体组合使用。例如,本发明的寡核苷酸可包含甲基化和未甲基化的核酸单体两者。

[0251] 修饰的核酸单体的一些实例包括糖或骨架修饰的核糖核苷酸。修饰的核糖核苷酸可包含非天然的碱基(而不是天然碱基),如 5' 位修饰的尿苷或胞苷(例如,5'-(2-氨基)丙基尿苷和 5'-溴代尿苷);8 位修饰的腺苷和鸟苷(例如,8-溴代鸟苷);脱氮核苷酸(如 7-脱氮腺苷)和 N-烷基化核苷酸(例如 N6-甲基腺苷)。并且,糖修饰的核糖核苷酸可将 2'-OH 基团替换为 H、烷氧基(或 OR)、R 或烷基、卤素、SH、SR、氨基(如 NH₂、NHR、NR₂)、或 CN 基团,其中 R 为低级烷基、烯基或炔基。

[0252] 修饰的核糖核苷酸还可将连接相邻核糖核苷酸的磷酸二酯基团替换为修饰基团,如硫代磷酸酯基团。更通常地,可组合多种核苷酸修饰。

[0253] 尽管至少对于碱基配对特性而言,反义(引导)链可与靶基因(或多个靶基因)的至少一部分基本相同,但序列不必完全相同才能用于如抑制靶基因表型的表达。一般地,可用较高同源性来补偿更短反义基因的使用。在一些情况下,反义链通常与靶基因基本一致(尽管以反义方向)。

[0254] 在需要使细胞胁迫应答尽可能小的情况下,2'-O-甲基修饰 RNA 的使用也可有利的。具有 2'-O-甲基核酸单体的 RNA 可能不会被认为识别未修饰 RNA 的细胞机制所识别。采用 2'-O-甲基或部分 2'-O-甲基 RNA 可避免对双链核酸的干扰素应答,同时保持对

靶 RNA 的抑制。这可用于例如在诱导干扰素应答的短 RNAi (例如, siRNA) 序列以及诱导干扰素应答的更长 RNAi 序列的情况下避免干扰素或其它细胞胁迫应答。

[0255] 总体上, 修饰的糖可包括 D-核糖、2'-O-烷基 (包括 2'-O-甲基和 2'-O-乙基), 即 2'-烷氧基、2'-氨基、2'-S-烷基、2'-卤代 (包括 2'-氟代)、2'-甲氧基乙氧基、2'-烯丙氧基 ($-OCH_2CH=CH_2$)、2'-炔丙基、2'-丙基、乙炔基、乙烯基、丙烯基和氰基等。在一个实施方案中, 糖部分可为己糖并如所述地掺入寡核苷酸中 (Augustyns, K. 等, Nucl. Acids. Res. 18:4711 (1992))。如美国专利 No. 5, 849, 902 中有示例性核酸单体, 其通过引用并入本文。

[0256] 术语“烷基”包括饱和脂肪族基团, 其包括直链烷基基团 (例如, 甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基等)、有支链的烷基基团 (异丙基、叔丁基、异丁基等)、环烷基 (脂环族) 基团 (环丙基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基)、烷基取代的环烷基基团和环烷基取代的烷基基团。在一些实施方案中, 直链或有支链的烷基在其骨架中具有 6 或更少的碳原子 (例如对于直链为 C_1-C_6 , 对于支链为 C_3-C_6), 并更优选地具有 4 个或更少。同样, 优选的环烷基在其环结构中具有 3-8 个碳原子, 并且更优选地在环结构中具有 5 或 6 个碳原子。术语 C_1-C_6 包括包含 1-6 个碳原子的烷基基团。

[0257] 而且除非另外特别说明, 术语烷基包括“未取代烷基”和“取代烷基”两者, 后者是指其中烃骨架的一个或多个碳上的氢被独立选择的取代基替换的烷基结构。这种取代基可包括, 例如, 烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基 (包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基 (包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧化物、硫酸、烷基亚磺酰基、磺酸基、亚磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃部分。环烷基可被进一步取代, 例如, 用上述取代基进一步取代。“烷基芳基”或“芳基烷基”结构是芳基取代的烷基 (例如, 苯甲基 (苄基))。术语“烷基”还包括天然或非天然氨基酸的侧链。术语“正烷基”是指直链 (即无支链) 的未取代烷基基团。

[0258] 术语“烯基”包括不饱和脂肪族基团, 其在长度并可能在取代基上与上述烷基相似, 但其包含至少一个双键。例如, 术语“烯基”包括直链烯基基团 (例如, 乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基等)、有支链的烯基基团、环烯基 (脂环族) 基团 (环丙烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、环辛烯基)、烷基或烯基取代的环烯基基团, 和环烷基或环烯基取代的烯基基团。在一些实施方案中, 直链或有支链的烯基基团在其骨架中具有 6 或更少的碳原子 (例如对于直链为 C_2-C_6 , 对于支链为 C_3-C_6)。同样, 环烯基基团在其环结构中具有 3-8 个碳原子, 并且更优选地在环结构中具有 5 或 6 个碳原子。术语 C_2-C_6 包括包含 2-6 个碳原子的烯基基团。

[0259] 而且除非另外特别说明, 术语烯基包括“未取代烯基”和“取代烯基”两者, 后者是指其中烃骨架的一个或更多个碳上的氢被独立选择的取代基替换的烯基部分。这种取代基可包括, 例如, 烷基基团、炔基基团、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基 (包括烷基氨基、二烷基

氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脒基)、脒基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃部分。

[0260] 术语“炔基”包括不饱和脂肪族基团,其在长度并可能在取代基上与上述烷基相似,但包含至少一个三键。例如,术语“炔基”包括直链炔基基团(例如,乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基等)、有支链的炔基基团以及环烷基或环烯基取代的炔基基团。在一些实施方案中,直链或有支链的炔基基团在其骨架中具有6或更少的碳原子(例如对于直链为 C_2-C_6 ,对于支链为 C_3-C_6)。术语 C_2-C_6 包括包含2-6个碳原子的炔基基团。

[0261] 而且除非另外特别说明,术语炔基包括“未取代炔基”和“取代炔基”两者,后者是指其中烃骨架的一个或更多个碳上的氢被独立选择的取代基替换的炔基结构。这种取代基可包括,例如,烷基基团、炔基基团、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脒基)、脒基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃部分。

[0262] 除非另外说明了碳的数目,否则本文所用的“低级烷基”是指在其骨架结构中具有1至5个碳原子的上述烷基基团。“低级烯基”和“低级炔基”具有的链长度为例如2-5个碳原子。

[0263] 术语“烷氧基”包括与氧原子共价连接的取代和未取代的烷基、烯基和炔基基团。烷氧基基团的实例包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丙氧基、丁氧基和戊氧基基团。取代烷氧基的实例包括卤代的烷氧基。烷氧基基团可被独立地选自下组的取代基取代,所述取代基如烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸、膦酸基、次膦酸基、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脒基)、脒基、亚胺基、巯基、烷基硫代、芳基硫代、硫代羧酸、硫酸、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳烃或杂芳烃结构。卤素取代的烷氧基基团的实例包括但不限于氟代甲氧基、二氟代甲氧基、三氟代甲氧基、氯代甲氧基、二氯代甲氧基、三氯代甲氧基等。

[0264] 术语“杂原子”包括除碳或氢外任何元素的原子。优选的杂原子为氮、氧、硫和磷。

[0265] 术语“羟基”包括具有 $-OH$ 或 $-O^-$ (与适当的平衡离子一起)的基团。

[0266] 术语“卤素”包括氟、溴、氯、碘等。术语“全卤素化”通常是指其中全部氢被卤原子替换的部分。

[0267] 术语“取代”包括独立选择的取代基,其可被置于部分中并使分子执行其预想功能。取代基的实例包括烷基、烯基、炔基、芳基、 $(CR' R'')_{0-3}NR' R''$ 、 $(CR' R'')_{0-3}CN$ 、

NO_2 、卤素、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{C}(\text{卤素})_3$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CH}(\text{卤素})_2$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CH}_2(\text{卤素})$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{S}(\text{O})_{1-2}\text{NR}'\text{R}''$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CHO}$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}'$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{COR}'$ 、 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CO}_2\text{R}'$ 或 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{OR}'$ 基团；其中每个 R' 和 R'' 各自独立地为氢、 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_5$ 烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_5$ 炔基或芳基基团，或者 R' 和 R'' 连在一起为亚苄基基团或 $-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 基团。

[0268] 术语“胺”或“氨基”包括其中氮原子与至少一个碳或杂原子共价键合的化合物或部分。术语“烷基氨基”包括其中氮原子与至少一个另外的烷基基团键合的基团或化合物。术语“二烷基氨基”包括其中氮原子与至少 2 个另外的烷基基团键合的基团。

[0269] 术语“醚”包括其中氧与两个不同的碳原子或杂原子键合的化合物或部分。例如，所述术语包括“烷氧基烷基”，其是指烷基、烯基或炔基与氧原子共价键合，其中所述氧原子与另一个烷基基团共价键合。

[0270] 术语“碱基”包括已知的嘌呤和嘧啶杂环碱基、去氮嘌呤和其类似物（包括杂环取代类似物，如氨基乙氧基吩噻嗪）、衍生物（例如，1- 烷基 -、1- 烯基 -、杂芳基和 1- 炔基衍生物）和互变异构体。嘌呤的实例包括腺嘌呤、鸟嘌呤、次黄嘌呤、二氨基嘌呤和黄嘌呤及其类似物（例如，8- 氧代 - N^6 - 甲基腺嘌呤或 7- 二氮黄嘌呤）和衍生物。嘧啶包括例如，胸腺嘧啶、尿嘧啶和胞嘧啶及其类似物（例如，5- 甲基胞嘧啶、5- 甲基尿嘧啶、5-(1- 丙炔基) 尿嘧啶、5-(1- 丙炔基) 胞嘧啶和 4,4- 桥亚乙基胞嘧啶）。其它适合的碱基的实例包括非嘌呤和非嘧啶的碱基，如 2- 氨基吡啶和三嗪。

[0271] 在一个优选的实施方案中，本发明寡核苷酸的核酸单体为 RNA 核苷酸。在另一个优选的实施方案中，本发明寡核苷酸的核酸单体为修饰的 RNA 核苷酸。因此，所述寡核苷酸包含修饰的 RNA 核苷酸。

[0272] 术语“核苷”包括与糖部分共价连接的碱基，所述糖部分优选为核糖和脱氧核糖。优选核苷的实例包括核糖核苷和脱氧核糖核苷。核苷还包括与氨基酸或氨基酸类似物连接的碱基，其可包含游离羧基、游离氨基或保护基。本领域已知适合的保护基（参见 P. G. M. Wuts 和 T. W. Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis”, 第二版, Wiley-Interscience, New York, 1999）。

[0273] 术语“核苷酸”包括进一步包含磷酸基团或磷酸类似物的核苷。

[0274] 本文所用术语“连接”包括天然、未修饰的磷酸二酯部分 $(-\text{O}-(\text{PO}^{2-})-\text{O}-)$ ，其共价偶联相邻的核酸单体。本文所用术语“取代的连接”包括共价偶联相邻核酸单体的任何天然磷酸二酯键的类似物或衍生物。取代的连接包括磷酸二酯类似物（例如，硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯和 P- 乙氧基磷酸二酯、P- 乙氧基磷酸二酯、P- 烷氧基磷酸三酯、甲基磷酸酯）以及不含磷的连接，如乙缩醛或酰胺。本领域已知这种取代的连接（例如，Bjergarde 等 1991. Nucleic Acids Res. 19 :5843 ;Caruthers 等 1991. Nucleosides Nucleotides. 10 :47）。在一些实施方案中，优选不能水解的连接，如硫代磷酸酯连接。

[0275] 在一些实施方案中，本发明的寡核苷酸包含疏水修饰的核苷酸或“疏水修饰”。本文所用“疏水修饰”是指碱基被修饰以使 (1) 碱基的整体疏水性显著提高和 / 或 (2) 碱基仍能形成与正常 Watson-Crick 相互作用类似的相互作用。碱基修饰的几个非限制性实例包括尿苷和胞苷的 5 位修饰，如苯基、4- 吡啶基、2- 吡啶基、吡啶基和异丁基、苯基 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) ；

色氨酰基 ((C₈H₆N)CH₂CH(NH₂)CO)、异丁基、丁基、氨基苄基 ; 苯基 ; 和萘基。

[0276] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含 3' 和 5' 末端(环状寡核苷酸除外)。在一个实施方案中,寡核苷酸的 3' 和 5' 末端可通过如修饰 3' 或 5' 键受到保护而基本不受核酸酶作用(例如,美国专利 No. 5,849,902 和 WO 98/13526)。例如,可通过加入“封闭基”使寡核苷酸具有抗性。本文所用术语“封闭基”是指可作为保护基或合成偶联基(例如,FITC、丙基(CH₂-CH₂-CH₃)、二醇(-O-CH₂-CH₂-O-)磷酸(PO₃²⁻)、亚磷酸或亚磷酸胺)而连接到寡核苷酸或核酸单体上的取代基(例如,除了 OH 基团)。“封闭基”还包括保护寡核苷酸 5' 和 3' 末端的“末端封闭基”或“核酸外切酶封闭基”,其包括修饰的核苷酸和非核苷酸的核酸外切酶抗性结构。

[0277] 末端封闭基团的实例包括帽结构(例如,7-甲基鸟苷帽)、反向核酸单体(例如具有 3' -3' 或 5' -5' 末端反转)(参见,例如,Ortiagao 等,1992. Antisense Res. Dev. 2 : 129)、甲基磷酸酯、亚磷酸胺、非核苷酸基团(如非核苷酸接头、氨基接头、缀合物)等。核酸单体的 3' 末端可包含修饰的糖部分。核酸单体的 3' 末端包含 3' -O,其可任选地替换为封闭基,所述封闭基防止 3' -核酸外切酶降解该寡核苷酸。例如,3' -羟基可通过 3' → 3' 核苷酸间键酯化到核苷酸上。例如,烷氧基可为甲氧基、乙氧基或异丙氧基,并优选地为乙氧基。任选地,3' 末端的 3' → 3' 连接的核苷酸可通过取代的键连接。为了减少核酸酶降解,5' 最末端的 3' → 5' 键可为修饰的键,例如,硫代磷酸酯或 P- 烷氧基磷酸三酯键。优选地,5' 最末端的两个 3' → 5' 键为经修饰的键。任选地,5' 末端的羟基基团可与含磷部分(例如,磷酸,硫代磷酸或 P- 乙氧基磷酸)发生酯化。

[0278] 可连接到末端(3' 或 5' 末端)、环区或 miniRNA 其它任何部分的另一缀合物类型可包括固醇、固醇类分子、肽、小分子、蛋白质等。在一些实施方案中,miniRNA 可包含多于一个缀合物(其化学性质相同或不同)。在一些实施方案中,所述缀合物为胆固醇。

[0279] 增加靶基因特异性或减少脱靶沉默作用的另一种方式是在对应于引导序列 5' 末端第二核苷酸的位置引入 2' -修饰(如 2' -O 甲基修饰)。这允许将该 2' 修饰置于 Dicer 抗性发夹结构中,从而能设计沉默脱靶更少或没有的更佳 RNAi 构建体。

[0280] 在一个实施方案中,本发明的发夹多核苷酸可包含为 DNA 的一个核酸部分以及为 RNA 的一个核酸部分。本发明的反义(引导)序列可为含有 RNA 样和 DNA 样区域的“嵌合寡核苷酸”。

[0281] 术语“RNase H 激活区”包括寡核苷酸(例如嵌合寡核苷酸)中能募集 RNase H 来切割与该寡核苷酸结合的靶 RNA 链的区域。通常地,RNase 激活区包含 DNA 或 DNA 样核酸单体的最小核(至少约 3-5,通常约 3-12,更特别地,约 5-12,更优选地约 5-10 个连续核酸单体)(参见,例如,美国专利 5,849,902)。优选地,RNase H 激活区包含约 9 个连续的含有脱氧核糖的核酸单体。

[0282] 术语“非激活区”包括不募集或激活 RNase H 的反义序列区域(例如,嵌合寡核苷酸)。优选地,非激活区不包含硫代磷酸酯 DNA。本发明的寡核苷酸包含至少一个非激活区。在一个实施方案中,可稳定非激活区以使其免受核酸酶作用,或非激活区可通过与靶标互补并与(待与该寡核苷酸结合的)靶标核酸分子形成氢键来提供对靶标的特异性。

[0283] 在一个实施方案中,至少一部分连续的多核苷酸是通过取代键(例如硫代磷酸酯键)连接的。

[0284] 在一些实施方案中,除引导序列外的大部分或全部核苷酸(2' 修饰或不修饰)通过硫代磷酸酯键连接。由于其与血清蛋白质的更高亲和性,这种构建体通常具有改进的药代动力学。一旦引导链装载入 RISC,多核苷酸非引导序列部分中的硫代磷酸酯键通常不干扰引导链的活性。

[0285] 本发明的反义(引导)序列可包含“吗啉代寡核苷酸”。吗啉代寡核苷酸为非离子式的,并且通过 RHaSe H 非依赖性机制发挥功能。吗啉代寡核苷酸中 4 种遗传碱基(腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶/尿嘧啶)中的每一种均与 6 元的吗啉环连接。通过如非离子型二硫代磷酸酯亚基间连接将 4 种不同的亚基类型连接在一起,来产生吗啉代寡核苷酸。吗啉代寡核苷酸具有很多优点,包括:对核酸酶的完全抗性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1996. 6 :267);靶向性可预计(Biochemica Biophysica Acta. 1999. 1489 :141);细胞中的可靠活性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997. 7 :63);极佳的序列特异性(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997. 7 :151);最小非反义活性(Biochemica Biophysica Acta. 1999. 1489 :141);以及简单的渗透或刮擦(scrape)递送(Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997. 7 :291)。吗啉代寡核苷酸还由于其在高剂量时无毒性而被优选。Antisense & Nucl. Acid Drug Dev. 1997. 7 :187 中有吗啉代寡核苷酸制备的讨论。

[0286] 根据本文所述的数据,认为本文所述的化学修饰促进单链多核苷酸在 RISC 中的装载。已证明单链多核苷酸具有转载入 RISC 并诱导基因沉默的活性。然而,单链多核苷酸的活性水平与双链体多核苷酸相比似乎低 2 至 4 个数量级。

[0287] 本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式可(a)显著增加单链多核苷酸的稳定性(b)促进多核苷酸在 RISC 复合体中的有效装载,和(c)促进细胞对单链核苷酸的摄取。图 5 提供了可对实现细胞中单链多核苷酸效力有利的化学修饰模式的一些非限制性实例。化学修饰模式可包括核糖、骨架、疏水核苷和辍合物类型的修饰的组合。此外,在一些实施方案中,单个多核苷酸的 5' 末端可被化学磷酸化。

[0288] 在又一个实施方案中,本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式提高 RISC 抑制性多核苷酸的功能。已经证明单链多核苷酸通过底物竞争机制抑制预装载的 RISC 复合体的活性。对于这些类型的分子(通常称为 antagomer),所述活性的实现通常需要高浓度,并且体内递送不是非常有效。本发明提供了对化学修饰模式的描述,所述模式可(a)显著增加单链多核苷酸的稳定性(b)促进多核苷酸在 RISC 复合体中作为底物的有效识别,和/或(c)促进细胞对单链核苷酸的摄取。图 6 提供了可对实现细胞中单链多核苷酸效力有利的化学修饰模式的一些非限制性实例。化学修饰模式可包括核糖、骨架、疏水核苷修饰和辍合物类型的修饰的组合。

[0289] 本发明提供的修饰可对所有多核苷酸应用。这包括进入 RISC 的单链多核苷酸、抑制 RISC 的单链多核苷酸、多种长度(15-40bp)的常规双链体多核苷酸、不对称双链体多核苷酸等。可用多种不同的化学修饰模式修饰多核苷酸,所述模式包括 5' 末端、核糖和疏水核苷修饰。

[0290] 合成

[0291] 本发明的寡核苷酸可通过本领域任何已知方法合成,所述方法如酶合成和/或化学合成。所述寡核苷酸可在体外(例如通过酶合成和化学合成)或在体内(采用本领域公知的重组 DNA 技术)合成。

[0292] 在一个优选的实施方案中,采用对修饰的多核苷酸使用化学合成。线性寡核苷酸的化学修饰为本领域公知,并且可通过溶液或固相技术实现。优选地,合成是通过固相方法进行的。可通过几种不同的合成方法中的任一种产生寡核苷酸,所述方法包括亚磷酰胺、亚磷酸三酯、H- 磷酸酯和磷酸三酯法,通常通过自动合成法。

[0293] 本领域公知寡核苷酸合成方案,并且可在如下文献中找到:美国专利 No. 5, 830, 653 ;WO 98/13526 ;Stec 等 1984. J. Am. Chem. Soc. 106 :6077 ;Stec 等 1985. J. Org. Chem. 50 :3908 ;Stec 等, J. Chromatog. 1985. 326 :263 ;LaPlanche 等,1986. Nucl. Acid. Res. 1986. 14 :9081 ;Fasman G. D. ,1989. Practical Handbook of Biochemistry and Molecular Biology. 1989. CRC Press, Boca Raton, Fla. ;Lamone. 1993. Biochem. Soc. Trans. 21 :1 ;美国专利 No. 5, 013, 830 ;美国专利 No. 5, 214, 135 ;美国专利 No. 5, 525, 719 ;Kawasaki 等,1993. J. Med. Chem. 36 :831 ;WO 92/03568 ;美国专利 No. 5, 276, 019 ;和美国专利 No. 5, 264, 423。

[0294] 可根据所需的寡核苷酸的长度选择合成方法,并且该选择在本领域普通技术人员知识范围内。例如,亚磷酰胺和亚磷酸三酯法可产生具有 175 或更多个核苷酸的寡核苷酸,而 H- 磷酸酯法对于小于 100 核苷酸的寡核苷酸效果良好。如果将修饰的碱基掺入寡核苷酸中,并且尤其是采用修饰的磷酸二酯键时,则根据已知方法按照需要改变合成方法。对此,Uhlmann 等(1990, Chemical Reviews 90 :543-584) 提供了用修饰的碱基和修饰的磷酸二酯键产生寡核苷酸的参考和方法概述。其它用于产生寡核苷酸的示例性方法在 Sonveaux. 1994. "Protecting Groups in Oligonucleotide Synthesis";Agrawal. Methods in Molecular Biology 26 :1 中教导。还在 "Oligonucleotide Synthesis-A Practical Approach"(Gait, M. J. IRL Press at Oxford University Press. 1984) 中教导了示例性合成方法。此外,从几个供应商处可方便地获得序列确定(包括具有修饰核苷酸的一些序列)的线性寡核苷酸。

[0295] 可通过聚丙烯酰胺凝胶电泳或多种色谱法的任一种(包括凝胶色谱和高效液相色谱)纯化寡核苷酸。为了证实核苷酸序列尤其是未修饰核苷酸序列,可将寡核苷酸通过任何已知方法进行 DNA 测序,所述方法包括 Maxam 和 Gilbert 测序、Sanger 测序、毛细管电泳测序、漂移点测序(wandering spot sequencing),或通过使用结合到 Hybond 纸的寡核苷酸选择性化学降解。还可通过激光解析质谱或快原子轰击来分析短寡核苷酸序列(McNeal 等,1982, J. Am. Chem. Soc. 104 :976 ;Viari 等,1987, Biomed. Environ. Mass Spectrom. 14 :83 ;Grotjahn 等,1982, Nuc. Acid Res. 10 :4671)。对于 RNA 寡核苷酸也有测序方法。

[0296] 可通过毛细管电泳和变性强阴离子 HPLC(SAX-HPLC),使用如 Bergot 和 Egan. 1992. J. Chrom. 599 :35 的方法来检测寡核苷酸,以验证合成的寡核苷酸的质量。

[0297] 本领域公知其它示例性的合成技术(参见如 Sambrook 等, Molecular Cloning : a Laboratory Manual, Second Edition(1989) ;DNA Cloning, I 和 II 卷(DN Glover 编 1985) ;Oligonucleotide Synthesis(M J Gait Ed, 1984 ;Nucleic Acid Hybridisation(B D Hames 和 S J Higgins 编 1984) ;A Practical Guide to Molecular Cloning(1984) ;或 Methods in Enzymology(Academic Press, Inc.) 丛书)。

[0298] 在一些实施方案中,本发明的 RNAi 构建体或至少其一部分从编码本发明构建体的表达载体中转录。任何本领域已知载体均可用于此目的。可在进行所需的修饰前(如用

修饰的有义链替换未修饰的有义链等)分离和纯化所转录的 RNAi 构建体。

[0299] 递送 / 载体

[0300] 细胞对寡核苷酸的摄取

[0301] 将寡核苷酸和寡核苷酸组合物与一个或多个细胞或细胞裂解物接触(即,使其相接触,本文中也称为施用或递送到)并被其摄取。术语“细胞”包括原核和真核细胞,优选为脊椎动物细胞并且更优选地为哺乳动物细胞。在一个优选的实施方案中,使本发明的寡核苷酸组合物与人细胞接触。

[0302] 本发明的寡核苷酸组合物可在体外(例如在试管或培养皿中(并可引入对象中或不引入对象中))或体内(在对象中如哺乳动物对象中)与细胞接触。寡核苷酸通过胞吞作用以低速率被细胞摄取,但是胞吞的寡核苷酸通常被隔离而不可用(例如用于与靶核酸分子杂交)。在一个实施方案中,可通过电穿孔或磷酸钙沉淀来促进细胞摄取。然而,这些方法仅用于体外或离体实施方案中,不方便并且在一些情况下与细胞毒性相关。

[0303] 在另一个实施方案中,可通过本领域公知的适合方法增强寡核苷酸到细胞中的递送,所述方法包括磷酸钙、DMSO、甘油或葡聚糖、电穿孔或通过转染(例如采用本领域已知方法通过阳离子、阴离子或中性脂质组合物或脂质体)(参见如 WO 90/14074; WO 91/16024; WO 91/17424; 美国专利 No. 4,897,355; Bergan 等,1993. *Nucleic Acids Research*. 21:3567)。增强的寡核苷酸递送还可使用载体(参见例如 Shi, Y. 2003. *Trends Genet* 2003 Jan. 19:9; Reichhart J M et al. *Genesis*. 2002. 34(1-2):1604, Yu 等 2002. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6047; Sui 等 2002. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:5515) 病毒、聚胺或聚阳离子缀合物(采用如聚赖氨酸、精蛋白或 Ni, N12-bis(乙基)精胺的化合物)来介导(参见例如 Bartzatt, R 等,1989. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 11:133; Wagner E 等 1992. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:4255)。

[0304] 在一些实施方案中,本发明的 miniRNA 可通过采用多种含 β -葡聚糖的颗粒进行递送,如在 US 2005/0281781 A1, WO 2006/007372 和 WO 2007/050643(所有均通过引用并入本文)中所述的那些。在一些实施方案中,所述 β -葡聚糖颗粒源自酵母。在一些实施方案中,有效负载的捕获分子为聚合物,如分子量至少为约 1000Da、10,000Da、50,000Da、100kDa、500kDa 等的那些。优选的聚合物包括(但不限于)阳离子聚合物、壳聚糖或 PEI(聚乙烯亚胺)等。

[0305] 这种基于 β -葡聚糖的递送系统可制备为经口递送,其中经口递送的 β -葡聚糖/miniRNA 构建体可被巨噬细胞或其它相关吞噬细胞吞噬,所述细胞继而在所选的体内位点释放 miniRNA 构建体。作为替代方案或另外地,miniRNA 可改变一些巨噬细胞靶向基因的表达。

[0306] 寡核苷酸摄取的最佳方案将取决于多种因素,最关键的是采用的细胞类型。在摄取中重要的其它因素包括但不限于寡核苷酸的性质和浓度、细胞的汇合度、细胞所在的培养物类型(例如悬浮培养物或铺板的)以及细胞生长所用的培养基类型。

[0307] 包封剂

[0308] 包封剂将寡核苷酸捕获在载体中。在本发明的另一个实施方案中,寡核苷酸可与运载体或载体(例如,脂质体或胶束)相连,但本领域技术人员理解,也可使用其它的载体。脂质体为脂双层制成的载体,具有与生物膜类似的结构。这种载体用于促进细胞摄取或寡

核苷酸的靶向,或改善寡核苷酸的药代动力学或毒理特性。

[0309] 例如,本发明的寡核苷酸还可在包封在脂质体、药物组合物中施用,其中所包含的活性成分分散或多样地存在于微粒中,所述微粒由贴附在脂质层的同心水层组成。所述寡核苷酸根据其溶解性可存在于水层和脂质层两者中,或存在于通常所谓的脂质体悬液中。疏水层通常(但不必然)包含磷脂(如卵磷脂或鞘磷脂)、类固醇(如胆固醇)、或多或少的离子型表面活性剂(如二乙酰磷酸、硬脂酰胺或磷脂酸)或其它疏水性质的材料。脂质体的直径通常为约 15nm 至约 5 微米。

[0310] 采用脂质体作为药物递送载体有几个优点。脂质体提高了细胞内稳定性,提高摄取效率并提高生物活性。脂质体为中空球状载体,其中的脂质以与构成细胞膜的那些脂质相类似的方式排布。它们具有捕获水溶性化合物的内部水性空间,大小为直径 0.05 至几微米。若干研究表明,脂质体可将核酸递送至细胞并且核酸保有生物活性。例如,起初设计为研究工具的脂质递送载体(如 Lipofectin 或 LIPOFECTAMINE™ 2000) 可将完整的核酸分子递送至细胞。

[0311] 采用脂质体的特有优点包括以下几点:在组合物中它们无毒并且可生物降解;它们显示出长的循环半衰期;以及对于组织靶向而言,识别分子可容易地贴附在它们表面。最后,基于脂质体的药物(在液体悬液中或为冻干产品)的高生产性价比证明该技术作为可应用的药物递送系统的可行性。

[0312] 在一些方面中,本发明的制剂可选自天然或化学合成的或者修饰的饱和及不饱和脂肪酸残基的种类。脂肪酸可以甘油三酯、甘油二酯或单独脂肪酸的形式存在。在另一个实施方案中,可采用目前在药理学中用于肠胃外给药的已验证良好的脂肪酸和/或脂肪乳剂混合物。

[0313] 基于脂质体的制剂广泛地用于寡核苷酸递送中。然而,大部分市售脂质或脂质体制剂包含至少一种正电荷脂质(阳离子脂质)。认为该正电荷脂质的存在对寡核苷酸的高程度装载和增强脂质体的融合特性很重要。已经实施并发表了鉴定最佳正电荷脂质化学结构的几种方法。然而,包含阳离子脂质的市售脂质体制剂的特征是高水平毒性。受限制的体内治疗指标显示,在仅稍微高于实现 RNA 沉默所需浓度的浓度下,含有正电荷脂质的脂质体制剂与毒性相关(即肝酶升高)。

[0314] 本发明开发了无现有技术中脂质体毒性的新脂质体制剂。这些新脂质体制剂为基于中性脂肪的制剂,其用于有效递送寡核苷酸,尤其用于递送本发明的 RNA 分子。将所述组合物称为中性纳米转运体,因为它们能定量地将寡核苷酸掺入不带电的脂质混合物中。本发明中性纳米转运体组合物中没有阳离子脂质毒性水平,这是一个重要的特征。

[0315] 所述中性纳米转运体组合物能将寡核苷酸有效装载入中性脂肪制剂中。所述组合物包含寡核苷酸,该寡核苷酸被修饰以提高所述分子的疏水性(例如将疏水分子(共价或非共价)连接到寡核苷酸末端或非末端核苷酸、碱基、糖或骨架上的疏水分子上),所述修饰的与中性脂肪制剂(例如含有至少 25% 的胆固醇和 25% 的 DOPC 或其类似物)混合。还可将货物分子(如另一种脂质)包含在所述组合物中。该组合物(其中部分制剂构建在寡核苷酸本身中)能将寡核苷酸有效包封在中性脂质颗粒中。

[0316] 与本发明相关的几个意想不到的发现之一是本发明的寡核苷酸能被有效地掺入无阳离子脂质的脂质混合物中,并且该组合物能将治疗性寡核苷酸以发挥其功能的方式有

效地递送至细胞。另一个意想不到的发现是当脂肪混合物由基于磷脂酰胆碱的脂肪酸和固醇（如胆固醇）构成时观察到高水平的活性。例如，中性脂肪混合物的一个优选制剂由至少 20% 的 DOPC 或 DSPC 和至少 20% 的固醇（如胆固醇）构成。甚至脂质与寡核苷酸的比值在低至 1 : 5 时也足以在无电荷制剂中获得寡核苷酸的完全包封。现有技术显示，只有 1-5% 的寡核苷酸被包封在无电荷制剂中，这不足以达到体内效力的所需量。与使用中性脂质的现有技术相比，对细胞进行寡核苷酸递送的水平是非常意想不到的。

[0317] 将疏水寡核苷酸与优选的制剂复合形成大小为 50 至 140nm 的稳定颗粒。有意思的是，制剂本身通常不形成小颗粒而是形成凝集块，其在加入疏水修饰的寡核苷酸后转化成稳定的 50-120nm 颗粒。

[0318] 本发明的中性纳米转运体组合物包含疏水修饰的多核苷酸、中性脂肪混合物以及任选地包含货物分子。本文所用“疏水修饰多核苷酸”为本发明的多核苷酸（即，sd-rxRNA），其具有使多核苷酸比修饰前的多核苷酸更疏水的至少一种修饰。所述修饰可通过将疏水分子（共价或非共价）连接到多核苷酸上来实现。在一些情况下，疏水分子为亲脂基团或包含亲脂基团。

[0319] 术语“亲脂基团”是指对脂的亲水性比对水的亲水性更高的基团。亲脂基团的实例包括但不限于胆固醇、胆固醇基或修饰的胆固醇基残基、金刚化合物（adamantine）、二氢睾酮、长链烷基、长链烯基、长链炔基、十八烯基石胆酸、胆酸、十八烯基胆酸、十六烷基、十七烷基、肉豆蔻酰基、胆汁酸、胆酸或牛磺胆酸、脱氧胆酸、十八烯基石胆酸、油酰基胆烯酸、糖脂、磷脂、鞘脂、类异戊二烯如类固醇、维生素如维生素 E、饱和或不饱和的脂肪酸、脂肪酸酯如甘油三酯、苾、紫菜碱、Texaphyrine、金刚烷、吡啶类、生物素、香豆素、荧光素、罗丹明、得克萨斯红、洋地黄皂苷配基、二甲氧三苯甲基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、花青染料（例如 Cy3 或 Cy5）、Hoechst 33258 染料、补骨脂素或布洛芬。胆固醇部分可被还原（例如，在胆甾烷中）或被取代（例如被卤素）。还可在一个分子中组合不同的亲脂基团。

[0320] 可将疏水分子连接到多核苷酸的多个位置。如以上所述，疏水分子可连接到多核苷酸的末端残基，如多核苷酸的 3' 或 5' 末端。或者，其可连接到内部核苷酸或多核苷酸支链的核苷酸上。例如，还可将疏水分子连接到核苷酸的 2' 位置。疏水分子还可连接到多核苷酸中核苷酸的杂环碱基、糖或骨架上。

[0321] 疏水分子可通过接头部分与多核苷酸相连。任选地，所述接头部分为非核苷酸接头部分。非核苷酸接头为，例如无碱基残基（dSpacer）、寡聚乙二醇如三甘醇（间隔物 9）或六聚乙二醇（间隔物 18）或烷二醇如丁二醇。间隔物单元优选地通过磷酸二酯或硫代磷酸酯键连接。接头单元可在分子中只出现一次或者掺入几次，例如通过磷酸二酯、硫代磷酸酯、甲基磷酸酯或酰胺键。

[0322] 典型的辍合方案涉及合成在序列一个或更多个位置具有氨基接头的多核苷酸，然而，接头不是必需的。而后采用适合的偶联或激活剂将氨基基团与辍合分子反应。辍合反应可在多核苷酸仍结合在固相支持物时进行，或在将其切割后的溶液相中进行。通过 HPLC 纯化修饰的多核苷酸通常得到纯物质。

[0323] 在一些实施方案中，疏水分子为固醇类辍合物、植物甾醇辍合物、胆固醇辍合物、侧链长度改变的固醇类辍合物、脂肪酸辍合物、任何其它疏水基团辍合物和 / 或内部核苷

的疏水修饰,其提供足以掺入胶束的充分疏水性。

[0324] 为本发明目的,术语“固醇”是指甾类醇,其为 A 环的 3 位具有羟基的甾类化合物亚类。它们是通过 HMG-CoA 还原酶途径从乙酰辅酶 A 合成的两亲脂质。分子整体相当扁平。A 环上的羟基是极性的。脂肪链上的其它部分是非极性的。通常认为固醇在 17 位具有 8 碳链。

[0325] 为本发明目的,术语“固醇类分子”是指甾类醇,其与固醇的结构相似。主要区别是环结构和 21 位连接侧链的碳原子数。

[0326] 为本发明目的,术语“植物甾醇”(也称为植物固醇)为甾类醇的亚类,为植物中的天然植物化学物。有多于 200 种不同的已知植物甾醇。

[0327] 为本发明目的,术语“固醇侧链”是指侧链连接到固醇类分子 17 位的化学组成。在标准定义中,固醇被限制为在 17 位具有 8 个碳原子链的 4 环结构。在本发明中,固醇类分子所具有的侧链比通常所述的更长或更短。侧链可为分支的或含有两个骨架。

[0328] 因此,本发明所用的固醇包括,例如胆固醇以及在 17 位连接有 2-7 或长于 9 个碳原子的侧链的独特固醇。在一个具体实施方案中,多碳尾的长度为 5-9 个碳原子不等。图 9 证实血浆清除度、肝摄取与多碳链长度之间有相关性。这种缀合物可具有显著更好的体内效力,尤其是肝递送。预计这种类型的分子可在比常规胆固醇缀合的寡核苷酸低 5 至 9 倍的浓度下工作。

[0329] 或者,多核苷酸可与发挥疏水分子功能的蛋白质、肽或正电化合物连接。所述蛋白质可选自精蛋白、dsRNA 结合结构域和精氨酸富含肽。示例性的正电化合物包括精胺、亚精胺、尸胺和腐胺。

[0330] 在另一个实施方案中,当与多核苷酸的最佳化学修饰模式(如本文详细描述)(包含但不限于疏水修饰、硫代磷酸酯修饰和 2' 核糖修饰)相组合时,疏水分子缀合物可具有甚至更高的效率。

[0331] 在另一个实施方案中,固醇类分子可为天然的植物甾醇,如在图 8 中显示的那些。多碳链可长于 9 并可线性、支链和 / 或含有双键。一些含有植物甾醇的多核苷酸缀合物可在多核苷酸到多个组织的递送中显著更强并更有活性。一些植物甾醇可显示出组织偏好性,并因此用作将 RNAi 特异性递送到特定组织的方法。

[0332] 将疏水修饰的多核苷酸与中性脂肪混合物混合以形成胶束。中性脂肪酸混合物为脂肪的混合物,其净电荷在生理 pH 或其附近为中性或稍带负电,并可与疏水修饰的多核苷酸形成胶束。为本发明目的,术语“胶束”是指由无电荷脂肪酸和磷脂混合物形成的小纳米颗粒。中性脂肪混合物可包含阳离子脂质,只要其存在的量不会导致毒性即可。在一些优选的实施方案中,中性脂肪混合物中没有阳离子脂质。无阳离子脂质的混合物是总脂质的少于 1% (优选地 0%) 是阳离子脂质的那些。术语“阳离子脂质”包括在生理 pH 或其附近静电荷为正电的脂质和合成脂质。术语“阴离子脂质”包括在生理 pH 或其附近静电荷为负电的脂质和合成脂质。

[0333] 中性脂肪通过强但非共价吸引(例如,静电、范德华力、 π 堆积等相互作用)与本发明寡核苷酸结合。

[0334] 中性脂肪混合物可包括选自天然或化学合成的或者修饰的饱和及不饱和脂肪酸残基类型的制剂。脂肪酸可以甘油三酯、甘油二酯或单独脂肪酸的形式存在。在另一个实

施方案中,可使用目前在药理学中用于肠胃外给药的已验证良好的脂肪酸和 / 或脂肪乳剂。

[0335] 中性脂肪混合物优选为基于胆碱的脂肪酸和固醇的混合物。基于胆碱的脂肪酸包括,例如,合成的磷酸胆碱衍生物,如 DDPC、DLPC、DMPC、DPPC、DSPC、DOPC、POPC 和 DEPC。DOPC(化学登记号 4235-95-4)为二油酰磷脂酰胆碱(也称为 dielaidoylphosphatidylcholine、二油酰 -PC、二油酰磷酸胆碱、二油酰 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱、二 - 十八烯基磷脂酰胆碱)。DSPC(化学登记号 816-94-4)为二硬脂酰磷脂酰胆碱(也称为 1,2- 二硬脂酰 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱)。

[0336] 中性脂肪混合物中的固醇可为例如胆固醇。中性脂肪混合物可完全由基于胆固醇的脂肪酸和固醇构成,或其可任选地包含货物分子。例如,中性脂肪混合物可具有至少 20% 或 25% 的脂肪酸和 20% 或 25% 的固醇。

[0337] 为本发明目的,术语“脂肪酸”涉及脂肪酸的常规描述。其可以单个实体存在或以甘油二酯或甘油三酯的形式存在。为本发明目的,术语“脂肪乳剂”指经静脉内给予不能从其饮食中获得足够脂肪的对象的安全脂肪制剂。其是大豆油(或其它天然油)和卵磷脂的乳剂。脂肪乳剂被用于制备一些不可溶麻醉剂。在本公开内容中,脂肪乳剂可以是市售制剂(如 Intralipid、Liposyn、Nutrilipid)的一部分、富含特定脂肪酸的修饰的市售制剂或全部重新制备的脂肪酸和磷脂的组合。

[0338] 在一个实施方案中,待与本发明寡核苷酸组合物相接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约 12 至约 24 小时。在另一个实施方案中,待与寡核苷酸组合物相接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约 1 至约 5 天。在一个实施方案中,将细胞与包含脂质和寡核苷酸的混合物接触约 3 天至多达约 30 天。在另一个实施方案中,将含有脂质的混合物与细胞接触至少约 5 至约 20 天。在另一个实施方案中,将含有脂质的混合物与细胞接触至少约 7 至约 15 天。

[0339] 制剂的 50-60% 可任选地为任何其它脂质或分子。本文中将这种脂质或分子称为货物脂质或货物分子。货物分子包括但不限于英脱利匹特、小分子、融合肽(fusogenic peptide)或脂质或其它可被加入以改变细胞摄取、内体释放或组织分布特性的小分子。耐受货物分子的能力对这些颗粒特性的调节很重要(如果需要这些特性)。例如,一些组织特异代谢物的存在可显著地改变组织分布谱。例如采用具有富含多种饱和程度的更短或更长脂肪链的英脱利匹特型制剂影响了这些制剂类型的组织分布谱(和它们的装载)。

[0340] 用于本发明的货物脂质的实例为融合脂质。例如两性脂质 DOPE(化学登记号 4004-5-1,1,2- 二油酰 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺)为优选的货物脂质。

[0341] 英脱利匹特可包含以下组成:1000mL 中包含:纯化的大豆油 90g,纯化的卵磷脂 12g,无水甘油 22g,注射用水适量添加至 1000mL。pH 用氢氧化钠调节至约 pH 8。能量含量 /L :4.6MJ(190kcal)。摩尔渗透压浓度(约):300mOsm/kg 水。在另一个实施方案中,脂肪乳剂是 liposyn,其含有注射用水中的 5% 红花油、5% 大豆油、作为乳化剂加入的多至 1.2% 的卵磷脂以及 2.5% 甘油。其还可包含用于调整 pH 的氢氧化钠。pH 8.0(6.0-9.0)。Liposyn 的摩尔渗透压浓度为 276m Osmol/ 升(实际)。

[0342] 货物脂质的密度、量和比例的变化影响这些化合物的细胞摄取和组织分布特性。例如,脂质尾的长度和饱和水平影响肝、肺、脂肪和心肌的差异性摄取。特定疏水分子(如

维生素或不同类型的固醇)的添加可利于分布到参与特定化合物代谢的特定组织中。以不同寡核苷酸浓度形成复合物,更高的浓度有利于更有效的复合物形成(图 21-22)。

[0343] 在另一个实施方案中,脂肪乳剂基于脂质的混合物。这种脂质可包括天然化合物、化学合成化合物、纯化的脂肪酸或任何其它脂质。在又一个实施方案中,脂肪乳剂是完全人工的。在又一个实施方案中,脂肪乳剂是多于 70% 的亚油酸。在又一个特定实施方案中,脂肪乳剂是至少 1% 的心磷脂。亚油酸(LA)是不饱和的 ω -6 脂肪酸。其是由具有 18 碳链和两个顺式双键的羧酸构成的无色液体。

[0344] 在本发明的又一个实施方案中,改变脂肪乳剂的组成用于改变疏水修饰多核苷酸的组织分布的方法。提供该方法用于多核苷酸到特定组织的特异性递送(图 12)。

[0345] 在另一个实施方案中,所述货物分子的脂肪乳剂包含多于 70% 的亚油酸(C18H32O2)和/或用于将 RNAi 特异递送到心肌的心磷脂。

[0346] 之前已经使用脂肪乳剂(如英脱利匹特)作为一些非水溶药物的递送制剂(如 Propofol, 重新制备为 Diprivan)。本发明的独特特征包括(a)将修饰多核苷酸与疏水化合物组合以使其能掺入脂肪胶束中的构思和(b)将其与脂肪乳剂混合以提供可逆载体。在注射入血流后,胶束通常与血清蛋白质(包括白蛋白、HDL、LDL 和其它)结合。该结合是可逆的并且最终脂肪被细胞吸收。而后作为胶束一部分掺入的多核苷酸被递送到细胞表面附近。其后可通过多种机制(包括但不限于固醇类递送)进行细胞摄取。

[0347] 复合剂

[0348] 复合剂通过强但非共价的吸引(例如,静电、范德华、 π 堆积等相互作用)与本发明的寡核苷酸结合。在一个实施方案中,本发明的寡核苷酸可与复合剂复合以提高寡核苷酸的细胞摄取。复合剂的实例包括阳离子脂质。可采用阳离子脂质将寡核苷酸递送到细胞。然而,如上所述,在一些实施方案中优选无阳离子脂质的制剂。

[0349] 术语“阳离子脂质”包括脂质和合成脂质,其具有极性和非极性结构域,并可在生理 pH 或生理 pH 附近带正电荷,并且其能结合聚阴离子(如核酸)并利于核酸到细胞的递送。一般地,阳离子脂质包括饱和及不饱和的烷基和脂环醚以及胺的酯、酰胺或其衍生物。阳离子脂质的直链和支链烷基和烯基基团可包含,如 1 至约 25 个碳原子。优选的直链或支链烷基或烯基基团具有 6 或更多个碳原子。脂环基团包括胆固醇和其它类固醇基团。阳离子脂质可用多种平衡离子(阴离子)制备,包括如, Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 F^- 、乙酸根、三氟乙酸根、硫酸根、亚硝酸根和硝酸根。

[0350] 阳离子脂质的实例包括聚乙烯亚胺、聚酰胺基胺(PAMAM)超分支树状分子、Lipofectin(DOTMA 和 DOPE 的组合)、Lipofectase、LIPOFECTAMINE™(如 LIPOFECTAMINE™ 2000)、DOPE、Cytofectin(Gilead Sciences, Foster City, Calif.) 和 Eufectins(JBL, San Luis Obispo, Calif.)。示例性阳离子脂质体可从 N-[1-(2,3-二油酰氧基)-丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、N-[1-(2,3-二油酰氧基)-丙基]-N,N,N-三甲基铵甲基硫酸酯(DOTAP)、 3β -[N-(N',N'-二甲基氨基乙烷)氨基甲酰基]胆固醇(DC-Chol)、2,3-二油烯基氧基-N-[2(精胺甲酰胺)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸酯(DOSPA)、1,2-二肉豆蔻基氧基丙基-3-二甲基-羟基乙基铵溴;和二甲基二(十八烷基)溴化铵(DDAB)制成。发现阳离子脂质(如, N-(1-(2,3-二油烯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA))将硫代磷酸酯寡核苷酸的反义作用增强 1000 倍(Vlassov 等, 1994, Biochimica

et Biophysica Acta 1197:95-108)。寡核苷酸还可与如多聚(L-赖氨酸)或抗生物素蛋白复合并且该混合物中可包含或不包含脂质,例如固醇基-多聚(L-赖氨酸)。

[0351] 在本领域已经使用阳离子脂质将寡核苷酸递送到细胞(参见,例如,美国专利 No. 5,855,910;5,851,548;5,830,430;5,780,053;5,767,099;Lewis 等,1996.Proc. Natl.Acad.Sci.USA 93:3176;Hope 等 1998.Molecular Membrane Biology 15:1)。用于促进摄取本发明寡核苷酸的其它脂质组合物可与要求保护的方法联合使用。除以上列出的外,本领域已知其它脂质组合物,例如在美国专利 No. 4,235,871;美国专利 No. 4,501,728;4,837,028;4,737,323 中教导的那些。

[0352] 在一个实施方案中,脂质组合物还可包含试剂(如病毒蛋白质以增强寡核苷酸的脂质介导转染(Kamata 等,1994.Nucl.Acids.Res.22:536))。在另一个实施方案中,如在美国专利 5,736,392 中教导的,寡核苷酸可作为包含寡核苷酸、肽和脂质的组合物的一部分与细胞接触。已经描述了具有血清抗性的改进的脂质(Lewis 等,1996.Proc. Natl.Acad.Sci.93:3176)。阳离子脂质和其它复合剂的作用是增加通过胞吞作用进入细胞的寡核苷酸的数目。

[0353] 在另一个实施方案中,可采用 N-取代的甘氨酸寡核苷酸(拟肽(peptoid))优化寡核苷酸的摄取。已经采用拟肽生成用于转染的阳离子脂质样化合物(Murphy 等,1998.Proc. Natl.Acad.Sci.95:1517)。拟肽可采用标准方法合成(例如,Zuckermann, R. N. 等,1992.J. Am. Chem. Soc.114:10646;Zuckermann, R. N. 等 1992.Int. J. Peptide Protein Res.40:497)。还可采用阳离子脂质和拟肽、liptoid 的组合来优化本发明寡核苷酸的摄取(Hunag 等,1998.Chemistry and Biology.5:345)。Liptoid 可通过产生拟肽寡核苷酸并将氨基末端亚单体(submonomer)通过其氨基与脂质相偶联来合成(Hunag 等,1998.Chemistry and Biology.5:345)。

[0354] 本领域已知带正电的核酸可用于生成高活性的阳离子脂质(Lewis 等,1996.Proc. Natl.Acad.Sci. US. A.93:3176)。在一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含与亲脂部分相连的一定数量的精氨酸、赖氨酸、组氨酸或鸟氨酸残基(参见例如美国专利 No. 5,777,153)。

[0355] 在另一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含具有约 1 至约 4 个碱性残基的肽。这些残基可位于如,氨基末端、C 末端或所述肽的内部区域。本领域中已经定义了有相似侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、无电荷极性侧链(例如,甘氨酸(也可认为是非极性的)、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β -支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。除了碱性氨基酸以外,所述肽的大部分或全部其它残基可选自非碱性氨基酸,例如除赖氨酸、精氨酸或组氨酸外的氨基酸。优选地主要采用具有长中性侧链的中性氨基酸。

[0356] 在一个实施方案中,用于递送本发明寡核苷酸的组合物包含具有一个或更多个 γ -羧谷氨酸残基或 γ -Gla 残基的天然或合成多肽。这些 γ -羧谷氨酸残基能使所述多肽彼此之间结合并与膜表面结合。也就是说,具有一系列 γ -Gla 的多肽可用作通用递送模式,其帮助 RNAi 构建体粘附到与其接触的任何膜。这至少可减缓 RNAi 构建体的血流清除

并增强它们结合到靶标的机会。

[0357] 所述 γ -羧谷氨酸残基可存在于天然蛋白质中(例如,凝血酶原具有 10 个 γ -Gla 残基)。或者,它们可通过羧化(例如采用维生素 K 依赖性羧化酶)被引入到纯化的、重组产生的或化学合成的多肽中。所述 γ -羧谷氨酸残基可为连续的或非连续的,并且可调节/微调所述 γ -羧谷氨酸残基在多肽中的总数和位置,以达到所述多肽不同水平的“粘性”。

[0358] 在一个实施方案中,待与本发明寡核苷酸组合物接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约 12 小时至约 24 小时。在另一个实施方案中,待与本发明寡核苷酸组合物接触的细胞与包含寡核苷酸的混合物和包含脂质的混合物(例如上述的一种脂质或脂质组合物)接触约 1 至约 5 天。在一个实施方案中,细胞与含有脂质和寡核苷酸的混合物接触约 3 天至长达约 30 天。在另一个实施方案中,含有脂质的混合物与细胞接触至少约 5 至约 20 天。在另一个实施方案中,含有脂质的混合物与细胞接触至少约 7 至约 15 天。

[0359] 例如,在一个实施方案中,可在脂质(如 cytofectin CS 或 GSV(购自 Glen Research ;Sterling, Va.)、GS3815、GS2888)的存在下将寡核苷酸组合物与细胞接触本文所述的延长的孵育时间。

[0360] 在一个实施方案中,将细胞与包含脂质和寡核苷酸组合物的混合物一起孵育不降低细胞的活性。优选地,在转染阶段后细胞仍基本是存活的。在一个实施方案中,在转染后,细胞存活至少约 70%至至少约 100%之间。在另一个实施方案中,细胞存活至少约 80%至至少约 95%之间。在又一个实施方案中,细胞存活至少约 85%至至少约 90%之间。

[0361] 在一个实施方案中,通过连接将寡核苷酸转运入细胞的肽序列而对寡核苷酸进行修饰,所述肽在本文中称为“转运肽”。在一个实施方案中,组合物包含寡核苷酸和共价连接的转运肽,所述寡核苷酸与编码蛋白质的靶标核酸分子互补。

[0362] 术语“转运肽”包括促进将寡核苷酸转运入细胞的氨基酸序列。本领域已知促进将其连接的部分转运入细胞的示例性肽,其包括如 HIV TAT 转录因子、乳铁蛋白、疱疹 VP22 蛋白和成纤维细胞生长因子 2(Pooga 等,1998. *Nature Biotechnology*. 16 :857 ;和 Derossi 等,1998. *Trends in Cell Biology*. 8 :84 ;Elliott and O' Hare. 1997. *Cell* 88 :223)。

[0363] 可采用已知技术将寡核苷酸连接到转运肽,如 (Prochiantz, A. 1996. *Curr. Opin. Neurobiol.* 6 :629 ;Derossi 等,1998. *Trends Cell Biol.* 8 :84 ;Troy 等,1996. *J. Neurosci.* 16 :253), Vives 等 1997. *J. Biol. Chem.* 272 :16010)。例如,在一个实施方案中,带有活化的硫醇基团的寡核苷酸通过所述硫醇基团与转运肽中存在的半胱氨酸连接(例如,如在 Derossi 等 1998. *Trends Cell Biol.* 8 :84 ;Prochiantz. 1996. *Current Opinion in Neurobiol.* 6 :629 ;Allinquant 等 1995. *J Cell Biol.* 128 :919 中教导的,与存在于触角足同源异型域的第二和第三螺旋之间的 β 转角中的半胱氨酸连接)。在另一个实施方案中,Boc-Cys-(Npys)OH 基团可作为最末端(N末端)氨基酸与转运肽偶联,并且具有 SH 基团的寡核苷酸可与所述肽偶联(Troy 等,1996. *J. Neurosci.* 16 :253)。

[0364] 在一个实施方案中,连接基团可连接到核酸单体并且转运肽可与所述接头共价连接。在一个实施方案中,接头的功能可以是作为转运肽的粘附位点并提供针对核酸酶的稳定性。适合的接头的实例包括取代或未取代的 C_1 - C_{20} 烷基链、 C_2 - C_{20} 烯基链、 C_2 - C_{20} 炔基链、肽和杂原子(例如, S、O、NH 等)。其它示例性接头包括双功能性交联剂,如磺基琥珀酰亚

胺基-4-(马来酰亚苯胺基)-丁酸酯(SMPB)(参见例如 Smith 等, Biochem J 1991. 276 : 417-2)。

[0365] 在一个实施方案中,本发明的寡核苷酸可作为分子缀合物被合成,其利用受体介导的胞吞机制将基因递送入细胞(参见例如 Bunnell 等,1992. Somatic Cell and Molecular Genetics. 18 :559 以及其中引用的参考文献)。

[0366] 靶向剂

[0367] 可通过使寡核苷酸靶向细胞受体来增强寡核苷酸的递送。靶向结构可缀合到寡核苷酸上,或可连接到与寡核苷酸连接的载体基团上(即,多聚(L-赖氨酸)或脂质体)。该方法尤其适用于显示特异性受体介导胞吞作用的细胞。

[0368] 例如,与游离的寡核苷酸相比,与 6-磷酸甘露糖化蛋白质缀合的寡核苷酸被表达 6-磷酸甘露糖特异性受体的细胞内化的效率高 20 倍。寡核苷酸还可利用可生物降解接头与细胞受体的配体偶联。在另一个实例中,递送构建体是甘露糖化的链霉抗生物素蛋白,其与生物素化的寡核苷酸形成紧密的复合物。发现甘露糖化的链霉抗生物素蛋白将生物素化寡核苷酸的内化提高 20 倍(Vlassov 等,1994. Biochimica et Biophysica Acta 1197 : 95-108)。

[0369] 此外,特异性配体可与基于聚赖氨酸递送系统的聚赖氨酸组分缀合。例如,在真核细胞中转铁蛋白-聚赖氨酸、腺病毒-聚赖氨酸和流感病毒血凝素 HA-2-N 末端融合肽-聚赖氨酸缀合物极大地提高了受体介导的 DNA 递送。已经利用了缀合到肺泡巨噬细胞聚(L-赖氨酸)的甘露糖化糖蛋白以增强寡核苷酸的细胞摄取。Liang 等,1999. Pharmazie 54 :559-566。

[0370] 由于恶性细胞对如叶酸和转铁蛋白的基本营养物的需求增加,因此可采用这些营养物将寡核苷酸靶向到癌细胞。例如,当将叶酸连接到聚(L-赖氨酸)时,在早幼粒细胞白血病(HL-60)细胞和人黑素瘤(M-14)细胞中可观察到增强的寡核苷酸摄取。Ginobbi 等,1997. Anticancer Res. 17 :29。在另一个实例中,用甘露糖化牛血清白蛋白、叶酸或高铁血红素 IX 包被的脂质体在鼠巨噬细胞、KB 细胞和人 2. 2. 15 肝细胞中显示寡核苷酸细胞摄取的增强。Liang 等,1999. Pharmazie 54 :559-566。

[0371] 脂质体在肝、脾和网状内皮系统中自然累积(所谓的被动靶向)。通过将脂质体与多种配体(如蛋白 A 抗体)偶联,它们可主动靶向到特定的细胞类群。例如,具有蛋白 A 的脂质体可用 H-2K 特异性抗体预处理, H-2K 特异性抗体靶向在 L 细胞中表达的小鼠主要组织相容性复合体编码的 H-2K 蛋白。(Vlassov 等,1994. Biochimica et Biophysica Acta 1197 :95-108)

[0372] 本领域已知其它 RNAi 试剂的体外和/或体内递送,并且可用于递送本发明 RNAi 构建体。参见例如,美国专利申请公开 20080152661、20080112916、20080107694、20080038296、20070231392、20060240093、20060178327、20060008910、20050265957、20050064595、20050042227、20050037496、20050026286、20040162235、20040072785、20040063654、20030157030、WO 2008/036825、W004/065601 和 AU200420625582,其上只是几个实例(均通过引用并入)。

[0373] 施用

[0374] 寡核苷酸的施用或递送的最佳途径可根据所需的结果和/或待处理的对象而异。

本文所用“施用”是指将细胞与寡核苷酸接触,并且可在体外或体内实施。可无需过度试验地调整寡核苷酸的剂量以最优地降低靶核酸分子翻译所得蛋白质的表达,例如,通过 RNA 稳定性的数据或通过治疗反应来测量。

[0375] 例如,可测量靶核酸所编码蛋白质的表达,以确定是否需要相应地调整剂量配方。此外,可采用任何本领域公知的技术测量细胞中或细胞产生的 RNA 或蛋白质水平的升高或降低。通过确定转录是否降低,可确定寡核苷酸诱导靶 RNA 切割的效率。

[0376] 任何上述寡核苷酸组合物可单独使用或与可药用载体组合使用。本文所用“可药用载体”包括适合的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、渗透剂和吸收延缓剂等。本领域公知这种介质和试剂在药物活性物质中的应用。任何常规介质或试剂除非与活性成分不相容,否则均可用于治疗组合物中。还可将补充性活性成分整合入组合物中。

[0377] 可将寡核苷酸整合入脂质体或用聚乙二醇修饰的脂质体中或与阳离子脂质混合用于肠胃外施用。将另外的物质(例如对特定靶细胞上的膜蛋白有反应性的抗体)整合入脂质体可帮助寡核苷酸对特定细胞类型的靶向。

[0378] 此外,本发明提供用渗透泵对本发明寡核苷酸进行施用,所述渗透泵提供这种寡核苷酸的持续灌注,例如,如在 Rataiczak 等(1992 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 11823-11827)中所述。这种渗透泵可购得,例如从 Alzet Inc. (Palo Alto, Calif.)。优选在阳离子脂质载体中的局部施用和肠胃外施用。

[0379] 对于体内应用,本发明的制剂可以适于所选施用途径(例如,肠胃外、经口或腹膜内)的多种方式施用给患者。优选的是肠胃外施用,其包括以下途径的施用:静脉内;肌内;间质内;动脉内;皮下;眼内;滑膜内;透表皮包括透皮;经吸入的经肺;经眼;舌下和经颊粘膜;局部,包括经眼;皮肤;眼;直肠以及通过吹入的鼻吸入。

[0380] 用于肠胃外施用的药物制剂包括水溶性或水中分散形式的活性化合物的水溶液。此外,可施用作为适合的含油注射悬液的活性化合物的悬液。适合的亲脂溶剂或载体包括脂肪油(例如芝麻油)或合成的脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)。含水注射悬液可包含增加悬液粘度的物质,包括例如羟甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖,任选地,所述悬液还可包含稳定剂。本发明的寡核苷酸可在液体溶液中制备,优选地在生理相容性缓冲液(如 Hank 溶液或 Ringer 溶液)中。此外,寡核苷酸可制备为固体形式并在临用前重新溶解或悬浮。本发明还包括冻干形式。

[0381] 局部施用的药物制剂包括透皮贴剂、软膏、洗液、乳霜、凝胶、滴剂、喷剂、栓剂、液体和粉末。此外,可在局部施用的药物制剂中使用常规的药物载体、含水、粉末或含油基质或增稠剂。

[0382] 经口施用的药物制剂包括粉末或颗粒、水或非水基质中的悬液或溶液、胶囊、扁囊剂或片剂。此外,在经口施用的药物制剂中可采用增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂。

[0383] 对于透粘膜或透皮施用,在制剂中使用适用于待渗透屏障的渗透剂。本领域已知这种渗透剂,并包括,例如,用于透粘膜施用的胆汁酸夫西地酸衍生物以及去污剂。透粘膜施用可通过鼻喷雾或采用栓剂。对于经口施用,寡核苷酸可制备成常规的口服施用形式,如胶囊、片剂和滋补品。对于局部施用,本发明的寡核苷酸被制备成本领域已知的软膏、油膏、凝胶或乳霜。

[0384] 可选择用于如体外、全身或局部施用的药物递送载体。可将这些载体设计成缓慢释放库,或设计成将其内含物直接递送到靶细胞。采用一些直接递送药物载体的优点是每次摄取递送多个分子。已经显示这些载体提高药物的循环半衰期,否则药物将从血流中快速清除。属于该类型的这种专门药物递送载体的一些实例包括脂质体、水凝胶、环糊精、可生物降解纳米颗粒和生物黏附性微球。

[0385] 所需的寡核苷酸可全身地施用给对象。全身吸收是指药物进入血流而后分布在全身中。导致全身吸收的施用途径包括:静脉内、皮下、腹膜内和鼻内。这些施用途径的每一种将寡核苷酸递送到可达到的疾病细胞。在皮下施用后,治疗剂流入局部淋巴结并继续通过淋巴网进入循环。已经证明循环的进入速率是分子量或分子大小的函数。脂质体或其他药物载体的使用将寡核苷酸定位在淋巴结。可修饰寡核苷酸以使其扩散入细胞,或者脂质体可直接参与未修饰或修饰的寡核苷酸到细胞的递送。

[0386] 所选的递送方法会导致进入细胞中。优选的递送方法包括脂质体(10-400nm)、水凝胶、控制释放聚合物和其它可药用载体,以及显微注射或电穿孔(对于离体治疗)。

[0387] 可将本发明的药物制剂可制备和配制成乳剂。乳剂通常为一种液体以液滴形式分散在另一种液体中的异质系统,所述液滴的直径通常超过 0.1 μm 。本发明的乳剂可包含赋形剂,如乳化剂、稳定剂、染料、脂肪、油、蜡、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、湿润剂、疏水胶体、防腐剂,并且抗氧化剂也可根据需要存在于乳化剂中。这些赋形剂可以水相、油相中的溶液存在或其自身为独立的相。

[0388] 可用于本发明乳剂制剂的天然乳化剂的实例包括羊毛脂、蜂蜡、磷脂、卵磷脂和阿拉伯胶。精细分割的固体也可用作良好的乳化剂,尤其是在与表面活性剂联合和在粘性制剂中。可用作乳化剂的精细分割的固体的实例包括极性无机固体(如重金属氢氧化物、不膨胀粘土(如膨润土、硅镁土、锂蒙脱石、高岭土、montmorillonite、胶体硅酸铝、胶体硅酸铝镁)、色素和非极性固体(如碳或硬脂酸甘油三脂)。

[0389] 可包含在乳剂制剂中的防腐剂的实例包括甲基苯甲酸酯、丙基苯甲酸酯、季铵盐、苯扎氯铵、对羟基苯甲酸酯和硼酸。可包含在乳剂制剂中的抗氧化剂的实例包括自由基清除剂(如生育酚、烷基镓酸盐、丁基化羟基茴醚、丁基化羟基甲苯)或还原剂(如抗坏血酸和焦亚硫酸钠)和抗氧化增效剂(如柠檬酸、酒石酸和卵磷脂)。

[0390] 在一个实施方案中,寡核苷酸的组合物被制备为微乳剂。微乳剂是水、油和两亲分子的系统,其为单光学等向性并且热动力学稳定的液体溶液。通常,通过首先将油分散在表面活性剂的水溶液中,而后加入足量的第四组分(通常为中等链长的醇)以形成透明系统来制备微乳剂。

[0391] 可用于制备微乳剂的表面活性剂包括但不限于单独或与助表面活性剂组合的离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂、Brij 96、聚氧乙烯油基醚、聚甘油脂肪酸酯、四甘油单月桂酸酯(ML310)、四甘油单油酸酯(M0310)、六甘油单油酸酯(P0310)、六甘油五油酸酯(P0500)、十甘油单癸酸酯(MCA750)、十甘油单油酸酯(M0750)、十甘油倍半油酸酯(S0750)、十甘油十油酸酯(DA0750)。助表面活性剂(通常为短链醇,如乙醇、1-丙醇和1-丁醇)的作用是通过穿透表面活性剂膜并随后由于在表面活性剂分子之间产生空隙而产生混乱的膜来增加界面间流动性。

[0392] 然而,微乳剂的制备可不采用助表面活性剂,并且本领域已知无醇自乳化微乳剂

系统。通常水相可为（但不限于）水、药物的水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇和乙二醇的衍生物。油相可包括但不限于如 Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯、中链（C₈-C₁₂）单、双和三甘油酯、聚氧乙烯化的甘油脂肪酸酯、脂肪醇、多糖基化的甘油酯、饱和多糖基化的 C₈-C₁₀ 甘油酯、植物油和硅酮油的材料。

[0393] 微乳剂在药物增溶和增加药物的吸收的角度而言尤其有意义。已提出基于脂质的微乳剂（油 / 水和水 / 油两种）增加药物的口服生物利用度。

[0394] 微乳剂提供了增强的药物溶解，保护药物免受酶水解，由于表面活性剂诱导的膜流动性和渗透性的改变而可能增强药物的吸收，易于制备、与固体剂型相比易于口服施用，提高临床效力并降低毒性（Constantinides 等，*Pharmaceutical Research*, 1994, 11 : 1385 ;Ho 等，*J. Pharm. Sci.*, 1996, 85 :138-143）。微乳剂也在化妆品和药物应用中活性组分的透皮递送中有效。预计本发明微乳剂组合物和制剂有利于寡核苷酸从胃肠道的全身吸收，并促进胃肠道、阴道、颊间和其它施用区域中寡核苷酸的局部细胞摄取。

[0395] 在一个实施方案中，本发明采用多种穿透增强剂来使核酸（尤其是寡核苷酸）有效递送到动物的皮肤。如果用穿透增强剂处理待穿过的膜，甚至非亲脂性药物也可穿过细胞膜。除增加非亲脂药物穿过细胞膜的扩散外，穿透增强剂的作用还有增强亲脂药物的渗透性。

[0396] 在本发明中可用的 5 类穿透增强剂包括：表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合非表面活性剂。其它可用于增强所施用寡核苷酸的穿透的试剂包括：二醇如乙二醇和丙二醇，吡咯如 2-15 吡咯、氮酮和萜烯如萜二烯以及薄荷酮。

[0397] 寡核苷酸（尤其是在脂质制剂中）还可通过与阳离子脂质制剂一起包被医疗装置来进行施用，例如导管（如血管成形术气囊导管）。例如，可通过将医疗装置放入脂质制剂或脂质制剂和适合的溶剂（如基于水的缓冲液、含水溶剂、乙醇、二氯甲烷、氯仿等）的混合物中来进行包被。一定量的制剂将自然粘附到装置的表面，随后将装置适当地施用给患者。或者，可将脂质制剂的冻干混合物与装置的表面特异性地结合。在如 K. Ishihara 等，*Journal of Biomedical Materials Research*, 27 卷, 1309-1314 页 (1993)（其公开内容通过整体引用并入本文）中描述了这种结合技术。

[0398] 待施用的有效剂量和具体施用方式根据以下因素而异，如细胞类型，或对于体内施用而言的年龄，体重和特定动物以及待处理的部位，特定的寡核苷酸和所用的递送方法，预想的治疗或诊断应用和制剂形式（如悬液、乳剂、胶束或脂质体），这对本领域技术人员是显而易见的。通常，以较低的水平施用剂量而后增加剂量直至达到所需的效果。当采用脂质递送寡核苷酸时，被施用的脂质化合物的量可不同，并且通常取决于施用的寡核苷酸试剂的量。例如，脂质化合物与寡核苷酸试剂的重量比优选为约 1 : 1 至约 15 : 1，更优选的重量比为约 5 : 1 至约 10 : 1。通常，施用的阳离子脂质化合物的量为约 0.1 毫克 (mg) 至约 1 毫克 (mg) 不等。作为一般性指导，通常对于每千克患者体重施用约 0.1mg 至约 10mg 的特定寡核苷酸药剂和约 1mg 至约 100mg 的脂质组合物，但也可采用更高和更低的量。

[0399] 本发明的试剂以适于药物施用的生物相容形式施用给患者或与细胞接触。“适于施用的生物相容形式”是指寡核苷酸以这样的形式施用，其中所述寡核苷酸的任何毒性作用被治疗作用超过。在一个实施方案中，可将寡核苷酸施用给对象。对象的实例包括哺乳动物，例如任何其它灵长类动物；牛、猪、马和畜牧（农业）动物；狗、猫和其它家养宠物；小

鼠、大鼠和转基因非人动物。

[0400] 施用活性量的本发明寡核苷酸定义为在达成期望结果所需的剂量和时间下的有效量。例如，寡核苷酸的活性量可根据以下因素变化，如细胞类型，所用的寡核苷酸，并且对于体内使用为个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及寡核苷酸在个体中引发所需应答的能力。细胞中寡核苷酸治疗水平的确定取决于摄取和流出或降解的速率。降低降解程度延长了寡核苷酸的细胞内半衰期。因此，化学修饰的寡核苷酸（例如，具有磷酸骨架的修饰）可需要不同的剂量。

[0401] 寡核苷酸的精确剂量和施用剂量的次数取决于实验和临床试验中获得的数据。如所需作用、递送载体、疾病适应症和施用途径等因素会影响剂量。本领域普通技术人员可容易地确定剂量并制备成本发明药物组合物。优选地，治疗的持续时间将至少持续到疾病症状过程中。

[0402] 可调整剂量方案以提供最佳的治疗应答。例如，可重复地施用寡核苷酸，例如，可每天施用几个剂量或如治疗情况的实际状况所指示的成比例地减少。不论将寡核苷酸施用给细胞或对象，本领域普通技术人员能容易地确定施用对象寡核苷酸的适合剂量和施用时间表。

[0403] 引入核酸的物理方法包括注射含有核酸的溶液、用涂覆有核酸的颗粒轰击，将细胞或组织浸入核酸溶液中或在核酸的存在下对细胞膜进行电穿孔。包装入病毒颗粒的病毒构建体有效地将表达构建体引入细胞并转录表达构建体所编码的核酸。可采用其它本领域已知的将核酸引入细胞的方法，如脂质介导的载体转运，化学介导的转运（如磷酸钙）等。因此，核酸可与发挥一种或更多种以下活性的组分一起被引入：增强细胞的核酸摄取，抑制单链的退火，稳定单链或者以其他方式增强对靶基因的抑制。

[0404] 可将核酸直接引入细胞（即细胞内方式）；或细胞外地引入腔、间隙，引入生物的循环，经口或通过吸入引入，或可通过在含有核酸的溶液中浸泡细胞或生物体引入。血管或血管外循环，血液或淋巴系统和脑脊液是可引入核酸的部位。

[0405] 具有靶基因的细胞可源自或包含在任何生物体中。所述生物体可为植物、动物、原生动物、细菌、病毒或真菌。植物可为单子叶、双子叶或裸子植物；动物可为脊椎动物或非脊椎动物。优选的微生物是在农业或工业中使用的，以及对植物或动物为致病性的那些。

[0406] 或者，可使用本领域公知技术将载体（例如编码本发明 siRNA 的转基因）改造到宿主细胞或转基因动物中。

[0407] 本发明核酸（或其编码载体或转基因）的另一用途是在真核细胞或真核非人生物（优选哺乳动物细胞或生物，最优选人细胞（例如像 HeLa 或 293 的细胞系）或啮齿类动物（例如大鼠和小鼠））中进行功能性分析。通过施用与靶 mRNA 序列充分互补以指导靶标特异性 RNA 干扰的适当的本发明核酸，可在靶细胞中（例如在细胞培养物中或在靶生物体中）实现特异性敲除或敲低现象。

[0408] 因此，本发明的另一主题为显示包含至少一个内源靶基因全部或至少部分缺陷表达的靶基因特异性敲除或敲低现象的真核细胞或真核非人生物，其中所述细胞或生物被至少一种载体转染，所述载体包含编码能抑制靶基因表达的 RNAi 剂的 DNA。应注意，由于 RNAi 剂的特异性，本发明可靶标特异性地敲除或敲低几个不同内源基因。

[0409] 可在分析方法中利用细胞或非人生物（特别是人细胞或非人哺乳动物）的基因特

异敲除或敲低现象,如在复杂生理过程的功能和 / 或表型分析中(如分析基因表达谱和 / 或蛋白质组)。优选地,采用如基于寡核苷酸的芯片通过高通量方法进行所述分析。

[0410] 寡核苷酸稳定性测定

[0411] 在一些实施方案中,可使本发明的寡核苷酸稳定化,即对核酸内切酶和核酸外切酶降解具有显著抗性。当寡核苷酸对细胞内源核酸酶的抗性为对应寡核苷酸的约至少 3 倍时,将前者定义为对核酸酶具有显著抗性,当抗性为对应寡核苷酸的至少 6 倍时,将前者定义为具有高核酸酶抗性。这可以通过利用本领域已知技术显示本发明寡核苷酸对核酸酶具有显著抗性来证实。

[0412] 证明显著稳定性的一种方法是例如通过测定蛋白质水平或通过检测 mRNA 切割来表明本发明寡核苷酸递送到细胞后发挥功能,例如它们减少靶核酸分子的转录或翻译。可在转染后约 24 小时进行靶 RNA 稳定性的测定(例如,采用本领域已知的 Northern 印迹技术, RNase 保护测定或 QC-PCR 测定)。或者,可测量靶蛋白质的水平。优选地,除检测目的 RNA 或蛋白质水平外,检测对照的非靶标基因的 RNA 或蛋白质水平(例如,肌动蛋白,或优选的与靶标具有序列相似性的对照)作为特异性参照。可利用任何本领域公知技术进行 RNA 或蛋白质测定。优选地,在转染后约 16-24 小时开始进行测定(M. Y. Chiang 等,1991. J Biol Chem. 266 :18162-71 ;T. Fisher 等,1993. Nucleic Acids Research. 21 3857)。

[0413] 可利用本领域已知技术测定本发明寡核苷酸组合物抑制蛋白质合成的能力,例如通过检测对基因转录或蛋白质合成的抑制。例如,可进行核酸酶 S1 作图(Nuclease S1 mapping)。在另一个实施方案中,可采用 Northern 印迹分析来检测编码特定蛋白质的 RNA 的存在。例如,可通过氯化铯垫(cesium chloride cushion)制备总 RNA(参见例如 Ausubel 等,1987. Current Protocols in Molecular Biology(Greene & Wiley, New York))。然后可采用 RNA 进行 Northern 印迹并检测(参见例如同前)。在另一个实例中,可采用如 PCR 测定靶蛋白质产生的特异 mRNA 的水平。在又一个实例中,可采用 Western 印迹检测存在的靶蛋白质的量。在另一个实施方案中,可检测被蛋白质量影响的表型。本领域公知进行 Western 印迹的技术(参见例如 Chen 等, J. Biol. Chem. 271 :28259)。

[0414] 在另一个实例中,靶基因的启动子序列可与报告基因连接并且可监测报告基因的转录(例如,如下文详细描述)。或者,可通过将靶核酸分子的一部分与报告基因融合以转录报告基因来鉴定不靶向启动子的寡核苷酸组合物。通过在寡核苷酸组合物的存在下监测报告基因表达的变化,可以确定寡核苷酸组合物抑制报告基因表达的效力。例如,在一个实施方案中,有效的寡核苷酸组合物将减少报告基因的表达。

[0415] “报告基因”为表达可检测基因产物(其可为 RNA 或蛋白质)的核酸。可通过 Northern 印迹进行 mRNA 表达的检测,并且可通过用对蛋白质特异的抗体染色来进行蛋白质的检测。优选的报告基因产生容易检测的产物。报告基因可与调控 DNA 序列可操作性连接,以使对报告基因产物的检测为调控序列的转录活性提供检测手段。在一些优选的实施方案中,通过与产物相关的固有活性来检测报告基因的基因产物。例如,报告基因可编码这样的基因产物,即其通过酶活性产生基于颜色、荧光或发光的可检测信号。报告基因的实例包括但不限于编码氯霉素乙酰转移酶(CAT)、萤光素酶、 β -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶的基因。

[0416] 本领域技术人员能容易地识别适用于本发明的多种报告基因。这些包括但不限于

氯霉素乙酰转移酶 (CAT)、萤光素酶、人生长激素 (hGH) 和 β -半乳糖苷酶。F. A. Ausubel 等编, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, (1989) 中有这种报告基因的实例。编码可检测产物 (例如具有可检测酶活性或可产生针对其的特异性抗体) 的任何基因均可用作本发明的报告基因。

[0417] 一个报告基因系统是萤火虫萤光素酶报告系统 (Gould, S. J. 和 Subramani, S. 1988. *Anal. Biochem.*, 7 :404-408, 通过引用并入本文)。萤光素酶测定是快速和灵敏的。在本测定中, 制备测试细胞的裂解物并与 ATP 和底物萤光素组合。所编码的酶萤光素酶催化底物快速发生 ATP 依赖性氧化以产生发光产物。测量光输出总量, 并且其在大范围的酶浓度下与存在的萤光素酶量成比例。

[0418] CAT 是另一个常用的报告基因系统; 该系统的主要优点是其被大量地证实并作为启动子的测量方法被广泛接受 (Gorman C. M., Moffat, L. F., 和 Howard, B. H. 1982. *Mol. Cell. Biol.*, 2 :1044-1051)。在该系统中, 用 CAT 表达载体转染测试细胞, 并转染最初的 2-3 天内与候选底物一起孵育。其后制备细胞提取物。将提取物与乙酰辅酶 A 和放射性氯霉素一起孵育。在孵育后, 通过薄层层析将乙酰化氯霉素从未乙酰化形式中分离。在此测定中, 乙酰化的程度反映了具有特定启动子的 CAT 基因的活性。

[0419] 另一个适合的报告基因系统基于 hGH 的免疫检测。该系统也很迅速并易于使用。(Selden, R., Burke-Howie, K. Rowe, M. E., Goodman, H. M., 和 Moore, D. D. (1986), *Mol. Cell. Biol.*, 6 :3173-3179, 通过引用并入本文)。该 hGH 系统的优点是表达的 hGH 多肽在培养基中而不是在细胞提取物中进行测定。因此, 该系统不需要破坏测试细胞。应理解, 该报告基因系统的原理不限于 hGH, 而是可以适用于任何可获得或可制备特异性可接受抗体的任何多肽。

[0420] 在一个实施方案中, 测量本发明双链寡核苷酸的核酸酶稳定性并与对照比较, 所述对照如本领域通常采用的 RNAi 分子 (例如长度小于 25 个核苷酸并包含 2 核苷酸碱基突出端的双链体寡核苷酸) 或平末端的未修饰 RNA 二聚体。

[0421] 采用本发明 siRNA 实现的靶 RNA 切割是高度序列特异的。可通过序列比较和本领域已知的比对算法确定序列同一性。为了确定两个核酸序列 (或两个氨基酸序列) 的同一性百分比, 以进行最佳比较为目的进行序列比对 (例如为了最佳比对可在第一序列或第二序列中引入缺口)。用于序列比较的局部比对算法的优选的、非限制性实例是 Karlin 和 Altschul (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 :2264-68 的算法, 在 Karlin 和 Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 :5873-77 中进行了改进。该算法被整合入 Altschul 等 (1990) *J. Mol. Biol.* 215 :403-10 的 BLAST 程序 (2.0 版) 中。或者, 多个商业实体 (如 Dharmacon 和 Invitrogen) 在其网站中提供了算法。Whitehead Institute 也提供了免费的 siRNA 选择程序。优选地, siRNA 和靶基因部分之间具有大于 90% 的序列同一性 (例如 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至 100% 的序列同一性)。或者, 可将 siRNA 在功能上限定为能与靶基因转录本的一部分杂交的核苷酸序列 (或寡核苷酸序列)。多核苷酸杂交的严格条件的实例在 Sambrook, J., E. F. Fritsch 和 T. Maniatis, 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 9 和 11 章, 以及 *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, F. M. Ausubel 等编, John Wiley & Sons, Inc., sections 2.10 and 6.3-6.4 中提供。

[0422] 治疗用途

[0423] 通过抑制基因表达,本发明的寡核苷酸组合物可用于治疗任何涉及蛋白质表达的疾病。可用寡核苷酸组合物治疗的疾病的说明性实例包括:癌症、视网膜病变、自身免疫病、炎性疾病(即 ICAM-1 相关疾病、牛皮癣、溃疡性结肠炎、克罗恩病)、病毒疾病(即 HIV、丙肝)、miRNA 障碍和心血管疾病。

[0424] 在一个实施方案中,寡核苷酸的体外细胞治疗可用于从对象中取出的细胞的离体治疗(例如用于治疗白血病或病毒感染),或用于处理不源自对象但施用给对象的细胞(例如消除待移植给对象的细胞上表达的移植抗原)。此外,细胞的体外处理可用于非治疗背景(例如评价基因功能),以研究基因调控和蛋白质合成或评价设计用于调节基因表达或蛋白质合成的寡核苷酸的改进。细胞的体内处理可用于一些需要抑制蛋白质表达的治疗背景。据报道反义治疗适于多种医学病症(参见例如美国专利 No. 5,830,653)以及呼吸道合胞体病毒感染(WO 95/22,553)、流感病毒(WO 94/23,028)和恶性肿瘤(WO 94/08,003)。其它反义序列临床应用的实例在如 Glaser. 1996. Genetic Engineering News 16:1 中综述。寡核苷酸切割的示例性靶标包括,例如蛋白激酶 Ca、ICAM-1、c-raf 激酶、p53, c-myc 和在慢性髓细胞性白血病中发现的 bcr/abl 融合基因。

[0425] 本发明核酸可在任何具有 RNAi 途径的动物中用于基于 RNAi 的治疗,所述动物如人、非人灵长类动物、非人哺乳动物、非人脊椎动物、啮齿类动物(小鼠、大鼠、仓鼠、兔等)、家畜、宠物(猫、狗等)、爪蟾、鱼、昆虫(果蝇等)和蠕虫(线虫)等。

[0426] 本发明提供通过向对象施用本发明核酸来抑制或预防对象中与异常或有害的靶基因表达或活性相关的疾病和病症的方法。适当时,首先用引发剂处理对象以使其对随后的 RNAi 治疗的应答性更高。可通过如本领域已知的任何诊断或预后测定或其组合来鉴定有发生由异常或有害靶基因表达或活性引起或有其参与的疾病之风险的对象。预防剂的施用可在表现出靶基因异常的症状之前进行,以预防疾病或异常,或者作为替代地延缓其发展。例如,根据靶基因异常的类型,可采用靶基因、靶基因激动剂或靶基因拮抗剂来治疗对象。

[0427] 在另一个方面,本发明涉及为治疗目的而调节靶基因表达、蛋白质表达或活性的方法。因此,在一个示例性实施方案中,本发明方法涉及将能表达靶基因的细胞与对靶基因或蛋白质具有特异性的本发明核酸(即对所述基因编码的 mRNA 具有特异性或特异性靶向所述蛋白质的氨基酸序列)接触以调节靶蛋白质的表达或一种或更多种活性。这些方法可在体外(例如,通过用试剂培养细胞)、体内(例如,通过将试剂施用给对象)或离体进行。可首先用引发剂处理对象以使其对随后的 RNAi 治疗的应答性更高。因此,本发明提供治疗患疾病或异常的对象的方法,所述疾病或异常的特征在于靶基因多肽或核酸分子的异常或不想要的表达或活性。在靶基因异常地不受调控和/或靶基因活性降低可能有有利作用的情况下,期望抑制靶基因活性。

[0428] 因此可将本发明的治疗剂施用给对象以(预防性地或治疗性地)治疗与异常或不想要的靶基因活性相关的疾病。可考虑将药物基因组学(即研究个体基因型与该个体对外界化合物或药物反应之间的关系)与该治疗结合。通过改变剂量与药理学活性药物的血液浓度之间的关系,治疗剂代谢的差异可导致严重的毒性或治疗失败。因此,内科医生或临床医生可考虑将从相关药物基因组学研究中获得的知识用于确定是否施用治疗剂并依据个

体确定治疗剂的剂量和 / 或治疗方案。药物基因组学涉及对药物应答 (由于改变的药物特性和在患者中的异常作用) 的具有临床意义的遗传改变。

[0429] 为本发明目的,本文中可将范围表示为从“约”一个特定值和 / 或至“约”另一个特定值。当这样表示范围时,另一个实施方案包括从一个特定值和 / 或至另一个特定值。类似地,当值通过采用前置的“约”被表达为约数时,应理解其它特定值形成另一个实施方案。还应理解,每个范围的端点在与另一个端点相关和与另一个端点无关的情况下都是有意义的。

[0430] 此外,为本发明目的,当未限定实体的数量时是指一个或更多个该实体;例如,“蛋白质”或“核酸分子”是指一个或多个这种化合物或至少一个化合物。因此,本文中不限定数量的用法可与“一或更多”和“至少一”相互替换使用。还应注意术语“包含”、“包括”和“具有”可相互替换使用。此外,“选自……”的化合物是指以下列出的一个或更多个化合物,包括两个或更多个化合物的混合物 (即组合)。根据本发明,分离的、生物纯的蛋白质或核酸分子是从其天然环境中分离的化合物。因此,“分离的”和“生物纯”不一定反映所述化合物被纯化的程度。本发明的分离化合物可从其天然来源获得,可采用分子生物学技术产生或可通过化学合成生成。

[0431] 本发明还通过以下实施例进行说明,不应将所述实施例作为进一步的限制。本申请中引用的所有参考文献 (包括文献参考文献、授权专利、公开的专利申请和待批的专利申请) 的全部内容均通过引用特意地并入。

实施例

[0432] 实施例 1 :利用最小长度的触发 RNA 抑制基因表达

[0433] 转染最小长度的触发 RNA (Minimum Length Trigger RNA, mltRNA)

[0434] 化学合成 mltRNA 构建体 (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA) 并根据生产商说明采用 Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA) 转染入 HEK293 细胞 (ATCC, Manassas, VA)。简单来讲,将 RNA 稀释为 12X 浓度而后与 12X 浓度的 Lipofectamine RNAiMAX 组合以进行复合。使 RNA 和转染试剂在室温下复合 20 分钟制成 6X 浓度。在复合的同时,清洗 HEK293 细胞,用胰酶消化并计数。将细胞稀释到制造商建议和之前所述条件的浓度,即 1×10^5 个细胞 /ml。当 RNA 完成与 RNAiMAX 转染试剂的复合时,将 20ul 复合物一式三份加入 96 孔板的适当孔中。将细胞加到每个孔中 (100ul 体积) 以使每孔的最终细胞数为 1×10^4 个细胞 / 孔。细胞的体积将 6X 浓度的复合物稀释至 1X,与记录的浓度相等 (10-0.05nM)。将细胞在正常生长条件下孵育 24 小时或 48 小时。

[0435] 在 24 或 48 小时的孵育后,裂解细胞,并用 QuantiGene 测定 (Panomics, Fremont, CA, 其利用 bDNA 杂交技术) 检测基因沉默活性。根据制造商的说明进行所述测定。

[0436] ΔG 计算

[0437] 采用从 Mfold 网站 (<http://mfold.bioinfo.rpi.edu/cgi-bin/rna-form1.cgi>) 上获得的 Mfold 计算 ΔG 。在以下文献中描述了 ΔG 的计算方法,它们均通过引用并入: Zuker, M. (2003) Nucleic Acids Res., 31(13):3406-15; Mathews, D. H., Sabina, J., Zuker, M 和 Turner, D. H. (1999) J. Mol. Biol. 288:911-940; Mathews, D. H., Disney, M. D., Childs, J. L., Schroeder, S. J., Zuker, M. 和 Turner, D. H. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. 101:

7287-7292 ;Duan, S. , Mathews, D. H. 和 Turner, D. H. (2006) *Biochemistry* 45 :9819-9832 ; Wuchty, S. , Fontana, W. , Hofacker, I. L. 和 Schuster, P. (1999) *Biopolymers* 49 :145-165.

[0438] 实施例 2 :优化用于基因沉默的 sd-rxRNA^{nano} 分子

[0439] 本文开发了具有最小双链区的不对称双链 RNAi 分子,其在基因沉默中高效。这些分子可在有义和 / 或反义链上包含多种化学修饰,并可与固醇样分子 (如胆固醇) 缀合。

[0440] 图 1-3 显示本发明 RNAi 分子的示意图。在包含有义和反义链的不对称分子中,任一条链可为较长链。任一条链还可包含单链区。如图 1D 所示,有义和反义链之间还可有错配。优选地,双链分子的一个末端为平末端或包含短的突出端,如一个核苷酸的突出端。图 2 表示应用于有义和反义链上的化学修饰类型,包括 2' F、2' OMe、疏水修饰和硫代磷酸酯修饰。优选地,分子的单链区包含多个硫代磷酸酯修饰。可使用诸如 5-U 的 4- 吡啶基、5-U 的 2- 吡啶基、5-U 的异丁基和 5-U 的吡啶基的化合物增加分子的疏水性 (图 2)。还可采用如精蛋白 (或其它 Arg 富含肽)、亚精胺或类似化学结构的蛋白质或肽来屏蔽双链体电荷以便于细胞进入 (图 3)。可通过共价或非共价修饰获得增强的疏水性。图 4 显示了几种正电荷的化学物质,其可用于封闭多核苷酸电荷。

[0441] 多核苷酸的化学修饰 (例如双链体分子的引导链) 可促进 RISC 进入。图 5 显示了单链多核苷酸,其代表双链体分子的引导链,其上具有多种化学修饰,包括 2' d、2' OMe、2' F、疏水修饰、硫代磷酸酯修饰和缀合物附着 (如图 5 中的“X”,其中 X 可为与 PAZ 结构域具有高亲和性的小分子或固醇类实体)。类似地,图 6 显示单链多核苷酸,代表双链体分子中的负载链,其具有预测的 RISC 底物抑制剂的结构和化学构成。化学修饰的组合可保证有效摄取和与预装载的 RISC 复合物的有效结合。

[0442] 图 7 显示连接有固醇类分子的多核苷酸的结构,其中 R 表示 9 碳或更长的多碳尾。图 8 显示 17 位连接有长于 8 的多碳链的天然植物甾醇的实例。已知多于 250 种的不同植物甾醇类型。图 9 显示固醇样结构的实例,其中连接到 17 位的多碳链的大小不同。图 91 代表可代替胆固醇用作疏水实体的固醇类分子的其它实例。图 92 代表可代替胆固醇用作疏水实体的疏水分子的其它实例。这些特性的优化可增强 RNAi 分子的摄取特性。图 10 显示从 Martins 等 (*J Lipid Research*) 获取的数据,其表明连接到 17 位的多碳链的大小直接影响包含固醇类分子的脂质乳剂的肝摄取和血浆清除百分率。图 11 显示由与疏水缀合物连接的多核苷酸和脂肪酸的混合物形成的胶束。图 12 显示脂质组成的改变可如何影响疏水修饰和 / 或疏水缀合的多核苷酸的药代动力学行为和组织分布。特别地,采用富含亚油酸和心磷脂的脂质混合物导致心肌的偏好性摄取。

[0443] 图 13 显示设计为靶向 MAP4K4 表达的 RNAi 构建体和对照的实例。图 14 和 15 揭示具有最小双链区 (如约 13 个核苷酸的双链区) 的 RNAi 构建体在介导细胞培养物的 RNA 沉默中有效。图 16 显示了与这些 RNA 分子相关的参数。图 17 显示设计用于靶向 SOD1 表达的 RNAi 构建体和对照的实例。图 18 和 19 揭示采用这些 RNAi 分子靶向细胞中 SOD1 的基因沉默实验的结果。图 20 为说明具有小于 10 个核苷酸的双链区的 RNA 分子不被 Dicer 切割的示意图,图 21 为显示用于 RNA 诱导基因沉默的假想 RNAi 模型的示意图。

[0444] 将本文所述的 RNA 分子在有义和反义链上进行多种化学修饰,并且观察这种修饰的作用。合成 RNAi 分子并通过测试多种修饰对其进行优化。在第一代的优化中,将 sd-rxRNA^{nano} 分子的有义 (负载) 和反义 (引导) 链进行修饰,所述修饰如通过掺入 C 和 U

的 2' OMe 修饰、2' F 修饰、硫代磷酸酯修饰、磷酸化和胆固醇辍合。测试分子通过脂质介导和被动摄取转染对细胞（包括 HeLa、原代小鼠肝细胞和原代人肝细胞）MAP4K4 表达的抑制。

[0445] 图 22 揭示化学修饰可增强基因沉默。特别地，将引导链的 2' F UC 修饰和硫代磷酸酯修饰区段与负载链上的完全 CU 0' Me 修饰组合，产生了在基因沉默中高效的分子。还检测了化学修饰在 HeLa 细胞中体外无协助递送中的作用。图 23 证明无任何 2' F、2' OMe、硫代磷酸酯区段或胆固醇辍合物的化合物在被动摄取中完全无活性。全部 4 种化学修饰的组合（例如 12386 化合物中）显示在基因沉默中非常高效。图 24 还显示了 12386 化合物在基因沉默中的有效性。

[0446] 还研究了寡核苷酸长度的优化。图 25 和 26 揭示与 25 个核苷酸长的寡核苷酸相比，21 个核苷酸长的寡核苷酸更有效，这表明减小 RNA 分子的大小可提高效力，可能是通过促进其摄取。还进行了筛选以优化双链 RNA 分子双链区的大小。图 88 揭示具有 10 个核苷酸双链体的化合物在诱导基因沉默中有效。有义链相对于引导链的位置也可对基因表达沉默很关键（图 89）。在此测定中，发现平末端是最有效的。3' 突出端是可容忍的，但 5' 突出端导致功能的完全丧失。当与多种长度的有义链杂交时，引导链可在基因沉默中有效（图 90）。在图 90 显示的测定中，通过脂质介导的转染将化合物引入 HeLa 细胞。

[0447] 还研究了 RNA 分子的硫代磷酸酯含量对于无协助递送的重要性。图 27 显示了证明引导链中至少 2-12 个硫代磷酸酯（优选 4-8 个）的存在对达成摄取极为有利的系统性筛选的结果。图 27 还表明有义链硫代磷酸酯修饰的存在与否不改变效力。

[0448] 图 28-29 揭示 RNA 化合物的被动摄取对原代小鼠肝细胞的基因沉默的作用。发现 nanoRNA 分子是高效的，特别是浓度为 1 μ M 时（图 28）。图 30 和 31 揭示本发明的 RNA 化合物在原代人肝细胞的被动摄取后的基因沉默中也是有效的。如图 32 和 33 所示，检测了本发明 RNA 分子的细胞定位并将其与 Chol-siRNA (Alnylam) 分子的定位比较。

[0449] 图 21 显示了对第一代 sd-rxRNA 分子的概述。将化学修饰引入 RNA 分子的至少一部分中，以增加效力（例如通过优化核苷酸长度和硫代磷酸酯含量）、减少毒性（例如通过用其它修饰替换引导链上的 2' F 修饰）、增强递送（例如通过将接头和固醇模式添加或辍合到 RNA 分子）并提高制造 RNA 分子的方便性。图 35 显示在第一代分子中所筛选的一些化学修饰的示意图。在引导链上进行优化的参数包括核苷酸长度（例如 19、21 和 25 个核苷酸）、硫代磷酸酯含量（例如，0-18 个硫代磷酸酯连接）和用 2' OMe、5MeC 或核糖胸苷替换 2' F 基团。所优化的有义链参数包括核苷酸长度（11、13 和 19 个核苷酸）、硫代磷酸酯含量（例如，0-4 个硫代磷酸酯连接）和 2' OMe 修饰。图 36 概括了所筛选的参数。例如，以优化为目的修饰和筛选了核苷酸长度和硫代磷酸酯尾长度，也筛选了 2' OMe C 和 U 修饰的添加。发现引导链长度和核苷酸硫代磷酸酯修饰区段的长度影响效力（图 37-38）。引导链中可容忍硫代磷酸酯修饰并发现其影响被动摄取（图 39-42）。

[0450] 图 43 显示所筛选的引导链化学修饰的示意图。图 44 和 45 表明引导链 3' 末端可容忍 2' OMe 修饰。特别地，1 和 11-18 位的 2' OMe 修饰被很好地容忍。种子区的 2' OMe 修饰可容忍，但导致效力的轻微降低。种子区的核糖修饰也被很好地容忍。这些数据表明，本发明分子具有减少 2' F 修饰或无 2' F 修饰的显著优势。这是有利的，因为认为 2' F 修饰在体内产生毒性。在一些情况下，发现用 2' OMe 完全替换 2' F 修饰导致效力的部分降低。然而，2' OMe 取代的分子仍具有相当高的活性。发现 2' F 含量降低 50% 的分子（包括 11、

16-18 位替换成 2'OMe 修饰) 与完全 2'F C 和 U 修饰的化合物具有类似的效力。发现在一些情况下位置上的 2'OMe 修饰降低效力, 尽管其可部分被 1 位 (具有化学磷酸酯) 的 2'OMe 修饰补偿。在一些情况下, 用 5Me C 和 / 或核糖胸苷替换 2' F 修饰导致被动摄取效力的降低, 但与 2' F 修饰相比增强了脂质介导转染的效力。脂质介导转染的优化结果不一定与被动摄取的相同。

[0451] 如图 46 所示, 还开发和测试了有义链上的修饰。图 47 揭示在一些情况下, 发现约 10-15 碱基的有义链长度是最优的。对于图 47 中测试的分子, 有义链长度的增加导致被动摄取的减少, 然而对于一些化合物有义链长度的增加是可容忍的。图 47 还揭示有义链的 LNA 修饰显示出与不含 LNA 修饰的化合物相似的效力。一般地, 发现添加 LNA 或其它热动力学稳定性化合物是有利的, 在一些情况下导致无功能序列转变为有功能序列。图 48 也显示了有义链长度优化的数据, 而图 49 显示对于被动摄取不需要有义链的硫代磷酸酯修饰。

[0452] 根据上述优化试验, 开发了第二代 RNA 分子。如图 50 所示, 这些分子相对于第一代 RNA 分子包含减少的硫代磷酸酯修饰含量和减少的 2' F 修饰含量。重要的是, 这些 RNA 分子显示在无递送载体的情况下自发的细胞摄取和效力 (图 51)。这些分子可实现自递送 (即无转染试剂), 并且在自递送之后可在细胞培养物中显示纳摩尔活性。还可利用脂质介导的转染递送这些分子, 并在转染后显示皮摩尔活性。重要的是, 这些分子显示高效的摄取, 为被细胞培养物中 95% 的细胞摄取, 并在 100% 人血清的存在下稳定多于 3 天。这些分子也是高特异性的并不显示或显示极少的免疫诱导。图 52 和 53 显示了化学修饰和这些修饰的构型对影响本发明 RNA 分子特性的重要性。

[0453] 还测试了与本发明 RNA 分子相连的接头化学结构。如图 54 中所示, 合成了第二代 RNA 分子, 其中将固醇类分子通过 TEG 和氨基己酸接头连接。两种接头显示相同的效能。这种不依赖于接头化学结构的 RNA 分子功能为规模扩大和合成提供了额外的优势, 并证明这些 RNA 分子的功能机制和之前所述 RNA 分子的显著不同。

[0454] 图 55 证明了与未修饰 RNA 相比, 本文所述化学修饰的 sd-rxRNA 化合物在人血清中的稳定性。将双链体分子在 37°C 下在 75% 的血清中孵育所示时间。通过将样品在非变性凝胶上电泳并用 SYBGR 染色确定降解水平。

[0455] 图 56 和 57 表示 sd-rxRNA 分子细胞摄取的数据。图 56 表明最小化 RNA 分子长度对细胞摄取很重要, 而图 57 所显示的数据显示小鼠 PEC 衍生巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶基因沉默。图 58 证明原代细胞中的自发摄取和靶基因沉默。图 59 显示不使用制剂将本发明的 sd-rxRNA 分子递送到 RPE 细胞的结果。Hoechst 和 DY547 成像显示在 sd-rxRNA 样品中清晰存在代表 RNA 分子的信号, 而在其它样品 (包括与竞争辍合物、rxRNA 样品和未转染对照的样品) 中没有检测到信号。图 60 揭示不使用转染制剂用本发明 sd-rxRNA 处理 RPE 细胞 24-48 小时后靶基因表达的沉默。

[0456] 图 61 显示了 sd-rxRNA 化合物化学 / 结构组成的进一步优化。在一些情况下, 优选的特征包括 17-21 个核苷酸长的反义链, 10-15 个核苷酸长的有义链, 在分子的单链区含有 2-12 个硫代磷酸酯修饰核苷酸 (优选在单链区中具有 6-8 个硫代磷酸酯修饰核苷酸), 和大部分位点被 2'OMe 修饰的具有或不具有硫代磷酸酯修饰的有义链。可采用任何接头化学结构将疏水部分 (如胆固醇) 与有义链 3' 末端连接。如图 61 所示 GIIb 类型分子不具有 2' F 修饰。重要的是, 这对这些分子的效力无影响。

[0457] 图 62 证明 sd-rxRNA 化合物与 Wolfrum 等 Nature Biotech, 2007 发表的化合物相比更好的性能。本文开发的 I 代和 II 代化合物 (GI 和 GIIa) 均在减少靶基因表达中显示很好的效力。与之不同, 当将 Wolfrum 等所述的化学结构 (所有寡聚物包含缀合到有义链 3' 末端的胆固醇) 应用于传统 siRNA (19bp 具有两端突出端的双链体) 的相同序列上时, 化合物基本无活性。这些数据强调了将本文所述的化学修饰和不对称分子组合产生高效 RNA 化合物的重要性。

[0458] 图 63 显示了本文中开发的 sd-rxRNA 分子的定位与如 Soutschek 等 (2004) Nature, 432 :173 所述的那些其它 RNA 分子定位的比较。sd-rxRNA 分子在细胞内累积, 而竞争缀合 RNA 在细胞表面累积。重要的是, 图 64 表明 sd-rxRNA 分子 (而不是如 Soutschek 等描述的那些竞争分子) 在几分钟内被内化。图 65 将 sd-rxRNA 分子的定位与通常的 siRNA-胆固醇 (如在 Soucheck 等中所述的那些) 进行比较。在组织培养的 RPE 细胞中, 在局部递送到受损皮肤后和在全身递送后进行摄取的肝中明显地检测到代表 RNA 分子的信号。在每种情况下, 对于通常的 siRNA-胆固醇分子均检测不到信号。因此, 与如 Soutschek 等描述的常规胆固醇缀合 siRNA 相比, sd-rxRNA 化合物具有明显更佳的细胞和组织摄取特性。摄取水平至少高一个数量级, 并且至少部分是由于化学结构与缀合结构的独特组合。也在图 66 和 67 中证明了 sd-rxRNA 相对于之前所述的 RNA 分子的更好递送。

[0459] 根据对本发明第二代 RNA 分子的分析, 进行了鉴定靶向 SPP1/PPIB 基因的功能性分子的筛选。如图 68 所揭示的, 鉴定出了几个有效的分子, 其中 14131 最有效。将所述化合物加入 A-549 细胞而后在 48 小时后通过 B-DNA 确定 SPP1/PPIB 比值水平。

[0460] 图 69 证明在几分钟的暴露中 sd-rxRNA 的有效细胞摄取。这是这些分子的独特特征, 在其它任何 RNAi 化合物中未观察到。用 Soutschek 等的化合物作为阴性对照。图 70 证明多种细胞类型 (包括 SH-SY5Y 成神经细胞瘤衍生细胞、ARPE-19 (视网膜色素上皮) 细胞、原代肝细胞和原代巨噬细胞) 中 sd-rxRNA 化合物有效摄取和基因沉默。在每种情况下通过用分支 DNA 测定观察靶基因表达来确定沉默。

[0461] 图 70 表明在存在和不存在血清的情况下 sd-rxRNA 均有活性。在存虽然在血清存在时观察到效力的微小降低 (2-5 倍), 这种在血清存在时效力的微小降低将 sd-rxRNA 分子与之前所述的分子区分开来 (后者在血清存在下效力有极大的降低)。这种血清存在下的效力水平是体内效力的基础。

[0462] 图 72 证明在单次真皮内注射后有效组织渗透和细胞摄取。该数据表明本文所述 sd-rxRNA 化合物在任何皮肤学应用中用于沉默基因的潜力, 并且也代表了 sd-rxRNA 化合物局部递送的模型。图 73 也证明真皮内注射后 sd-rxRNA 有效的细胞摄取和体内沉默。通过将几个单独注射位点的生物活检样品与注射了阴性对照的位点的生物活检样品中 MAP4K4 敲低水平进行比较来确定沉默。图 74 揭示 sd-rxRNA 化合物在全身施用后具有改善的血液清除并在肝中诱导体内有效基因沉默。与 Soutschek 等所述的 RNA 分子相比, 相同剂量水平下 sd-rxRNA 分子肝摄取水平至少高 50 倍。所述摄取导致有效的沉默。Sd-rxRNA 化合物的特征还有改进的血液清除动力学。

[0463] 还检测了 5- 甲基 C 修饰的作用。图 75 证明 5- 甲基 C 在 RNAi 化合物中的存在导致脂质介导转染的效率提高。这证明在 RNAi 化合物中 C 和 U 的疏水修饰可为有利的。可在 2' 核糖修饰碱基的情况下采用这种类型的修饰以保证稳定性和效力的优化。图 76 所显

示的数据表明在一些情况下在引导链中整合 5- 甲基 C 和 / 或核糖胸苷降低了效力。

[0464] 图 77 揭示在对肝的全身递送中 sd-rxRNA 分子比如 Soutschek 等所述分子的竞争分子相比更有效。在含有 sd-rxRNA 的样品中清晰可见代表 RNA 分子的信号,而在含有竞争 RNA 分子的样品中未见到代表 RNA 分子的信号。

[0465] 还研究了在 sd-rxRNA 分子上疏水辍合物的添加(图 78-83)。图 78 为证明 5- 尿苷基修饰具有改进的疏水特性的示意图。将这种修饰整合入 sd-rxRNA 化合物可提高细胞和组织摄取特性。图 78B 为可应用于化合物以提高细胞摄取和药代动力学行为的新型 RNAi 化合物修饰。重要的是,当用于 sd-rxRNA 化合物时,该种类型的修饰可使这种化合物经口获取。图 79 为显示合成的经修饰固醇类分子的结构示意图,其中 C17 连接尾的长度和结构被改变。不希望局限于任何理论,C17 连接尾的长度可提高 sd-rxRNA 化合物的体外和体内效力。

[0466] 图 80 为显示用石胆酸作为长侧链胆固醇的示意图。图 81 为显示 5- 尿苷亚磷酸酰胺合成途径的示意图。图 82 显示用于 3' - 胆固醇连接的三功能羟基脯氨酸接头合成的示意图。图 83 为显示用于制造更短的不对称 RNAi 化合物链的固体支持物的合成示意图。

[0467] 进行筛选以鉴定能有效沉默 SPP1(骨桥蛋白)表达的化合物。将靶向 SPP1 的化合物加入 A549 细胞(采用被动转染)并在 48 小时后评价 SPP1 的表达水平。鉴定了在 SPP1 沉默中有效的几种新化合物。在 SPP1 沉默中有效的化合物包括 14116、14121、14131、14134、14139、14149 和 14152(图 84-86)。在该测定中最具效力的化合物为 14131(图 84)。独立证实了这些 sd-rxRNA 化合物在 SPP1 沉默中的效力(图 85)。

[0468] 进行了类似的筛选以鉴定能有效沉默 CTGF 表达的化合物(图 86-87)。在 CTGF 沉默中有效的化合物包括 14017、14013、14016、14022、14025、14027。

[0469] 方法

[0470] sd-rxRNA^{nano} 的转染

[0471] 脂质介导的转染

[0472] 化学合成 sd-rxRNA^{nano} 构建体(Dharmacon, Lafayette, CO)并根据生产商说明采用 Lipofectamine RNAiMAX(Invitrogen, Carlsbad, CA)转染入 HEK293 细胞(ATCC, Manassas, VA)。简单来讲,在 Opti-MEM[®] 1 血清减少培养基(Invitrogen, Carlsbad, California)中将 RNA 稀释为 12X 浓度,而后与 12X 浓度的 Lipofectamine RNAiMAX 组合。使 RNA 和转染试剂在室温下复合 20 分钟制成 6X 浓度。在复合的同时,清洗 HEK293 细胞,用胰酶消化并计数。将细胞稀释到制造商建议和之前所述的浓度,即 1×10^5 个细胞 / ml。当 RNA 完成与 RNAiMAX 转染试剂的复合时,将 20ul 复合物一式三份加入 96 孔板的适当孔中。将细胞加到每个孔中(100ul 体积)以使每孔的最终细胞数为 1×10^4 个细胞 / 孔。细胞的体积将 6X 浓度的复合物稀释至 1X(10-0.05nM)。将细胞在正常生长条件下孵育 24 小时或 48 小时。在 24 或 48 小时的孵育后,裂解细胞,并用 QuantiGene 测定(Panomics, Fremont, CA, 采用 bDNA 杂交技术)检测基因沉默活性。根据制造商的说明进行所述测定。

[0473] 被动摄取转染

[0474] 化学合成 sd-rxRNA^{nano} 构建体(Dharmacon, Lafayette, CO)。在转染前 24 小时,将 HeLa 细胞(ATCC, Manassas, VA)在正常生长条件下(DMEM, 10% FBS 和 1% 青霉素和链霉素)以 1×10^4 个细胞 / 孔铺在 96 孔板中。在转染 HeLa 细胞前,在 Accell siRNA 递送基

质中 (Dharmacon, Lafayette, CO) 将 sd-rxRNA^{nano} 稀释为 0.01uM 至 1uM 的终浓度。从细胞中吸出正常生长培养基并将含有适合浓度 sd-rxRNA^{nano} 的 100uL Accell 递送培养基加入细胞。转染后 48 小时,从细胞中吸出递送培养基,并将正常生长培养基加入细胞并继续培养 24 小时。

[0475] 在 48 或 72 小时的孵育后,裂解细胞,并用 QuantiGene 测定 (Panomics, Freemont, CA) 根据制造商的说明检测基因沉默活性。

[0476]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-10167- 20-12138	12138	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167- 20-12139	12139	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -13-12266	12266	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12293	12293	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12383	12383	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12384	12384	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12385	12385	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12386	12386	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12387	12387	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -15-12388	12388	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -13-12432	12432	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -13-12266.2	12266.2	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB--21-12	12434	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0477]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
434				
APOB--21-12 435	12435	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -16-12451	12451	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12452	12452	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12453	12453	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -17-12454	12454	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -17-12455	12455	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-12456	12456	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
--27-12480	12480			
--27-12481	12481			
APOB-10167- 21-12505	12505	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167- 21-12506	12506	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4-2931 -16-12539	12539	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB-10167- 21-12505.2	12505. 2	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-10167-	12506.	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0478]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
21-12506.2	2			
MAP4K4--13- 12565	12565			MAP4K4
MAP4K4-2931 -16-12386.2	12386. 2	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -13-12815	12815	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
APOB--13-12 957	12957	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16- 12983	12983		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12984	12984		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12985	12985		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12986	12986		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12987	12987		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12988	12988		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12989	12989		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12990	12990		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16-	12991		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4	MAP4K4

[0479]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
12991			(MAP4K4), 转录变体 1	
MAP4K4--16- 12992	12992		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12993	12993		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12994	12994		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4--16- 12995	12995		促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-13012	13012	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
MAP4K4-2931 -19-13016	13016	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
PPIB--13-13 021	13021	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
pGL3-1172-1 3-13038	13038	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 3-13040	13040	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
--16-13047	13047			
SOD1-530-13 -13090	13090	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-523-13 -13091	13091	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-535-13 -13092	13092	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1

[0480]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SOD1-536-13 -13093	13093	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-396-13 -13094	13094	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-385-13 -13095	13095	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-195-13 -13096	13096	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
APOB-4314-1 3-13115	13115	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3384-1 3-13116	13116	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3547-1 3-13117	13117	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4318-1 3-13118	13118	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3741-1 3-13119	13119	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
PPIB--16-13 136	13136	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
APOB-4314-1 5-13154	13154	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-3547-1 5-13155	13155	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4318-1 5-13157	13157	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0481]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-3741-1 5-13158	13158	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--13-13 159	13159	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--15-13 160	13160	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
SOD1-530-16 -13163	13163	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-523-16 -13164	13164	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-535-16 -13165	13165	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-536-16 -13166	13166	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-396-16 -13167	13167	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-385-16 -13168	13168	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
SOD1-195-16 -13169	13169	NM_000454	超氧化物歧化酶 1, 可溶 (肌萎缩性侧索硬化 1 (成体))	SOD1
pGL3-1172-1 6-13170	13170	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 6-13171	13171	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4k4

[0482]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1222-1 3-13190	13190	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-813-13 -13192	13192	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-747-13 -13194	13194	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-817-13 -13196	13196	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1174-1 3-13198	13198	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1005-1 3-13200	13200	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-814-13 -13202	13202	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-816-13 -13204	13204	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1001-1 3-13206	13206	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1173-1 3-13208	13208	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-749-13 -13210	13210	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-792-13 -13212	13212	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1162-1 3-13214	13214	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0483]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-811-13 -13216	13216	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-797-13 -13218	13218	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1175-1 3-13220	13220	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1172-1 3-13222	13222	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1177-1 3-13224	13224	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1176-1 3-13226	13226	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-812-13 -13228	13228	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-745-13 -13230	13230	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1230-1 3-13232	13232	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-920-13 -13234	13234	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-679-13 -13236	13236	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-992-13 -13238	13238	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1045-1 3-13240	13240	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0484]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1231-1 3-13242	13242	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-991-13 -13244	13244	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-998-13 -13246	13246	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1049-1 3-13248	13248	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1044-1 3-13250	13250	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1327-1 3-13252	13252	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1196-1 3-13254	13254	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-562-13 -13256	13256	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-752-13 -13258	13258	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-994-13 -13260	13260	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1040-1 3-13262	13262	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1984-1 3-13264	13264	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2195-1 3-13266	13266	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0485]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-2043-1 3-13268	13268	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1892-1 3-13270	13270	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1567-1 3-13272	13272	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1780-1 3-13274	13274	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2162-1 3-13276	13276	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1034-1 3-13278	13278	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2264-1 3-13280	13280	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1032-1 3-13282	13282	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1535-1 3-13284	13284	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1694-1 3-13286	13286	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1588-1 3-13288	13288	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-928-13 -13290	13290	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1133-1 3-13292	13292	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0486]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-912-13 -13294	13294	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-753-13 -13296	13296	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-918-13 -13298	13298	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-744-13 -13300	13300	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-466-13 -13302	13302	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-917-13 -13304	13304	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1038-1 3-13306	13306	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1048-1 3-13308	13308	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1235-1 3-13310	13310	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-868-13 -13312	13312	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1131-1 3-13314	13314	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1043-1 3-13316	13316	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-751-13 -13318	13318	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0487]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1227-1 3-13320	13320	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-867-13 -13322	13322	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1128-1 3-13324	13324	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-756-13 -13326	13326	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1234-1 3-13328	13328	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-916-13 -13330	13330	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-925-13 -13332	13332	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1225-1 3-13334	13334	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-445-13 -13336	13336	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-446-13 -13338	13338	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-913-13 -13340	13340	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-997-13 -13342	13342	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-277-13 -13344	13344	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0488]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1052-1 3-13346	13346	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-887-13 -13348	13348	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-914-13 -13350	13350	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1039-1 3-13352	13352	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-754-13 -13354	13354	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1130-1 3-13356	13356	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-919-13 -13358	13358	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-922-13 -13360	13360	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-746-13 -13362	13362	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-993-13 -13364	13364	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-825-13 -13366	13366	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-926-13 -13368	13368	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-923-13 -13370	13370	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0489]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-866-13 -13372	13372	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-563-13 -13374	13374	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-823-13 -13376	13376	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1233-1 3-13378	13378	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-924-13 -13380	13380	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-921-13 -13382	13382	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-443-13 -13384	13384	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1041-1 3-13386	13386	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1042-1 3-13388	13388	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-755-13 -13390	13390	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-467-13 -13392	13392	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-995-13 -13394	13394	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-927-13 -13396	13396	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0490]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1025-1 3-13398	13398	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1049-1 3-13400	13400	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1051-1 3-13402	13402	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1048-1 3-13404	13404	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1050-1 3-13406	13406	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1047-1 3-13408	13408	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-800-13 -13410	13410	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-492-13 -13412	13412	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-612-13 -13414	13414	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-481-13 -13416	13416	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-614-13 -13418	13418	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-951-13 -13420	13420	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-482-13 -13422	13422	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0491]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-856-13 -13424	13424	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-857-13 -13426	13426	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-365-13 -13428	13428	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-359-13 -13430	13430	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-357-13 -13432	13432	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-858-13 -13434	13434	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1012-1 3-13436	13436	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1014-1 3-13438	13438	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-356-13 -13440	13440	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-368-13 -13442	13442	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1011-1 3-13444	13444	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-754-13 -13446	13446	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1021-1 3-13448	13448	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0492]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1330-1 3-13450	13450	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-346-13 -13452	13452	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-869-13 -13454	13454	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-701-13 -13456	13456	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-896-13 -13458	13458	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1035-1 3-13460	13460	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1170-1 3-13462	13462	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1282-1 3-13464	13464	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1537-1 3-13466	13466	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-692-13 -13468	13468	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-840-13 -13470	13470	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1163-1 3-13472	13472	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-789-13 -13474	13474	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0493]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-841-13 -13476	13476	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-852-13 -13478	13478	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-209-13 -13480	13480	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1276-1 3-13482	13482	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-137-13 -13484	13484	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-711-13 -13486	13486	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-582-13 -13488	13488	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-839-13 -13490	13490	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1091-1 3-13492	13492	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-884-13 -13494	13494	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-903-13 -13496	13496	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1090-1 3-13498	13498	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-474-13 -13500	13500	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0494]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-575-13 -13502	13502	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-671-13 -13504	13504	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-924-13 -13506	13506	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1185-1 3-13508	13508	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1221-1 3-13510	13510	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-347-13 -13512	13512	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-634-13 -13514	13514	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-877-13 -13516	13516	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1033-1 3-13518	13518	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-714-13 -13520	13520	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-791-13 -13522	13522	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-813-13 -13524	13524	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-939-13 -13526	13526	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0495]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1161-1 3-13528	13528	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1164-1 3-13530	13530	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1190-1 3-13532	13532	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1333-1 3-13534	13534	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-537-13 -13536	13536	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-684-13 -13538	13538	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-707-13 -13540	13540	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-799-13 -13542	13542	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-853-13 -13544	13544	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-888-13 -13546	13546	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1194-1 3-13548	13548	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1279-1 3-13550	13550	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1300-1 3-13552	13552	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0496]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-1510-1 3-13554	13554	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1543-1 3-13556	13556	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-434-13 -13558	13558	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-600-13 -13560	13560	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-863-13 -13562	13562	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-902-13 -13564	13564	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-921-13 -13566	13566	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-154-13 -13568	13568	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-217-13 -13570	13570	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-816-13 -13572	13572	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-882-13 -13574	13574	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-932-13 -13576	13576	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1509-1 3-13578	13578	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0497]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
SPP1-157-13 -13580	13580	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-350-13 -13582	13582	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-511-13 -13584	13584	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-605-13 -13586	13586	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-811-13 -13588	13588	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-892-13 -13590	13590	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-922-13 -13592	13592	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1169-1 3-13594	13594	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1182-1 3-13596	13596	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1539-1 3-13598	13598	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-1541-1 3-13600	13600	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-427-13 -13602	13602	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
SPP1-533-13 -13604	13604	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0498]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB--13-13 763	13763	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--13-13 764	13764	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16- 13766	13766			MAP4K4
PPIB--13-13 767	13767	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--15-13 768	13768	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--17-13 769	13769	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
MAP4K4--16- 13939	13939			MAP4K4
APOB-4314-1 6-13940	13940	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4314-1 7-13941	13941	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 942	13942	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--18-13 943	13943	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 944	13944	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--19-13 945	13945	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB

[0499]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
APOB-4314-1 6-13946	13946	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB-4314-1 7-13947	13947	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 948	13948	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 949	13949	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--16-13 950	13950	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--18-13 951	13951	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--17-13 952	13952	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
APOB--19-13 953	13953	NM_000384	载脂蛋白 B (包括 Ag(x) 抗原)	APOB
MAP4K4--16- 13766.2	13766. 2			MAP4K4
CTGF-1222-1 6-13980	13980	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-813-16 -13981	13981	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-747-16 -13982	13982	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-817-16 -13983	13983	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0500]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1174-1 6-13984	13984	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1005-1 6-13985	13985	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-814-16 -13986	13986	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-816-16 -13987	13987	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1001-1 6-13988	13988	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1173-1 6-13989	13989	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-749-16 -13990	13990	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-792-16 -13991	13991	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1162-1 6-13992	13992	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-811-16 -13993	13993	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-797-16 -13994	13994	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1175-1 6-13995	13995	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1172-1 6-13996	13996	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0501]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1177-1 6-13997	13997	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1176-1 6-13998	13998	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-812-16 -13999	13999	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-745-16 -14000	14000	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1230-1 6-14001	14001	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-920-16 -14002	14002	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-679-16 -14003	14003	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-992-16 -14004	14004	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1045-1 6-14005	14005	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1231-1 6-14006	14006	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-991-16 -14007	14007	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-998-16 -14008	14008	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1049-1 6-14009	14009	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0502]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1044-1 6-14010	14010	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1327-1 6-14011	14011	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1196-1 6-14012	14012	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-562-16 -14013	14013	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-752-16 -14014	14014	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-994-16 -14015	14015	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1040-1 6-14016	14016	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1984-1 6-14017	14017	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2195-1 6-14018	14018	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2043-1 6-14019	14019	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1892-1 6-14020	14020	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1567-1 6-14021	14021	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1780-1 6-14022	14022	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0503]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-2162-1 6-14023	14023	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1034-1 6-14024	14024	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-2264-1 6-14025	14025	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1032-1 6-14026	14026	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1535-1 6-14027	14027	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1694-1 6-14028	14028	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1588-1 6-14029	14029	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-928-16 -14030	14030	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1133-1 6-14031	14031	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-912-16 -14032	14032	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-753-16 -14033	14033	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-918-16 -14034	14034	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-744-16 -14035	14035	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0504]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-466-16 -14036	14036	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-917-16 -14037	14037	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1038-1 6-14038	14038	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1048-1 6-14039	14039	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1235-1 6-14040	14040	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-868-16 -14041	14041	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1131-1 6-14042	14042	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1043-1 6-14043	14043	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-751-16 -14044	14044	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1227-1 6-14045	14045	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-867-16 -14046	14046	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1128-1 6-14047	14047	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-756-16 -14048	14048	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0505]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-1234-1 6-14049	14049	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-916-16 -14050	14050	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-925-16 -14051	14051	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1225-1 6-14052	14052	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-445-16 -14053	14053	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-446-16 -14054	14054	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-913-16 -14055	14055	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-997-16 -14056	14056	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-277-16 -14057	14057	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1052-1 6-14058	14058	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-887-16 -14059	14059	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-914-16 -14060	14060	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1039-1 6-14061	14061	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0506]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-754-16 -14062	14062	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1130-1 6-14063	14063	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-919-16 -14064	14064	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-922-16 -14065	14065	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-746-16 -14066	14066	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-993-16 -14067	14067	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-825-16 -14068	14068	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-926-16 -14069	14069	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-923-16 -14070	14070	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-866-16 -14071	14071	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-563-16 -14072	14072	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-823-16 -14073	14073	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1233-1 6-14074	14074	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF

[0507]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
CTGF-924-16 -14075	14075	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-921-16 -14076	14076	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-443-16 -14077	14077	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1041-1 6-14078	14078	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-1042-1 6-14079	14079	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-755-16 -14080	14080	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-467-16 -14081	14081	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-995-16 -14082	14082	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
CTGF-927-16 -14083	14083	NM_001901 .2	结缔组织生长因子	CTGF
SPP1-1091-1 6-14131	14131	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
PPIB--16-14 188	14188	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--17-14 189	14189	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB
PPIB--18-14 190	14190	NM_000942	肽基脯氨酰异构酶 B (亲环蛋白 B)	PPIB

[0508]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
pGL3-1172-1 6-14386	14386	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
pGL3-1172-1 6-14387	14387	U47296	克隆载体 pGL3-对照	pGL3
MAP4K4-2931 -25-14390	14390	NM_004834	促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (MAP4K4), 转录变体 1	MAP4K4
miR-122--23 -14391	14391			miR-122
	14084	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14085	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14086	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14087	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14088	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14089	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14090	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14091	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14092	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0509]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14093	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14094	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14095	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14096	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14097	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14098	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14099	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14100	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14101	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14102	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14103	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14104	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14105	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0510]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14106	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14107	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14108	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14109	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14110	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14111	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14112	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14113	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14114	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14115	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14116	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14117	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14118	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0511]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14119	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14120	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14121	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14122	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14123	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14124	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14125	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14126	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14127	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14128	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14129	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14130	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14132	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0512]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14133	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14134	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14135	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14136	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14137	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14138	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14139	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14140	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14141	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14142	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14143	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14144	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14145	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0513]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14146	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14147	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14148	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14149	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14150	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14151	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14152	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14153	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14154	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14155	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14156	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14157	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14158	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0514]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14159	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14160	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14161	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14162	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14163	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14164	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14165	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14166	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14167	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14168	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14169	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14170	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14171	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0515]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14172	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14173	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14174	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14175	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14176	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14177	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14178	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14179	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14180	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14181	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14182	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14183	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14184	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0516]

ID 编号	寡聚物 编号	登录号	基因名	基因符 号
	14185	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14186	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1
	14187	NM_000582 .2	骨桥蛋白	SPP1

[0517] 表 1

[0518]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB-10167- 20-12138	12138	oooooooooooo oooooo	00000000000000 000000m	AUUGGUAUUCAGUGUGA UG	1
APOB-10167- 20-12139	12139	oooooooooooo oooooo	00000000000000 000000m	AUUCGUAUUGAGUCUGA UC	2
MAP4K4-2931 -13-12266	12266				
MAP4K4-2931 -16-12293	12293	oooooooooooo oooooo	Pf000fffff0f00 00ffff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	3
MAP4K4-2931 -16-12383	12383	oooooooooooo oooooo	00000000000000 00000	UAGACUUCCACAGAACU CU	4
MAP4K4-2931 -16-12384	12384	oooooooooooo oooooo	P00000C0000000 000000	UAGACUUCCACAGAACU CU	5
MAP4K4-2931 -16-12385	12385	oooooooooooo oooooo	Pf000fffff0f00 00ffff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	6
MAP4K4-2931 -16-12386	12386	ooooooooooooSSS SSSSSO	Pf000fffff0f00 00ffff0	UAGACUUCCACAGAACU CU	7
MAP4K4-2931 -16-12387	12387	ooooooooooooSSS SSSSSO	P0000000000000 000000	UAGACUUCCACAGAACU CU	8
MAP4K4-2931 -15-12388	12388	oooooooooooo oooo	00000000000000 000	UAGACUUCCACAGAACU	9
MAP4K4-2931 -13-12432	12432				
MAP4K4-2931 -13-12266.2	12266 .2				
APOB--21-12	12434	oooooooooooo	00000000000000	AUUGGUAUUCAGUGUGA	10

[0519]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
434		oooooooo	000000m	UGAC	
APOB--21-12	12435	oooooooooooooooo	00000000000000	AUUCGUAUUGAGUCUGA	11
435		oooooooo	000000m	UCAC	
MAP4K4-2931	12451	ooooooooooooooss	Pf000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	12
-16-12451		ssssso	00ffmm	CU	
MAP4K4-2931	12452	ooooooooooooooss	Pm000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	13
-16-12452		ssssso	00ffmm	CU	
MAP4K4-2931	12453	oooooooooooooooo	Pm000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	14
-16-12453		ssssso	00ffmm	CU	
MAP4K4-2931	12454	oooooooooooooooo	Pm000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	15
-17-12454		ssssso	00ffffmm	CUUC	
MAP4K4-2931	12455	ooooooooooooooss	Pm000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	16
-17-12455		ssssso	00ffffmm	CUUC	
MAP4K4-2931	12456	oooooooooooooooo	Pm000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	17
-19-12456		ssssso	00fffff0mm	CUUCAAG	
--27-12480	12480				
--27-12481	12481				
APOB-10167-	12505	oooooooooooooooo	00000000000000	AUUGGUAUUCAGUGUGA	18
21-12505		oooooooo	000000m	UGAC	
APOB-10167-	12506	oooooooooooooooo	00000000000000	AUUCGUAUUGAGUCUGA	19
21-12506		oooooooo	000000m	UCAC	
MAP4K4-2931	12539	ooooooooooooooss	Pf000fffff0f00	UAGACUUCCACAGAACU	20
-16-12539		ssssss	00fff0	CU	
APOB-10167-	12505	oooooooooooooooo	00000000000000	AUUGGUAUUCAGUGUGA	21

[0520]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
21-12505.2	.2	oooooooo	000000m	UGAC	
APOB-10167- 21-12506.2	12506 .2	oooooooooooooooo oooooooo	00000000000000 000000m	AUUCGUAUUGAGUCUGA UCAC	22
MAP4K4--13- 12565	12565				
MAP4K4-2931 -16-12386.2	12386 .2	ooooooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUCCACAGAACU CU	23
MAP4K4-2931 -13-12815	12815				
APOB--13-12 957	12957				
MAP4K4--16- 12983	12983	oooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmm0	uagacuuccacagaacu cu	24
MAP4K4--16- 12984	12984	oooooooooooooos sssss	Pm000fffff0m00 00mmm0	uagacuuccacagaacu cu	25
MAP4K4--16- 12985	12985	oooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmm0	uagacuuccacagaacu cu	26
MAP4K4--16- 12986	12986	ooooooooooooooss ssssso	Pf000fffff0f00 00fff0	UAGACUCCACAGAACU CU	27
MAP4K4--16- 12987	12987	ooooooooooooooo ssssss	P0000f00ff0m00 00m0m0	UagacUuccacagaacU cU	28
MAP4K4--16- 12988	12988	ooooooooooooooo ssssss	P0000f00ff0m00 00m0m0	UagacUuccacagaacU cu	29
MAP4K4--16- 12989	12989	ooooooooooooooo ssssss	P0000ff0ff0m00 00m0m0	UagacuUccacagaacU cu	30

[0521]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
MAP4K4--16- 12990	12990	oooooooooooo ssssss	Pf0000ff000000 000m00	uagaCuuCCaCagaaCu Cu	31
MAP4K4--16- 12991	12991	oooooooooooo ssssss	Pf0000fff00m00 000mm0	uagaCuucCacagaaCu cu	32
MAP4K4--16- 12992	12992	oooooooooooo ssssss	Pf000fffff0000 000m00	uagacuuccaCagaaCu Cu	33
MAP4K4--16- 12993	12993	oooooooooooo ssssss	P000000000000 000000	UagaCUUCCaCagaaCU CU	34
MAP4K4--16- 12994	12994	oooooooooooo ssssss	P0000f0f0f0000 000m00	UagacUuCcaCagaaCu Cu	35
MAP4K4--16- 12995	12995	oooooooooooo ssssso	Pf000fffff0000 000000	uagacuuccaCagaaCU CU	36
MAP4K4-2931 -19-13012	13012				
MAP4K4-2931 -19-13016	13016				
PP1B--13-13 021	13021				
pGL3-1172-1 3-13038	13038				
pGL3-1172-1 3-13040	13040				
--16-13047	13047	oooooooooooo ssss	Pm000000000m00 00mmm0	UAGACUCCACAGAACU CU	37
SOD1-530-13 -13090	13090				

[0522]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SOD1-523-13 -13091	13091				
SOD1-535-13 -13092	13092				
SOD1-536-13 -13093	13093				
SOD1-396-13 -13094	13094				
SOD1-385-13 -13095	13095				
SOD1-195-13 -13096	13096				
APOB-4314-1 3-13115	13115				
APOB-3384-1 3-13116	13116				
APOB-3547-1 3-13117	13117				
APOB-4318-1 3-13118	13118				
APOB-3741-1 3-13119	13119				
PPIB--16-13 136	13136	ooooooooooooos sssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUGUAGCCAAAU CC	38
APOB-4314-1 5-13154	13154				

[0523]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB-3547-1 5-13155	13155				
APOB-4318-1 5-13157	13157				
APOB-3741-1 5-13158	13158				
APOB--13-13 159	13159				
APOB--15-13 160	13160				
SOD1-530-16 -13163	13163	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffffff0mm mmmm0m0	UACUUUCUUCUUUCCA CC	39
SOD1-523-16 -13164	13164	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0ffffff0fmm mm0mm0	UUCAUUUCCACCUUUGC CC	40
SOD1-535-16 -13165	13165	oooooooooooooooo ssssso	Pmfff0f0ffffmm mmmm0m0	CUUUGUACUUUCUUCU UU	41
SOD1-536-16 -13166	13166	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0f0ffffmm mmmm0m0	UCUUUGUACUUUCUCCA UU	42
SOD1-396-16 -13167	13167	oooooooooooooooo ssssso	Pmf00f00ff0f0m m0mmmm0	UCAGCAGUCACAUUGCC CA	43
SOD1-385-16 -13168	13168	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0fff000fmm mm00m0	AUUGCCCAAGUCUCCAA CA	44
SOD1-195-16 -13169	13169	oooooooooooooooo ssssso	Pmfff0fff0000m m00m00	UUCUGCUCGAAAUUGAU GA	45
pGL3-1172-1 6-13170	13170	oooooooooooooooo ssssso	Pm00ff0f0ffm0f f00mm0	AAAUCGUUUUGUCAAU CA	46

[0524]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
pGL3-1172-1 6-13171	13171	oooooooooooo ssssss	Pm00ff0f0ffm0f f00mm0	AAAUCGUAUUUGUCAAU CA	47
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	oooooooooooo oooooo	00000000000000 00000	UAGACUCCACAGAACU CU	48
CTGF-1222-1 3-13190	13190				
CTGF-813-13 -13192	13192				
CTGF-747-13 -13194	13194				
CTGF-817-13 -13196	13196				
CTGF-1174-1 3-13198	13198				
CTGF-1005-1 3-13200	13200				
CTGF-814-13 -13202	13202				
CTGF-816-13 -13204	13204				
CTGF-1001-1 3-13206	13206				
CTGF-1173-1 3-13208	13208				
CTGF-749-13 -13210	13210				

[0525]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-792-13 -13212	13212				
CTGF-1162-1 3-13214	13214				
CTGF-811-13 -13216	13216				
CTGF-797-13 -13218	13218				
CTGF-1175-1 3-13220	13220				
CTGF-1172-1 3-13222	13222				
CTGF-1177-1 3-13224	13224				
CTGF-1176-1 3-13226	13226				
CTGF-812-13 -13228	13228				
CTGF-745-13 -13230	13230				
CTGF-1230-1 3-13232	13232				
CTGF-920-13 -13234	13234				
CTGF-679-13 -13236	13236				

[0526]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-992-13 -13238	13238				
CTGF-1045-1 3-13240	13240				
CTGF-1231-1 3-13242	13242				
CTGF-991-13 -13244	13244				
CTGF-998-13 -13246	13246				
CTGF-1049-1 3-13248	13248				
CTGF-1044-1 3-13250	13250				
CTGF-1327-1 3-13252	13252				
CTGF-1196-1 3-13254	13254				
CTGF-562-13 -13256	13256				
CTGF-752-13 -13258	13258				
CTGF-994-13 -13260	13260				
CTGF-1040-1 3-13262	13262				

[0527]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1984-1 3-13264	13264				
CTGF-2195-1 3-13266	13266				
CTGF-2043-1 3-13268	13268				
CTGF-1892-1 3-13270	13270				
CTGF-1567-1 3-13272	13272				
CTGF-1780-1 3-13274	13274				
CTGF-2162-1 3-13276	13276				
CTGF-1034-1 3-13278	13278				
CTGF-2264-1 3-13280	13280				
CTGF-1032-1 3-13282	13282				
CTGF-1535-1 3-13284	13284				
CTGF-1694-1 3-13286	13286				
CTGF-1588-1 3-13288	13288				

[0528]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-928-13 -13290	13290				
CTGF-1133-1 3-13292	13292				
CTGF-912-13 -13294	13294				
CTGF-753-13 -13296	13296				
CTGF-918-13 -13298	13298				
CTGF-744-13 -13300	13300				
CTGF-466-13 -13302	13302				
CTGF-917-13 -13304	13304				
CTGF-1038-1 3-13306	13306				
CTGF-1048-1 3-13308	13308				
CTGF-1235-1 3-13310	13310				
CTGF-868-13 -13312	13312				
CTGF-1131-1 3-13314	13314				

[0529]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1043-1 3-13316	13316				
CTGF-751-13 -13318	13318				
CTGF-1227-1 3-13320	13320				
CTGF-867-13 -13322	13322				
CTGF-1128-1 3-13324	13324				
CTGF-756-13 -13326	13326				
CTGF-1234-1 3-13328	13328				
CTGF-916-13 -13330	13330				
CTGF-925-13 -13332	13332				
CTGF-1225-1 3-13334	13334				
CTGF-445-13 -13336	13336				
CTGF-446-13 -13338	13338				
CTGF-913-13 -13340	13340				

[0530]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-997-13 -13342	13342				
CTGF-277-13 -13344	13344				
CTGF-1052-1 3-13346	13346				
CTGF-887-13 -13348	13348				
CTGF-914-13 -13350	13350				
CTGF-1039-1 3-13352	13352				
CTGF-754-13 -13354	13354				
CTGF-1130-1 3-13356	13356				
CTGF-919-13 -13358	13358				
CTGF-922-13 -13360	13360				
CTGF-746-13 -13362	13362				
CTGF-993-13 -13364	13364				
CTGF-825-13 -13366	13366				

[0531]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-926-13 -13368	13368				
CTGF-923-13 -13370	13370				
CTGF-866-13 -13372	13372				
CTGF-563-13 -13374	13374				
CTGF-823-13 -13376	13376				
CTGF-1233-1 3-13378	13378				
CTGF-924-13 -13380	13380				
CTGF-921-13 -13382	13382				
CTGF-443-13 -13384	13384				
CTGF-1041-1 3-13386	13386				
CTGF-1042-1 3-13388	13388				
CTGF-755-13 -13390	13390				
CTGF-467-13 -13392	13392				

[0532]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-995-13 -13394	13394				
CTGF-927-13 -13396	13396				
SPP1-1025-1 3-13398	13398				
SPP1-1049-1 3-13400	13400				
SPP1-1051-1 3-13402	13402				
SPP1-1048-1 3-13404	13404				
SPP1-1050-1 3-13406	13406				
SPP1-1047-1 3-13408	13408				
SPP1-800-13 -13410	13410				
SPP1-492-13 -13412	13412				
SPP1-612-13 -13414	13414				
SPP1-481-13 -13416	13416				
SPP1-614-13 -13418	13418				

[0533]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-951-13 -13420	13420				
SPP1-482-13 -13422	13422				
SPP1-856-13 -13424	13424				
SPP1-857-13 -13426	13426				
SPP1-365-13 -13428	13428				
SPP1-359-13 -13430	13430				
SPP1-357-13 -13432	13432				
SPP1-858-13 -13434	13434				
SPP1-1012-1 3-13436	13436				
SPP1-1014-1 3-13438	13438				
SPP1-356-13 -13440	13440				
SPP1-368-13 -13442	13442				
SPP1-1011-1 3-13444	13444				

[0534]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-754-13 -13446	13446				
SPP1-1021-1 3-13448	13448				
SPP1-1330-1 3-13450	13450				
SPP1-346-13 -13452	13452				
SPP1-869-13 -13454	13454				
SPP1-701-13 -13456	13456				
SPP1-896-13 -13458	13458				
SPP1-1035-1 3-13460	13460				
SPP1-1170-1 3-13462	13462				
SPP1-1282-1 3-13464	13464				
SPP1-1537-1 3-13466	13466				
SPP1-692-13 -13468	13468				
SPP1-840-13 -13470	13470				

[0535]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1163-1 3-13472	13472				
SPP1-789-13 -13474	13474				
SPP1-841-13 -13476	13476				
SPP1-852-13 -13478	13478				
SPP1-209-13 -13480	13480				
SPP1-1276-1 3-13482	13482				
SPP1-137-13 -13484	13484				
SPP1-711-13 -13486	13486				
SPP1-582-13 -13488	13488				
SPP1-839-13 -13490	13490				
SPP1-1091-1 3-13492	13492				
SPP1-884-13 -13494	13494				
SPP1-903-13 -13496	13496				

[0536]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1090-1 3-13498	13498				
SPP1-474-13 -13500	13500				
SPP1-575-13 -13502	13502				
SPP1-671-13 -13504	13504				
SPP1-924-13 -13506	13506				
SPP1-1185-1 3-13508	13508				
SPP1-1221-1 3-13510	13510				
SPP1-347-13 -13512	13512				
SPP1-634-13 -13514	13514				
SPP1-877-13 -13516	13516				
SPP1-1033-1 3-13518	13518				
SPP1-714-13 -13520	13520				
SPP1-791-13 -13522	13522				

[0537]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-813-13 -13524	13524				
SPP1-939-13 -13526	13526				
SPP1-1161-1 3-13528	13528				
SPP1-1164-1 3-13530	13530				
SPP1-1190-1 3-13532	13532				
SPP1-1333-1 3-13534	13534				
SPP1-537-13 -13536	13536				
SPP1-684-13 -13538	13538				
SPP1-707-13 -13540	13540				
SPP1-799-13 -13542	13542				
SPP1-853-13 -13544	13544				
SPP1-888-13 -13546	13546				
SPP1-1194-1 3-13548	13548				

[0538]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1279-1 3-13550	13550				
SPP1-1300-1 3-13552	13552				
SPP1-1510-1 3-13554	13554				
SPP1-1543-1 3-13556	13556				
SPP1-434-13 -13558	13558				
SPP1-600-13 -13560	13560				
SPP1-863-13 -13562	13562				
SPP1-902-13 -13564	13564				
SPP1-921-13 -13566	13566				
SPP1-154-13 -13568	13568				
SPP1-217-13 -13570	13570				
SPP1-816-13 -13572	13572				
SPP1-882-13 -13574	13574				

[0539]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-932-13 -13576	13576				
SPP1-1509-1 3-13578	13578				
SPP1-157-13 -13580	13580				
SPP1-350-13 -13582	13582				
SPP1-511-13 -13584	13584				
SPP1-605-13 -13586	13586				
SPP1-811-13 -13588	13588				
SPP1-892-13 -13590	13590				
SPP1-922-13 -13592	13592				
SPP1-1169-1 3-13594	13594				
SPP1-1182-1 3-13596	13596				
SPP1-1539-1 3-13598	13598				
SPP1-1541-1 3-13600	13600				

[0540]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
SPP1-427-13 -13602	13602				
SPP1-533-13 -13604	13604				
APOB--13-13 763	13763				
APOB--13-13 764	13764				
MAP4K4--16- 13766	13766	ooooooooooooos ssssso	Pm000fffff0m00 00mmmm0	UAGACUCCACAGAACU CU	49
PPIB--13-13 767	13767				
PPIB--15-13 768	13768				
PPIB--17-13 769	13769				
MAP4K4--16- 13939	13939	ooooooooooooos ssssso	m000f0fffff0m0m 00m0m	UAGACAUCCUACACAGC AC	50
APOB-4314-1 6-13940	13940	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffffff000m mmmm00	UGUUUCUCCAGAUCCUU GC	51
APOB-4314-1 7-13941	13941	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffffff000m mmmm00	UGUUUCUCCAGAUCCUU GC	52
APOB--16-13 942	13942	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f000mm m0mmmm0	UAGCAGAUGAGUCCAUI UG	53
APOB--18-13 943	13943	oooooooooooooo oosssssso	Pm00f000f000mm m0mmmm00000	UAGCAGAUGAGUCCAUI UGGAGA	54

[0541]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
APOB--17-13 944	13944	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f000mm m0mmmm0	UAGCAGAUGAGUCCA UG	55
APOB--19-13 945	13945	oooooooooooooooo ooosssssso	Pm00f000f000mm m0mmmm00000	UAGCAGAUGAGUCCA UGGAGA	56
APOB-4314-1 6-13946	13946	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0ff0ffffmmmm 000mm0	AUGUUGUUUCUCCAG CC	57
APOB-4314-1 7-13947	13947	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0ff0ffffmmmm 000mm0	AUGUUGUUUCUCCAG CC	58
APOB--16-13 948	13948	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff000000mm mm0m00	UGUUUGAGGGACUCU GA	59
APOB--17-13 949	13949	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff000000mm mm0m00	UGUUUGAGGGACUCU GA	60
APOB--16-13 950	13950	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m0	AUUGGUAUUCAGUGU UG	61
APOB--18-13 951	13951	oooooooooooooooo ooosssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m00m00	AUUGGUAUUCAGUGU UGACAC	62
APOB--17-13 952	13952	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m0	AUUGGUAUUCAGUGU UG	63
APOB--19-13 953	13953	oooooooooooooooo ooosssssso	Pmff00f0fff00m 0m00m00m00	AUUGGUAUUCAGUGU UGACAC	64
MAP4K4--16- 13766.2	13766 .2	oooooooooooooooo ssssso	Pm000fffff0m00 00mmmm0	UAGACUCCACAGAACU CU	65
CTGF-1222-1 6-13980	13980	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0ffffffm0m 00m0m0	UACAUCUCCUGUAGU CA	66
CTGF-813-16 -13981	13981	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0fffff0mmmm 0m000	AGGCGCUCCACUCUG GU	67

[0542]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-747-16 -13982	13982	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff00mm0 m0000	UGUCUCCAGUCGGUAA GC	68
CTGF-817-16 -13983	13983	ooooooooooooos ssssso	Pm00f000f0fmm0 0mmmm0	GAACAGGCGCUCCACUC UG	69
CTGF-1174-1 6-13984	13984	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0f00f00m 000m00	CAGUUGUAAUGGCAGGC AC	70
CTGF-1005-1 6-13985	13985	ooooooooooooos ssssso	Pmff000000mm0 00mm0	AGCCAGAAAGCUCAAAC UU	71
CTGF-814-16 -13986	13986	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0ffff0mm mm0m00	CAGGCGCUCCACUCUGU GG	72
CTGF-816-16 -13987	13987	ooooooooooooos ssssso	Pm0f000f0ffmm0 mmmm00	AACAGGCGCUCCACUCU GU	73
CTGF-1001-1 6-13988	13988	ooooooooooooos ssssso	Pm0000fff000mm m00m0	AGAAAGCUCAAACUUGA UA	74
CTGF-1173-1 6-13989	13989	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00f00m00 0m0m0	AGUUGUAAUGGCAGGCA CA	75
CTGF-749-16 -13990	13990	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff00mm 00m00	CGUGUCUCCAGUCGGU AA	76
CTGF-792-16 -13991	13991	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff000f00mm 00mmmm0	GGACCAGGCAGUUGGCU CU	77
CTGF-1162-1 6-13992	13992	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f000mm m00m00	CAGGCACAGGUCUUGAU GA	78
CTGF-811-16 -13993	13993	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ffff0ffmm0 m00mm0	GCGCUCCACUCUGUGGU CU	79
CTGF-797-16 -13994	13994	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000ff000 m00mm0	GGUCUGGACCAGGCAGU UG	80

[0543]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1175-1 6-13995	13995	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0f00m00 m000m0	ACAGUUGUAAUGGCAGG CA	81
CTGF-1172-1 6-13996	13996	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f00f00m00 0m0m00	GUUGUAAUGGCAGGCAC AG	82
CTGF-1177-1 6-13997	13997	oooooooooooooooo ssssso	Pm00f00ff0f00m 00m000	GGACAGUUGUAAUGGCA GG	83
CTGF-1176-1 6-13998	13998	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f00ff0f00m0 0m0000	GACAGUUGUAAUGGCAG GC	84
CTGF-812-16 -13999	13999	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0ffff0fmm 0m00m0	GGCGCUCCACUCUGUGG UC	85
CTGF-745-16 -14000	14000	oooooooooooooooo ssssso	Pmfffff00ff00m 000mm0	UCUUCAGUCGGUAAGC CG	86
CTGF-1230-1 6-14001	14001	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fffff0f0m0m mmmmmm0	UGUCUCCGUACAUCUUC CU	87
CTGF-920-16 -14002	14002	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0f0000mm m00m0	AGCUUCGCAAGGCCUGA CC	88
CTGF-679-16 -14003	14003	oooooooooooooooo ssssso	Pm0ffffff0f00m 0mmmm0	CACUCCUCGCAGCAUUU CC	89
CTGF-992-16 -14004	14004	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff00f000m mm0000	AAACUUGAUAGGCUUGG AG	90
CTGF-1045-1 6-14005	14005	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0f0000mm m00mm0	ACUCCACAGAAUUUAGC UC	91
CTGF-1231-1 6-14006	14006	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0ffffff0f0m0 mmmmmm0	AUGUCUCCGUACAUCUU CC	92
CTGF-991-16 -14007	14007	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff00f000mm m00000	AACUUGAUAGGCUUGGA GA	93

[0544]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-998-16 -14008	14008	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffff000fmm0 0m0000	AAGCUCAAACUUGAUAG GC	94
CTGF-1049-1 6-14009	14009	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f0ffff0m00 00mmmm0	ACAUACUCCACAGAAUU UA	95
CTGF-1044-1 6-14010	14010	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0f0000mmmm 00mmmm0	CUCCACAGAAUUUAGCU CG	96
CTGF-1327-1 6-14011	14011	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0ff0ff0000 mmmmmm0	UGUGCUACUGAAUCAU UU	97
CTGF-1196-1 6-14012	14012	oooooooooooooooo ssssso	Pm0000f0ff0mm0 mmmmmm0	AAAGAUUGAUUGUCUC CG	98
CTGF-562-16 -14013	14013	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f0ff00f0mm m0m000	GUGCACUGGUACUUGCA GC	99
CTGF-752-16 -14014	14014	oooooooooooooooo ssssso	Pm00f0f0ffffmmmm 00mm00	AAACGUGUCJUCCAGUC GG	100
CTGF-994-16 -14015	14015	oooooooooooooooo ssssso	Pmf000fff00m00 0mmmm00	UCAAACUUGAUAGGCUU GG	101
CTGF-1040-1 6-14016	14016	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0000fff00mm m00m00	ACAGAAUUUAGCUCGGU AU	102
CTGF-1984-1 6-14017	14017	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f0ffff0mmmm 0m00m0	UUACAUUCUACCUAUGG UG	103
CTGF-2195-1 6-14018	14018	oooooooooooooooo ssssso	Pm00ff00ff00mm 0m0m00	AAACUGAUCAGCUAUAU AG	104
CTGF-2043-1 6-14019	14019	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff000f0000 mmmmmm0	UAUCUGAGCAGAAUUUC CA	105
CTGF-1892-1 6-14020	14020	oooooooooooooooo ssssso	Pmf00fff000m00 mm0m00	UUAACUUAGAUACUGU AC	106

[0545]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1567-1 6-14021	14021	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0fff0f0m0 000m00	UAUUACUCGUAUAAGAU GC	107
CTGF-1780-1 6-14022	14022	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0fff00mm m00mm0	AAGCUGUCCAGUCUAAU CG	108
CTGF-2162-1 6-14023	14023	ooooooooooooos ssssso	Pm00f00000fm0m mm0mm0	UAAUAAAGGCCAUUUGU UC	109
CTGF-1034-1 6-14024	14024	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fff00m0m 0mmmm0	UUUAGCUCGGUAUGUCU UC	110
CTGF-2264-1 6-14025	14025	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff00m00 0m0000	ACACUCUCAACAAUAA AC	111
CTGF-1032-1 6-14026	14026	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0f0f0m0m mmmm00	UAGCUCGGUAUGUCUUC AU	112
CTGF-1535-1 6-14027	14027	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffffffffff0mm 00m0m0	UAACCUUUCUGCUGGUA CC	113
CTGF-1694-1 6-14028	14028	ooooooooooooos ssssso	Pmf000000f00mm m00mm0	UUAAGGAACAACUUGAC UC	114
CTGF-1588-1 6-14029	14029	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ffff000m 00m000	UUACACUUCAAAUAGCA GG	115
CTGF-928-16 -14030	14030	ooooooooooooos ssssso	Pmff000ff00mmm m0m000	UCCAGGUCAGCUUCGCA AG	116
CTGF-1133-1 6-14031	14031	ooooooooooooos ssssso	Pmffffff0f00mm mm0mm0	CUUCUUC AUGACCUCGC CG	117
CTGF-912-16 -14032	14032	ooooooooooooos ssssso	Pm000fff00fm0m 0m0m00	AAGGCCUGACCAUGCAC AG	118
CTGF-753-16 -14033	14033	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f0ffmmmm m00mm0	CAAACGUGUCUCCAGU CG	119

[0546]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-918-16 -14034	14034	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f0000mmm 00mm00	CUUCGCAAGGCCUGACC AU	120
CTGF-744-16 -14035	14035	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff00ff00m0 00mm00	CUUCCAGUCGGUAAGCC GC	121
CTGF-466-16 -14036	14036	oooooooooooooooo ssssso	Pmf00ffff0f00m m00mm0	CCGAUCUUGCGGUUGGC CG	122
CTGF-917-16 -14037	14037	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0f0000fmm0 0mm0m0	UUCGCAAGGCCUGACCA UG	123
CTGF-1038-1 6-14038	14038	oooooooooooooooo ssssso	Pm00fff00fmm0m 0m00	AGAAUUUAGCUCGGUUAU GU	124
CTGF-1048-1 6-14039	14039	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0ffff0f000 0mmmm00	CAUACUCCACAGAAUUU AG	125
CTGF-1235-1 6-14040	14040	oooooooooooooooo ssssso	Pm0ff0f0fffmmmm 0m0m0	UGCCAUGUCUCCGUACA UC	126
CTGF-868-16 -14041	14041	oooooooooooooooo ssssso	Pm000f0f0f0m0m m00m00	GAGCGUUGUCAUUGGU AA	127
CTGF-1131-1 6-14042	14042	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0f00fmmmm 0mm0m0	UCUUAUGACCUCGCCG UC	128
CTGF-1043-1 6-14043	14043	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0f0000fmm0 0mmmm00	UCCACAGAAUUUAGCUC GG	129
CTGF-751-16 -14044	14044	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0f0ffffmm0 0mm000	AACGUGUCUCCAGUCG GU	130
CTGF-1227-1 6-14045	14045	oooooooooooooooo ssssso	Pmfff0f0f0fmmmm mmmm0m0	CUCCGUACAUCUCCUG UA	131
CTGF-867-16 -14046	14046	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0ff0ff0mm0 0m000	AGGCGUUGUCAUUGGUA AC	132

[0547]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1128-1 6-14047	14047	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ffff0mm 0mm000	UCAUGACCUCGCCGUCA GG	133
CTGF-756-16 -14048	14048	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff000f0f0mm mmmm00	GGCCAAACGUGUCUCC AG	134
CTGF-1234-1 6-14049	14049	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f0ffffmm0 m0mm0	GCCAUGUCUCCGUACAU CU	135
CTGF-916-16 -14050	14050	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0000ffm00 mm0m00	UCGCAAGGCCUGACCAU GC	136
CTGF-925-16 -14051	14051	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ffffmm00 00m0	AGGUCAGCUUCGCAAGG CC	137
CTGF-1225-1 6-14052	14052	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0f0ffffmm m0m000	CCGUACAUCUCCUGUA GU	138
CTGF-445-16 -14053	14053	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0000fm0m 000000	GAGCCGAAGUCACAGAA GA	139
CTGF-446-16 -14054	14054	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff0000mm0 m00000	GGAGCCGAAGUCACAGA AG	140
CTGF-913-16 -14055	14055	ooooooooooooos ssssso	Pm0000fff00mm0 m0m0m0	CAAGGCCUGACCAUGCA CA	141
CTGF-997-16 -14056	14056	ooooooooooooos ssssso	Pmfff000ffm00m 000m0	AGCUCAAACUUGAUAGG CU	142
CTGF-277-16 -14057	14057	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ffff00m m00m00	CUGCAGUUCUGCCGAC GG	143
CTGF-1052-1 6-14058	14058	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0f0ffmm0 m00000	GGUACAUAUCCACAGA AU	144
CTGF-887-16 -14059	14059	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ffffff00m mm0m00	CUGCUUCUCUAGCCUGC AG	145

[0548]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-914-16 -14060	14060	ooooooooooooos ssssso	Pmf0000fff00mm 0m0m00	GCAAGGCCUGACCAUGC AC	146
CTGF-1039-1 6-14061	14061	ooooooooooooos ssssso	Pm0000fff00mmm 00m0m0	CAGAAUUUAGCUCGGUA UG	147
CTGF-754-16 -14062	14062	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f0f0fmmmm mm00m0	CCAAACGUGUCUCCAG UC	148
CTGF-1130-1 6-14063	14063	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f00ffmmmm m0mmm0	CUUCAUGACCUCGCCGU CA	149
CTGF-919-16 -14064	14064	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f0000mm m00mm0	GCUUCGCAAGGCCUGAC CA	150
CTGF-922-16 -14065	14065	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ffff0f000 0mmmm00	UCAGCUUCGCAAGGCCU GA	151
CTGF-746-16 -14066	14066	ooooooooooooos ssssso	Pmffffff00fm0m 000m0	GUCUCCAGUCGGUAAG CC	152
CTGF-993-16 -14067	14067	ooooooooooooos ssssso	Pm000fff00f000 mmmm000	CAAACUUGAUAGGCUUG GA	153
CTGF-825-16 -14068	14068	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffff0000m00 0m0m0	AGGUCUUGGAACAGGCG CU	154
CTGF-926-16 -14069	14069	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff00ffmmmm 00000	CAGGUCAGCUUCGCAAG GC	155
CTGF-923-16 -14070	14070	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff0m00 00mmmm0	GUCAGCUUCGCAAGGCC UG	156
CTGF-866-16 -14071	14071	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0ff0ff0mm0 0m00m0	GGCGUUGUCAUUGGUAA CC	157
CTGF-563-16 -14072	14072	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00m0mm m0m00	CGUGCACUGGUACUUGC AG	158

[0549]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
CTGF-823-16 -14073	14073	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0000f000 m0mmmm0	GUCUUGGAACAGGCGCU CC	159
CTGF-1233-1 6-14074	14074	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f0fffff0m0 m0mmmm0	CCAUGUCUCCGUACAUC UU	160
CTGF-924-16 -14075	14075	oooooooooooooooo ssssso	Pm0ff00ffff0m0 000mm0	GGUCAGCUUCGCAAGGC CU	161
CTGF-921-16 -14076	14076	oooooooooooooooo ssssso	Pm00ffff0f0000 mmmm000	CAGCUUCGCAAGGCCUG AC	162
CTGF-443-16 -14077	14077	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0000ff0m00 000000	GCCGAAGUCACAGAAGA GG	163
CTGF-1041-1 6-14078	14078	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0000fff00m mm00m0	CACAGAAUUUAGCUCGG UA	164
CTGF-1042-1 6-14079	14079	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f0000ffm00 mmmm000	CCACAGAAUUUAGCUCG GU	165
CTGF-755-16 -14080	14080	oooooooooooooooo ssssso	Pmff000f0f0mmm mmmm000	GCCAAACGUGUCUCCA GU	166
CTGF-467-16 -14081	14081	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0f00ffff0m0 mm00m0	GCCGAUCUUGCGGUUGG CC	167
CTGF-995-16 -14082	14082	oooooooooooooooo ssssso	Pmff000fff00m0 00mmmm0	CUCAAACUUGAUAGGCU UG	168
CTGF-927-16 -14083	14083	oooooooooooooooo ssssso	Pmf000ff00fmmm 0m0000	CCAGGUCAGCUUCGCAA GG	169
SPP1-1091-1 6-14131	14131	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00ff000m0m 0000m0	UUUGACUAAAUGCAAAG UG	170
PPIB--16-14 188	14188	oooooooooooooooo ssssss	Pm0ffffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUGUAGCCAAAU CC	171

[0550]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
PPIB--17-14 189	14189	oooooooooooo ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUGUAGCCAAAU CC	172
PPIB--18-14 190	14190	oooooooooooo ssssss	Pm0fffff0f00mm 000mm0	UGUUUUUGUAGCCAAAU CC	173
pGL3-1172-1 6-14386	14386	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffm0m m00mm0	AAAUCGUUUUGUCAAU CA	174
pGL3-1172-1 6-14387	14387	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ffm0m m00mm0	AAAUCGUUUUGUCAAU CA	175
MAP4K4-2931 -25-14390	14390				
miR-122--23 -14391	14391				
	14084	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fff0f000 000m00	UCUAAUUGAGAGAAAU AC	616
	14085	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff00fffm00 0000m0	UAAUUGACCUCAGAAGA UG	617
	14086	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ff00fmm 000000	UUUAAUUGACCUCAGAA GA	618
	14087	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ffff000 000m00	AAUUGACCUCAGAAGAU GC	619
	14088	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff00ffmm0 000000	UUAAUUGACCUCAGAAG AU	620
	14089	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff0000 00m0m0	AUUGACCUCAGAAGAUG CA	621
	14090	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff00ff00m mm0mm0	UCAUCCAGCUGACUCGU UU	622

[0551]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14091	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0ff0000m 00m00	AGAUUCAUCAGAAUGGU GA	623
	14092	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffff00fmm0 m000m0	UGACCUCAGUCCAUAUA CC	624
	14093	ooooooooooooos ssssso	Pm0f00f0000mmm 0mm000	AAUGGUGAGACUCAUCA GA	625
	14094	ooooooooooooos ssssso	Pmff00ffff00mm m0m000	UUUGACCUCAGUCCAUA AA	626
	14095	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00ff0m00 00mmmm0	UUCAUGGCUGUGAAAUU CA	627
	14096	ooooooooooooos ssssso	Pm00f00f0000mm m0mm00	GAAUGGUGAGACUCAUC AG	628
	14097	ooooooooooooos ssssso	Pm00ffffff0mm 0m0m00	UGGCUUCCGCUUAUAU AA	629
	14098	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ffffff0mm m0m0m0	UUGGCUUCCGCUUAUA UA	630
	14099	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff0f0f00m m0m000	UCAUCCAUGUGGUCAUG GC	631
	14100	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f00ff0f00m mmmm00	AUGUGGUCAUGGCUUUC GU	632
	14101	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0f00mm mm0mm0	GUGGUCAUGGCUUUCGU UG	633
	14102	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fffffmm m0m00	AUUGGCUUCCGCUUAU AU	634
	14103	ooooooooooooos ssssso	Pm00f0f0000mm m000m0	AAAUACGAAAUUCAGG UG	635

[0552]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14104	ooooooooooooos ssssso	Pm000f0f0000mm mm000	AGAAAUACGAAAUUCA GG	636
	14105	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0f00fmmmm m0mm00	UGGUCAUGGCUUUCGUU GG	637
	14106	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0fff0m0m 00mm00	AUAUCAUCCAUGUGGUC AU	638
	14107	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0000fmmmm 000m00	AAUACGAAAUUCAGGU GU	639
	14108	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff000000mm0 mmmm00	AAUCAGAAGGCGCGUUC AG	640
	14109	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f000000m 0m0000	AUUCAUGAGAAUACGA AA	641
	14110	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fff0f00000 00m000	CUAUUCAUGAGAGAAUA AC	642
	14111	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0ff000mmmm 0mmmm00	UUUCGUUGGACUUACUU GG	643
	14112	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff0fm0m m00mm0	UUGCUCUCAUCAUUGGC UU	644
	14113	ooooooooooooos ssssso	Pmff00fffffmmmm mmmm0	UUCAACUCCUCGCUUUC CA	645
	14114	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0ff00mm0 m0mm00	UGACUAUCAAUACAUC GG	646
	14115	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0ff0mmmm0 0mmmm0	AGAUGCACUAUCUAAUU CA	647
	14116	ooooooooooooos ssssso	Pm0f000f0f0m0m mm00m0	AAUAGAUACACAUUCA CC	648

[0553]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14117	ooooooooooooos ssssso	Pmffffff0f0000 m000m0	UUCUUCUAUAGAAUGAA CA	649
	14118	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0ff000m00 mm0m00	AAUUGCUGGACAACCGU GG	650
	14119	ooooooooooooos ssssso	Pm0ffffff0m0m 0m0000	UCGCUUCCAUGUGUGA GG	651
	14120	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff000fm0m mm0m00	UAAUCUGGACUGCUUGU GG	652
	14121	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0fff00mm0 0m0000	ACACAUCAACCAUAA AC	653
	14122	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0ffff0m00 mm0mm0	ACUCGUUUAUAACUGU CC	654
	14123	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff000mm0 mmmm0m0	AUAAUCUGGACUGCUG UG	655
	14124	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0fff0m0m 00mmmm0	UUUCCGCUUAUAUAUC UG	656
	14125	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff00ff00m0 m00m00	UGUUUAACUGGUAUGGC AC	657
	14126	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0000f000m0 m000m0	UAUAGAAUGAACAUAGA CA	658
	14127	ooooooooooooos ssssso	Pmffffff00fm0m 0mmmm0	UUUCCUUGGUCGGCGUU UG	659
	14128	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0f0ff0mmm 00mmm0	GUAUGCACCAUUAACU CC	660
	14129	ooooooooooooos ssssso	Pm00ff0ff0m0m 0m0mm0	UCGGCCAUAUAUGUGU CU	661

[0554]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14130	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff000ff0mm m0m000	AAUCUGGACUGCUUGUG GC	662
	14132	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0000f0mm m0mm00	ACAUCGGAAUGCUCAUU GC	663
	14133	ooooooooooooos ssssso	Pm00fffff00mm0 mm00m0	AAGUCCUGACUAUCAA UC	664
	14134	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff000f0m0 000m00	UUGACUAAAUGCAAAGU GA	665
	14135	ooooooooooooos ssssso	Pm0fff0ff000mm 00m00	AGACUCAUCAGACUGGU GA	666
	14136	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0f0f0fmm0 mm0m00	UCAUAUGUGUCUACUGU GG	667
	14137	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff0fmm0 m00m00	AUGUCCUCGUCUGUAGC AU	668
	14138	ooooooooooooos ssssso	Pm00fff0f00mm0 0mmmm0	GAAUUCACGGCUGACUU UG	669
	14139	ooooooooooooos ssssso	Pmf0fffff000mm m000m0	UUAUUCCAGACUCAA UA	670
	14140	ooooooooooooos ssssso	Pm000ff0f000mm 000mm0	GAAGCCACAAACUAAAC UA	671
	14141	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0ff000mm m0mmm0	CUUUCGUUGGACUUACU UG	672
	14142	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f0000mmm mmmm000	GUCUGCGAAACUUCUUA GA	673
	14143	ooooooooooooos ssssso	Pm0f0fff0ff0mm mmm0m0	AAUGCUCAUUGCUCUCA UC	674

[0555]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14144	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff0ffm00 mmmm0m0	AUGCACUAUCUAAUUCA UG	675
	14145	oooooooooooooooo ssssso	Pmff0f0f0f0mm0 mmmm000	CUUGUAUGCACCAUUCA AC	676
	14146	oooooooooooooooo ssssso	Pm00fff0fffm0m 00mm00	UGACUCGUUUCAUAACU GU	677
	14147	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00f0fffm00 mmmm0m0	UUCAGCACUCUGGUCAU CC	678
	14148	oooooooooooooooo ssssso	Pm00fff0f00mm0 m00000	AAAUUCAUGGCUGUGGA AU	679
	14149	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0fff00ff00m 000mm0	ACAUUAACCAUAAAC UG	680
	14150	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0f0ff00mm 00m000	UACACAUUCAACCAUA AA	681
	14151	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00ff0ffmm 000mm0	AUUAGUUAUUUCCAGAC UC	682
	14152	oooooooooooooooo ssssso	Pmffff0ff0m00 000000	UUUCUAUUAUGAGAGA AU	683
	14153	oooooooooooooooo ssssso	Pmff00ff0ff00m 000mm0	UUCGGUUGCUGGCAGGU CC	684
	14154	oooooooooooooooo ssssso	Pm0f0f0f0000m0 0m0mm0	CAUGUGAGAGGUGAUGU CC	685
	14155	oooooooooooooooo ssssso	Pmf0ff0ff00mm mmmm00	GCACCAUUAACUCCUC GC	686
	14156	oooooooooooooooo ssssso	Pm0fff00ff00mm m0mmmm0	CAUCCAGCUGACUCGUU UC	687

[0556]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14157	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff0fff0m0 m00mm0	CUUCCGCUUAUAUAAU CU	688
	14158	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0ff0000 m0mmmm0	AAUCACAUCGGAUGCU CA	689
	14159	ooooooooooooos ssssso	Pmf0f0ff00fm0m mmmm00	ACACAUJAGUUAUUUCC AG	690
	14160	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f0000m00 0m0m00	UUCUAUAGAAUGAACAU AG	691
	14161	ooooooooooooos ssssso	Pm0f00f00f00mm m0m0m0	UACAGUGAUAGUUUGCA UU	692
	14162	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f00ff00m 0mm0m0	AUAAGCAAUUGACACCA CC	693
	14163	ooooooooooooos ssssso	Pmff0ff00ff0mm 000m00	UUUAUUAAUUGCUGGAC AA	694
	14164	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0000fmmmm m0000	UCAUCAGAGUCGUUCGA GU	695
	14165	ooooooooooooos ssssso	Pmf000ff0f0mm0 mm0mm0	AUAAACCACACUAUCAC CU	696
	14166	ooooooooooooos ssssso	Pmf0ff0ff00mmmm mmmm0m0	UCAUCAUUGGCUUCCG CU	697
	14167	ooooooooooooos ssssso	Pmfffff00fm0mm 00mm0	AGUCCUGACUAUCAAU CA	698
	14168	ooooooooooooos ssssso	Pmff0f00ff00mm mm0000	UUCACGGCUGACUUUGG AA	699
	14169	ooooooooooooos ssssso	Pmffff0f00f00m 000mm0	UUCUCAUGGUAGUGAGU UU	700

[0557]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14170	ooooooooooooos ssssso	PmOff00fff0mmmm 00mm00	AAUCAGCCUGUUUAACU GG	701
	14171	ooooooooooooos ssssso	PmOffff00f0mmmm m00mm0	GGUUUCAGCACUCUGGU CA	702
	14172	ooooooooooooos ssssso	Pmff0000f0fmm0 mm0mm0	AUCGGA AUGCUCAUUGC UC	703
	14173	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff0f0000mm m0m000	UGGCUGUGGAAUUCACG GC	704
	14174	ooooooooooooos ssssso	Pm000f00ff00m0 mm0mm0	UAAGCAAUUGACACCAC CA	705
	14175	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff0f00m 00m000	CAAUUCUCAUGGUAGUG AG	706
	14176	ooooooooooooos ssssso	Pm0fffff0f0m00 0mmmm00	UGGCUUUCGUUGGACUU AC	707
	14177	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00f00fm00 mmmm0m0	AAUCAGUGACCAGUUCA UC	708
	14178	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f000mm0m 0mm00	AGUCCAUA AACACACU AU	709
	14179	ooooooooooooos ssssso	Pm00f0ffff00mm 0mmmm00	CAGCACUCUGGUCAUCC AG	710
	14180	ooooooooooooos ssssso	PmOff00ff0f0mm 0000m0	UAUCAAUCAUUCGGA UG	711
	14181	ooooooooooooos ssssso	Pmfff0f00ff00m mmmm000	AUUCACGGCUGACUUUG GA	712
	14182	ooooooooooooos ssssso	Pmf000f0f0f0mm m00mm0	AUAGAUACACAUUCAAC CA	713

[0558]

ID 编号	寡聚物 编号	反义骨架	反义化学修饰	反义序列	SEQ ID NO:
	14183	ooooooooooooos ssssso	Pmffff000ffm00 0m0000	UUUCCAGACUCAAUAG AU	714
	14184	ooooooooooooos ssssso	Pmf00ff0ff000m 0Cmm00	UUAAUUGCUGGACAACC GU	715
	14185	ooooooooooooos ssssso	Pm0ff00ff0fm00 0m00m0	UAUUAUUGCUGGACAA CC	716
	14186	ooooooooooooos ssssso	Pmff0fff000mm0 0m000	AGUCGUUCGAGUCAAUG GA	717
	14187	ooooooooooooos ssssso	Pmff0ff00f000m mm0m00	GUUGCUGGCAGGUCCGU GG	718

[0559] 表 2: 有义骨架、化学修饰和序列信息。O: 磷酸二酯; s: 硫代磷酸酯; P: 5' 磷酸化; O: 2' -OH; F: 2' - 氟; m: 2' O- 甲基; +: LNA 修饰。序列中的大写字母表示核糖核苷酸, 小写字母表示脱氧核糖核苷酸。

[0560]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB-10167- 20-12138	12138	chl	oooooooooooo oooooooooso	00000000000000 0000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	176
APOB-10167- 20-12139	12139	chl	oooooooooooo oooooooooso	00000000000000 0000000	GUGAUCAGACUCA AUACGAAU	177
MAP4K4-2931 -13-12266	12266	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	178
MAP4K4-2931 -16-12293	12293	chl	oooooooooooooss o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	179
MAP4K4-2931 -16-12383	12383	chl	ooooooooooooooo o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	180
MAP4K4-2931 -16-12384	12384	chl	ooooooooooooooo o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	181
MAP4K4-2931 -16-12385	12385	chl	ooooooooooooooo o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	182
MAP4K4-2931 -16-12386	12386	chl	oooooooooooooss o	0mm0m00000mmm 0	CUGUGGAAGUCUA	183
MAP4K4-2931 -16-12387	12387	chl	ooooooooooooooo o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	184
MAP4K4-2931 -15-12388	12388	chl	ooooooooooooooo o	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	185
MAP4K4-2931 -13-12432	12432	chl	ooooooooooooooo o	DY547mm0m0000 0mmm0	CUGUGGAAGUCUA	186
MAP4K4-2931 -13-12266.2	12266 .2	chl	oooooooooooooss s	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	187

[0561]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB--21-12 434	12434	chl	oooooooooooo oooooooooso	000000000000 0000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	188
APOB--21-12 435	12435	chl	oooooooooooo oooooooooso	DY5470000000 000000000000	GUGAUCAGACUCA AUACGAU	189
MAP4K4-2931 -16-12451	12451	chl	oooooooooooo s	0mm0m00000mm 0	CUGUGGAAGUCUA	190
MAP4K4-2931 -16-12452	12452	chl	oooooooooooo s	mm0m00000mm0	CUGUGGAAGUCUA	191
MAP4K4-2931 -16-12453	12453	chl	oooooooooooo s	mm0m00000mm0	CUGUGGAAGUCUA	192
MAP4K4-2931 -17-12454	12454	chl	oooooooooooo s	0mm0m00000mm 0	CUGUGGAAGUCUA	193
MAP4K4-2931 -17-12455	12455	chl	oooooooooooo s	mm0m00000mm0	CUGUGGAAGUCUA	194
MAP4K4-2931 -19-12456	12456	chl	oooooooooooo s	mm0m00000mm0	CUGUGGAAGUCUA	195
--27-12480	12480	chl	oooooooooooo oooooooooooo ss	DY547mm0f000f 0055f5f00mm00 000m000	UCAUAGGUAACCU CUGGUUGAAAGUG A	196
--27-12481	12481	chl	oooooooooooo oooooooooooo ss	DY547mm05f050 00f05ff0m0000 0000m00	CGGCUACAGGUGC UUAUGAAGAAAGU A	197
APOB-10167- 21-12505	12505	chl	oooooooooooo ooooooooos	000000000000 00000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	198
APOB-10167-	12506	chl	oooooooooooo	000000000000	GUGAUCAGACUCA	199

[0562]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
21-12506			ooooooooos	00000000	AUACGAAU	
MAP4K4-2931 -16-12539	12539	chl	ooooooooooooos s	DY547mm0m0000 0mmm0	CUGUGGAAGUCUA	200
APOB-10167- 21-12505.2	12505 .2	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 00000000	GUCAUCACACUGA AUACCAAU	201
APOB-10167- 21-12506.2	12506 .2	chl	oooooooooooooo oooooooooso	00000000000000 00000000	GUGAUCAGACUCA AUACGAAU	202
MAP4K4--13- 12565	12565	Chl	oooooooooooooo o	m0m0000m0mmmm0	UGUAGGAUGUCUA	203
MAP4K4-2931 -16-12386.2	12386 .2	chl	oooooooooooooo o	0mm0m00000mmm 0	CUGUGGAAGUCUA	204
MAP4K4-2931 -13-12815	12815	chl	oooooooooooooo o	m0m0m0m0m0m0m 0m0m0m0m0m0m0	CUGUGGAAGUCUA	205
APOB--13-12 957	12957	Chl TEG	ooooooooooooos s	0mmmmmmmmmmmmmm m	ACUGAAUACCAAU	206
MAP4K4--16- 12983	12983	chl	ooooooooooooos s	mm0m00000mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	207
MAP4K4--16- 12984	12984	Chl	oooooooooooooo oo	mm0m00000mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	208
MAP4K4--16- 12985	12985	chl	ooooooooooooos o	mmmmmmmmmmmmmm	CUGUGGAAGUCUA	209
MAP4K4--16- 12986	12986	chl	ooooooooooooos o	mmmmmmmmmmmmmm	CUGUGGAAGUCUA	210
MAP4K4--16- 12987	12987	chl	ooooooooooooos o	mm0m00000mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	211

[0563]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
MAP4K4--16- 12988	12988	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	212
MAP4K4--16- 12989	12989	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	213
MAP4K4--16- 12990	12990	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	214
MAP4K4--16- 12991	12991	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	215
MAP4K4--16- 12992	12992	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	216
MAP4K4--16- 12993	12993	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	217
MAP4K4--16- 12994	12994	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	218
MAP4K4--16- 12995	12995	chl	oooooooooSS o	mmOm00000mmOm0	CUGUGGAAGUCUA	219
MAP4K4-2931 -19-13012	13012	chl	oooooooooooo ooooooo	0000000000000 00000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	220
MAP4K4-2931 -19-13016	13016	chl	oooooooooooo ooooooo	DY54700000000 0000000000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	221
PPIB--13-13 021	13021	Chl	oooooooooooo o	0mmOm00mmOm000	AUUUGGCUACAAA	222
pGL3-1172-1 3-13038	13038	chl	oooooooooooo o	00m000m0m00mm m	ACAAAUACGAUUU	223
pGL3-1172-1	13040	chl	oooooooooooo	DY5470m000m0m	ACAAAUACGAUUU	224

[0564]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13040			o	00mmm		
--16-13047	13047	Ch1	oooooooooooo oo	mm0m00000mmm0	CUGUGGAAGUCUA	225
SOD1-530-13 -13090	13090	chl	oooooooooooo o	00m00000000m0	AAUGAAGAAAGUA	226
SOD1-523-13 -13091	13091	chl	oooooooooooo o	000m00000m000	AGGUGGAAAUGAA	227
SOD1-535-13 -13092	13092	chl	oooooooooooo o	000000m0m0000	AGAAAGUACAAAG	228
SOD1-536-13 -13093	13093	chl	oooooooooooo o	00000m0m00000	GAAAGUACAAAGA	229
SOD1-396-13 -13094	13094	chl	oooooooooooo o	0mm0m00mm0mm00	AUGUGACUGCUGA	230
SOD1-385-13 -13095	13095	chl	oooooooooooo o	000mmm000m00m	AGACUUGGGCAAU	231
SOD1-195-13 -13096	13096	chl	oooooooooooo o	0mmmm000m0000	AUUUCGAGCAGAA	232
APOB-4314-1 3-13115	13115	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0000000m0	AUCUGGAGAAACA	233
APOB-3384-1 3-13116	13116	Ch1	oooooooooooo o	mm0000m000000	UCAGAACAAGAAA	234
APOB-3547-1 3-13117	13117	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	235
APOB-4318-1 3-13118	13118	Ch1	oooooooooooo o	0000000m00m0m	GGAGAAACAACAU	236

[0565]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
APOB-3741-1 3-13119	13119	Ch1	oooooooooooo o	00mmmmmm000m0	AGUCCCUCAAACA	237
PPIB--16-13 136	13136	Ch1	oooooooooooo oo	00mm0m00000m0	GGCUACAAAAACA	238
APOB-4314-1 5-13154	13154	chl	oooooooooooo oo	000mmmm0000000 m0	AGAUCUGGAGAAA CA	239
APOB-3547-1 5-13155	13155	chl	oooooooooooo oo	m000mmmm0mmmm0m m0	UGGACUCAUCUGC UA	240
APOB-4318-1 5-13157	13157	chl	oooooooooooo oo	mmm0000000m00m 0m	CUGGAGAAACAAC AU	241
APOB-3741-1 5-13158	13158	chl	oooooooooooo oo	0000mmmmmm000 m0	AGAGUCCCUCAAA CA	242
APOB--13-13 159	13159	chl	oooooooooooo	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	243
APOB--15-13 160	13160	chl	oooooooooooo oo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	244
SOD1-530-16 -13163	13163	chl	oooooooooooo o	00m00000000m0	AAUGAAGAAAGUA	245
SOD1-523-16 -13164	13164	chl	oooooooooooo o	000m00000m000	AGGUGGAAAUGAA	246
SOD1-535-16 -13165	13165	chl	oooooooooooo o	000000m0m0000	AGAAAGUACAAAG	247
SOD1-536-16 -13166	13166	chl	oooooooooooo o	00000m0m00000	GAAAGUACAAAGA	248
SOD1-396-16	13167	chl	oooooooooooo	0m0m00mm0mm00	AUGUGACUGCUGA	249

[0566]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13167			o			
SOD1-385-16 -13168	13168	chl	oooooooooooo o	000mmm000m00m	AGACUUGGGCAAU	250
SOD1-195-16 -13169	13169	chl	oooooooooooo o	0mmmm000m0000	AUUUCGAGCAGAA	251
pGL3-1172-1 6-13170	13170	chl	oooooooooooo o	0m000m0m00mmm	ACAAAUACGAUUU	252
pGL3-1172-1 6-13171	13171	chl	oooooooooooo o	DY5470m000m0m 00mmm	ACAAAUACGAUUU	253
MAP4k4-2931 -19-13189	13189	chl	oooooooooooo oooooooo	00000000000000 00000000	AGAGUUCUGUGGA AGUCUA	254
CTGF-1222-1 3-13190	13190	Chl	oooooooooooo o	0m0000000m0m0	ACAGGAAGAUGUA	255
CTGF-813-13 -13192	13192	Chl	oooooooooooo o	000m0000m0mmm	GAGUGGAGCGCCU	256
CTGF-747-13 -13194	13194	Chl	oooooooooooo o	m00mm000000m0	CGACUGGAAGACA	257
CTGF-817-13 -13196	13196	Chl	oooooooooooo o	0000m0mmm0mmm	GGAGCGCCUGUUC	258
CTGF-1174-1 3-13198	13198	Chl	oooooooooooo o	0mm0mm0m00mm0	GCCAUUACAACUG	259
CTGF-1005-1 3-13200	13200	Chl	oooooooooooo o	000mmmmmm00mm	GAGCUUUCUGGCU	260
CTGF-814-13 -13202	13202	Chl	oooooooooooo o	00m0000m0mmm0	AGUGGAGCGCCUG	261

[0567]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-816-13 -13204	13204	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0mmmm0mm	UGGAGCGCCUGUU	262
CTGF-1001-1 3-13206	13206	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm000mmmmmm	GUUUGAGCUUUCU	263
CTGF-1173-1 3-13208	13208	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0mm0m00mm	UGCCAUUACAACU	264
CTGF-749-13 -13210	13210	Ch1	oooooooooooo o	0mm000000m0m0	ACUGGAAGACACG	265
CTGF-792-13 -13212	13212	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mmmm00mm	AACUGCCUGGUCC	266
CTGF-1162-1 3-13214	13214	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0mmmm0	AGACCUGUGCCUG	267
CTGF-811-13 -13216	13216	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0000m0m	CAGAGUGGAGCGC	268
CTGF-797-13 -13218	13218	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00mmmm000mm	CCUGGUCCAGACC	269
CTGF-1175-1 3-13220	13220	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm0m00mm0m	CCAUAACAACUGU	270
CTGF-1172-1 3-13222	13222	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm0mm0m00m	CUGCCAUUACAAC	271
CTGF-1177-1 3-13224	13224	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m00mm0mm	AUUACAACUGUCC	272
CTGF-1176-1 3-13226	13226	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0m00mm0mm	CAUUACAACUGUC	273
CTGF-812-13	13228	Ch1	oooooooooooo	0000m0000m0mm	AGAGUGGAGCGCC	274

[0568]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13228			o			
CTGF-745-13 -13230	13230	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm000000	ACCGACUGGAAGA	275
CTGF-1230-1 3-13232	13232	Ch1	oooooooooooo o	0m0m0m00000m0	AUGUACGGAGACA	276
CTGF-920-13 -13234	13234	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0m0000mm	GCCUUGCGAAGCU	277
CTGF-679-13 -13236	13236	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m000000m0	GCUGCGAGGAGUG	278
CTGF-992-13 -13238	13238	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0mm000mmmm	GCCUAUCAAGUUU	279
CTGF-1045-1 3-13240	13240	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0m0000m	AAUUCUGUGGAGU	280
CTGF-1231-1 3-13242	13242	Ch1	oooooooooooo o	m0m0m00000m0m	UGUACGGAGACAU	281
CTGF-991-13 -13244	13244	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mm000mm	AGCCUAUCAAGUU	282
CTGF-998-13 -13246	13246	Ch1	oooooooooooo o	m000mmmm000mmmm	CAAGUUUGAGCUU	283
CTGF-1049-1 3-13248	13248	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000m0m0m	CUGUGGAGUAUGU	284
CTGF-1044-1 3-13250	13250	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0000	AAAUUCUGUGGAG	285
CTGF-1327-1 3-13252	13252	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00m00m0m0	UUUCAGUAGCACA	286

[0569]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-1196-1 3-13254	13254	Ch1	oooooooooooo o	m00m00m0mmmmmm	CAAUGACAUCUUU	287
CTGF-562-13 -13256	13256	Ch1	oooooooooooo o	00m0mm00m0m0m	AGUACCAGUGCAC	288
CTGF-752-13 -13258	13258	Ch1	oooooooooooo o	000000m0m0mmm	GGAAGACACGUUU	289
CTGF-994-13 -13260	13260	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm000mmmm00	CUAUCAGUUUGA	290
CTGF-1040-1 3-13262	13262	Ch1	oooooooooooo o	00mm000mmmm0m	AGCUAAAUCUGU	291
CTGF-1984-1 3-13264	13264	Ch1	oooooooooooo o	000m0000m0m00	AGGUAGAAUGUAA	292
CTGF-2195-1 3-13266	13266	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm00mmm	AGCUGAUCAGUUU	293
CTGF-2043-1 3-13268	13268	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0mmmm000m0	UUCUGCUCAGUA	294
CTGF-1892-1 3-13270	13270	Ch1	oooooooooooo o	mm0mmmm000mm00	UUAUCUAAGUAA	295
CTGF-1567-1 3-13272	13272	Ch1	oooooooooooo o	m0m0m000m0m0	UAUACGAGUAAUA	296
CTGF-1780-1 3-13274	13274	Ch1	oooooooooooo o	00mm000m00mmm	GACUGGACAGCUU	297
CTGF-2162-1 3-13276	13276	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmmmm0mm0	AUGGCCUUUAUUA	298
CTGF-1034-1	13278	Ch1	oooooooooooo	0m0mm000mm000	AUACCGAGCUAAA	299

[0570]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13278			o			
CTGF-2264-1 3-13280	13280	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm00000m0m	UUGUUGAGAGUGU	300
CTGF-1032-1 3-13282	13282	Ch1	oooooooooooo o	0m0m0mm000mm0	ACAUACCGAGCUA	301
CTGF-1535-1 3-13284	13284	Ch1	oooooooooooo o	00m0000000mm0	AGCAGAAAGGUUA	302
CTGF-1694-1 3-13286	13286	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mmmmmm00	AGUUGUCCUUA	303
CTGF-1588-1 3-13288	13288	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0000m0m00	AUUUGAAGUGUAA	304
CTGF-928-13 -13290	13290	Ch1	oooooooooooo o	000mm00mmmm000	AAGCUGACCUGGA	305
CTGF-1133-1 3-13292	13292	Ch1	oooooooooooo o	00mm0m0000000	GGUCAUGAAGAAG	306
CTGF-912-13 -13294	13294	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm000mmmm	AUGGUCAGGCCUU	307
CTGF-753-13 -13296	13296	Ch1	oooooooooooo o	00000m0m0mmmm0	GAAGACACGUUUG	308
CTGF-918-13 -13298	13298	Ch1	oooooooooooo o	000mmmmmm0m0000	AGGCCUUGCGAAG	309
CTGF-744-13 -13300	13300	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0mm00000	UACCGACUGGAAG	310
CTGF-466-13 -13302	13302	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m0000mm0	ACCGCAAGAUCGG	311

[0571]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-917-13 -13304	13304	Ch1	oooooooooooo o	m000mmmm0m000	CAGGCCUUGCGAA	312
CTGF-1038-1 3-13306	13306	Ch1	oooooooooooo o	m000mm000mmmm	CGAGCUAAAUUCU	313
CTGF-1048-1 3-13308	13308	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0000m0m0	UCUGUGGAGUAUG	314
CTGF-1235-1 3-13310	13310	Ch1	oooooooooooo o	m00000m0m00m0	CGGAGACAUGGCA	315
CTGF-868-13 -13312	13312	Ch1	oooooooooooo o	0m00m00m0mmmm	AUGACAACGCCUC	316
CTGF-1131-1 3-13314	13314	Ch1	oooooooooooo o	0000mm0m00000	GAGGUCAUGAAGA	317
CTGF-1043-1 3-13316	13316	Ch1	oooooooooooo o	m000mmmm0m000	UAAAUUCUGUGGA	318
CTGF-751-13 -13318	13318	Ch1	oooooooooooo o	m000000m0m0mm	UGGAAGACACGUU	319
CTGF-1227-1 3-13320	13320	Ch1	oooooooooooo o	0000m0m0m0000	AAGAUGUACGGAG	320
CTGF-867-13 -13322	13322	Ch1	oooooooooooo o	00m00m00m0mm	AAUGACAACGCCU	321
CTGF-1128-1 3-13324	13324	Ch1	oooooooooooo o	00m0000mm0m00	GGCGAGGUCAUGA	322
CTGF-756-13 -13326	13326	Ch1	oooooooooooo o	00m0m0mm00mm	GACACGUUUGGCC	323
CTGF-1234-1	13328	Ch1	oooooooooooo	0m00000m0m00m	ACGGAGACAUGGC	324

[0572]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13328			o			
CTGF-916-13 -13330	13330	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm0m00	UCAGGCCUUGCGA	325
CTGF-925-13 -13332	13332	Ch1	oooooooooooo o	0m0000mm00mmmm	GCGAAGCUGACCU	326
CTGF-1225-1 3-13334	13334	Ch1	oooooooooooo o	000000m0m0m00	GGAAGAUGUACGG	327
CTGF-445-13 -13336	13336	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmm00mmmm	GUGACUUCGGCUC	328
CTGF-446-13 -13338	13338	Ch1	oooooooooooo o	m00mmmm00mmmm	UGACUUCGGCUCC	329
CTGF-913-13 -13340	13340	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000mmmm0	UGGUCAGGCCUUG	330
CTGF-997-13 -13342	13342	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm000mm	UCAAGUUUGAGCU	331
CTGF-277-13 -13344	13344	Ch1	oooooooooooo o	0mm0000mm0m00	GCCAGAACUGCAG	332
CTGF-1052-1 3-13346	13346	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0m0m0mm	UGGAGUAUGUACC	333
CTGF-887-13 -13348	13348	Ch1	oooooooooooo o	0mm0000000m00	GCUAGAGAAGCAG	334
CTGF-914-13 -13350	13350	Ch1	oooooooooooo o	00mm000mmmm0m	GGUCAGGCCUUGC	335
CTGF-1039-1 3-13352	13352	Ch1	oooooooooooo o	000mm000mmmm0	GAGCUAAAUCUG	336

[0573]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-754-13 -13354	13354	Ch1	oooooooooooo o	0000m0m0num00	AAGACACGUUUGG	337
CTGF-1130-1 3-13356	13356	Ch1	oooooooooooo o	m0000mm0m0000	CGAGGUCAUGAAG	338
CTGF-919-13 -13358	13358	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0m0000m	GGCCUUGCGAAGC	339
CTGF-922-13 -13360	13360	Ch1	oooooooooooo o	num0m0000num00	CUUGCGAAGCUGA	340
CTGF-746-13 -13362	13362	Ch1	oooooooooooo o	num00mm000000m	CCGACUGGAAGAC	341
CTGF-993-13 -13364	13364	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0mm000mmmm0	CCUAUCAAGUUUG	342
CTGF-825-13 -13366	13366	Ch1	oooooooooooo o	m0mmmmmm0000mmmm	UGUUGCAAGACCU	343
CTGF-926-13 -13368	13368	Ch1	oooooooooooo o	m0000num00num0	CGAAGCUGACCUG	344
CTGF-923-13 -13370	13370	Ch1	oooooooooooo o	num0m0000num00m	UUGCGAAGCUGAC	345
CTGF-866-13 -13372	13372	Ch1	oooooooooooo o	m00m00m00m0mm	CAAUGACAACGCC	346
CTGF-563-13 -13374	13374	Ch1	oooooooooooo o	0m0mm00m0m0m0	GUACCAGUGCACG	347
CTGF-823-13 -13376	13376	Ch1	oooooooooooo o	num0mmmm0000m	CCUGUUGCAAGAC	348
CTGF-1233-1	13378	Ch1	oooooooooooo	m0m00000m0m00	UACGGAGACAUGG	349

[0574]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13378			o			
CTGF-924-13 -13380	13380	Ch1	oooooooooooo o	mOm0000mm00mm	UGCGAAGCUGACC	350
CTGF-921-13 -13382	13382	Ch1	oooooooooooo o	mmmmOm0000mm0	CCUUGCGAAGCUG	351
CTGF-443-13 -13384	13384	Ch1	oooooooooooo o	mmOm00mmmm00m	CUGUGACUUCGGC	352
CTGF-1041-1 3-13386	13386	Ch1	oooooooooooo o	Om0000mmmmOm0	GCUAAAUCUGUG	353
CTGF-1042-1 3-13388	13388	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm0m00	CUAAAUCUGUGG	354
CTGF-755-13 -13390	13390	Ch1	oooooooooooo o	000mOm0mmmm00m	AGACACGUUUGGC	355
CTGF-467-13 -13392	13392	Ch1	oooooooooooo o	mmOm0000mm00m	CCGCAAGAUCGGC	356
CTGF-995-13 -13394	13394	Ch1	oooooooooooo o	mOm000mmmm000	UAUCAAGUUUGAG	357
CTGF-927-13 -13396	13396	Ch1	oooooooooooo o	0000mm00mmmm00	GAAGCUGACCUGG	358
SPP1-1025-1 3-13398	13398	Ch1	oooooooooooo o	mmmmOm000mm000	CUCAUGAAUUAGA	359
SPP1-1049-1 3-13400	13400	Ch1	oooooooooooo o	mm0000mm00mm0	CUGAGGUCAAUUA	360
SPP1-1051-1 3-13402	13402	Ch1	oooooooooooo o	0000mm00mm000	GAGGUCAAUAAA	361

[0575]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1048-1 3-13404	13404	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0000mm00mm	UCUGAGGUCAAUU	362
SPP1-1050-1 3-13406	13406	Ch1	oooooooooooo o	m0000mm00mm00	UGAGGUCAAUUA	363
SPP1-1047-1 3-13408	13408	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0000mm00m	UUCUGAGGUCAAU	364
SPP1-800-13 -13410	13410	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm000m00	GUCAGCUGGAUGA	365
SPP1-492-13 -13412	13412	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00m000mmmm	UUCUGAUGAAUCU	366
SPP1-612-13 -13414	13414	Ch1	oooooooooooo o	m000mm0000mm0	UGGACUGAGGUCA	367
SPP1-481-13 -13416	13416	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0mm0mm	GAGUCUCACCAUU	368
SPP1-614-13 -13418	13418	Ch1	oooooooooooo o	00mm0000mm000	GACUGAGGUCAAA	369
SPP1-951-13 -13420	13420	Ch1	oooooooooooo o	mm0m00mm0m000	UCACAGCCAUGAA	370
SPP1-482-13 -13422	13422	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mm0mmmm	AGUCUCACCAUUC	371
SPP1-856-13 -13424	13424	Ch1	oooooooooooo o	000m000000mm0	AAGCGAAAGCCA	372
SPP1-857-13 -13426	13426	Ch1	oooooooooooo o	00m000000mm00	AGCGAAAGCCAA	373
SPP1-365-13	13428	Ch1	oooooooooooo	0mm0m0m000m00	ACCACAUGGAUGA	374

[0576]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13428			o			
SPP1-359-13 -13430	13430	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m00mm0m0m	GCCAUGACCACAU	375
SPP1-357-13 -13432	13432	Ch1	oooooooooooo o	000mm0m00mm0m	AAGCCAUGACCAC	376
SPP1-858-13 -13434	13434	Ch1	oooooooooooo o	0m000000mm00m	GCGGAAAGCCAAU	377
SPP1-1012-1 3-13436	13436	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0mmmm	AAAUUCGUAUUU	378
SPP1-1014-1 3-13438	13438	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0m0mmmmmm	AUUUCGUAUUUCU	379
SPP1-356-13 -13440	13440	Ch1	oooooooooooo o	0000mm0m00mm0	AAAGCCAUGACCA	380
SPP1-368-13 -13442	13442	Ch1	oooooooooooo o	0m0m000m00m0m	ACAUGGAUGAUAU	381
SPP1-1011-1 3-13444	13444	Ch1	oooooooooooo o	0000mmmm0m0mm	GAAAUUCGUAUU	382
SPP1-754-13 -13446	13446	Ch1	oooooooooooo o	0m0mmmmmm00mm	GCGCCUUCUGAUU	383
SPP1-1021-1 3-13448	13448	Ch1	oooooooooooo o	0mmmmmm0m000m	AUUUCUUGAUAU	384
SPP1-1330-1 3-13450	13450	Ch1	oooooooooooo o	mmmmmm0m000m00	CUCUCAUGAAUAG	385
SPP1-346-13 -13452	13452	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0000	AAGUCCAACGAAA	386

[0577]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-869-13 -13454	13454	Ch1	oooooooooooo o	0m00m00000m00	AUGAUGAGAGCAA	387
SPP1-701-13 -13456	13456	Ch1	oooooooooooo o	0m000000mm000	GCGAGGAGUUGAA	388
SPP1-896-13 -13458	13458	Ch1	oooooooooooo o	m00mm00m00mm0	UGAUUGAUAGUCA	389
SPP1-1035-1 3-13460	13460	Ch1	oooooooooooo o	000m00m0m0mmm	AGAUAGUGCAUCU	390
SPP1-1170-1 3-13462	13462	Ch1	oooooooooooo o	0m0m0m0mmmm0mm	AUGUGUAUCUAUU	391
SPP1-1282-1 3-13464	13464	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0000000	UUCUAUAGAAGAA	392
SPP1-1537-1 3-13466	13466	Ch1	oooooooooooo o	mm0mmmm00m00mm	UUGUCCAGCAAUU	393
SPP1-692-13 -13468	13468	Ch1	oooooooooooo o	0m0m000000m00	ACAUGGAAAGCGA	394
SPP1-840-13 -13470	13470	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmm000mm0	GCAGUCCAGAUUA	395
SPP1-1163-1 3-13472	13472	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000m0m0m	UGGUUGAAUGUGU	396
SPP1-789-13 -13474	13474	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000m000m	UUAUGAAACGAGU	397
SPP1-841-13 -13476	13476	Ch1	oooooooooooo o	m00mmmm000mm0m	CAGUCCAGAUUAU	398
SPP1-852-13	13478	Ch1	oooooooooooo	0m0m000m00000	AUAUAAGCGGAAA	399

[0578]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13478			o			
SPP1-209-13 -13480	13480	Ch1	oooooooooooo o	m0mm00mm000m0	UACCAGUUAACA	400
SPP1-1276-1 3-13482	13482	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0mmmm0m0	UGUUCAUUCUAUA	401
SPP1-137-13 -13484	13484	Ch1	oooooooooooo o	mm00mm0000000	CCGACCAAGGAAA	402
SPP1-711-13 -13486	13486	Ch1	oooooooooooo o	000m00m0m0m0m	GAAUGGUGCAUAC	403
SPP1-582-13 -13488	13488	Ch1	oooooooooooo o	0m0m00m00mm00	AUAUGAUGGCCGA	404
SPP1-839-13 -13490	13490	Ch1	oooooooooooo o	00m00mm000mm	AGCAGUCCAGAUU	405
SPP1-1091-1 3-13492	13492	Ch1	oooooooooooo o	0m0mm00mm000	GCAUUUAGUCAA	406
SPP1-884-13 -13494	13494	Ch1	oooooooooooo o	00m0mmmm00m0m	AGCAUCCGAUGU	407
SPP1-903-13 -13496	13496	Ch1	oooooooooooo o	m00mm00000mm	UAGUCAGGAACUU	408
SPP1-1090-1 3-13498	13498	Ch1	oooooooooooo o	m0m0mm00mm00	UGCAUUUAGUCAA	409
SPP1-474-13 -13500	13500	Ch1	oooooooooooo o	0mm00m000mm	GUCUGAUGAGUCU	410
SPP1-575-13 -13502	13502	Ch1	oooooooooooo o	m000m0m0m0m00	UAGACACAUAGA	411

[0579]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-671-13 -13504	13504	Ch1	oooooooooooo o	m000m00000m0m	CAGACGAGGACAU	412
SPP1-924-13 -13506	13506	Ch1	oooooooooooo o	m00mm0m000mmmm	CAGCCGUGAAUUC	413
SPP1-1185-1 3-13508	13508	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm00000m00	AGUCUGGAAAUAA	414
SPP1-1221-1 3-13510	13510	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0m00mmmm	AGUUUGUGGCUUC	415
SPP1-347-13 -13512	13512	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm00m00000	AGUCCAACGAAAG	416
SPP1-634-13 -13514	13514	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m000m	AAGUUUCGCAGAC	417
SPP1-877-13 -13516	13516	Ch1	oooooooooooo o	00m00m000m0mm	AGCAAUGAGCAUU	418
SPP1-1033-1 3-13518	13518	Ch1	oooooooooooo o	mm000m00m0m0m	UUAGAUAGUGCAU	419
SPP1-714-13 -13520	13520	Ch1	oooooooooooo o	m00m0m0m0m000	UGGUGCAUACAAG	420
SPP1-791-13 -13522	13522	Ch1	oooooooooooo o	0m0000m000mm0	AUGAAACGAGUCA	421
SPP1-813-13 -13524	13524	Ch1	oooooooooooo o	mm0000m0mm000	CCAGAGUGCUGAA	422
SPP1-939-13 -13526	13526	Ch1	oooooooooooo o	m00mm0m000mmmm	CAGCCAUGAAUUU	423
SPP1-1161-1	13528	Ch1	oooooooooooo	0mm00mm000m0m	AUUGGUUGAAUGU	424

[0580]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13528			o			
SPP1-1164-1 3-13530	13530	Ch1	oooooooooooo o	00mm000m0m0m0	GGUUGAAUGUGUA	425
SPP1-1190-1 3-13532	13532	Ch1	oooooooooooo o	00000m00mm00m	GGAAUAACUAAU	426
SPP1-1333-1 3-13534	13534	Ch1	oooooooooooo o	mm0m000m00000	UCAUGAAUAGAAA	427
SPP1-537-13 -13536	13536	Ch1	oooooooooooo o	0mm00m00mm000	GCCAGCAACCGAA	428
SPP1-684-13 -13538	13538	Ch1	oooooooooooo o	m0mmmm0m0m0m0	CACCUCACACAUG	429
SPP1-707-13 -13540	13540	Ch1	oooooooooooo o	00mm000m00m0m	AGUUGAAUGGUGC	430
SPP1-799-13 -13542	13542	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm000m0	AGUCAGCUGGAUG	431
SPP1-853-13 -13544	13544	Ch1	oooooooooooo o	m0m000m000000	UAUAAGCGGAAAG	432
SPP1-888-13 -13546	13546	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00m0m00mm	UCCGAUGUGAUU	433
SPP1-1194-1 3-13548	13548	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm00m0m0m	AUAACUAAUGUGU	434
SPP1-1279-1 3-13550	13550	Ch1	oooooooooooo o	mm0mmmm0m0000	UCAUUCUAUAGAA	435
SPP1-1300-1 3-13552	13552	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mm0mm0m0	AACUAUCACUGUA	436

[0581]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-1510-1 3-13554	13554	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm0mm0m	GUCAAUUGCUUUAU	437
SPP1-1543-1 3-13556	13556	Ch1	oooooooooooo o	00m00mm00m000	AGCAAUUAUAAA	438
SPP1-434-13 -13558	13558	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmm00m00	ACGACUCUGAUGA	439
SPP1-600-13 -13560	13560	Ch1	oooooooooooo o	m00m0m00mm0m	UAGUGUGGUUUAU	440
SPP1-863-13 -13562	13562	Ch1	oooooooooooo o	000mm00m00m00	AAGCCAAUGAUGA	441
SPP1-902-13 -13564	13564	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm00000mm	AUAGUCAGGAACU	442
SPP1-921-13 -13566	13566	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm0m000	AGUCAGCCGUGAA	443
SPP1-154-13 -13568	13568	Ch1	oooooooooooo o	0mm0mm0m00000	ACUACCAUGAGAA	444
SPP1-217-13 -13570	13570	Ch1	oooooooooooo o	000m000mm00mm	AAACAGGCUGAUU	445
SPP1-816-13 -13572	13572	Ch1	oooooooooooo o	000m0mm0000mm	GAGUGCUGAAACC	446
SPP1-882-13 -13574	13574	Ch1	oooooooooooo o	m000m0mmmm00m	UGAGCAUUCGUAU	447
SPP1-932-13 -13576	13576	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0m00mm0	AAUCCACAGCCA	448
SPP1-1509-1	13578	Ch1	oooooooooooo	m0mm00mm0mm0	UGUCAAUUGCUUA	449

[0582]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
3-13578			o			
SPP1-157-13 -13580	13580	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m00000mm0	ACCAUGAGAAUUG	450
SPP1-350-13 -13582	13582	Ch1	oooooooooooo o	mm00m00000mm0	CCAACGAAAGCCA	451
SPP1-511-13 -13584	13584	Ch1	oooooooooooo o	mm00mm0mm00mm	CUGGUCACUGAUU	452
SPP1-605-13 -13586	13586	Ch1	oooooooooooo o	m00mmmm0m000mm	UGGUUUAUGGACU	453
SPP1-811-13 -13588	13588	Ch1	oooooooooooo o	00mm0000m0mm0	GACCAGAGUGCUG	454
SPP1-892-13 -13590	13590	Ch1	oooooooooooo o	00m0m00mm00m0	GAUGUGAUUGAJA	455
SPP1-922-13 -13592	13592	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm0m000m	GUCAGCCGUGAAU	456
SPP1-1169-1 3-13594	13594	Ch1	oooooooooooo o	00m0m0m0mmmm0m	AAUGUGUAUCUUAU	457
SPP1-1182-1 3-13596	13596	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm00000	UUGAGUCUGGAAA	458
SPP1-1539-1 3-13598	13598	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm00m00mm00	GUCCAGCAAUUA	459
SPP1-1541-1 3-13600	13600	Ch1	oooooooooooo o	mm00m00mm00m0	CCAGCAAUUAUA	460
SPP1-427-13 -13602	13602	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm000m00mm	GACUCGAACGACU	461

[0583]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
SPP1-533-13 -13604	13604	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0mm00m00m	ACCUGCCAGCAAC	462
APOB--13-13 763	13763	Ch1 TEG	oooooooooooo o	0m+00+m0+m0+m	ACtGAaUAcCAaU	463
APOB--13-13 764	13764	Ch1 TEG	oooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	464
MAP4K4--16- 13766	13766	Ch1	oooooooooooo o	DY547mm0m0000 0mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	465
PPIB--13-13 767	13767	Ch1	oooooooooooo o	mmmmmmmmmmmmmmmm	GGCUACAAAAACA	466
PPIB--15-13 768	13768	Ch1	oooooooooooo ooo	mm00mm0m00000 m0	UUGGCUACAAAA CA	467
PPIB--17-13 769	13769	Ch1	oooooooooooo ooooo	0mmmm00mm0m000 00m0	AUUUGGCUACAAA AACA	468
MAP4K4--16- 13939	13939	Ch1	oooooooooooo o	m0m0000m0mmmm0	UGUAGGAUGUCUA	469
APOB-4314-1 6-13940	13940	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0000000m0	AUCUGGAGAAACA	470
APOB-4314-1 7-13941	13941	Ch1	oooooooooooo ooo	000mmmm0000000 m0	AGAUCUGGAGAAA CA	471
APOB--16-13 942	13942	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	472
APOB--18-13 943	13943	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mmmm0mm0	GACUCAUCUGCUA	473
APOB--17-13	13944	Ch1	oooooooooooo	m000mmmm0mmmm0m	UGGACUCAUCUGC	474

[0584]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
944			ooo	m0	UA	
APOB--19-13 945	13945	Ch1	oooooooooooo ooo	m000mmmm0mmmm0m m0	UGGACUCAUCUGC UA	475
APOB-4314-1 6-13946	13946	Ch1	oooooooooooo o	0000000m00m0m	GGAGAAACAACAU	476
APOB-4314-1 7-13947	13947	Ch1	oooooooooooo ooo	mm0000000m00m 0m	CUGGAGAAACAAC AU	477
APOB--16-13 948	13948	Ch1	oooooooooooo o	00mmmmmm000m0	AGUCCCUCAAACA	478
APOB--17-13 949	13949	Ch1	oooooooooooo ooo	0000mmmmmm000 m0	AGAGUCCCUCAAA CA	479
APOB--16-13 950	13950	Ch1	oooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	480
APOB--18-13 951	13951	Ch1	oooooooooooo o	0mm000m0mm00m	ACUGAAUACCAAU	481
APOB--17-13 952	13952	Ch1	oooooooooooo ooo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	482
APOB--19-13 953	13953	Ch1	oooooooooooo ooo	0m0mm000m0mm0 0m	ACACUGAAUACCA AU	483
MAP4K4--16- 13766.2	13766 .2	Ch1	oooooooooooo o	DY547mm0m0000 0mmmm0	CUGUGGAAGUCUA	484
CTGF-1222-1 6-13980	13980	Ch1	oooooooooooo o	0m0000000m0m0	ACAGGAAGAUGUA	485
CTGF-813-16 -13981	13981	Ch1	oooooooooooo o	000m0000:mmmm	GAGUGGAGCGCCU	486

[0585]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-747-16 -13982	13982	Ch1	oooooooooooo o	m0mm000000m0	CGACUGGAAGACA	487
CTGF-817-16 -13983	13983	Ch1	oooooooooooo o	0000mmmm0mm	GGAGCGCCUGUUC	488
CTGF-1174-1 6-13984	13984	Ch1	oooooooooooo o	0mm0mm0m00mm0	GCCAUUACAACUG	489
CTGF-1005-1 6-13985	13985	Ch1	oooooooooooo o	000mmmmmm00mm	GAGCUUUCUGGCU	490
CTGF-814-16 -13986	13986	Ch1	oooooooooooo o	00m0000mmmm0	AGUGGAGCGCCUG	491
CTGF-816-16 -13987	13987	Ch1	oooooooooooo o	m0000mmmm0mm	UGGAGCGCCUGUU	492
CTGF-1001-1 6-13988	13988	Ch1	oooooooooooo o	0mm000mmmmmm	GUUUGAGCUUUCU	493
CTGF-1173-1 6-13989	13989	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0mm0m00mm	UGCCAUUACAACU	494
CTGF-749-16 -13990	13990	Ch1	oooooooooooo o	0mm000000m0m	ACUGGAAGACACG	495
CTGF-792-16 -13991	13991	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mm00mm	AACUGCCUGGUCC	496
CTGF-1162-1 6-13992	13992	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0mm0	AGACCUGUGCCUG	497
CTGF-811-16 -13993	13993	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0000mm	CAGAGUGGAGCGC	498
CTGF-797-16	13994	Ch1	oooooooooooo	mmmm00mmmm00mm	CCUGGUCCAGACC	499

[0586]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-13994			o			
CTGF-1175-1 6-13995	13995	Ch1	oooooooooooo o	mmOmOmOmOmOm	CCAUACAACUGU	500
CTGF-1172-1 6-13996	13996	Ch1	oooooooooooo o	mmOmOmOmOmOm	CUGCCAUACAAC	501
CTGF-1177-1 6-13997	13997	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	AUUACAACUGUCC	502
CTGF-1176-1 6-13998	13998	Ch1	oooooooooooo o	mOmOmOmOmOm	CAUUACAACUGUC	503
CTGF-812-16 -13999	13999	Ch1	oooooooooooo o	0000m0000mm	AGAGUGGAGCGCC	504
CTGF-745-16 -14000	14000	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	ACCGACUGGAAGA	505
CTGF-1230-1 6-14001	14001	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	AUGUACGGAGACA	506
CTGF-920-16 -14002	14002	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	GCCUUGCGAAGCU	507
CTGF-679-16 -14003	14003	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	GCUGCGAGGAGUG	508
CTGF-992-16 -14004	14004	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	GCCUAUCAAGUUU	509
CTGF-1045-1 6-14005	14005	Ch1	oooooooooooo o	OmOmOmOmOmOm	AAUUCUGUGGAGU	510
CTGF-1231-1 6-14006	14006	Ch1	oooooooooooo o	mOmOmOmOmOm	UGUACGGAGACAU	511

[0587]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-991-16 -14007	14007	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mm000mm	AGCCUAUCAAGUU	512
CTGF-998-16 -14008	14008	Ch1	oooooooooooo o	m000mm000mm	CAAGUUUGAGCUU	513
CTGF-1049-1 6-14009	14009	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000m0m0m	CUGUGGAGUAUGU	514
CTGF-1044-1 6-14010	14010	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m0000	AAAUUCUGUGGAG	515
CTGF-1327-1 6-14011	14011	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00m0m0m0	UUUCAGUAGCACA	516
CTGF-1196-1 6-14012	14012	Ch1	oooooooooooo o	m00m00m0mmmm	CAAUGACAUCUUU	517
CTGF-562-16 -14013	14013	Ch1	oooooooooooo o	00m0mm00m0m0m	AGUACCAGUGCAC	518
CTGF-752-16 -14014	14014	Ch1	oooooooooooo o	000000m0mmmm	GGAAGACACGUUU	519
CTGF-994-16 -14015	14015	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm000mmmm00	CUAUCAGUUUGA	520
CTGF-1040-1 6-14016	14016	Ch1	oooooooooooo o	00mm000mmmm0m	AGCUAAAUUCUGU	521
CTGF-1984-1 6-14017	14017	Ch1	oooooooooooo o	000m0000m0m00	AGGUAGAAUGUAA	522
CTGF-2195-1 6-14018	14018	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm00mm	AGCUGAUCAGUUU	523
CTGF-2043-1	14019	Ch1	oooooooooooo	mmmm0mm000m0	UUCUGCUCAGUA	524

[0588]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-912-16 -14032	14032	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm000mmmm	AUGGUCAGGCCUU	537
CTGF-753-16 -14033	14033	Ch1	oooooooooooo o	00000m0mmmm0	GAAGACACGUUUG	538
CTGF-918-16 -14034	14034	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0m000	AGGCCUUGCGAAG	539
CTGF-744-16 -14035	14035	Ch1	oooooooooooo o	m0mm0mm00000	UACCGACUGGAAG	540
CTGF-466-16 -14036	14036	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0000mm0	ACCGCAAGAUCGG	541
CTGF-917-16 -14037	14037	Ch1	oooooooooooo o	m000mmmm0m00	CAGGCCUUGCGAA	542
CTGF-1038-1 6-14038	14038	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000mmmm	CGAGCUAAAUUCU	543
CTGF-1048-1 6-14039	14039	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0000m0m0	UCUGUGGAGUAUG	544
CTGF-1235-1 6-14040	14040	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0m00m0	CGGAGACAUGGCA	545
CTGF-868-16 -14041	14041	Ch1	oooooooooooo o	0m00m00mmmm	AUGACAACGCCUC	546
CTGF-1131-1 6-14042	14042	Ch1	oooooooooooo o	0000mm0m00000	GAGGUCAUGAAGA	547
CTGF-1043-1 6-14043	14043	Ch1	oooooooooooo o	m000mmmm0m000	UAAAUUCUGUGGA	548
CTGF-751-16	14044	Ch1	oooooooooooo	m000000m0mm	UGGAAGACACGUU	549

[0590]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-14044			o			
CTGF-1227-1 6-14045	14045	Ch1	oooooooooooo o	0000m0m0m000	AAGAUGUACGGAG	550
CTGF-867-16 -14046	14046	Ch1	oooooooooooo o	00m00m00mmmm	AAUGACAACGCCU	551
CTGF-1128-1 6-14047	14047	Ch1	oooooooooooo o	00m000mm0m00	GGCGAGGUCAUGA	552
CTGF-756-16 -14048	14048	Ch1	oooooooooooo o	00m0m0mmmm00mm	GACACGUUUGGCC	553
CTGF-1234-1 6-14049	14049	Ch1	oooooooooooo o	0m00000m0m00m	ACGGAGACAUGGC	554
CTGF-916-16 -14050	14050	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm0m00	UCAGGCCUUGCGA	555
CTGF-925-16 -14051	14051	Ch1	oooooooooooo o	0m0000mm00mmmm	GCGAAGCUGACCU	556
CTGF-1225-1 6-14052	14052	Ch1	oooooooooooo o	000000m0m0m00	GGAAGAUGUACGG	557
CTGF-445-16 -14053	14053	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmm00mmmm	GUGACUUCGGCUC	558
CTGF-446-16 -14054	14054	Ch1	oooooooooooo o	m00mmmm00mmmm	UGACUUCGGCUCC	559
CTGF-913-16 -14055	14055	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000mmmm0	UGGUCAGGCCUUG	560
CTGF-997-16 -14056	14056	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm000mm	UCAAGUUUGAGCU	561

[0591]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-277-16 -14057	14057	Ch1	oooooooooooo o	0nm0000nm0m00	GCCAGAACUGCAG	562
CTGF-1052-1 6-14058	14058	Ch1	oooooooooooo o	m0000m0m0m0mm	UGGAGUAUGUACC	563
CTGF-887-16 -14059	14059	Ch1	oooooooooooo o	0mm0000000m00	GCUAGAGAAGCAG	564
CTGF-914-16 -14060	14060	Ch1	oooooooooooo o	00mm000mmmm0m	GGUCAGGCCUUGC	565
CTGF-1039-1 6-14061	14061	Ch1	oooooooooooo o	000mm000mmmm0	GAGCUAAAUCUG	566
CTGF-754-16 -14062	14062	Ch1	oooooooooooo o	0000m0m0mmm00	AAGACACGUUUGG	567
CTGF-1130-1 6-14063	14063	Ch1	oooooooooooo o	m0000nm0m0000	CGAGGUCAUGAAG	568
CTGF-919-16 -14064	14064	Ch1	oooooooooooo o	00mmnm0m0000m	GGCCUUGCGAAGC	569
CTGF-922-16 -14065	14065	Ch1	oooooooooooo o	mmnm0m0000mm00	CUUGCGAAGCUGA	570
CTGF-746-16 -14066	14066	Ch1	oooooooooooo o	nm00mm000000m	CCGACUGGAAGAC	571
CTGF-993-16 -14067	14067	Ch1	oooooooooooo o	mmnm0nm000mmnm0	CCUAUCAAGUUUG	572
CTGF-825-16 -14068	14068	Ch1	oooooooooooo o	m0mmmm0000mmnm	UGUCCAAGACCU	573
CTGF-926-16	14069	Ch1	oooooooooooo	m0000nm00mmnm0	CGAAGCUGACCUG	574

[0592]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
-14069			o			
CTGF-923-16 -14070	14070	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000mm00m	UUGCGAAGCUGAC	575
CTGF-866-16 -14071	14071	Ch1	oooooooooooo o	m00m00m00m0mm	CAAUGACAACGCC	576
CTGF-563-16 -14072	14072	Ch1	oooooooooooo o	0m0mm00m0m0m0	GUACCAGUGCACG	577
CTGF-823-16 -14073	14073	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0mmmm0000m	CCUGUCCAAGAC	578
CTGF-1233-1 6-14074	14074	Ch1	oooooooooooo o	m0m00000m0m00	UACGGAGACAUGG	579
CTGF-924-16 -14075	14075	Ch1	oooooooooooo o	m0m0000mm00mm	UGCGAAGCUGACC	580
CTGF-921-16 -14076	14076	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0000mm0	CCUUGCGAAGCUG	581
CTGF-443-16 -14077	14077	Ch1	oooooooooooo o	mm0m00mmmm00m	CUGUGACUUCGGC	582
CTGF-1041-1 6-14078	14078	Ch1	oooooooooooo o	0mm000mmmm0m0	GCUAAAUCUGUG	583
CTGF-1042-1 6-14079	14079	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm0m00	CUAAAUCUGUGG	584
CTGF-755-16 -14080	14080	Ch1	oooooooooooo o	000m0m0mm00m	AGACACGUUUGGC	585
CTGF-467-16 -14081	14081	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000mm00m	CCGCAAGAUCGGC	586

[0593]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
CTGF-995-16 -14082	14082	Ch1	oooooooooooo o	m0mm000mm000	UAUCAAGUUUGAG	587
CTGF-927-16 -14083	14083	Ch1	oooooooooooo o	0000mm00mm00	GAAGCUGACCUGG	588
SPP1-1091-1 6-14131	14131	Ch1	oooooooooooo o	0m0mm00mm000	GCAUUUAGUCAA	589
PPIB--16-14 188	14188	Ch1	oooooooooooo o	mmmmmmmmmmmm	GGCUACAAAACA	590
PPIB--17-14 189	14189	Ch1	oooooooooooo ooo	mm00mm0m00000 m0	UUGGCUACAAAA CA	591
PPIB--18-14 190	14190	Ch1	oooooooooooo ooooo	0mm00mm0m000 00m0	AUUUGGCUACAA ACA	592
pGL3-1172-1 6-14386	14386	chl	oooooooooooo o	0m000m0m00mm	ACAAAUACGAUUJ	593
pGL3-1172-1 6-14387	14387	chl	oooooooooooo o	DY5470m000m0m 00mm	ACAAAUACGAUUU	594
MAP4K4-2931 -25-14390	14390	Ch1	oooooooooooo oooooooooooo o	Pmmmmmmmmmmmm 000mmmmmmmmmm	CUUUGAAGAGUUC UGUGGAAGUCUA	595
miR-122--23 -14391	14391	Ch1	ssoooooooooooo oooooooossss	mmmmmmmmmmmm mmmmmmmmmmmm	ACAAACACCAUUG UCACACUCCA	596
	14084	Ch1	oooooooooooo o	mm0m000mm000	CUCAUGAAUUAGA	719
	14085	Ch1	oooooooooooo o	mm0000mm00mm0	CUGAGGUCAAUUA	720

[0594]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
	14086	Ch1	oooooooooooo o	0000mm00mm000	GAGGUCAAUAAA	721
	14087	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0000mm00mm	UCUGAGGUCAAUU	722
	14088	Ch1	oooooooooooo o	m0000mm00mm00	UGAGGUCAAUAAA	723
	14089	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0000mm00m	UUCUGAGGUCAAU	724
	14090	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm000m00	GUCAGCUGGAUGA	725
	14091	Ch1	oooooooooooo o	mmmm00m000mmmm	UUCUGAUGAAUCU	726
	14092	Ch1	oooooooooooo o	m000mm0000mm0	UGGACUGAGGUCA	727
	14093	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm0mm0mm	GAGUCUACCAUU	728
	14094	Ch1	oooooooooooo o	00mm0000mm000	GACUGAGGUCAAA	729
	14095	Ch1	oooooooooooo o	mm0m00mm0m000	UCACAGCCAUGAA	730
	14096	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0mm0mmmm	AGUCUCACCAUUC	731
	14097	Ch1	oooooooooooo o	000m00000mm0	AAGCGGAAAGCCA	732
	14098	Ch1	oooooooooooo	00m00000mm00	AGCGGAAAGCCAA	733

[0595]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14099	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m0m000m00	ACCACAUGGAUGA	734
	14100	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m00mm0m0m	GCCAUGACCACAU	735
	14101	Ch1	oooooooooooo o	000mm0m00mm0m	AAGCCAUGACCAC	736
	14102	Ch1	oooooooooooo o	0m00000mm00m	GCGGAAAGCCAAU	737
	14103	Ch1	oooooooooooo o	000mmmmmm0mm	AAAUUUCGUAUUU	738
	14104	Ch1	oooooooooooo o	0mmmmmm0mmmm	AUUUCGUAUUUCU	739
	14105	Ch1	oooooooooooo o	0000mm0m00mm0	AAAGCCAUGACCA	740
	14106	Ch1	oooooooooooo o	0m0m000m00m0m	ACAUGGAUGAUAU	741
	14107	Ch1	oooooooooooo o	0000mmmmmm0mm	GAAAUUUCGUAUU	742
	14108	Ch1	oooooooooooo o	0mmmmmmmm00mm	GCGCCUUCUGAUU	743
	14109	Ch1	oooooooooooo o	0mmmmmm0m000m	AUUUCUCAUGAAU	744
	14110	Ch1	oooooooooooo o	mmmmmm0m000m00	CUCUCAUGAAUAG	745

[0596]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
	14111	Ch1	oooooooooooo o	000mm00m000	AAGUCCAACGAAA	746
	14112	Ch1	oooooooooooo o	0m00m00000m00	AUGAUGAGAGCAA	747
	14113	Ch1	oooooooooooo o	0m00000mm000	GCGAGGAGUUGAA	748
	14114	Ch1	oooooooooooo o	m00mm00m00mm0	UGAUUGAUAGUCA	749
	14115	Ch1	oooooooooooo o	000m00m0m0mm	AGAUAGUGCAUCU	750
	14116	Ch1	oooooooooooo o	0m0m0m0mm0mm	AUGUGUAUCUAAU	751
	14117	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0000000	UUCUAUAGAAGAA	752
	14118	Ch1	oooooooooooo o	mm0mmmm00m00mm	UUGUCCAGCAAUU	753
	14119	Ch1	oooooooooooo o	0m0m000000m0	ACAUGGAAAGCGA	754
	14120	Ch1	oooooooooooo o	0m00mmmm000mm0	GCAGUCCAGAUUA	755
	14121	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000m0m0m	UGGUUGAAUGUGU	756
	14122	Ch1	oooooooooooo o	mm0m0000m00m	UUAUGAAACGAGU	757
	14123	Ch1	oooooooooooo	m00mmmm000mm0m	CAGUCCAGAUUAU	758

[0597]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14124	Ch1	oooooooooooo o	0m0m000m:0000	AUAUAAGCGGAAA	759
	14125	Ch1	oooooooooooo o	m0mm00mm000m0	UACCAGUUAACA	760
	14126	Ch1	oooooooooooo o	m0mmmm0mmmm0m0	UGUUCAUUCUAUA	761
	14127	Ch1	oooooooooooo o	mm0mm0000000	CCGACCAAGGAAA	762
	14128	Ch1	oooooooooooo o	000m00m0m0m0m	GAAUGGUGCAUAC	763
	14129	Ch1	oooooooooooo o	0m0m00m00mm0	AUAUGAUGGCCGA	764
	14130	Ch1	oooooooooooo o	00m00mmmm000mm	AGCAGUCCAGAUU	765
	14132	Ch1	oooooooooooo o	00m0mmmm0m0m	AGCAUCCGAUGU	766
	14133	Ch1	oooooooooooo o	m00mm00000mmmm	UAGUCAGGAACUU	767
	14134	Ch1	oooooooooooo o	m0m0mmmm00mm00	UGCAUUUAGUCAA	768
	14135	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm00m000mmmm	GUCUGAUGAGUCU	769
	14136	Ch1	oooooooooooo o	m000m0m0m0m00	UAGACACAUAGA	770

[0598]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
	14137	Ch1	oooooooooooo o	m000m0000m0m	CAGACGAGGACAU	771
	14138	Ch1	oooooooooooo o	m00mm000mm0	CAGCCGUGAAUUC	772
	14139	Ch1	oooooooooooo o	00mm00000m00	AGUCUGGAAUAA	773
	14140	Ch1	oooooooooooo o	00mm0m00mm0	AGUUUGUGGCUUC	774
	14141	Ch1	oooooooooooo o	00mm00m0000	AGUCCAACGAAAG	775
	14142	Ch1	oooooooooooo o	000mmmm000m	AAGUUUCGCAGAC	776
	14143	Ch1	oooooooooooo o	00m00m000m0m	AGCAAUGAGCAUU	777
	14144	Ch1	oooooooooooo o	mm000m00m0m	UUAGAUAGUGCAU	778
	14145	Ch1	oooooooooooo o	m00m0m0m000	UGGUGCAUACAAG	779
	14146	Ch1	oooooooooooo o	0m0000m00mm0	AUGAAACGAGUCA	780
	14147	Ch1	oooooooooooo o	mm0000m0mm000	CCAGAGUGCUGAA	781
	14148	Ch1	oooooooooooo o	m00mm0m000mm0	CAGCCAUGAAUUU	782
	14149	Ch1	oooooooooooo	0mm00mm000m0m	AUUGGUUGAUGU	783

[0599]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14150	Ch1	oooooooooooo o	00mm000m0m0m0	GGUUGAAUGUGUA	784
	14151	Ch1	oooooooooooo o	00000m00mm00m	GGAAAUACUAAU	785
	14152	Ch1	oooooooooooo o	mm0m000m00000	UCAUGAAUAGAAA	786
	14153	Ch1	oooooooooooo o	0mm00m00mm00	GCCAGCAACCGAA	787
	14154	Ch1	oooooooooooo o	m0mmmm0m0m0m0	CACCUCACACAUG	788
	14155	Ch1	oooooooooooo o	00mm000m00m0m	AGUUGAAUGGUGC	789
	14156	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm000m0	AGUCAGCUGGAUG	790
	14157	Ch1	oooooooooooo o	m0m000m00000	UAUAAGCGGAAAG	791
	14158	Ch1	oooooooooooo o	mmmm0m0m00mm	UUCCGAUGUGAUU	792
	14159	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm00m0m0m	AUAACUAUGUGU	793
	14160	Ch1	oooooooooooo o	mm0mmmm0m0000	UCAUUCUAUAGAA	794
	14161	Ch1	oooooooooooo o	00mm0mm0mm0m0	AACUAUCACUGUA	795

[0600]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
	14162	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mm0mm0m	GUCAAUUGC UUAU	796
	14163	Ch1	oooooooooooo o	00m00mm00m000	AGCAAUUAUAAA	797
	14164	Ch1	oooooooooooo o	0m0mmmm00m00	ACGACUCUGAUGA	798
	14165	Ch1	oooooooooooo o	m00m0m00mm0m	UAGUGUGGUUUAU	799
	14166	Ch1	oooooooooooo o	000mm00m00m00	AAGCCAAUGAUGA	800
	14167	Ch1	oooooooooooo o	0m00mm00000mm	AUAGUCAGGAACU	801
	14168	Ch1	oooooooooooo o	00mm00mm000	AGUCAGCCGUGAA	802
	14169	Ch1	oooooooooooo o	0mm0mm0m00000	ACUACCAUGAGAA	803
	14170	Ch1	oooooooooooo o	000m000mm00mm	AAACAGGCUGAUU	804
	14171	Ch1	oooooooooooo o	000m0mm0000mm	GAGUGCUGAAACC	805
	14172	Ch1	oooooooooooo o	m000m0mmmm0m	UGAGCAUUCGUAU	806
	14173	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm0m00mm0	AAUCCACAGCCA	807
	14174	Ch1	oooooooooooo	m0mm00mm0mm0	UGCAAUUGC UUA	808

[0601]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
			o			
	14175	Ch1	oooooooooooo o	0mm0m00000mm0	ACCAUGAGAAUUG	809
	14176	Ch1	oooooooooooo o	mm00m0000mm0	CCAACGAAAGCCA	810
	14177	Ch1	oooooooooooo o	mm00mm0mm00mm	CUGGUCACUGAUU	811
	14178	Ch1	oooooooooooo o	m00mmmm0m000mm	UGGUUUAUGGACU	812
	14179	Ch1	oooooooooooo o	00mm0000m0mm0	GACCAGAGUGCUG	813
	14180	Ch1	oooooooooooo o	00m0m00mm00m0	GAUGUGAUUGAUA	814
	14181	Ch1	oooooooooooo o	0mm00mmmm000m	GUCAGCCGUGAAU	815
	14182	Ch1	oooooooooooo o	00m0m0m0mmmm0m	AAUGUGUAUCUAU	816
	14183	Ch1	oooooooooooo o	mm000mmmm00000	UUGAGUCUGGAAA	817
	14184	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm00m00mm00	GUCCAGCAAUUA	818
	14185	Ch1	oooooooooooo o	mm00m00mm00m0	CCAGCAAUUAUA	819
	14186	Ch1	oooooooooooo o	00mmmm00m0mm	GACUCGAACGACU	820

[0602]

ID 编号	寡聚物 编号	有义突 出端化 学修饰	有义骨架	有义化学修饰	有义序列	SEQ ID NO:
	14187	Ch1	oooooooooooo o	0mmmm0mm00m00m	ACCUGCCAGCAAC	821

[0603] 表 3 :有义骨架、化学修饰和序列信息。O :磷酸二酯 ;s :硫代磷酸酯 ;P :5’磷酸化 ;
O :2’ -OH ;F :2’ - 氟代 ;m :2’ O- 甲基 ;+ :LNA 修饰。序列中的大写字母表示核糖核苷酸,小
写字母表示脱氧核糖核苷酸。

[0604] 尽管已经描述了本发明至少一个实施方案的几个方面,应理解本领域技术人员可
容易地设想多种变化、修改和改进。这些变化、修改和改进是本公开内容的一部分,并且在
本发明的精神和范围内。因此,之前的说明和附图只是示例。

[0605] 只采用常规试验本领域技术人员能识别或能确定本发明特定实施方案的多个等
同方案。以下权利要求旨在涵盖这些等同方案。

[0606] 本文公开的所有参考文献(包括专利文件)均通过全文引用并入。本申请通过引
用将待批美国临时申请 No. 61/135, 855(于 2008 年 7 月 24 日提交,题为“SHORT HAIRPIN
RNAI CONSTRUCTS AND USES THEROF,”)和美国临时申请 No. 61/197, 768(于 2008 年 10 月
30 日提交,题为“MINIRNA CONSTRUCTS AND USES THEREOF.”)的全部内容(包括所有附图
和说明书的所有部分(包括序列表或氨基酸 / 多核苷酸序列))并入。

[0001]

序 列 表

<110> RXi Pharmaceuticals Corporation
Khvorova, Anastasia
Salomon, William
Kamens, Joanne
Samarsky, Dmitry
Woolf, Tod
Cardia, James

<120> 减小大小的自递送RNAi化合物

<130> R0659.70000WO00

<140> 未转让

<141> 2009-09-22

<150> US 61/192,954

<151> 2008-09-22

<150> US 61/149,946

<151> 2009-02-04

<150> US 61/224,031

<151> 2009-07-08

<160> 821

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 1

auugguauuc agugugaug

19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 2

auucguauug agucugauc

19

<210> 3

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

[0002]

<400> 3 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 4 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 4 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 5 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 5 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 6 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 6 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 7 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 7 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 8 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0003]

<400> 8 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 9 <211> 17 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 9 uagacuucca cagaacu	17
<210> 10 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 10 auugguauuc agugugauga c	21
<210> 11 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 11 auucguauug agucugauca c	21
<210> 12 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 12 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 13 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 13	

[0004]

uagacuucca cagaacucu	19
<210> 14	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 14	
uagacuucca cagaacucu	19
<210> 15	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 15	
uagacuucca cagaacucuu c	21
<210> 16	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 16	
uagacuucca cagaacucuu c	21
<210> 17	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 17	
uagacuucca cagaacucuu caaag	25
<210> 18	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 18	
auugguauuc agugugauga c	21

[0005]

<210> 19
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 19
auucguauug agucugauca c 21

<210> 20
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 20
uagacuucca cagaacucu 19

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

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 21
auugguauuc agugugauga c 21

<210> 22
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 22
auucguauug agucugauca c 21

<210> 23
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 23
uagacuucca cagaacucu 19

[0006]

<210>	24	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	24	
uagacuucca	cagaacucu	19
<210>	25	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	25	
uagacuucca	cagaacucu	19
<210>	26	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	26	
uagacuucca	cagaacucu	19
<210>	27	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	27	
uagacuucca	cagaacucu	19
<210>	28	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	28	
uagacuucca	cagaacucu	19

[0007]

<210> 29
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 29
uagacuucca cagaacucu 19

<210> 30
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 30
uagacuucca cagaacucu 19

<210> 31
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 31
uagacuucca cagaacucu 19

<210> 32
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 32
uagacuucca cagaacucu 19

<210> 33
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 33
uagacuucca cagaacucu 19

<210> 34

[0008]

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	34	
uagacuucca cagaacucu		19
<210>	35	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	35	
uagacuucca cagaacucu		19
<210>	36	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	36	
uagacuucca cagaacucu		19
<210>	37	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	37	
uagacuucca cagaacucu		19
<210>	38	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	38	
uguuuuugua gccaaaucc		19
<210>	39	
<211>	19	

[0009]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	39	
	uacuuucuuu auuuccacc	19
<210>	40	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	40	
	uucuuuucca ccuuugccc	19
<210>	41	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	41	
	cuuuguacuu ucuucauuu	19
<210>	42	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	42	
	ucuuuguacu uucuucauu	19
<210>	43	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	43	
	ucagcaguca cauuugcca	19
<210>	44	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0010]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 44

auugcccaag ucuccaaca

19

<210> 45

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 45

uucugcucga aaugauga

19

<210> 46

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 46

aaaucguauu ugucaauca

19

<210> 47

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 47

aaaucguauu ugucaauca

19

<210> 48

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 48

uagacuucca cagaacucu

19

<210> 49

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

[0011]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	49	
uagacuucca	cagaacucu	19
<210>	50	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	50	
uagacauccu	acacagcac	19
<210>	51	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	51	
uguuucucca	gauccuugc	19
<210>	52	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	52	
uguuucucca	gauccuugc	19
<210>	53	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	53	
uagcagauga	guccauuug	19
<210>	54	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0012]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	54	
uagcagauga guccauuugg aga		23
<210>	55	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	55	
uagcagauga guccauuug		19
<210>	56	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	56	
uagcagauga guccauuugg aga		23
<210>	57	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	57	
auguuguuuc uccagaucc		19
<210>	58	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	58	
auguuguuuc uccagaucc		19
<210>	59	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0013]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	59	
	uguuugaggg acucuguga	19
<210>	60	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	60	
	uguuugaggg acucuguga	19
<210>	61	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	61	
	auugguauuc agugugaug	19
<210>	62	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	62	
	auugguauuc agugugauga cac	23
<210>	63	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	63	
	auugguauuc agugugaug	19
<210>	64	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0014]

<400> 64 auugguauuc agugugauga cac	23
<210> 65 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 65 uagacuucca cagaacucu	19
<210> 66 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 66 uacauuucc uguaguaca	19
<210> 67 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 67 aggcgucucca cucuguggu	19
<210> 68 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 68 ugucuuccag ucgguuagc	19
<210> 69 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0015]

<400> 69 gaacaggcgc uccacucug	19
<210> 70 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 70 caguuguaau ggcaggcac	19
<210> 71 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 71 agccagaaag cucaaacu	19
<210> 72 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 72 caggcgcucc acucugugg	19
<210> 73 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 73 aacaggcgcu ccacucugu	19
<210> 74 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 74	

[0016]

agaaagcuca aacuugaua	19
<210> 75	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 75	
aguuguaaug gcaggcaca	19
<210> 76	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 76	
cgugucuucc agucgguaa	19
<210> 77	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 77	
ggaccaggca guuggcucu	19
<210> 78	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 78	
caggcacagg ucuugauga	19
<210> 79	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 79	
gcgcuccacu cuguggucu	19

[0017]

<210>	80	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	80	
	ggucuggacc aggcaguug	19
<210>	81	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	81	
	acaguuguaa uggcaggca	19
<210>	82	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	82	
	guuguaaugg caggcacag	19
<210>	83	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	83	
	ggacaguugu aauggcagg	19
<210>	84	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	84	
	gacaguugua auggcaggc	19

[0018]

<210>	85	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	85	
	ggcgcuccac ucugugguc	19
<210>	86	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	86	
	ucuuccaguc gguaagccg	19
<210>	87	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	87	
	ugucuccgua caucuuccu	19
<210>	88	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	88	
	agcuucgcaa gccugacc	19
<210>	89	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	89	
	cacuccucgc agcauuucc	19

<210> 90
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 90
aaacuugaua ggcuuggag

19

<210> 91
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 91
acuccacaga auuuagcuc

19

<210> 92
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 92
augucuccgu acaucuucc

19

<210> 93
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 93
aacuugauag gcuuggaga

19

<210> 94
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 94
aagcucaaac uugauaggc

19

<210> 95

[0020]

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	95	
acauacucca	cagaauua	19
<210>	96	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	96	
cuccacagaa	uuuagcucg	19
<210>	97	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	97	
ugugcuacug	aaaucuuu	19
<210>	98	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	98	
aaagauguca	uugucuccg	19
<210>	99	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	99	
gugcacuggu	acuugcagc	19
<210>	100	
<211>	19	

[0021]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	100	
	aaacgugucu uccagucgg	19
<210>	101	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	101	
	ucaaacuuga uaggcuugg	19
<210>	102	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	102	
	acagaauuuu gcucgguau	19
<210>	103	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	103	
	uuacauucua ccuauggug	19
<210>	104	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	104	
	aaacugauca gouauauag	19
<210>	105	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0022]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	105	
	uaucugagca gaauuucca	19
<210>	106	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	106	
	uuaacuuaga uaacuguac	19
<210>	107	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	107	
	uauuacucgu auaagauc	19
<210>	108	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	108	
	aagcugucca gucuaaucg	19
<210>	109	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	109	
	uaauaaaggc cauuguuc	19
<210>	110	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0023]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	110	
uuuagcucgg	uauucuuuc	19
<210>	111	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	111	
acacucucuaa	caaaauaaac	19
<210>	112	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	112	
uagcucggua	ugucuucau	19
<210>	113	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	113	
uaaccuuucu	gcugguacc	19
<210>	114	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	114	
uuaaggaaca	acuugacuc	19
<210>	115	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0024]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	115	
uuacacuuca	aaugcagg	19
<210>	116	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	116	
uccaggucag	cuucgcaag	19
<210>	117	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	117	
cuucuucaug	accucgccg	19
<210>	118	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	118	
aaggccugac	caugcacag	19
<210>	119	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	119	
caaacguguc	uuccagucg	19
<210>	120	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0025]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 120

cuucgcaagg ccugaccu

19

<210> 121

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 121

cuuccagucg guaagccgc

19

<210> 122

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 122

ccgaucuugc gguuggccg

19

<210> 123

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 123

uucgcaaggc cugaccaug

19

<210> 124

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 124

agaauuuagc ucgguangu

19

<210> 125

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

[0026]

<400> 125		
cauacuccac agaauuuag		19
<210> 126		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 126		
ugccaugucu ccguacauc		19
<210> 127		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 127		
gaggcguugu cauugguaa		19
<210> 128		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 128		
ucuucaugac cucgcgcuc		19
<210> 129		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 129		
uccacagaau uuagcucgg		19
<210> 130		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		

[0027]

<400> 130 aacgugucuu ccagucggu	19
<210> 131 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 131 cuccguacau cuuccugua	19
<210> 132 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 132 aggcguguc auugguaac	19
<210> 133 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 133 ucaugaccuc gccgucagg	19
<210> 134 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 134 ggccaaacgu gucuuccag	19
<210> 135 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 135	

[0028]

gccaugucuc cguacaucu	19
<210> 136	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 136	
ucgcaaggcc ugaccaugc	19
<210> 137	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 137	
aggucagcuu cgcaaggcc	19
<210> 138	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 138	
ccguacaucu uccuguagu	19
<210> 139	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 139	
gagccgaagu cacagaaga	19
<210> 140	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 140	
ggagccgaag ucacagaag	19

[0029]

<210>	141	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	141	
	caaggccuga ccaugcaca	19
<210>	142	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	142	
	agcucaaacu ugauaggcu	19
<210>	143	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	143	
	cugcaguucu ggccgacgg	19
<210>	144	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	144	
	gguacauacu ccacagaau	19
<210>	145	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	145	
	cugcuucucu agccugcag	19

[0030]

<210>	146	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	146	
	gcaaggccug accaugcac	19
<210>	147	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	147	
	cagaauuuag cucgguaug	19
<210>	148	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	148	
	ccaaacgugu cuuccaguc	19
<210>	149	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	149	
	cuucaugacc ucgccguca	19
<210>	150	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	150	
	gcuucgcaag gccugacca	19

[0031]

<210>	151	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	151	
	ucagcuucgc aaggccuga	19
<210>	152	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	152	
	gucuuccagu cgguaagcc	19
<210>	153	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	153	
	caaacuugau aggcuuugga	19
<210>	154	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	154	
	aggucuugga acaggcgcu	19
<210>	155	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	155	
	caggucagcu ucgcaaggc	19
<210>	156	

[0032]

<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 156
gucagcuucg caaggccug 19

<210> 157
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 157
ggcguuguca uugguaacc 19

<210> 158
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 158
cgugcacugg uacuugcag 19

<210> 159
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 159
gucuuggaac aggcgcucc 19

<210> 160
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 160
ccaugucucc guacaucuu 19

<210> 161
<211> 19

[0033]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	161	
	ggucagcuuc gcaaggccu	19
<210>	162	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	162	
	cagcuucgca aggccugac	19
<210>	163	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	163	
	gccgaaguca cagaagagg	19
<210>	164	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	164	
	cacagaauuu agcucggua	19
<210>	165	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	165	
	ccacagaauu uagcucggu	19
<210>	166	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0034]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	166	
	gccaaacgug ucuuccagu	19
<210>	167	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	167	
	gccgaucuuug cgguuaggcc	19
<210>	168	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	168	
	cuaaaacuug auaggcuug	19
<210>	169	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	169	
	ccaggucagc uucgcaagg	19
<210>	170	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	170	
	uuugacuaaa ugcaaagug	19
<210>	171	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0035]

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 171
uguuuuugua gccaaaucc 19

<210> 172
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 172
uguuuuugua gccaaaucc 19

<210> 173
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 173
uguuuuugua gccaaaucc 19

<210> 174
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 174
aaaucguauu ugucaauca 19

<210> 175
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 175
aaaucguauu ugucaauca 19

<210> 176
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

[0036]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	176	
gucaucacac	ugaauaccaa u	21
<210>	177	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	177	
gugaucagac	ucaauacgaa u	21
<210>	178	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	178	
cuguggaagu	cua	13
<210>	179	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	179	
cuguggaagu	cua	13
<210>	180	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	180	
cuguggaagu	cua	13
<210>	181	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0037]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	181	
cuguggaagu	cua	13
<210>	182	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	182	
cuguggaagu	cua	13
<210>	183	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	183	
cuguggaagu	cua	13
<210>	184	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	184	
cuguggaagu	cua	13
<210>	185	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	185	
cuguggaagu	cua	13
<210>	186	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0038]

<400> 186 cuguggaagu cua	13
<210> 187 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 187 cuguggaagu cua	13
<210> 188 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 188 gucaucacac ugaauaccaa u	21
<210> 189 <211> 21 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 189 gugaucagac ucaauacgaa u	21
<210> 190 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 190 cuguggaagu cua	13
<210> 191 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0039]

<400> 191 cuguggaagu cua	13
<210> 192 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 192 cuguggaagu cua	13
<210> 193 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 193 cuguggaagu cua	13
<210> 194 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 194 cuguggaagu cua	13
<210> 195 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 195 cuguggaagu cua	13
<210> 196 <211> 27 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 196	

[0040]

uc <u>au</u> aggu <u>aa</u> cc <u>uc</u> uggu <u>ug</u> aaaguga	27
<210> 197	
<211> 27	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 197	
cg <u>gc</u> uacagg ug <u>cu</u> uau <u>gaa</u> gaa <u>gua</u>	27
<210> 198	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 198	
gu <u>ca</u> ucacac ug <u>aa</u> uac <u>caa</u> u	21
<210> 199	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 199	
gu <u>ga</u> ucagac u <u>ca</u> auac <u>gaa</u> u	21
<210> 200	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 200	
cugug <u>ga</u> agu <u>cua</u>	13
<210> 201	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 201	
gu <u>ca</u> ucacac ug <u>aa</u> uac <u>caa</u> u	21

[0041]

<210>	202	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	202	
	gugaucagac ucaauacgaa u	21
<210>	203	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	203	
	uguaggau gu cua	13
<210>	204	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	204	
	cuguggaagu cua	13
<210>	205	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	205	
	cuguggaagu cua	13
<210>	206	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	206	
	acugaauacc aau	13

[0042]

<210>	207	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	207	
cuguggaagu cua		13
<210>	208	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	208	
cuguggaagu cua		13
<210>	209	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	209	
cuguggaagu cua		13
<210>	210	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	210	
cuguggaagu cua		13
<210>	211	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	211	
cuguggaagu cua		13

[0043]

<210> 212
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 212
cuguggaagu cua

13

<210> 213
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 213
cuguggaagu cua

13

<210> 214
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 214
cuguggaagu cua

13

<210> 215
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 215
cuguggaagu cua

13

<210> 216
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 216
cuguggaagu cua

13

<210> 217

[0044]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	217	
	cuguggaagu cua	13
<210>	218	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	218	
	cuguggaagu cua	13
<210>	219	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	219	
	cuguggaagu cua	13
<210>	220	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	220	
	agaguucugu ggaagucua	19
<210>	221	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	221	
	agaguucugu ggaagucua	19
<210>	222	
<211>	13	

[0045]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	222	
	auuuggcuac aaa	13
<210>	223	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	223	
	acaaauacga uuu	13
<210>	224	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	224	
	acaaauacga uuu	13
<210>	225	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	225	
	cuguggaagu cua	13
<210>	226	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	226	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	227	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0046]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 227

agguggaaau gaa

13

<210> 228

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 228

agaaaguaca aag

13

<210> 229

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 229

gaaaguacaa aga

13

<210> 230

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 230

augugacugc uga

13

<210> 231

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 231

agacuugggc aaU

13

<210> 232

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

[0047]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	232	
	auuucgagca gaa	13
<210>	233	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	233	
	aucuggagaa aca	13
<210>	234	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	234	
	ucagaacaag aaa	13
<210>	235	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	235	
	gacucaucug cua	13
<210>	236	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	236	
	ggagaaacaa cau	13
<210>	237	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0048]

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 237	
agucccucaa aca	13
<210> 238	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 238	
ggcuacaaaa aca	13
<210> 239	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 239	
agaucuggag aaaca	15
<210> 240	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 240	
uggacucauc ugcua	15
<210> 241	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 241	
cuggagaaac aacau	15
<210> 242	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	

[0049]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	242	
	agagucccuc aaaca	15
<210>	243	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	243	
	acugaaauacc aaau	13
<210>	244	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	244	
	acacugaaua ccaau	15
<210>	245	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	245	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	246	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	246	
	agguggaaau gaa	13
<210>	247	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0050]

<400> 247 agaaaguaca aag	13
<210> 248 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 248 gaaaguacaa aga	13
<210> 249 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 249 augugacugc uga	13
<210> 250 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 250 agacuugggc aaU	13
<210> 251 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 251 auuucgagca gaa	13
<210> 252 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0051]

<400> 252
acaaauacga uuu 13

<210> 253
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 253
acaaauacga uuu 13

<210> 254
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 254
agaguucugu ggaagucua 19

<210> 255
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 255
acaggaagau gua 13

<210> 256
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 256
gaguggagcg ccu 13

<210> 257
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 257

[0052]

cgacuggaag aca	13
<210> 258	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 258	
ggagcgccug uuc	13
<210> 259	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 259	
gccauuacaa cug	13
<210> 260	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 260	
gagcuuucug gcu	13
<210> 261	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 261	
aguggagcgc cug	13
<210> 262	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 262	
uggagcgccu guu	13

[0053]

<210>	263	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	263	
	guuugagcuu ucu	13
<210>	264	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	264	
	ugccauuaca acu	13
<210>	265	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	265	
	acuggaagac acg	13
<210>	266	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	266	
	aacugccugg ucc	13
<210>	267	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	267	
	agaccugugc cug	13

[0054]

<210>	268	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	268	
cagaguggag	cgc	13
<210>	269	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	269	
ccugguccag	acc	13
<210>	270	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	270	
ccaauacaac	ugu	13
<210>	271	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	271	
cugccaauac	aac	13
<210>	272	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	272	
auuacaacug	ucc	13

[0055]

<210> 273
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 273
cauuacaacu guc 13

<210> 274
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 274
agaguggagc gcc 13

<210> 275
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 275
accgacugga aga 13

<210> 276
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 276
auguacggag aca 13

<210> 277
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 277
gccuugcgaa gcu 13

<210> 278

[0056]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	278	
	gcugcgagga gug	13
<210>	279	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	279	
	gccuaucaag uuu	13
<210>	280	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	280	
	aaucugugg agu	13
<210>	281	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	281	
	uguacggaga cau	13
<210>	282	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	282	
	agccuaucaa guu	13
<210>	283	
<211>	13	

[0057]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	283	
	caaguuugag cuu	13
<210>	284	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	284	
	cuguggagua ugu	13
<210>	285	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	285	
	aaauucugug gag	13
<210>	286	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	286	
	uuucaguagc aca	13
<210>	287	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	287	
	caaugacauc uuu	13
<210>	288	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0058]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	288	
	aguaccagug cac	13
<210>	289	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	289	
	ggaagacacg uuu	13
<210>	290	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	290	
	cuaucaaguu uga	13
<210>	291	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	291	
	agcuaaaauuc ugu	13
<210>	292	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	292	
	agguagaaug uaa	13
<210>	293	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0059]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	293	
	agcugaucag uuu	13
<210>	294	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	294	
	uucugcucag aua	13
<210>	295	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	295	
	uuaucuaagu uaa	13
<210>	296	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	296	
	uauacgagua aua	13
<210>	297	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	297	
	gacuggacag cuu	13
<210>	298	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0060]

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 298
auggccuuua uua 13

<210> 299
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 299
auaccgagcu aaa 13

<210> 300
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 300
uuguugagag ugu 13

<210> 301
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 301
acauaccgag cua 13

<210> 302
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 302
agcagaaagg uua 13

<210> 303
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

[0061]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 303

aguuguuccu uaa

13

<210> 304

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 304

auuugaagug uaa

13

<210> 305

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 305

aagcugaccu gga

13

<210> 306

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 306

ggucaugaag aag

13

<210> 307

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 307

auggucaggc cuu

13

<210> 308

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

[0062]

<400> 308 gaagacacgu uug	13
<210> 309 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 309 aggccuugcg aag	13
<210> 310 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 310 uaccgacugg aag	13
<210> 311 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 311 accgcaagau cgg	13
<210> 312 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 312 caggccuugc gaa	13
<210> 313 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0063]

<400> 313 cgagcuaaaau ucu	13
<210> 314 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 314 ucuguggagu aug	13
<210> 315 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 315 cggagacaug gca	13
<210> 316 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 316 augacaacgc cuc	13
<210> 317 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 317 gaggucauga aga	13
<210> 318 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 318	

[0064]

uaaaauucugu gga	13
<210> 319	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 319	
uggaagacac guu	13
<210> 320	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 320	
aagauguacg gag	13
<210> 321	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 321	
aaugacaacg ccu	13
<210> 322	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 322	
ggcgagguca uga	13
<210> 323	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 323	
gacacguuug gcc	13

[0065]

<210>	324	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	324	
	acggagacau ggc	13
<210>	325	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	325	
	ucaggccuug cga	13
<210>	326	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	326	
	gcgaagcuga ccu	13
<210>	327	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	327	
	ggaagaugua cgg	13
<210>	328	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	328	
	gugacuucgg cuc	13

[0066]

<210>	329	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	329	
	ugacuucggc ucc	13
<210>	330	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	330	
	uggucaggcc uug	13
<210>	331	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	331	
	ucaaguuuga gcu	13
<210>	332	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	332	
	gccagaacug cag	13
<210>	333	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	333	
	uggaguaugu acc	13

[0067]

<210> 334
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 334
gcuagagaag cag

13

<210> 335
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 335
ggucaggccu ugc

13

<210> 336
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 336
gagcuaaau cug

13

<210> 337
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 337
aagacacguu ugg

13

<210> 338
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 338
cgaggucaug aag

13

<210> 339

[0068]

<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 339
ggccuugcga agc 13

<210> 340
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 340
cuugcgaagc uga 13

<210> 341
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 341
ccgacuggaa gac 13

<210> 342
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 342
ccuaucaagu uug 13

<210> 343
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 343
uguuccaaga ccu 13

<210> 344
<211> 13

[0069]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	344	
	cgaagcugac cug	13
<210>	345	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	345	
	uugcgaagcu gac	13
<210>	346	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	346	
	caaugacaac gcc	13
<210>	347	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	347	
	guaccagugc acg	13
<210>	348	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	348	
	ccgumccaa gac	13
<210>	349	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0070]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	349	
	uacggagaca ugg	13
<210>	350	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	350	
	ugcgaagcug acc	13
<210>	351	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	351	
	ccuugcgaag cug	13
<210>	352	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	352	
	cugugacuuc ggc	13
<210>	353	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	353	
	gcuaaaauucu gug	13
<210>	354	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0071]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	354	
	cuaaaauucug ugg	13
<210>	355	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	355	
	agacacguuu ggc	13
<210>	356	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	356	
	ccgcaagauc ggc	13
<210>	357	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	357	
	uaucaaguuu gag	13
<210>	358	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	358	
	gaagcugacc ugg	13
<210>	359	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0072]

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 359
cucaugaauu aga 13

<210> 360
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 360
cugaggucaa uua 13

<210> 361
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 361
gaggucaauu aaa 13

<210> 362
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 362
ucugagguca auu 13

<210> 363
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 363
ugaggucaau uaa 13

<210> 364
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

[0073]

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 364 uucugagguc aau	13
<210> 365 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 365 gucagcugga uga	13
<210> 366 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 366 uucugaugaa ucu	13
<210> 367 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 367 uggacugagg uca	13
<210> 368 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 368 gagucucacc auu	13
<210> 369 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0074]

<400> 369 gacugagguc aaa	13
<210> 370 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 370 ucacagccau gaa	13
<210> 371 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 371 agucucacca uuc	13
<210> 372 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 372 aagcggaag cca	13
<210> 373 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 373 agcggaagc caa	13
<210> 374 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0075]

<400> 374 accacaugga uga	13
<210> 375 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 375 gccaugacca cau	13
<210> 376 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 376 aagccaugac cac	13
<210> 377 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 377 gcggaaagcc aaU	13
<210> 378 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 378 aaauuucgua uuu	13
<210> 379 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 379	

[0076]

auuucguauu ucu	13
<210> 380	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 380	
aaagccauga cca	13
<210> 381	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 381	
acauggauga uau	13
<210> 382	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 382	
gaaauuucgu auu	13
<210> 383	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 383	
gcgccuucug auu	13
<210> 384	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 384	
auuucucaug aau	13

[0077]

<210>	385	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	385	
cucucaugaa uag		13
<210>	386	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	386	
aaguccaacg aaa		13
<210>	387	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	387	
augaugagag caa		13
<210>	388	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	388	
gcgaggaguu gaa		13
<210>	389	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	389	
ugauugauag uca		13

[0078]

<210>	390	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	390	
	agauagugca ucu	13
<210>	391	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	391	
	auguguaucu auu	13
<210>	392	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	392	
	uucuauagaa gaa	13
<210>	393	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	393	
	uuguccagca auu	13
<210>	394	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	394	
	acauggaaaag cga	13

[0079]

<210> 395
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 395
gcaguccaga uua 13

<210> 396
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 396
ugguugaaug ugu 13

<210> 397
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 397
uuauaagc agc 13

<210> 398
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 398
caguccagau uau 13

<210> 399
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 399
auauaagcgg aaa 13

<210> 400

[0080]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	400	
uaccaguuaa aca		13
<210>	401	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	401	
uguucauucu aua		13
<210>	402	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	402	
ccgaccaagg aaa		13
<210>	403	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	403	
gaauggugca uac		13
<210>	404	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	404	
auaugauggc cga		13
<210>	405	
<211>	13	

[0081]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	405	
	agcaguccag auu	13
<210>	406	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	406	
	gcuuuuaguc aaa	13
<210>	407	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	407	
	agcauuccga ugu	13
<210>	408	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	408	
	uagucaggaa cuu	13
<210>	409	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	409	
	ugcauuuagu caa	13
<210>	410	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0082]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	410	
	gucugaugag ucu	13
<210>	411	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	411	
	uagacacaua uga	13
<210>	412	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	412	
	cagacgagga cau	13
<210>	413	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	413	
	cagccgugaa uuc	13
<210>	414	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	414	
	agucuggaaa uaa	13
<210>	415	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0083]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	415	
	aguuuguggc uuc	13
<210>	416	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	416	
	aguccaacga aag	13
<210>	417	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	417	
	aaguuucgca gac	13
<210>	418	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	418	
	agcaaugagc auu	13
<210>	419	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	419	
	uuagauagug cau	13
<210>	420	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0084]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	420	
	uggugcauac aag	13
<210>	421	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	421	
	augaaacgag uca	13
<210>	422	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	422	
	ccagagugcu gaa	13
<210>	423	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	423	
	cagccaugaa uuu	13
<210>	424	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	424	
	auugguugaa ugu	13
<210>	425	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0085]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	425	
	gguugaaugu gua	13
<210>	426	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	426	
	ggaaauaacu aau	13
<210>	427	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	427	
	ucaugaauag aaa	13
<210>	428	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	428	
	gccagcaacc gaa	13
<210>	429	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	429	
	caccucacac aug	13
<210>	430	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

<400> 430 aguugaugg ugc	13
<210> 431 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 431 agucagcugg aug	13
<210> 432 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 432 uauaagcggg aag	13
<210> 433 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 433 uuccgaugug auu	13
<210> 434 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 434 auaacuaaug ugu	13
<210> 435 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0087]

<400> 435 ucauucuaua gaa	13
<210> 436 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 436 aacuaucacu gua	13
<210> 437 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 437 gucaauugcu uau	13
<210> 438 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 438 agcaauuau aaa	13
<210> 439 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 439 acgacucuga uga	13
<210> 440 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 440	

[0088]

uagugugguu uau	13
<210> 441	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 441	
aagccaauga uga	13
<210> 442	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 442	
auagucagga acu	13
<210> 443	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 443	
agucagccgu gaa	13
<210> 444	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 444	
acuaccauga gaa	13
<210> 445	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 445	
aaacaggcug auu	13

[0089]

<210> 446
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 446
gagugcugaa acc 13

<210> 447
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 447
ugagcauucc gau 13

<210> 448
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 448
aaauccacag cca 13

<210> 449
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 449
ugucaauugc uua 13

<210> 450
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 450
accaugagaa uug 13

[0090]

<210>	451	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	451	
	ccaacgaaag cca	13
<210>	452	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	452	
	cuggucacug auu	13
<210>	453	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	453	
	ugguuuauagg acu	13
<210>	454	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	454	
	gaccagagug cug	13
<210>	455	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	455	
	gaugugauug aua	13

[0091]

<210> 456
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 456
gucagccgug aau 13

<210> 457
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 457
aauguguauc uau 13

<210> 458
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 458
uugagucugg aaa 13

<210> 459
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 459
guccagcaau uaa 13

<210> 460
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 460
ccagcaauua aua 13

<210> 461

[0092]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	461	
	gacucgaacg acu	13
<210>	462	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	462	
	accugccagc aac	13
<210>	463	
<211>	13	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	463	
	actgaauacc aaU	13
<210>	464	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	464	
	acugaauacc aaU	13
<210>	465	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	465	
	cuguggaagu cua	13
<210>	466	
<211>	13	

[0093]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	466	
	ggcuacaaaa aca	13
<210>	467	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	467	
	uuggcuacaa aaaca	15
<210>	468	
<211>	17	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	468	
	auuuggcuac aaaaaca	17
<210>	469	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	469	
	uguaggau cu	13
<210>	470	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	470	
	aucuggagaa aca	13
<210>	471	
<211>	15	
<212>	RNA	

[0094]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	471	
	agaucuggag aaaca	15
<210>	472	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	472	
	gacucaucug cua	13
<210>	473	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	473	
	gacucaucug cua	13
<210>	474	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	474	
	uggacucauc ugcua	15
<210>	475	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	475	
	uggacucauc ugcua	15
<210>	476	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0095]

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 476
ggagaaacaa cau 13

<210> 477
<211> 15
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 477
cuggagaaac aacau 15

<210> 478
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 478
agucccucaa aca 13

<210> 479
<211> 15
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 479
agagucccuc aaaca 15

<210> 480
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 480
acugaauacc aaau 13

<210> 481
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

[0096]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	481	
	acugaaauacc aaau	13
<210>	482	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	482	
	acacugaaua ccaau	15
<210>	483	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	483	
	acacugaaua ccaau	15
<210>	484	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	484	
	cuguggaagu cua	13
<210>	485	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	485	
	acaggaagau gua	13
<210>	486	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0097]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 486

gaguggagcg ccu

13

<210> 487

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 487

cgacuggaag aca

13

<210> 488

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 488

ggagcgccug uuc

13

<210> 489

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 489

gccauuacaa cug

13

<210> 490

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 490

gagcuuucug gcu

13

<210> 491

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

[0098]

<400> 491 aguggagcgc cug	13
<210> 492 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 492 uggagcgccu guu	13
<210> 493 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 493 guuugagcuu ucu	13
<210> 494 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 494 ugccauuaca acu	13
<210> 495 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 495 acuggaagac acg	13
<210> 496 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0099]

<400> 496
aacugccugg ucc 13

<210> 497
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 497
agaccugugc cug 13

<210> 498
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 498
cagaguggag cgc 13

<210> 499
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 499
ccugguccag acc 13

<210> 500
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 500
ccaauacaac ugu 13

<210> 501
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 501

[0100]

cugccauuac aac	13
<210> 502	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 502	
auuacaacug ucc	13
<210> 503	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 503	
cauuacaacu guc	13
<210> 504	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 504	
agaguggagc gcc	13
<210> 505	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 505	
accgacugga aga	13
<210> 506	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 506	
auguacggag aca	13

[0101]

<210>	507	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	507	
	gccuugcgaa gcu	13
<210>	508	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	508	
	gcugcgagga gug	13
<210>	509	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	509	
	gccuaucaag uuu	13
<210>	510	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	510	
	aauucugugg agu	13
<210>	511	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	511	
	uguacggaga cau	13

[0102]

<210>	512	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	512	
	agccuaucaa guu	13
<210>	513	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	513	
	caaguuugag cuu	13
<210>	514	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	514	
	cuguggagua ugu	13
<210>	515	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	515	
	aaauucugug gag	13
<210>	516	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	516	
	uuucaguagc aca	13

[0103]

<210>	517	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	517	
caaugacauc	uuu	13
<210>	518	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	518	
aguaccagug	cac	13
<210>	519	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	519	
ggaagacacg	uuu	13
<210>	520	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	520	
cuaucaguu	uga	13
<210>	521	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	521	
agcuaaauc	ugu	13
<210>	522	

[0104]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	522	
	agguagaug uaa	13
<210>	523	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	523	
	agcugaucag uuu	13
<210>	524	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	524	
	uucugcucag aua	13
<210>	525	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	525	
	uuaucaagu uaa	13
<210>	526	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	526	
	uauacgagua aua	13
<210>	527	
<211>	13	

[0105]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	527	
	gacuggacag cuu	13
<210>	528	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	528	
	auggccuuua uua	13
<210>	529	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	529	
	auaccgagcu aaa	13
<210>	530	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	530	
	uuguugagag ugu	13
<210>	531	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	531	
	acauaccgag cua	13
<210>	532	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0106]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	532	
	agcagaaagg uua	13
<210>	533	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	533	
	aguuguuccu uaa	13
<210>	534	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	534	
	auuugaagug uaa	13
<210>	535	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	535	
	aagcugaccu gga	13
<210>	536	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	536	
	ggucaugaag aag	13
<210>	537	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0107]

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 537
auggucaggc cuu 13

<210> 538
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 538
gaagacacgu uug 13

<210> 539
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 539
aggccuugcg aag 13

<210> 540
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 540
uaccgacugg aag 13

<210> 541
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 541
accgcaagau cgg 13

<210> 542
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

[0108]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	542	
caggccuugc	gaa	13
<210>	543	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	543	
cgagcuaaa	u ucu	13
<210>	544	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	544	
ucuguggagu	aug	13
<210>	545	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	545	
cggagacaug	gca	13
<210>	546	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	546	
augacaacgc	cuc	13
<210>	547	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0109]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 547
gaggucauga aga

13

<210> 548
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 548
uaaaauucugu gga

13

<210> 549
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 549
uggaagacac guu

13

<210> 550
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 550
aagauguacg gag

13

<210> 551
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 551
aaugacaacg ccu

13

<210> 552
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

[0110]

<400> 552 ggcgagguca uga	13
<210> 553 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 553 gacacguuug gcc	13
<210> 554 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 554 acggagacau ggc	13
<210> 555 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 555 ucaggccuug cga	13
<210> 556 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 556 gcgaagcuga ccu	13
<210> 557 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0111]

<400> 557 ggaagaugua cgg	13
<210> 558 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 558 gugacuucgg cuc	13
<210> 559 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 559 ugacuucggc ucc	13
<210> 560 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 560 uggucaggcc uug	13
<210> 561 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 561 ucaaguuuga gcu	13
<210> 562 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 562	

[0112]

gccagaacug cag	13
<210> 563	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 563	
uggaguaugu acc	13
<210> 564	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 564	
gcuagagaag cag	13
<210> 565	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 565	
ggucaggccu ugc	13
<210> 566	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 566	
gagcuaaauu cug	13
<210> 567	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 567	
aagacacguu ugg	13

[0113]

<210> 568
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 568
cgaggucaug aag

13

<210> 569
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 569
ggccuugcga agc

13

<210> 570
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 570
cuugcgaagc uga

13

<210> 571
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 571
ccgacuggaa gac

13

<210> 572
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 572
ccuaucaagu uug

13

[0114]

<210>	573	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	573	
	uguuccaaga ccu	13
<210>	574	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	574	
	cgaagcugac cug	13
<210>	575	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	575	
	uugcgaagcu gac	13
<210>	576	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	576	
	caaugacaac gcc	13
<210>	577	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	577	
	guaccagugc acg	13

[0115]

<210> 578
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 578
ccuguuccaa gac 13

<210> 579
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 579
uacggagaca ugg 13

<210> 580
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 580
ugcgaagcug acc 13

<210> 581
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 581
ccuugcgaag cug 13

<210> 582
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 582
cugugacuuc ggc 13

<210> 583

[0116]

<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 583
gcuaaaauucu gug 13

<210> 584
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 584
cuaaaauucug ugg 13

<210> 585
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 585
agacacguuu ggc 13

<210> 586
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 586
ccgcaagauc ggc 13

<210> 587
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 587
uaucaaguuu gag 13

<210> 588
<211> 13

[0117]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	588	
	gaagcugacc ugg	13
<210>	589	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	589	
	gcacuuuaguc aaa	13
<210>	590	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	590	
	ggcuacaaaa aca	13
<210>	591	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	591	
	uuggcuacaa aaaca	15
<210>	592	
<211>	17	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	592	
	auuuggcuac aaaaaca	17
<210>	593	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0118]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	593	
	acaaauacga uuu	13
<210>	594	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	594	
	acaaauacga uuu	13
<210>	595	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	595	
	cuuugaagag uucuguggaa gucua	25
<210>	596	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	596	
	acaaacacca uugucacacu cca	23
<210>	597	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	597	
	uagacuucca cagaacucu	19
<210>	598	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0119]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	598	
	cuguggaagu cua	13
<210>	599	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	599	
	uagacuucca cagaacucug acaccuucag au	32
<210>	600	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	600	
	uagacuucca cag	13
<210>	601	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	601	
	cuguggaagu cua	13
<210>	602	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	602	
	uagacuucca cagaacucuu guggaagucu a	31
<210>	603	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0120]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	603	
uagacuucca	cagaacucuu guggaagucu a	31
<210>	604	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	604	
cuuugaagag	uucuguggaa gucua	25
<210>	605	
<211>	25	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	605	
uagacuucca	cagaacucuu caaag	25
<210>	606	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	606	
uagacuucca	cagaacuucu guggaagucu a	31
<210>	607	
<211>	31	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	607	
uagacuucca	cagaacuucu guggaagucu a	31
<210>	608	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0121]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	608	
	uacuuucuuc auu	13
<210>	609	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	609	
	aaugaagaaa gua	13
<210>	610	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	610	
	uacuuucuuc auuuccacca augaagaaag ua	32
<210>	611	
<211>	32	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	611	
	uacuuucuuc auuuccacca augaagaaag ua	32
<210>	612	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	612	
	uacuuucuuc auuuccacc	19
<210>	613	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0122]

<400> 613 aaugaagaaa gua	13
<210> 614 <211> 25 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 614 uacuuucuuc auuuccaccu uugcc	25
<210> 615 <211> 25 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 615 ggcaaaggug gaaaugaaga aagua	25
<210> 616 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 616 ucuaauucau gagaaauac	19
<210> 617 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 617 uaauugaccu cagaagau	19
<210> 618 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0123]

<400> 618 uuuaauugac cucagaaga	19
<210> 619 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 619 aaugaccuc agaagaugc	19
<210> 620 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 620 uuauugacc ucagaagau	19
<210> 621 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 621 auugaccuca gaagaugca	19
<210> 622 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 622 ucauccagcu gacucguuu	19
<210> 623 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 623	

[0124]

agauucauca gaauagguga	19
<210> 624	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 624	
ugaccucagu ccauaaacc	19
<210> 625	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 625	
aauggugaga cucaucaga	19
<210> 626	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 626	
uuugaccuca guccaauaa	19
<210> 627	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 627	
uucauggcug ugaaauuca	19
<210> 628	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 628	
gaauaggugag acucaucag	19

[0125]

<210>	629	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	629	
	uggcuuuccg cuuauauaa	19
<210>	630	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	630	
	uuggcuuucc gcuuauaua	19
<210>	631	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	631	
	ucauccaugu ggucauggc	19
<210>	632	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	632	
	auguggucau ggcuuucgu	19
<210>	633	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	633	
	guggucaugg cuuucguug	19

[0126]

<210>	634	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	634	
	auuggcuuuc cgcuuauau	19
<210>	635	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	635	
	aaauacgaaa uuucaggug	19
<210>	636	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	636	
	agaaauacga aaauucagg	19
<210>	637	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	637	
	uggucauggc uuucguugg	19
<210>	638	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	638	
	auaucaucca uguggucau	19

[0127]

<210>	639	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	639	
	aauacgaaau uucaggugu	19
<210>	640	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	640	
	aaucagaagg cgcguucag	19
<210>	641	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	641	
	auucaugaga aaucgaaa	19
<210>	642	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	642	
	cuaaucauga gagaauaac	19
<210>	643	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	643	
	uuucguugga cuuacuugg	19
<210>	644	

[0128]

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	644	
uugcucuc <u>au</u>	cauuggc <u>uu</u>	19
<210>	645	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	645	
uucaacuccu	cgcuu <u>ucca</u>	19
<210>	646	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	646	
ugacua <u>ucaa</u>	ucaca <u>ucgg</u>	19
<210>	647	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	647	
agaugcacua	ucua <u>auuca</u>	19
<210>	648	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	648	
aa <u>uagauaca</u>	cau <u>ucaacc</u>	19
<210>	649	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	649	
	uucuucuaua gaaugaaca	19
<210>	650	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	650	
	aaugcugga caaccgugg	19
<210>	651	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	651	
	ucgcuuucca ugugugagg	19
<210>	652	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	652	
	uaaucuggac ugcuguggg	19
<210>	653	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	653	
	acacauucaa ccauaaaac	19
<210>	654	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0130]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 654

acucguuuca uaacugucc

19

<210> 655

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 655

auaaucugga cugcuugug

19

<210> 656

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 656

uuuccgcua uauaaucug

19

<210> 657

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 657

uguuuaacug guauggcac

19

<210> 658

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 658

uauagauga acauagaca

19

<210> 659

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

[0131]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	659	
	uuuccuuggu cggcguuug	19
<210>	660	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	660	
	guaugcacca uucaacucc	19
<210>	661	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	661	
	ucggccauca uaugugucu	19
<210>	662	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	662	
	aaucuggacu gcuuguggc	19
<210>	663	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	663	
	acaucggaau gcucauugc	19
<210>	664	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0132]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	664	
	aaguuccuga cuaucuauc	19
<210>	665	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	665	
	uugacuaaaau gcaaaguga	19
<210>	666	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	666	
	agacucauca gacugguga	19
<210>	667	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	667	
	ucauaugugu cuacugugg	19
<210>	668	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	668	
	auguccucgu cuguagcau	19
<210>	669	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0133]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	669	
	gaauucacgg cugacuuug	19
<210>	670	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	670	
	uuauuuccag acucaaaaua	19
<210>	671	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	671	
	gaagccacaa acuaaacua	19
<210>	672	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	672	
	cuuucguugg acuuacuug	19
<210>	673	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	673	
	gucugcgaaa cuucuuaga	19
<210>	674	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0134]

<400> 674 aaugcucauu gcucucauc	19
<210> 675 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 675 augcacuauc uaaaucaug	19
<210> 676 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 676 cuuguaugca ccuuucaac	19
<210> 677 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 677 ugacucguuu cauaacugu	19
<210> 678 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 678 uucagcacuc uggucaucc	19
<210> 679 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0135]

<400> 679 aaauucaugg cuguggaau	19
<210> 680 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 680 acauucaacc aauaaacug	19
<210> 681 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 681 uacacauuca accaauaaa	19
<210> 682 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 682 auuaguuauu uccagacuc	19
<210> 683 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 683 uuucuaauca ugagagaau	19
<210> 684 <211> 19 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 684	

[0136]

uucggugcu ggcaggucc	19
<210> 685	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 685	
caugugugag gugaugucc	19
<210> 686	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 686	
gcaccauua acuccucgc	19
<210> 687	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 687	
cauccagcug acucguuuc	19
<210> 688	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 688	
cuuuccgcuu auauaaucu	19
<210> 689	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 689	
aaucacaucg gaauucuca	19

[0137]

<210>	690	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	690	
	acacauuagu uauuuccag	19
<210>	691	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	691	
	uucuauagaa ugaacauag	19
<210>	692	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	692	
	uacagugaua guuugcauu	19
<210>	693	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	693	
	auaagcauu gacaccacc	19
<210>	694	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	694	
	uuuauuaauu gcuggacaa	19

[0138]

<210>	695	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	695	
ucaucagagu	cguucgagu	19
<210>	696	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	696	
auaaaccaca	cuaucaccu	19
<210>	697	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	697	
ucaucauugg	cuuuccgcu	19
<210>	698	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	698	
aguuccugac	uaucaauca	19
<210>	699	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	699	
uucacggcug	acuuuggaa	19

[0139]

<210> 700
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 700
uucucauggu agugaguuu

19

<210> 701
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 701
aaucagccug uuuaacugg

19

<210> 702
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 702
gguuucagca cucugguca

19

<210> 703
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 703
aucggaaugc ucauugcuc

19

<210> 704
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 704
uggcugugga auucacggc

19

<210> 705

[0140]

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	705	
	uaagcaauug acaccacca	19
<210>	706	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	706	
	caauucucau gguagugag	19
<210>	707	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	707	
	uggcuuucgu uggacuuac	19
<210>	708	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	708	
	aaucagugac caguucauc	19
<210>	709	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	709	
	aguccauaaa ccacacuau	19
<210>	710	
<211>	19	

[0141]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	710	
	cagcacucug gucauccag	19
<210>	711	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	711	
	uaucaaucac aucggaug	19
<210>	712	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	712	
	auucacggcu gacuuugga	19
<210>	713	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	713	
	auagauacac auucaacca	19
<210>	714	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	714	
	uuuccagacu caaaauagau	19
<210>	715	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0142]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 715

uuaauugcug gacaaccgu

19

<210> 716

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 716

uauuaauugc uggacaacc

19

<210> 717

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 717

agucguucga gucaaugga

19

<210> 718

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 718

guugcuggca gguccgugg

19

<210> 719

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 719

cucaugaauu aga

13

<210> 720

<211> 13

<212> RNA

<213> 人工序列

[0143]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	720	
cugaggucaa	uua	13
<210>	721	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	721	
gaggucaauu	aaa	13
<210>	722	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	722	
ucugagguca	auu	13
<210>	723	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	723	
ugaggucaau	uua	13
<210>	724	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	724	
uucugagguc	aa	13
<210>	725	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0144]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	725	
	gucagcugga uga	13
<210>	726	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	726	
	uucugaugaa ucu	13
<210>	727	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	727	
	uggacugagg uca	13
<210>	728	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	728	
	gagucucacc auu	13
<210>	729	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	729	
	gacugagguc aaa	13
<210>	730	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0145]

<223>	合成寡核苷酸	
<400>	730	
	ucacagccau gaa	13
<210>	731	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	731	
	agucucacca uuc	13
<210>	732	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	732	
	aagcggaaag cca	13
<210>	733	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	733	
	agcggaaagc caa	13
<210>	734	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	734	
	accacauuga uga	13
<210>	735	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	

[0146]

<400> 735 gccaugacca cau	13
<210> 736 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 736 aagccaugac cac	13
<210> 737 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 737 gcggaagcc aaU	13
<210> 738 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 738 aaauuucgua uuU	13
<210> 739 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 739 auuucguauu ucu	13
<210> 740 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0147]

<400> 740 aaagccauga cca	13
<210> 741 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 741 acauggauga uau	13
<210> 742 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 742 gaaauuucgu auu	13
<210> 743 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 743 gcgccuucug auu	13
<210> 744 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 744 auuucucaug aau	13
<210> 745 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 745	

[0148]

cucucaugaa uag	13
<210> 746	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 746	
aaguccaacg aaa	13
<210> 747	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 747	
augaugagag caa	13
<210> 748	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 748	
gcgaggaguu gaa	13
<210> 749	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 749	
ugauugauag uca	13
<210> 750	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 750	
agauagugca ucu	13

[0149]

<210>	751	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	751	
auguguaucu	auu	13
<210>	752	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	752	
uucuaauagaa	gaa	13
<210>	753	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	753	
uuguccagca	auu	13
<210>	754	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	754	
acauggaaag	cga	13
<210>	755	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	755	
gcaguccaga	uua	13

[0150]

<210>	756	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	756	
	ugguugaaug ugu	13
<210>	757	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	757	
	uuaugaaacg agu	13
<210>	758	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	758	
	caguccagau uau	13
<210>	759	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	759	
	auauaagcgg aaa	13
<210>	760	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	760	
	uaccaguuaa aca	13

[0151]

<210> 761
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 761
uguucauucu aua

13

<210> 762
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 762
ccgaccaagg aaa

13

<210> 763
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 763
gaauggugca uac

13

<210> 764
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 764
auaugauggc cga

13

<210> 765
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 765
agcaguccag auu

13

<210> 766

[0152]

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	766	
	agcauuccga ugu	13
<210>	767	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	767	
	uagucaggaa cuu	13
<210>	768	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	768	
	ugcauuuagu caa	13
<210>	769	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	769	
	gucugaugag ucu	13
<210>	770	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	770	
	uagacacaua uga	13
<210>	771	
<211>	13	

[0153]

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	771	
	cagacgagga cau	13
<210>	772	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	772	
	cagccgugaa uuc	13
<210>	773	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	773	
	agucuggaaa uaa	13
<210>	774	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	774	
	aguuuguggc uuc	13
<210>	775	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	775	
	aguccaacga aag	13
<210>	776	
<211>	13	
<212>	RNA	

[0154]

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	776	
aaguuucgca gac		13
<210>	777	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	777	
agcaaugagc auu		13
<210>	778	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	778	
uuagauagug cau		13
<210>	779	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	779	
uggugcauac aag		13
<210>	780	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	780	
augaaacgag uca		13
<210>	781	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0155]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	781	
	ccagagugcu gaa	13
<210>	782	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	782	
	cagccaugaa uuu	13
<210>	783	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	783	
	auugguugaa ugu	13
<210>	784	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	784	
	gguugaaugu gua	13
<210>	785	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	785	
	ggaaaauacu aau	13
<210>	786	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

[0156]

<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	786	
	ucaugaauag aaa	13
<210>	787	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	787	
	gccagcaacc gaa	13
<210>	788	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	788	
	caccucacac aug	13
<210>	789	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	789	
	aguugaaugg ugc	13
<210>	790	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	790	
	agucagcugg aug	13
<210>	791	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		

[0157]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 791
uauaagcgga aag

13

<210> 792
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 792
uuccgaugug auu

13

<210> 793
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 793
auaacuaaug ugu

13

<210> 794
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 794
ucauucuaua gaa

13

<210> 795
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 795
aacuaucacu gua

13

<210> 796
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

[0158]

<400> 796 gucaauugcu uau	13
<210> 797 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 797 agcaauuaau aaa	13
<210> 798 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 798 acgacucuga uga	13
<210> 799 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 799 uagugugguu uau	13
<210> 800 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 800 aagccauga uga	13
<210> 801 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	

[0159]

<400> 801 auagucagga acu	13
<210> 802 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 802 agucagccgu gaa	13
<210> 803 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 803 acuaccauga gaa	13
<210> 804 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 804 aaacaggcug auu	13
<210> 805 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 805 gagugcugaa acc	13
<210> 806 <211> 13 <212> RNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成寡核苷酸	
<400> 806	

[0160]

ugagcauucc gau	13
<210> 807	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 807	
aaauccacag cca	13
<210> 808	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 808	
ugucaauugc uua	13
<210> 809	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 809	
accaugagaa uug	13
<210> 810	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 810	
ccaacgaaag cca	13
<210> 811	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 811	
cuggucacug auu	13

[0161]

<210>	812	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	812	
	ugguuuauagg acu	13
<210>	813	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	813	
	gaccagagug cug	13
<210>	814	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	814	
	gaugugauug aua	13
<210>	815	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	815	
	gucagccgug aau	13
<210>	816	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成寡核苷酸	
<400>	816	
	aauguguauc uau	13

[0162]

<210> 817
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 817
uugagucugg aaa

13

<210> 818
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 818
guccagcaau uaa

13

<210> 819
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 819
ccagcaauua aua

13

<210> 820
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 820
gacucgaacg acu

13

<210> 821
<211> 13
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 821
accugccagc aac

13

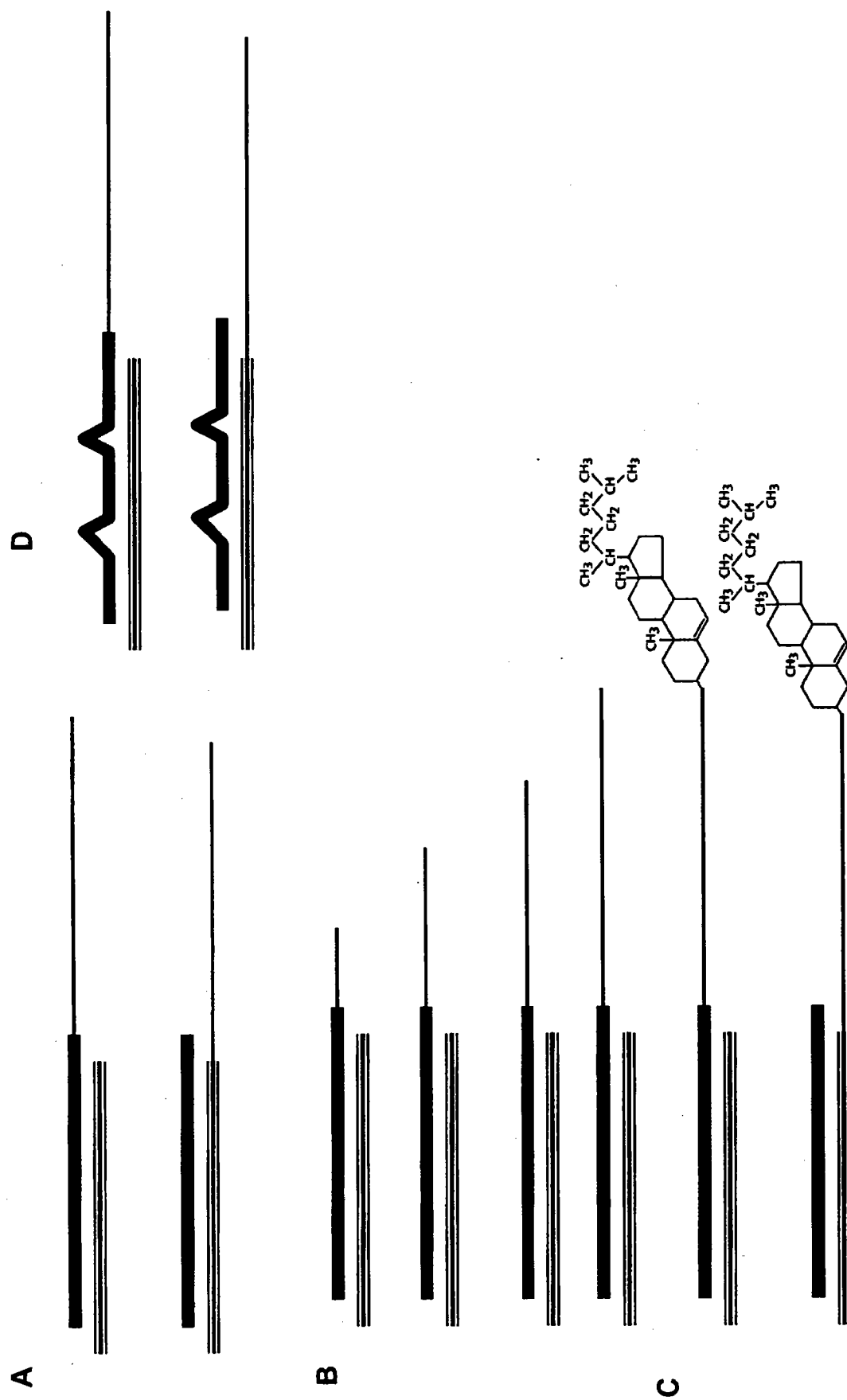


图 1

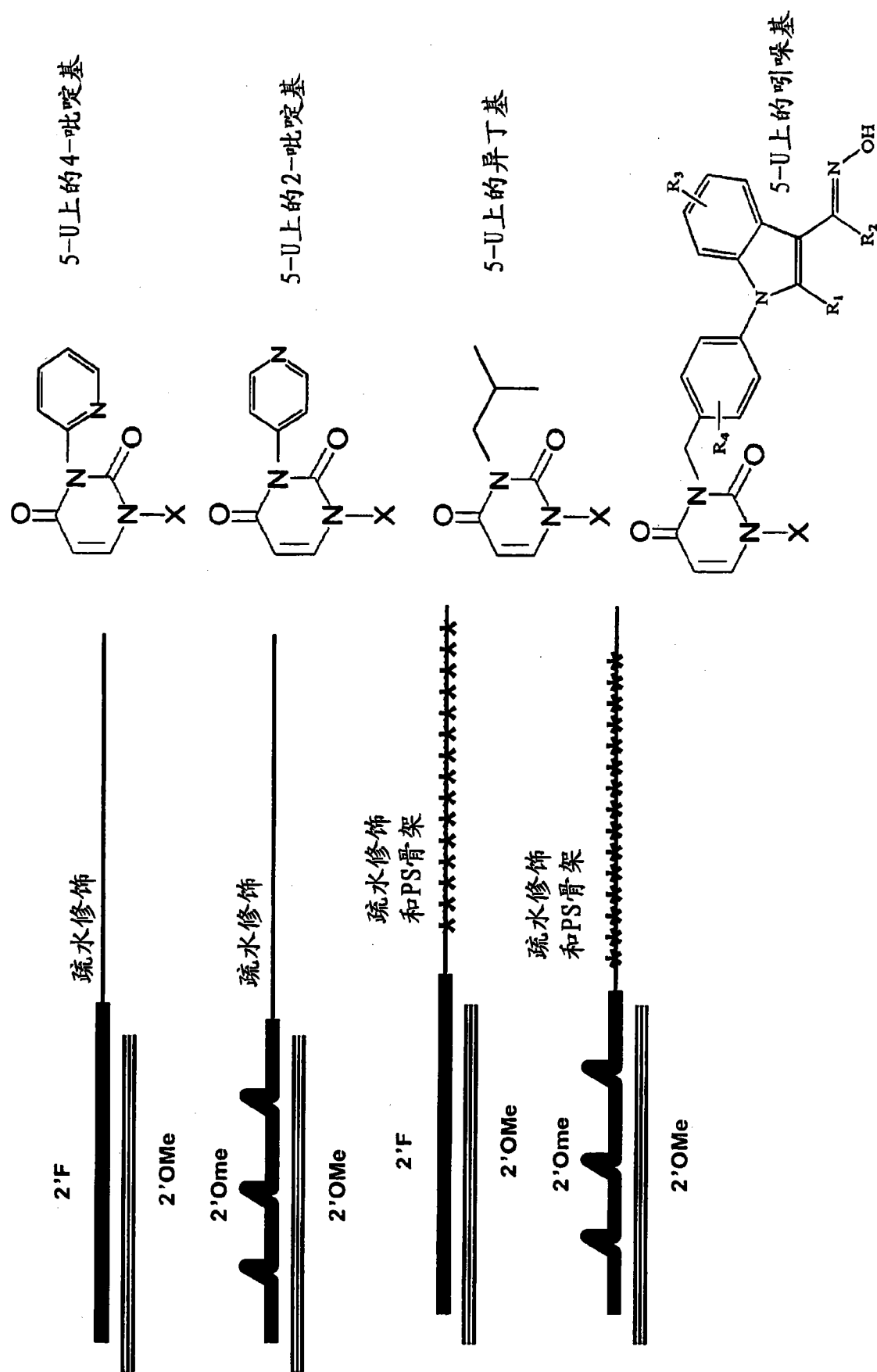


图 2

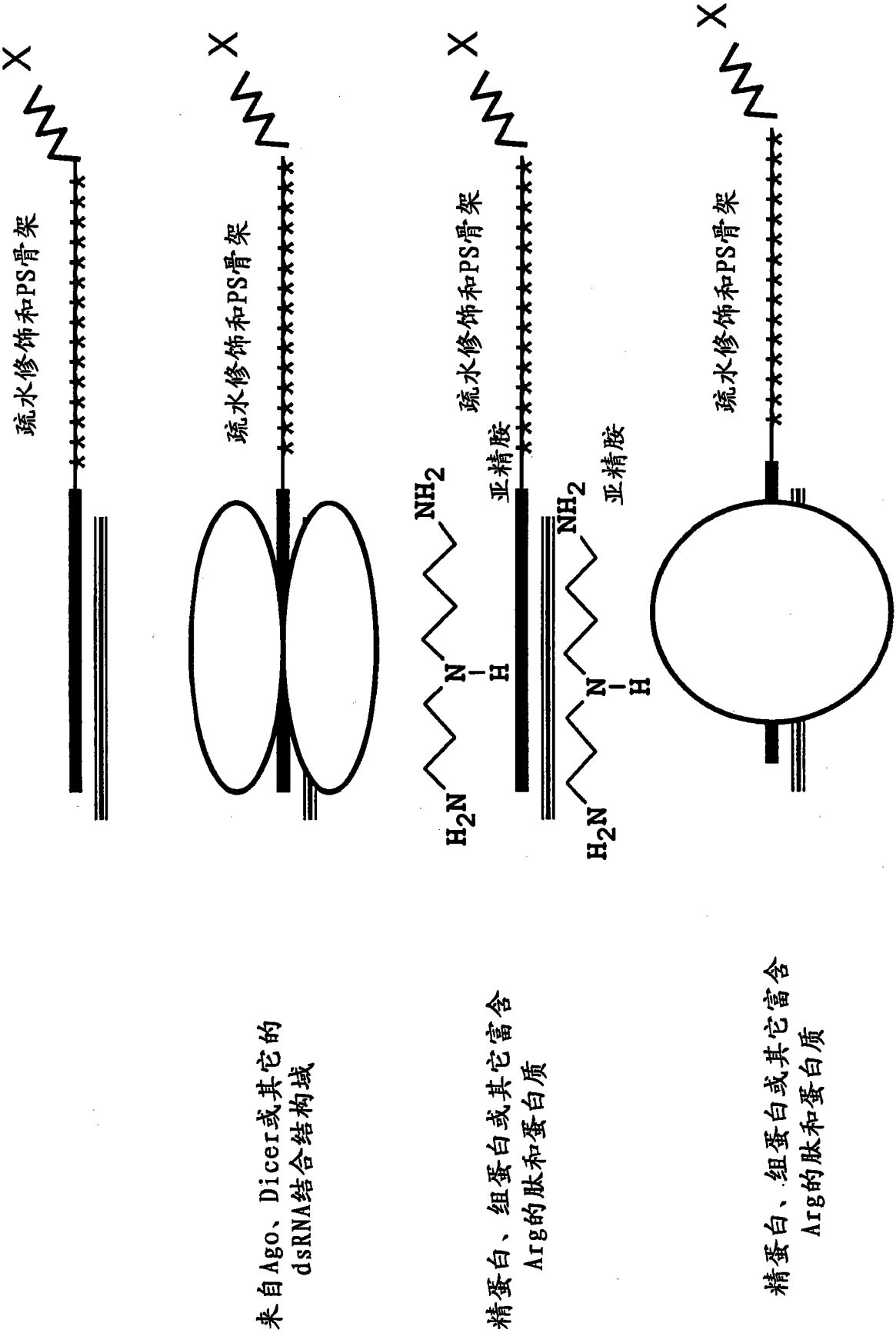


图 3

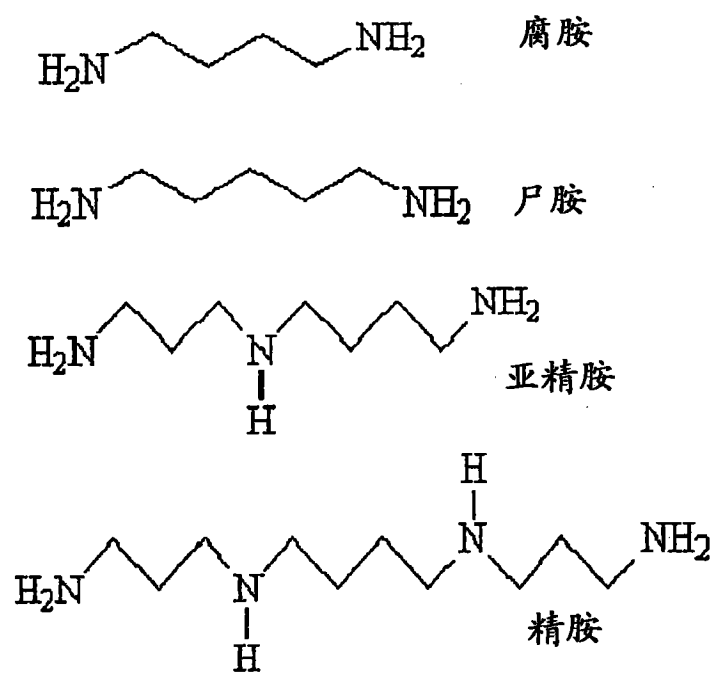


图 4

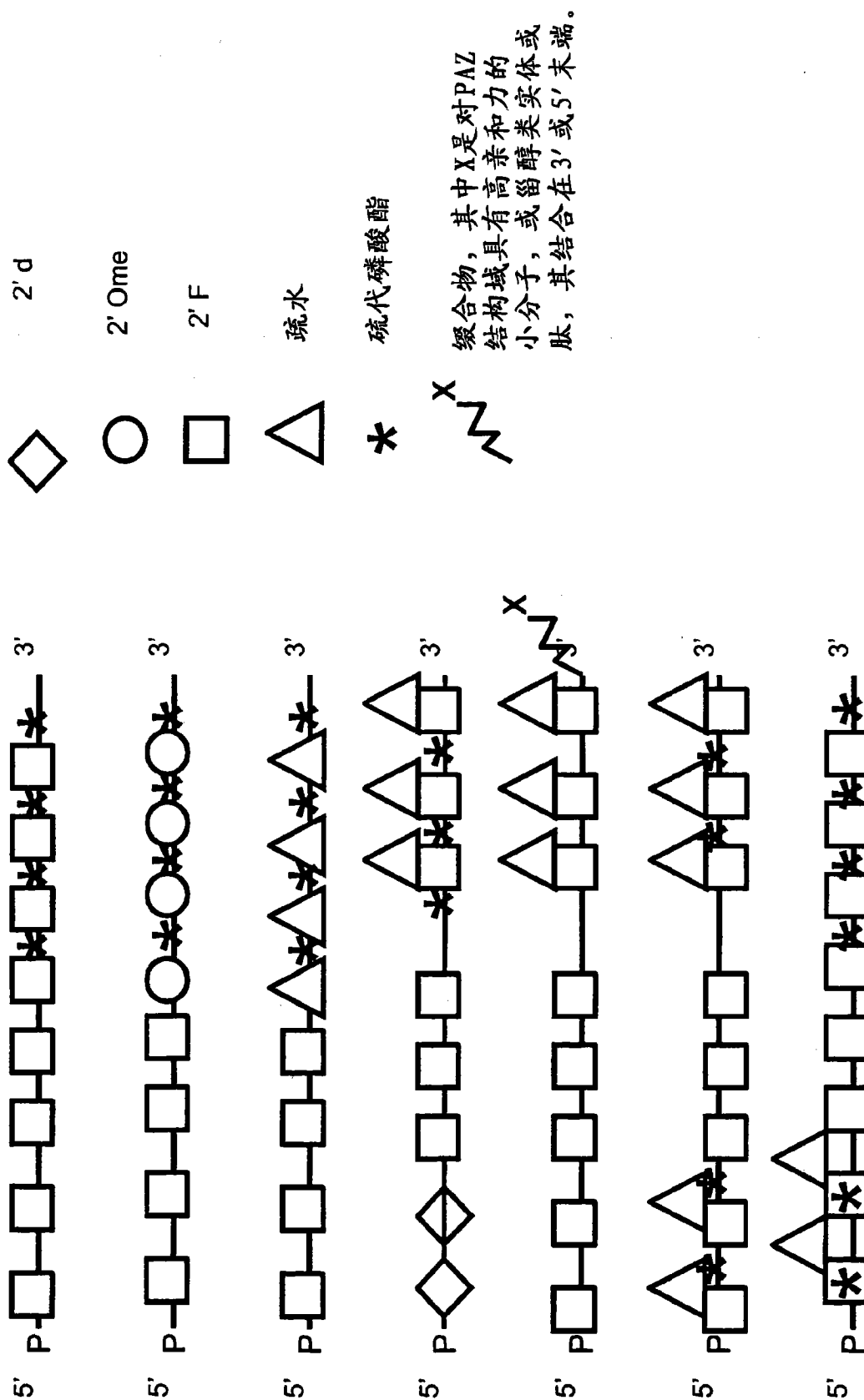


图 5

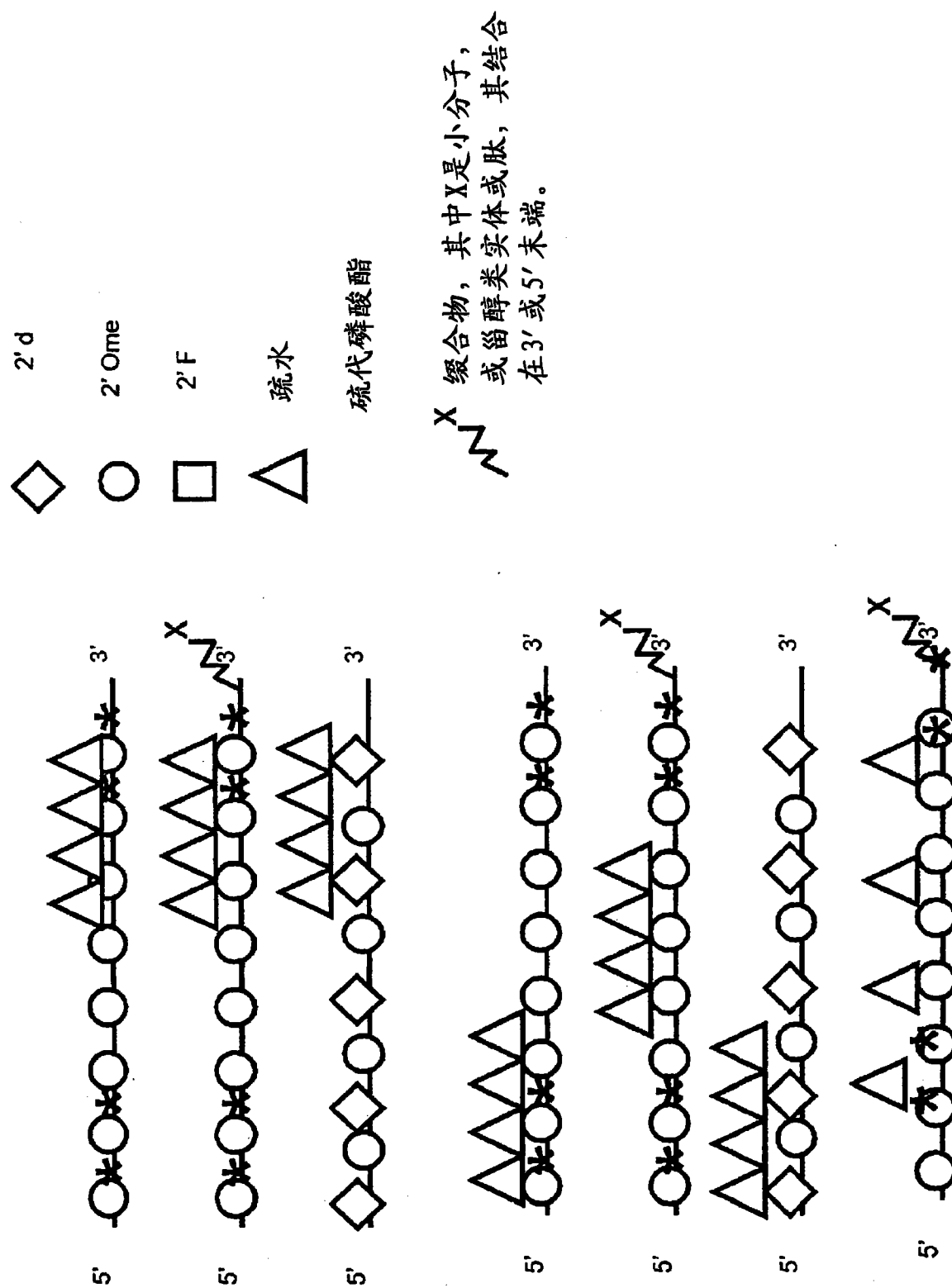


图 6

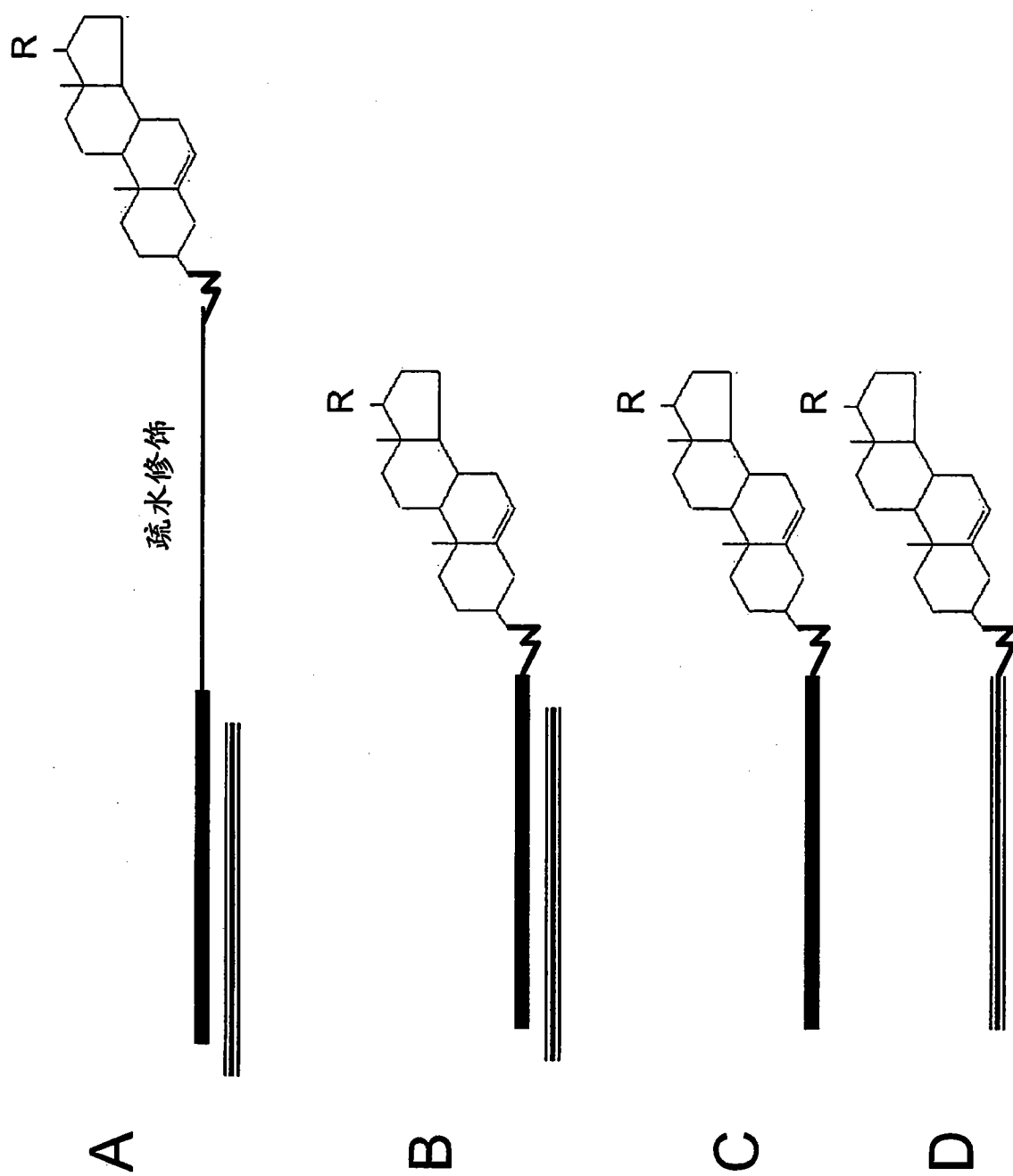


图 7

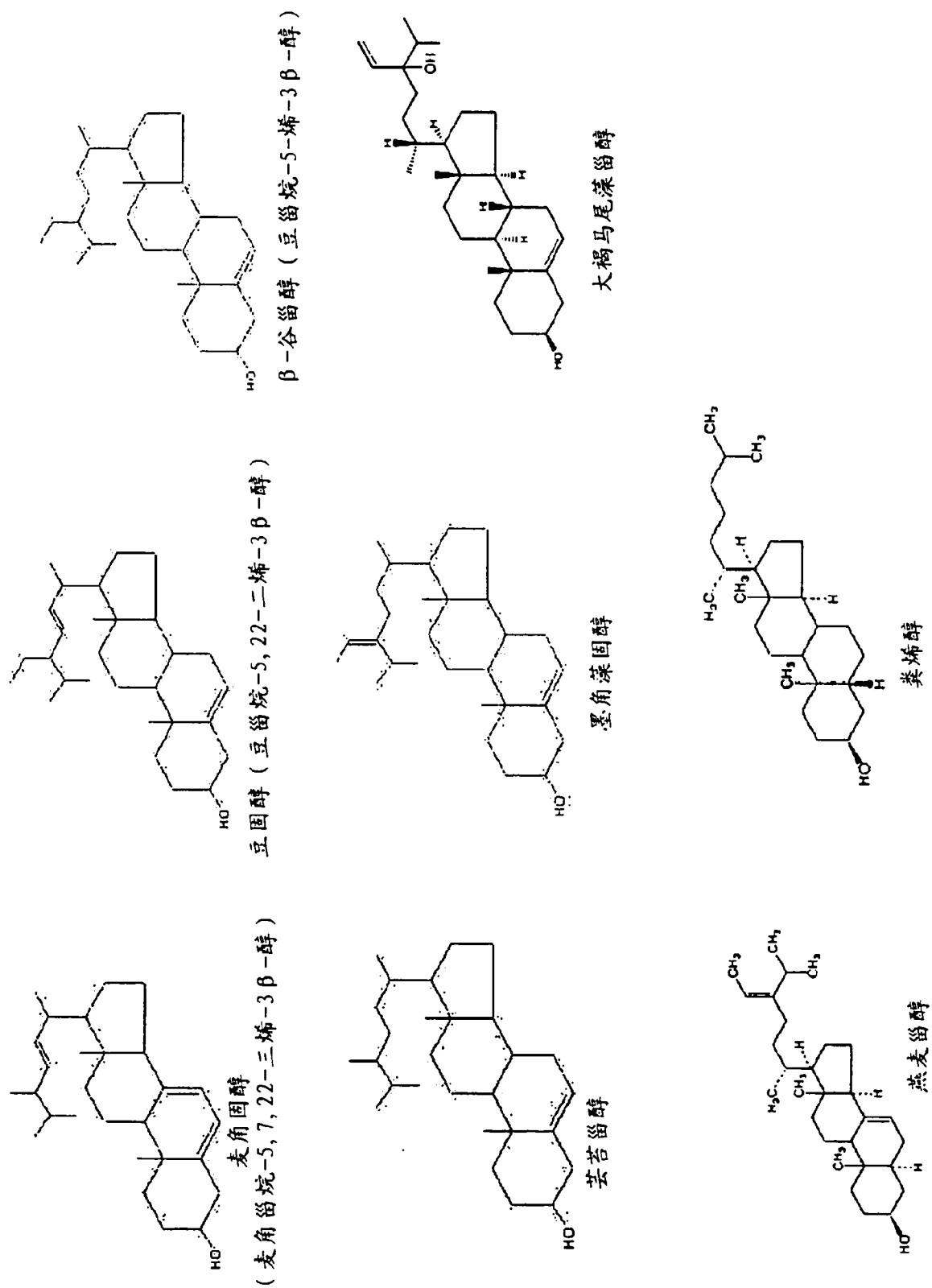
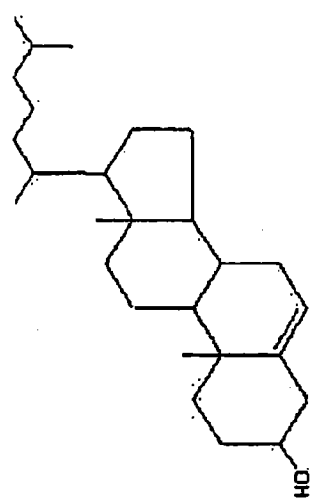
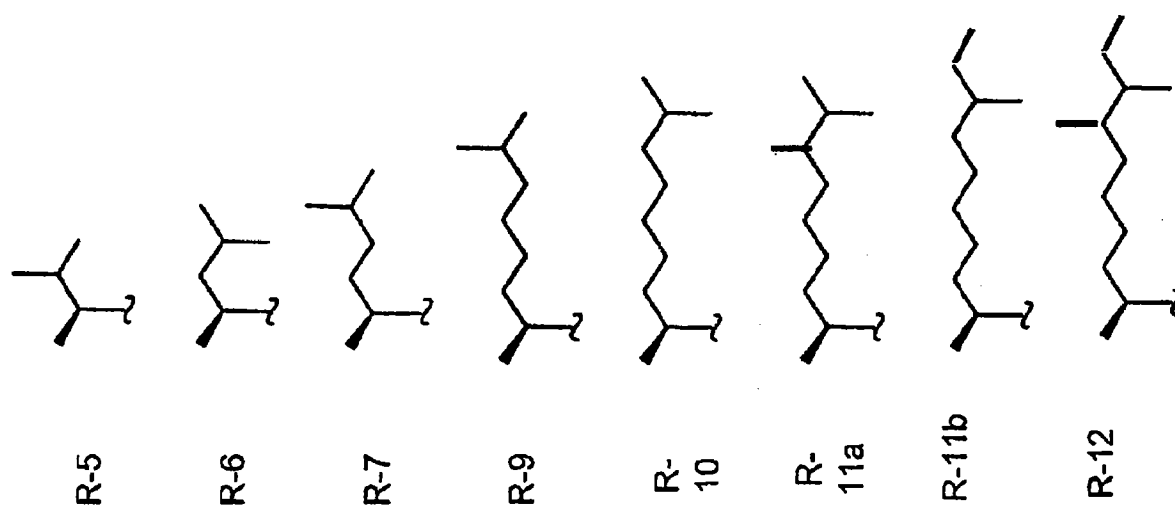


图 8



胆固醇

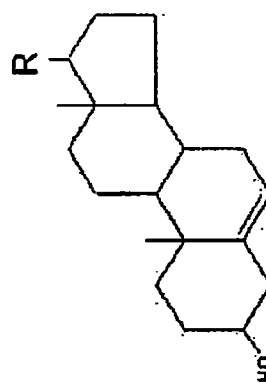


图 9

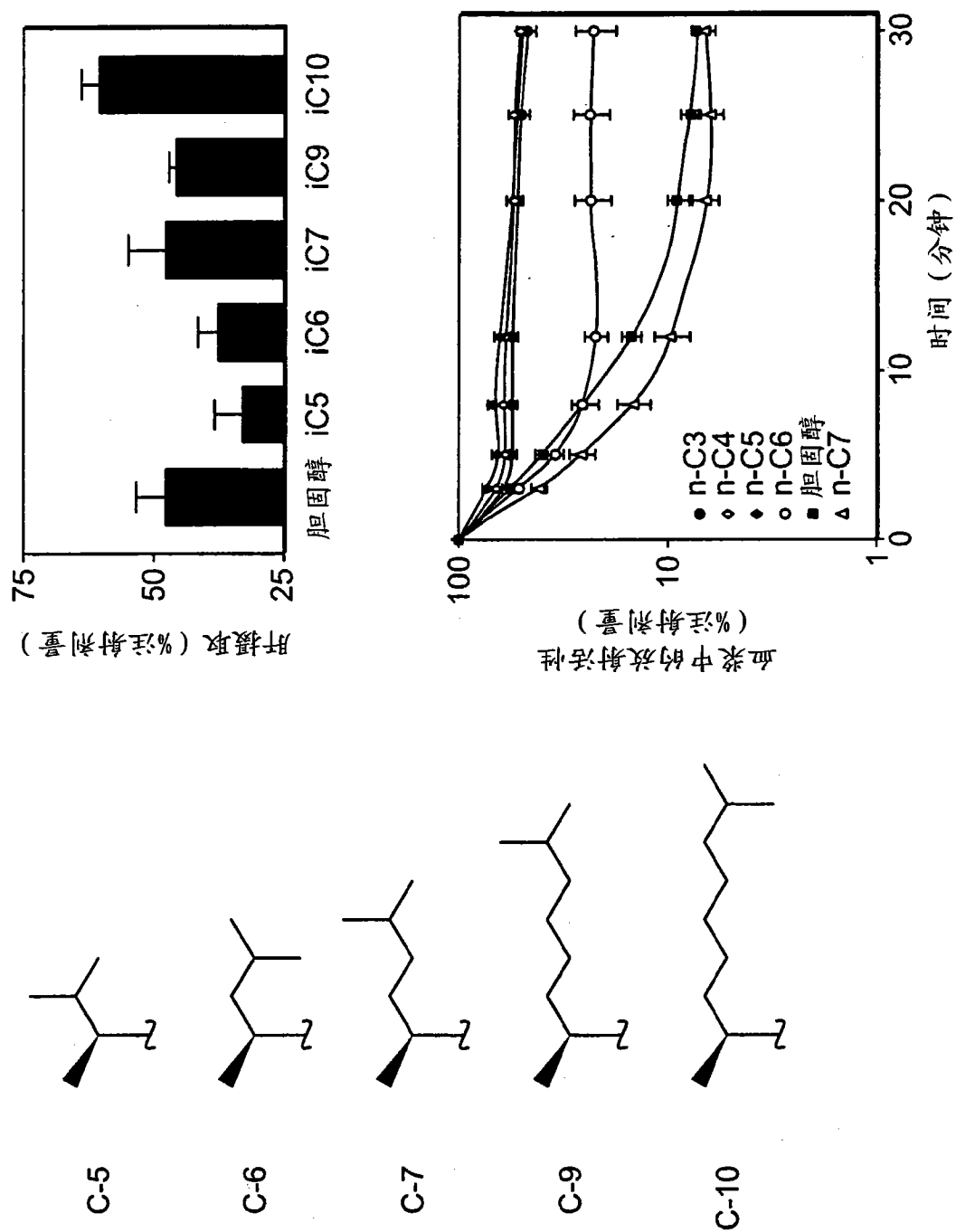


图 10

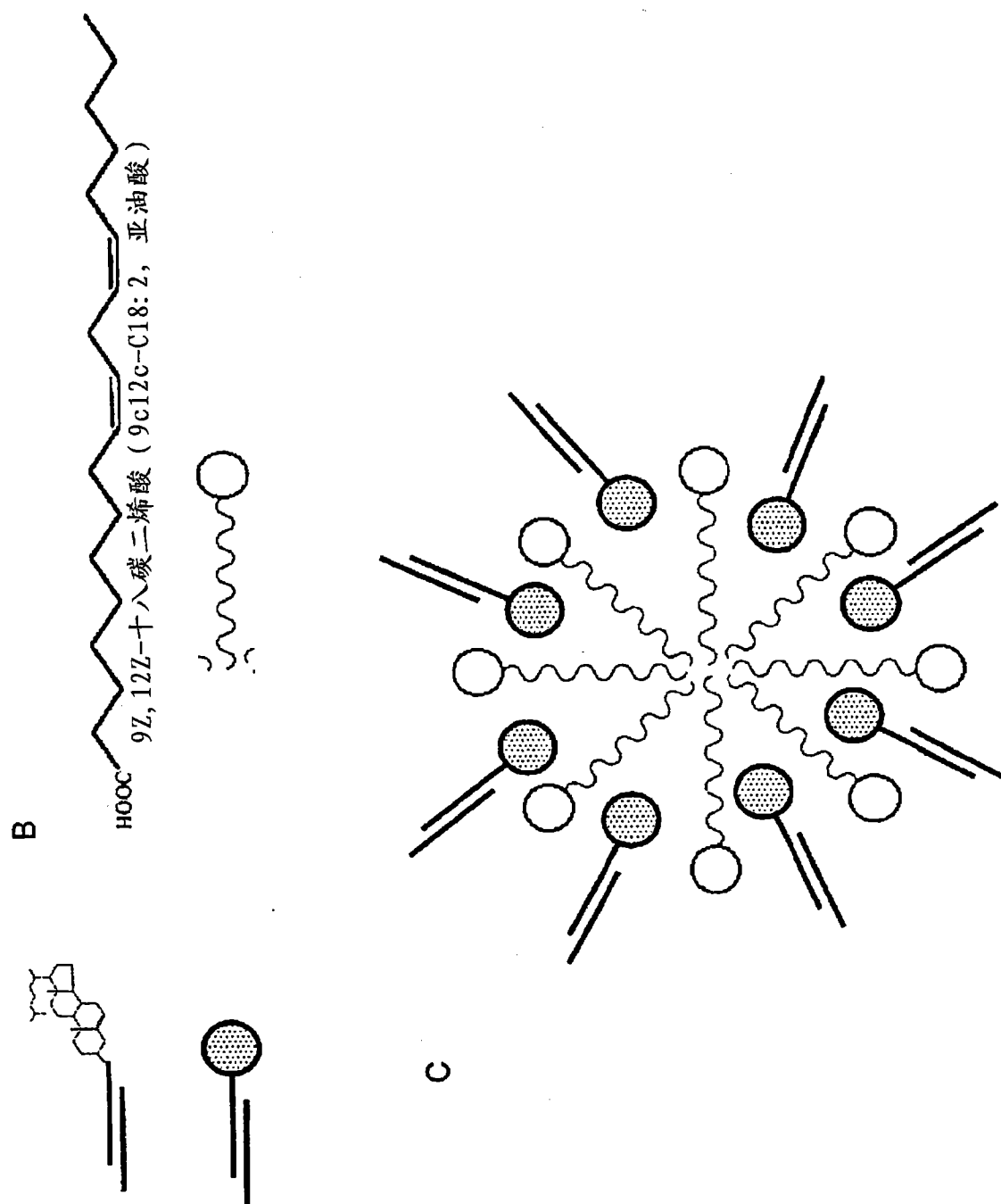


图 11

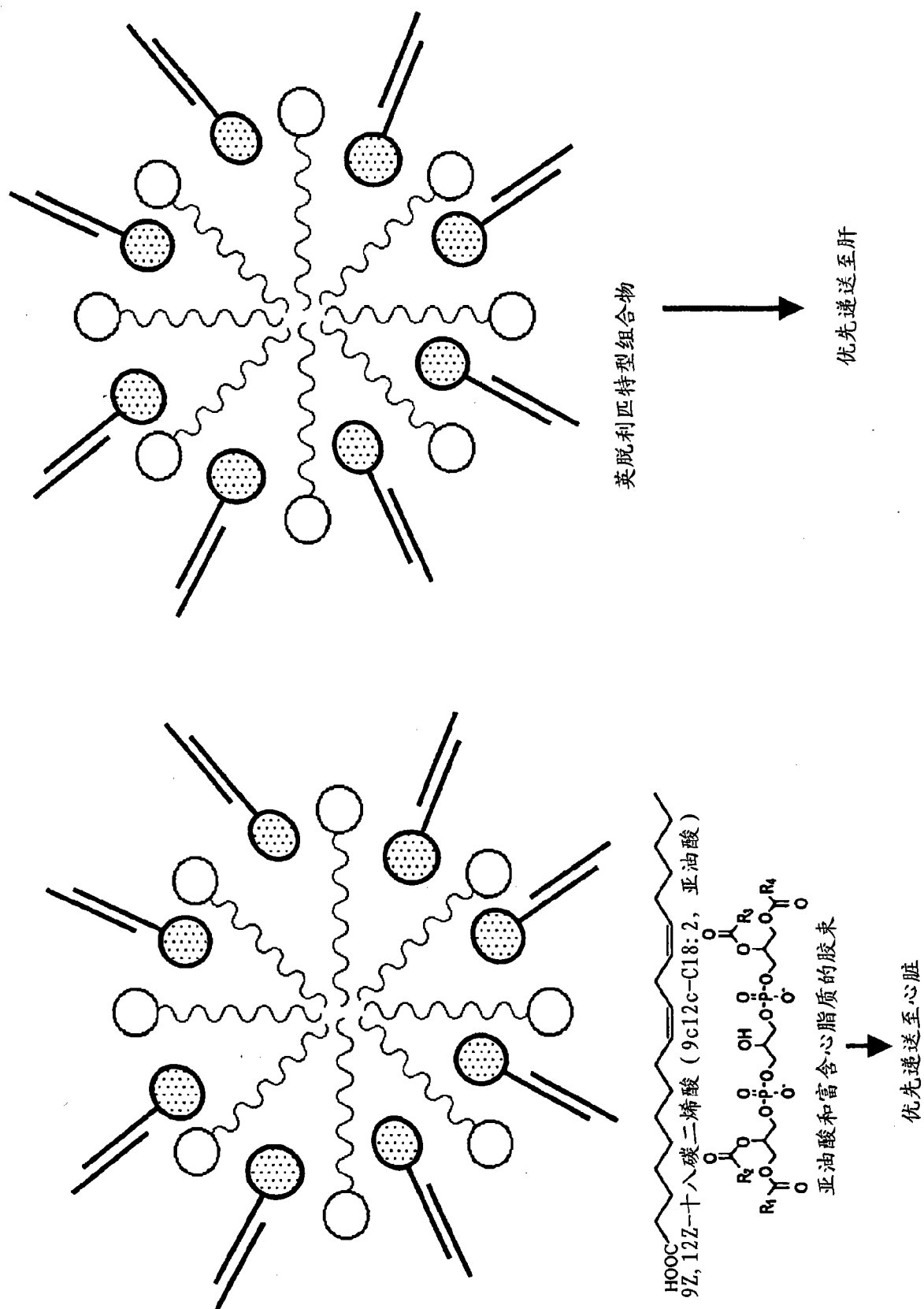
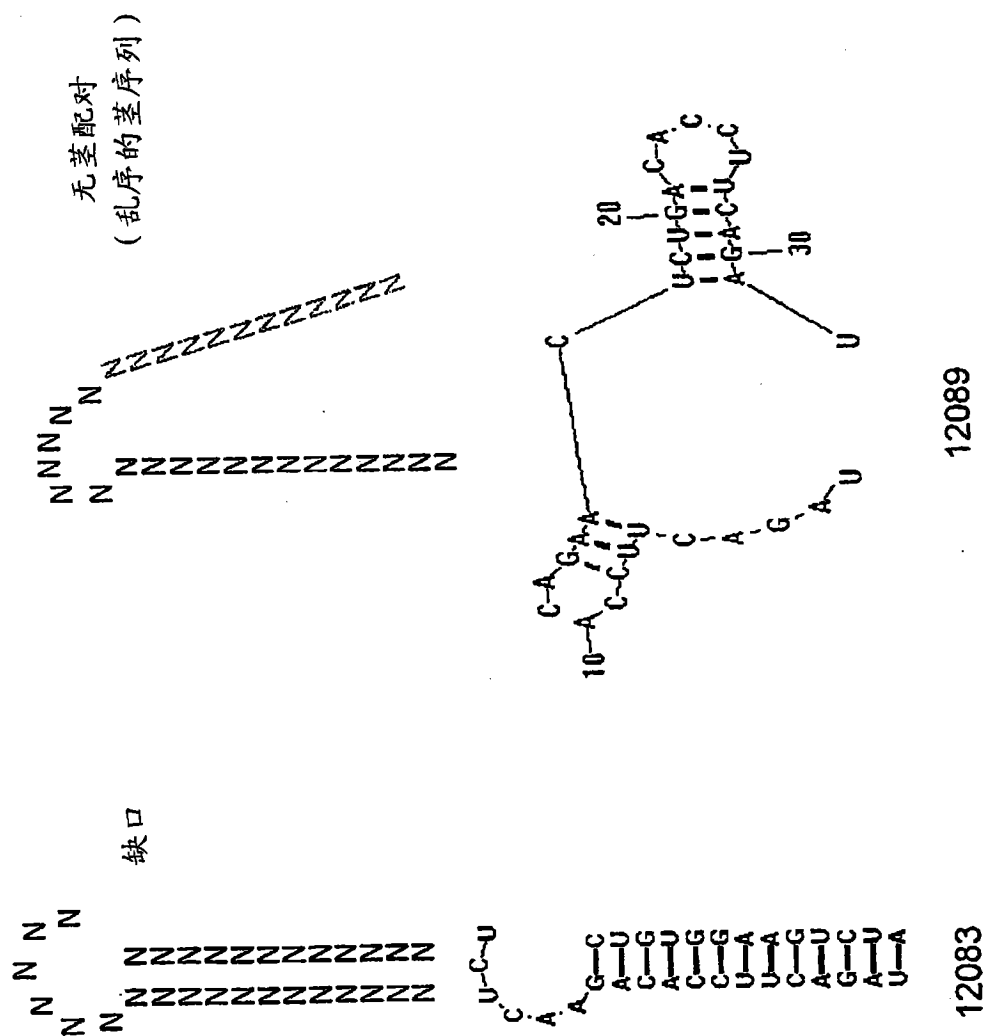


图 12

结构说明-MAP4K4



MAP4K4 靶向结构测试

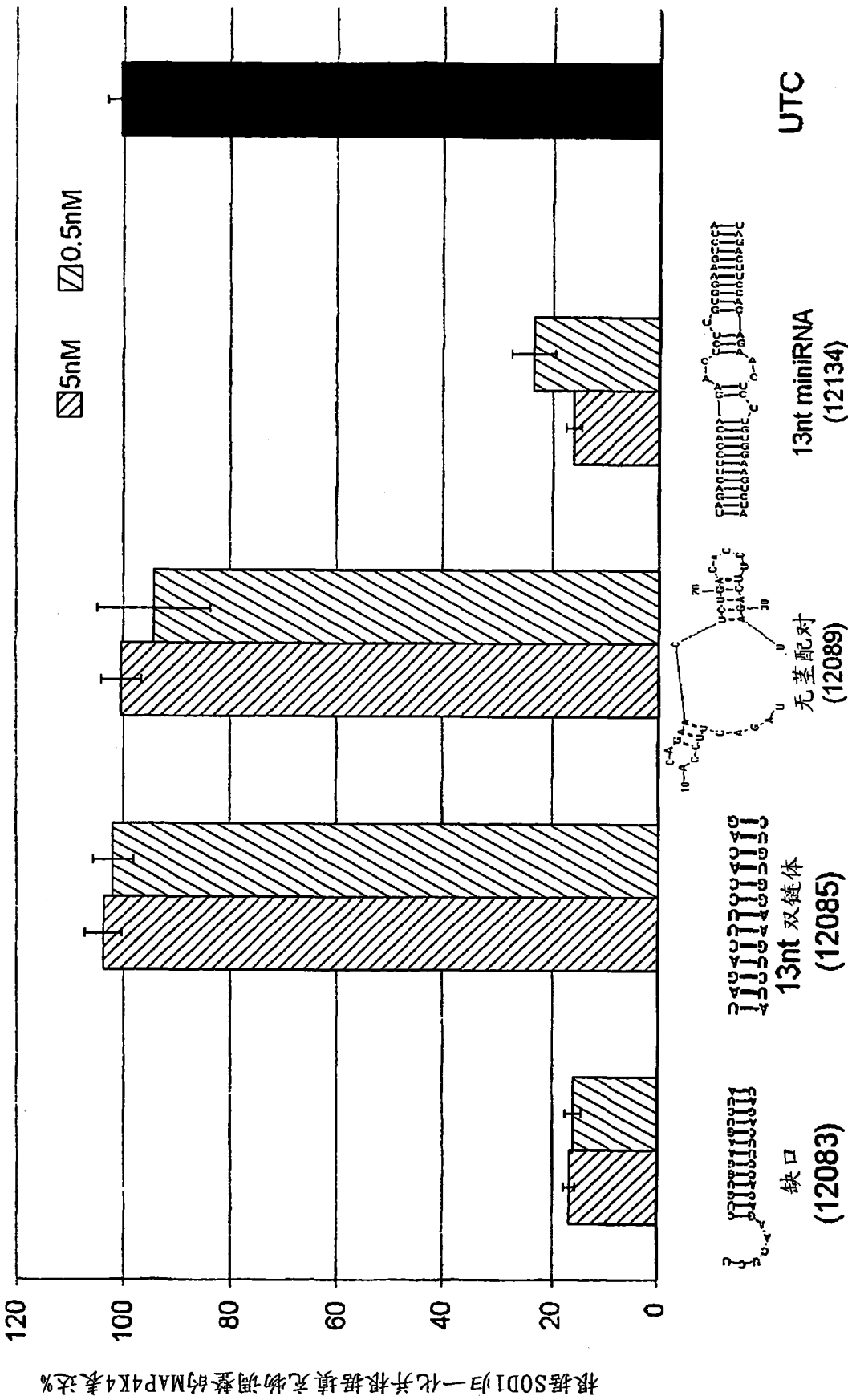
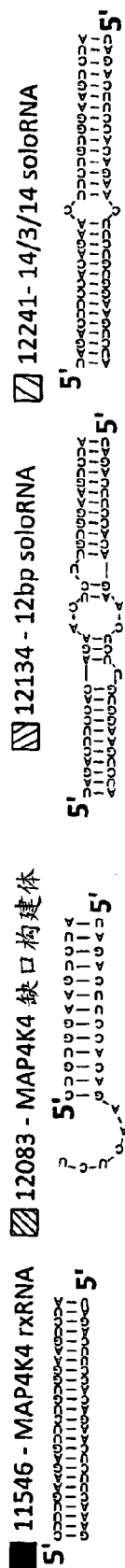


图 14

MAP4K4 最小长度RNAi触发物



转染后24小时MAP4K4表达%

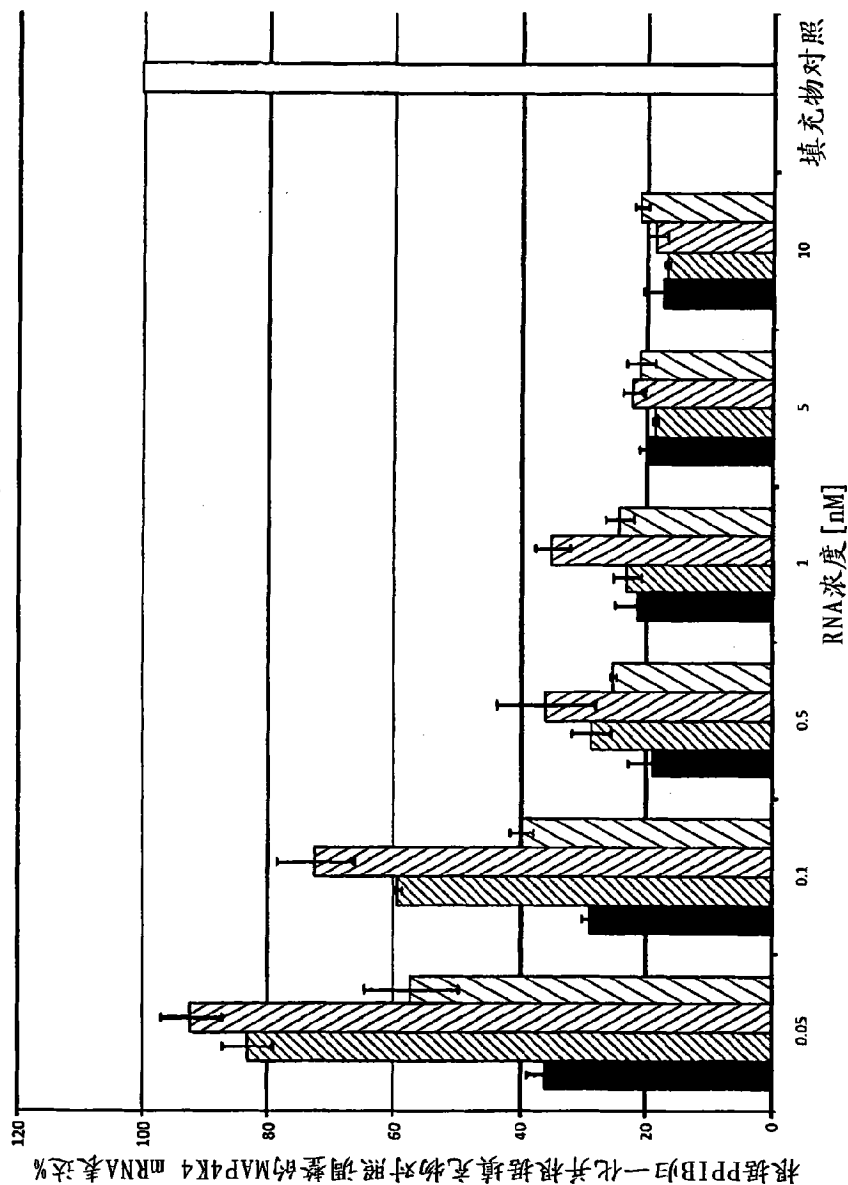


图 15

结构说明 -SOD1

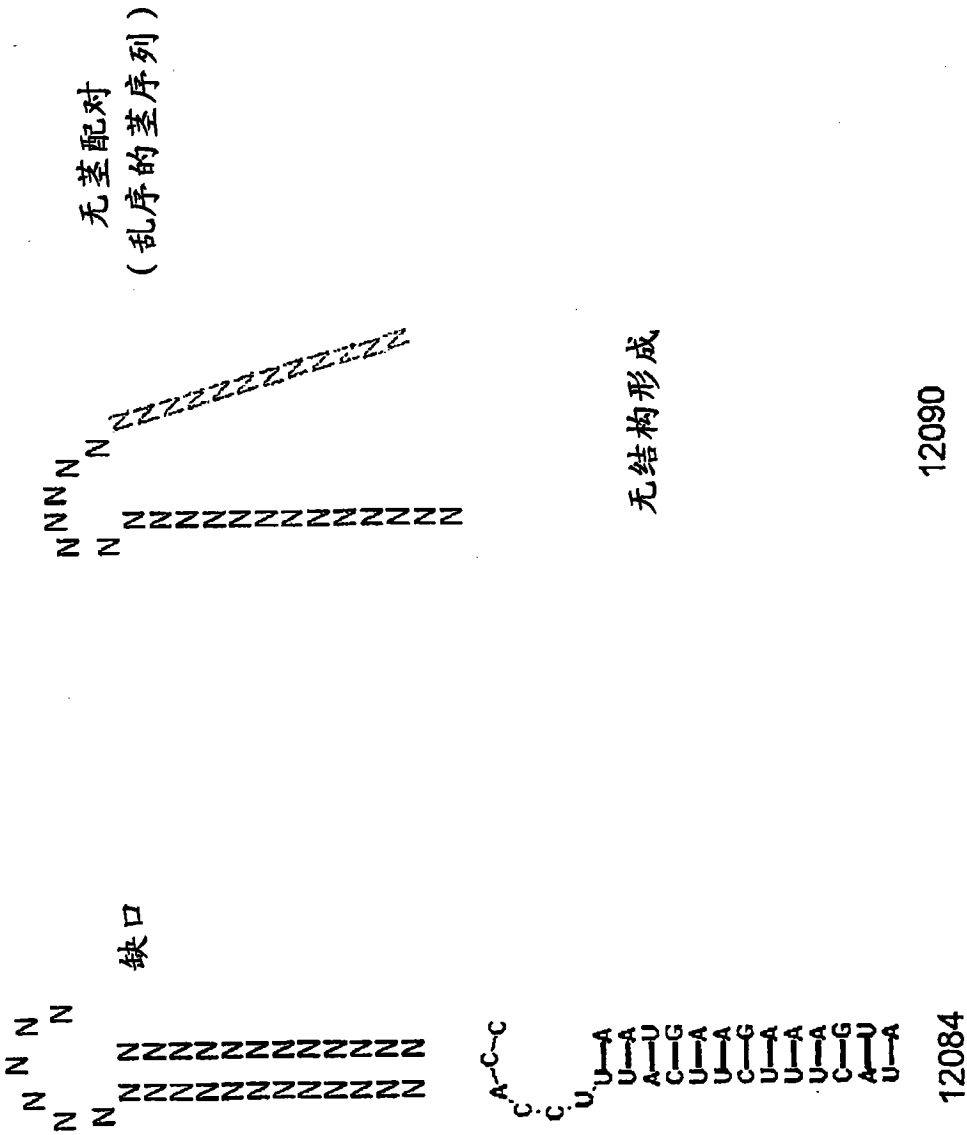


图 17

SOD1 最小长度RNAi触发物

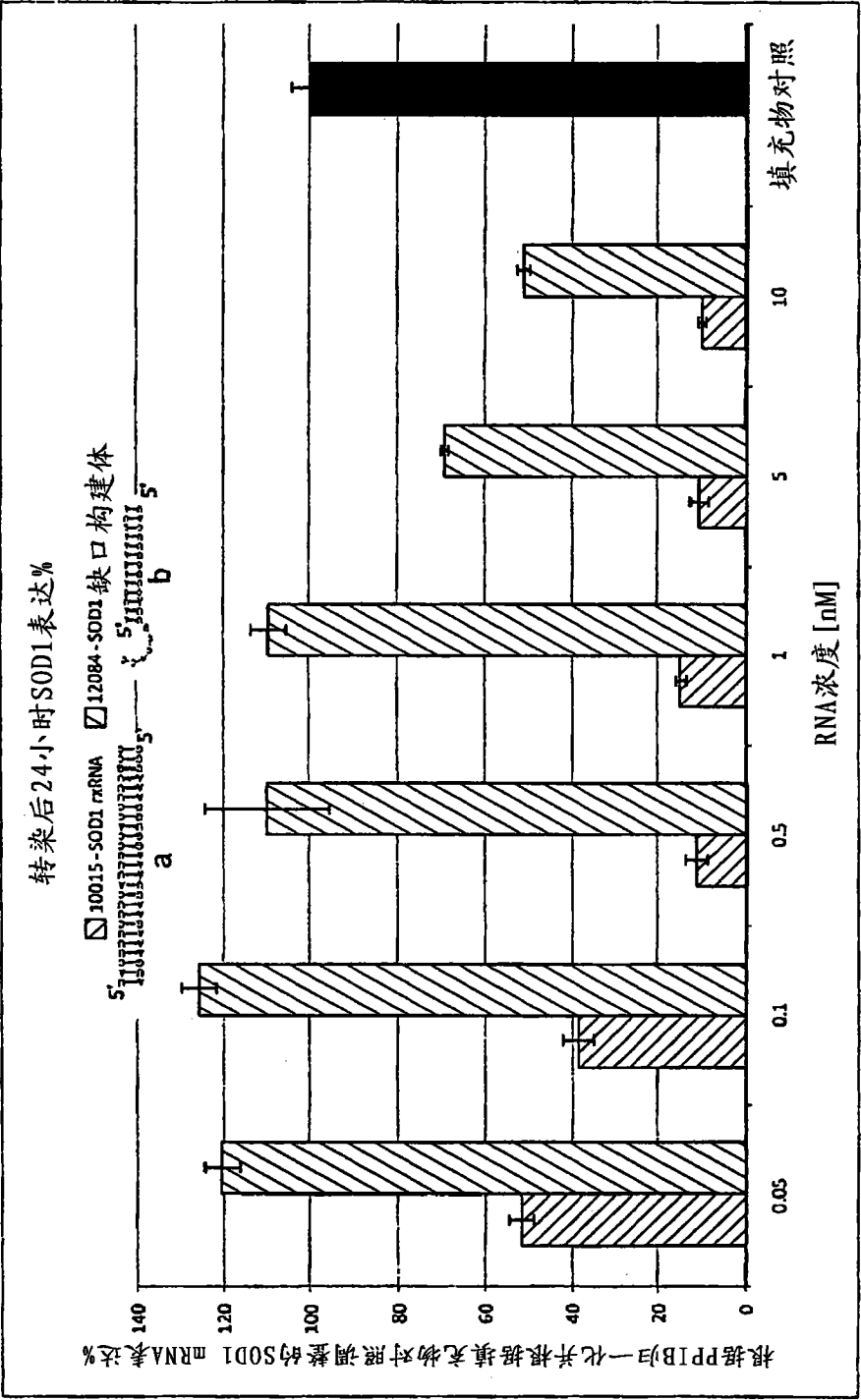


图 19

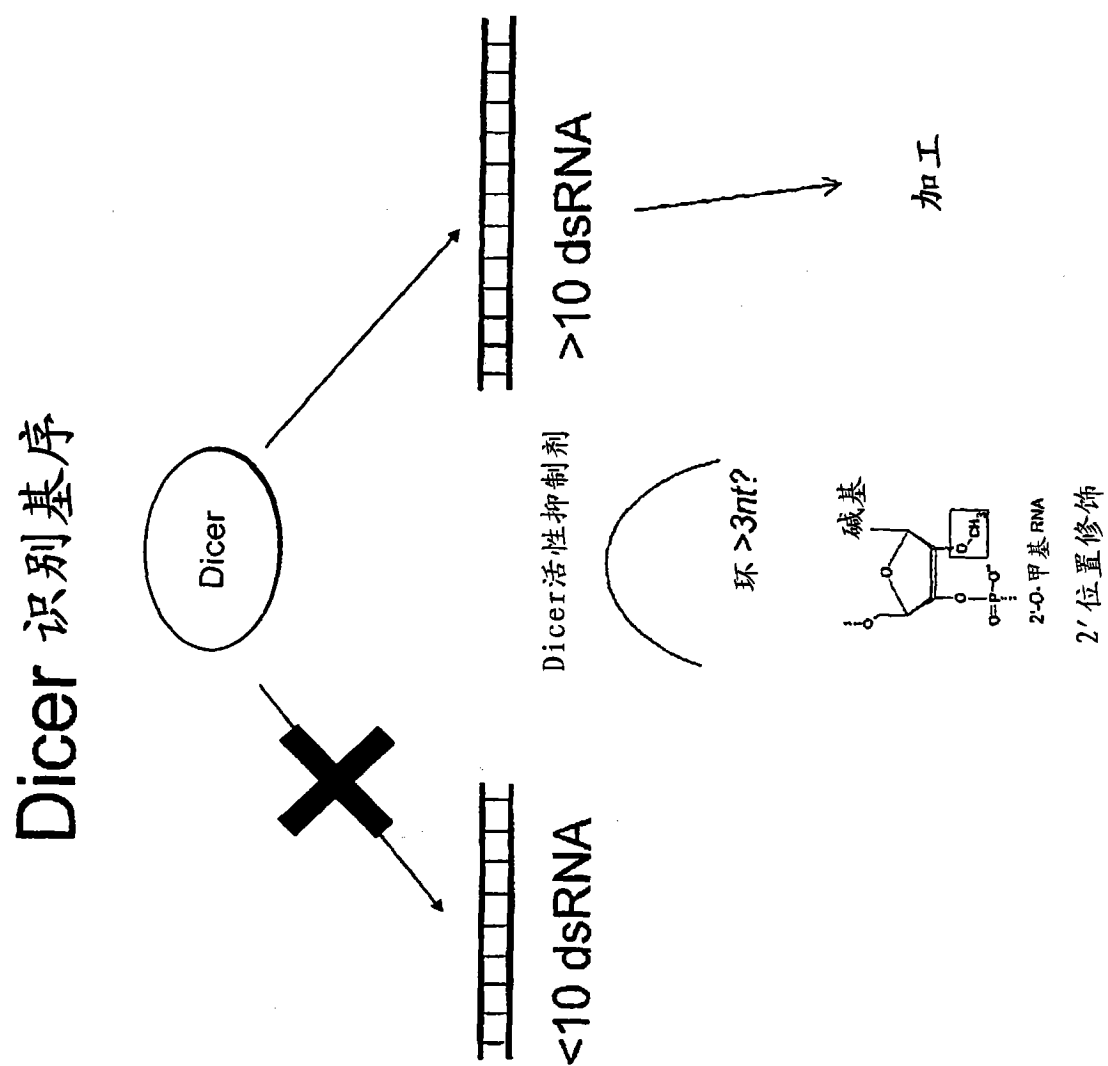


图 20

推测的RNAi模型

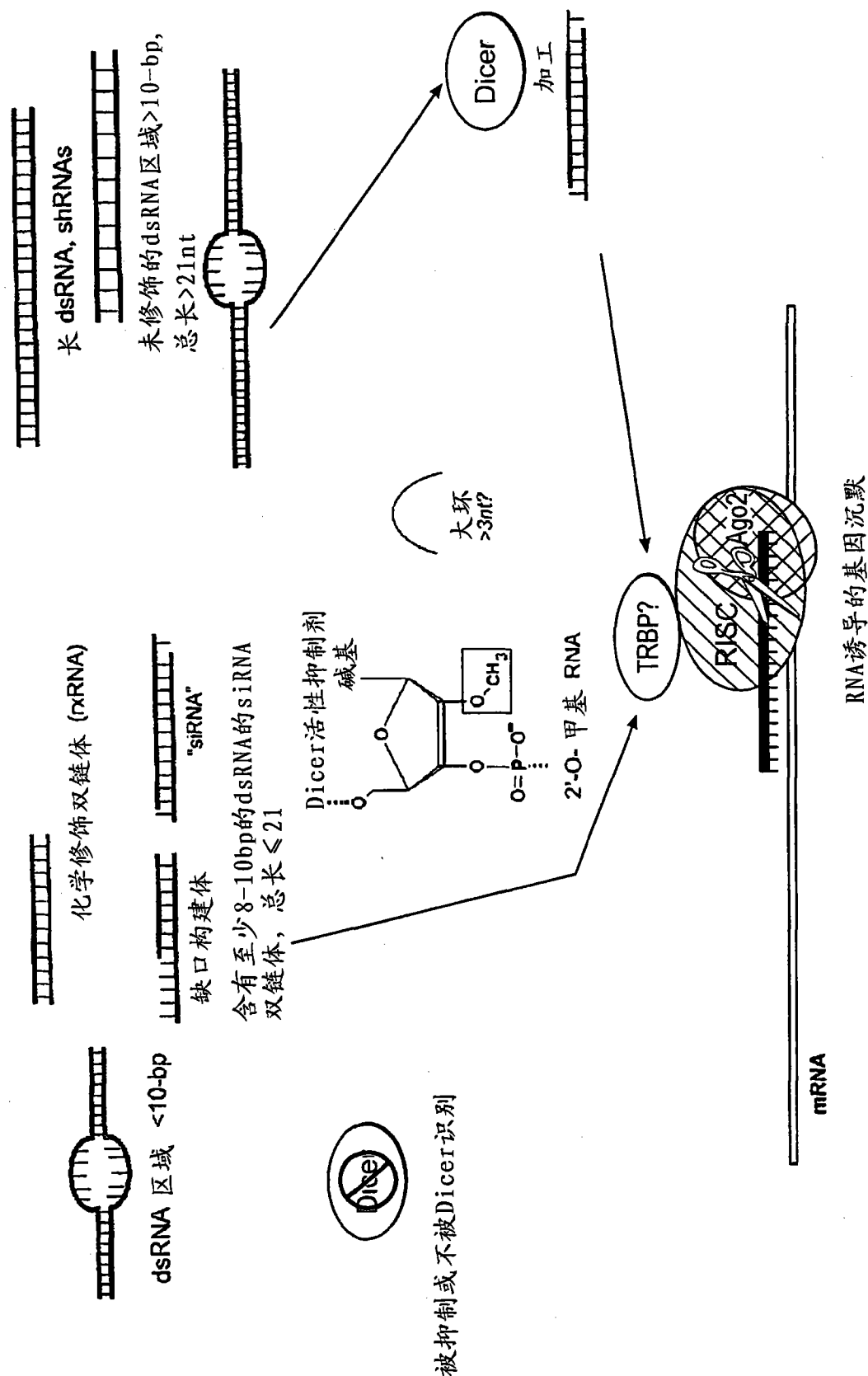


图 21

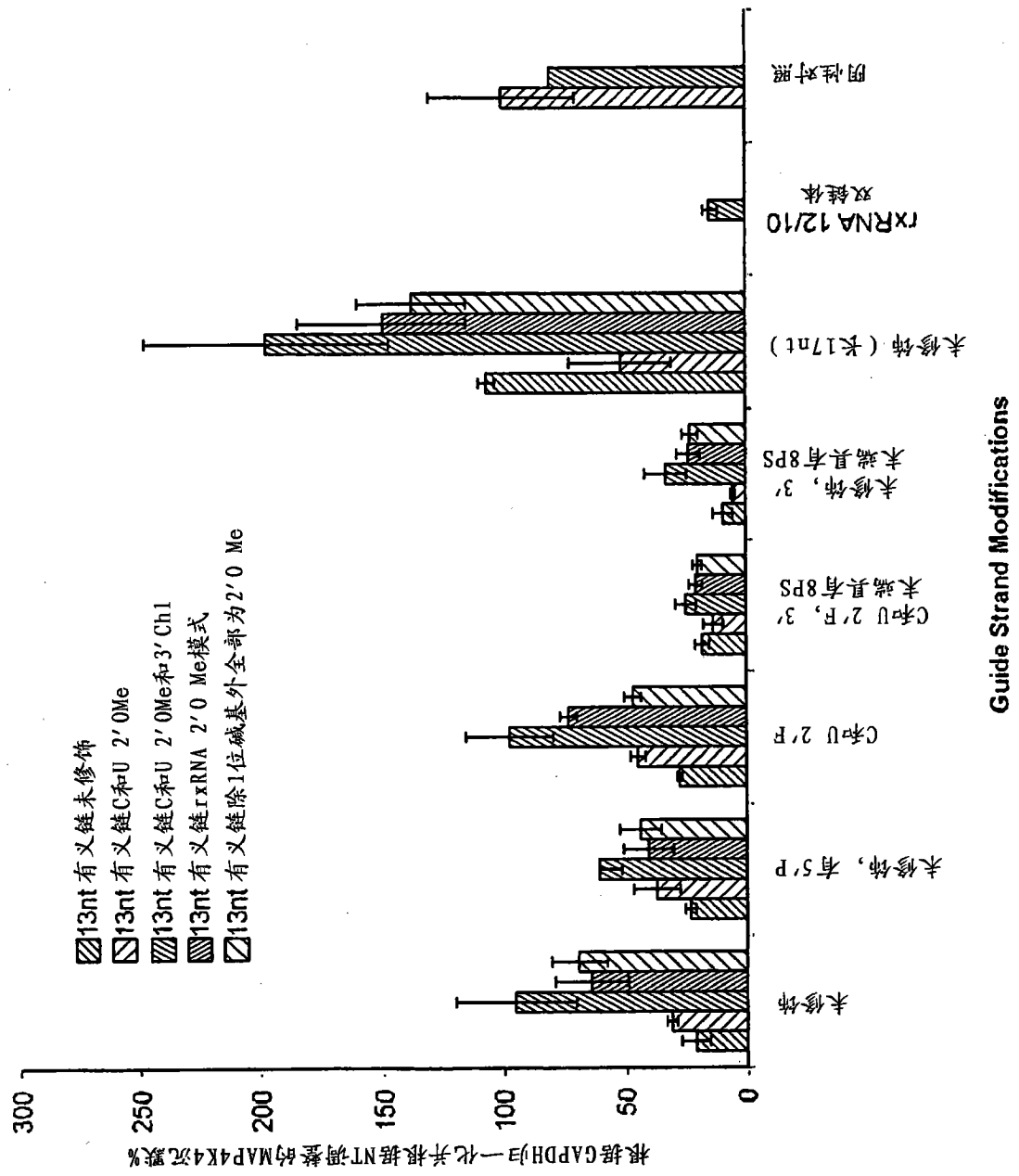


图 22

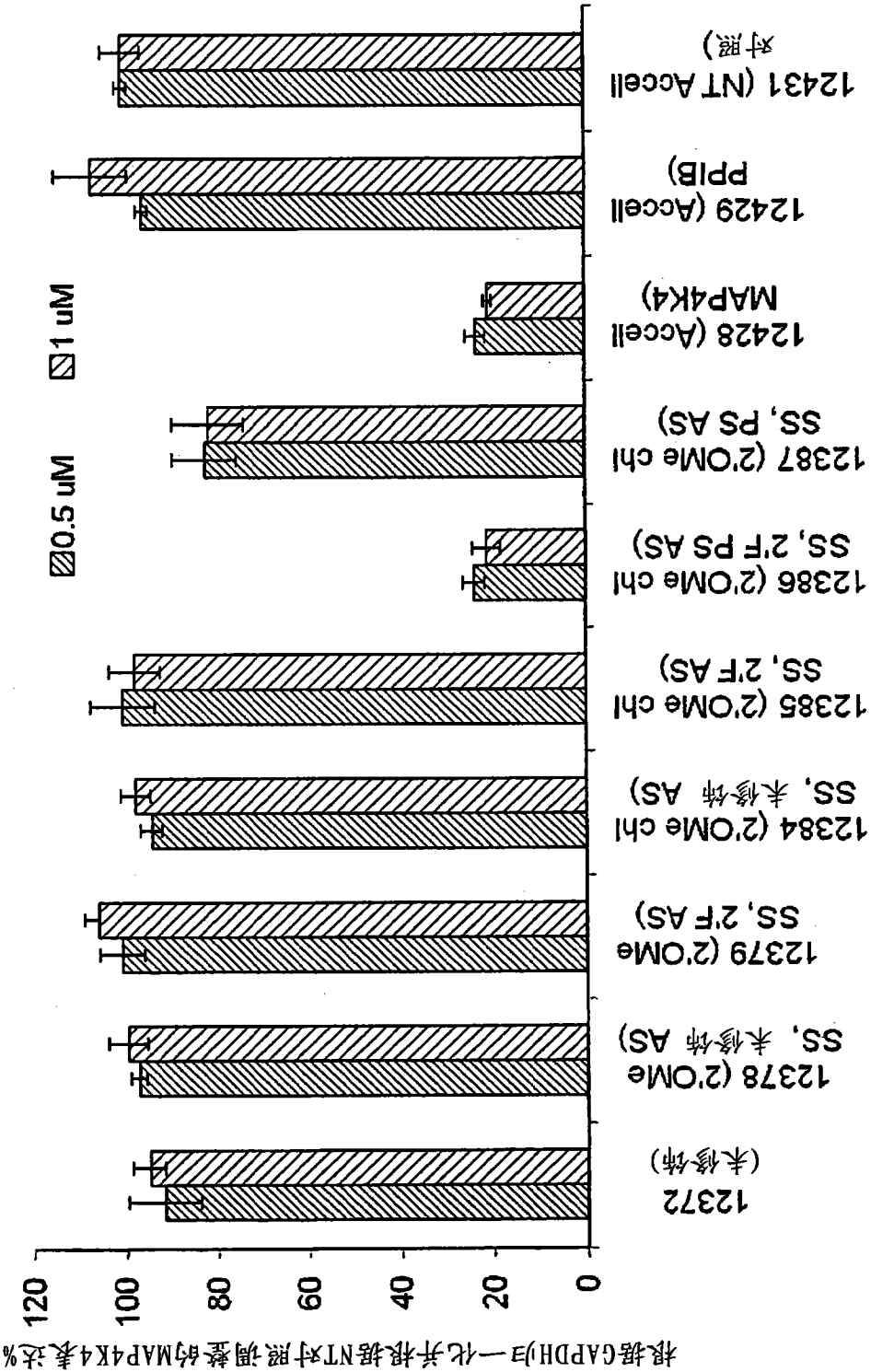


图 23

自递送纳米-*rxRNA*

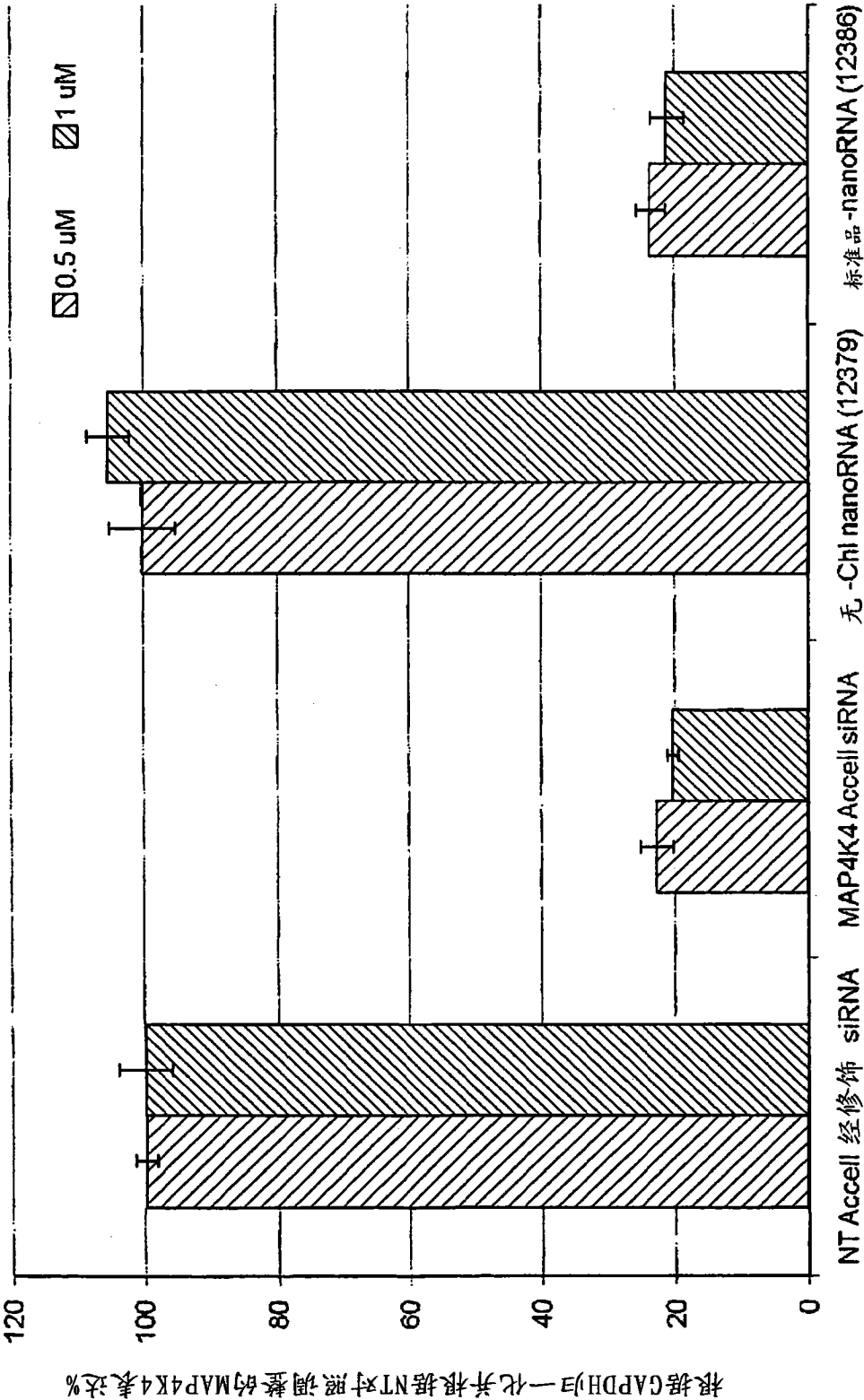


图 24

剂量应答被动摄取

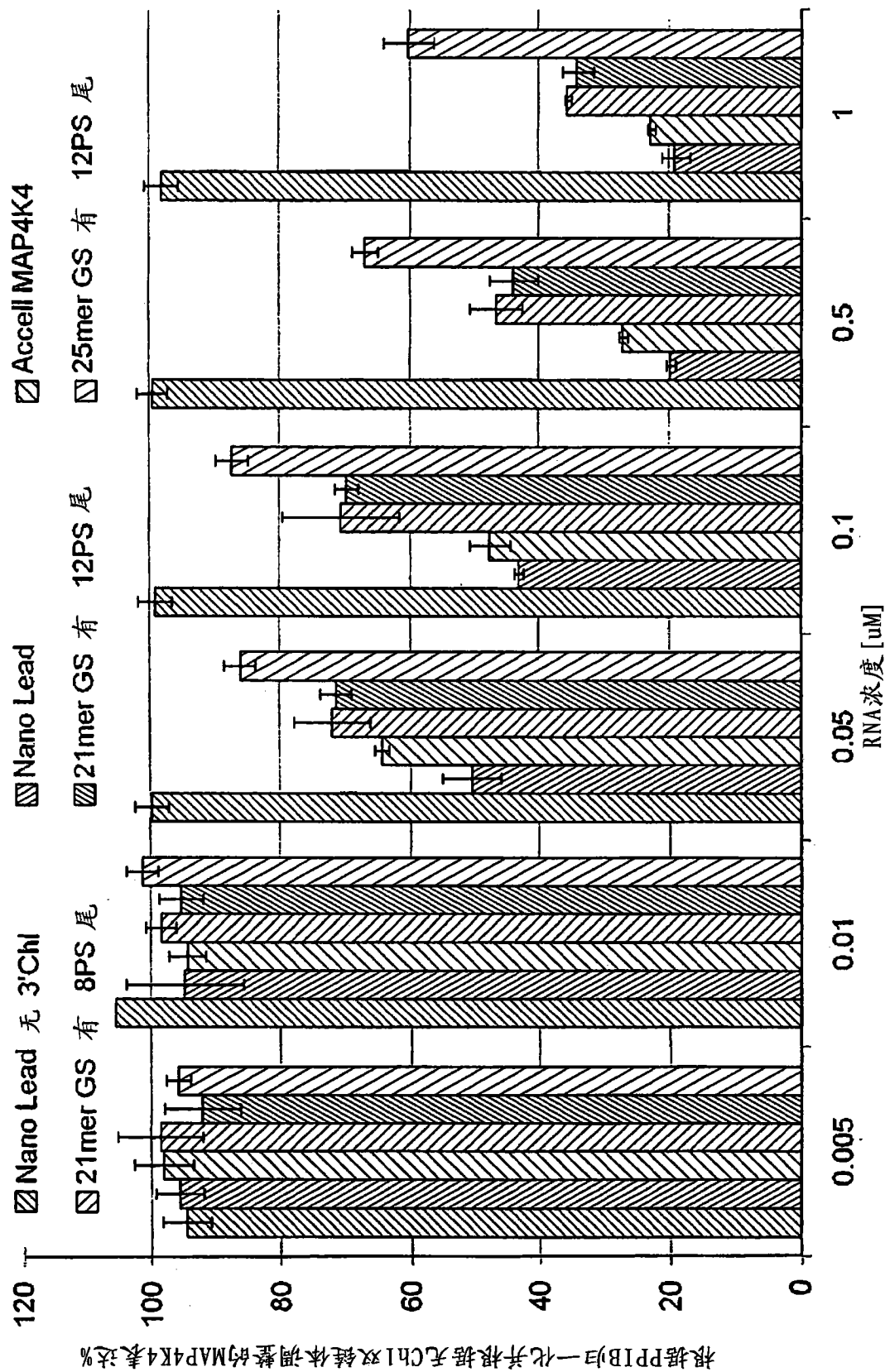


图 25

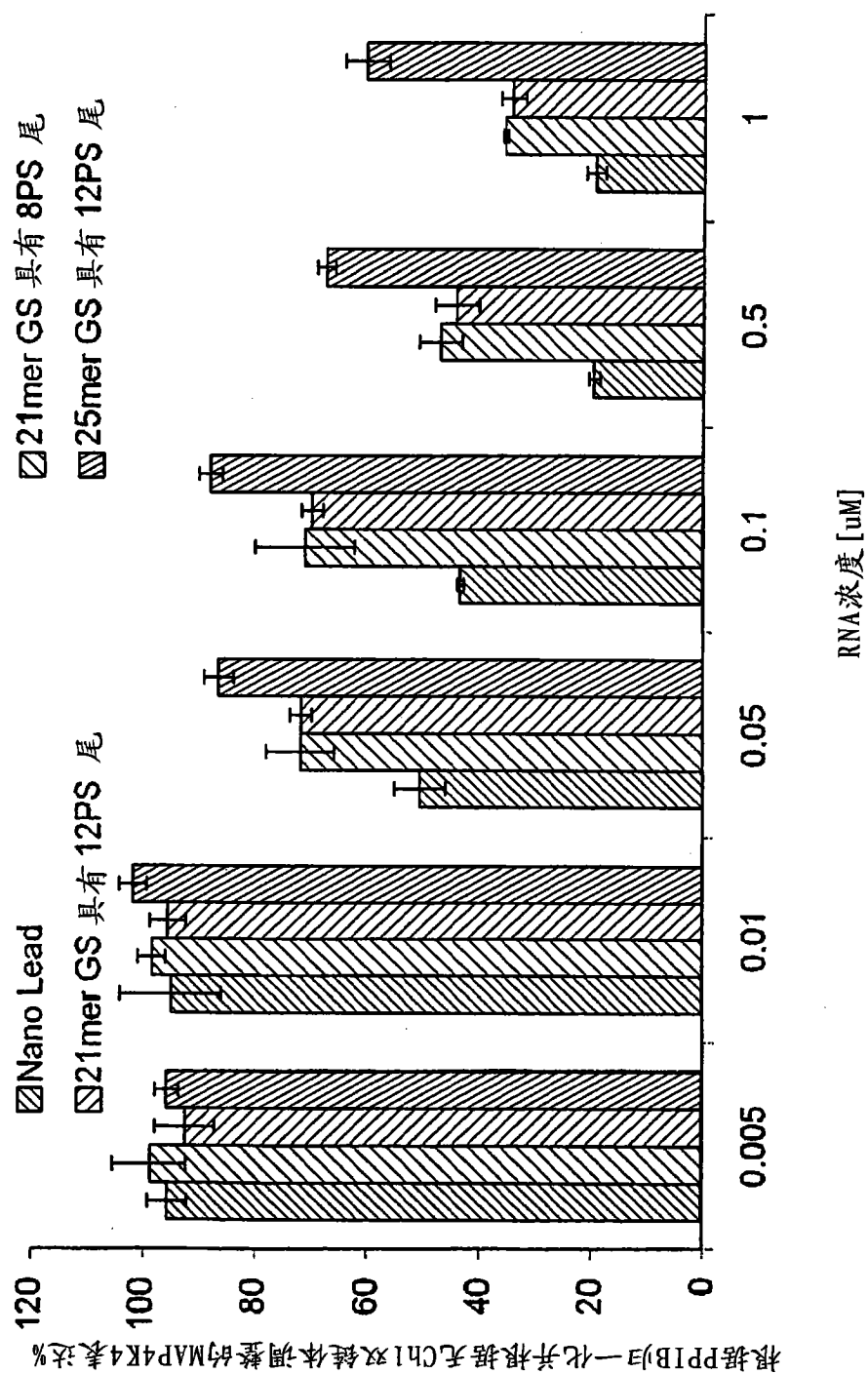


图 26

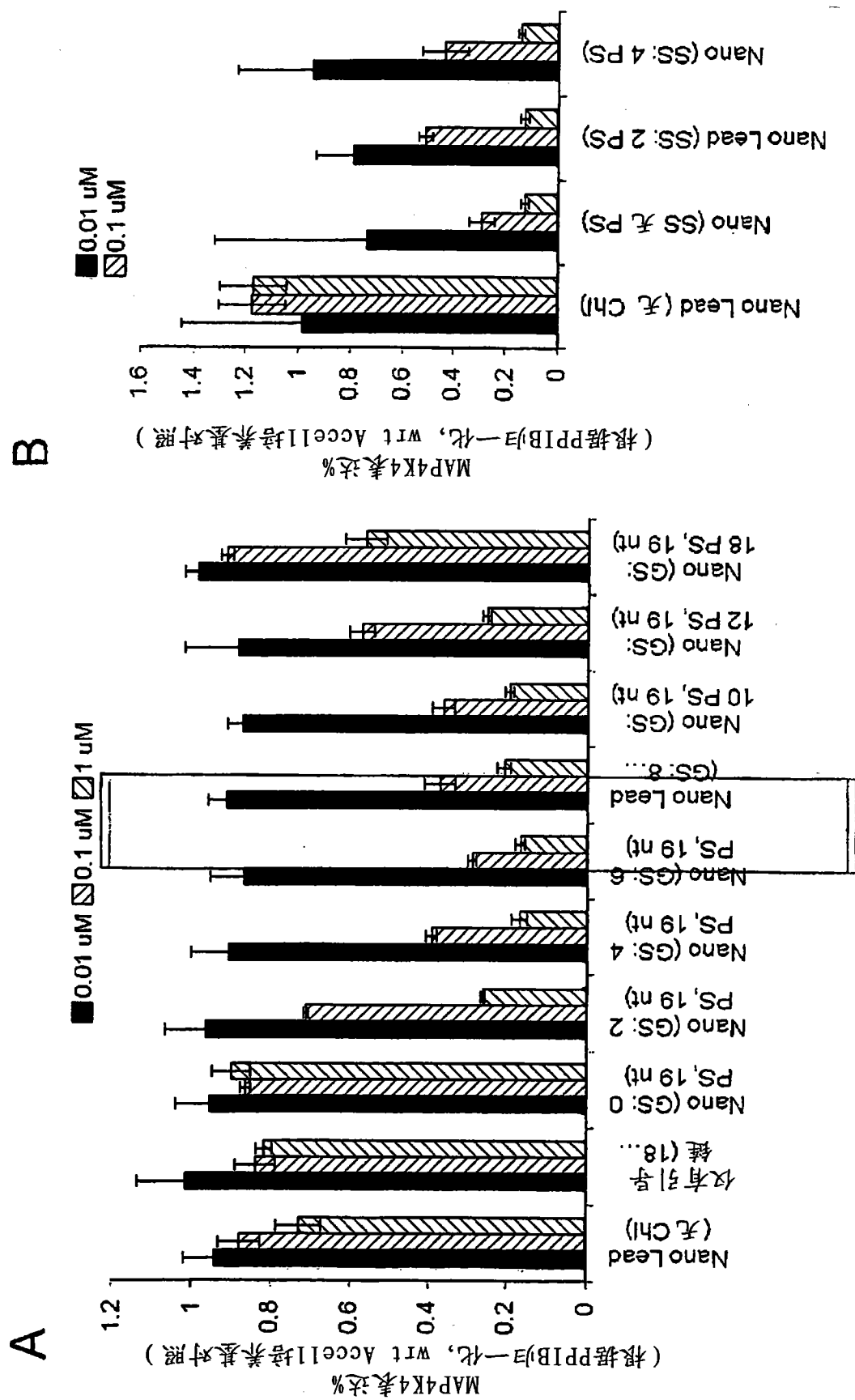


图 27

原代小鼠肝细胞的sd-nanoRNA沉默

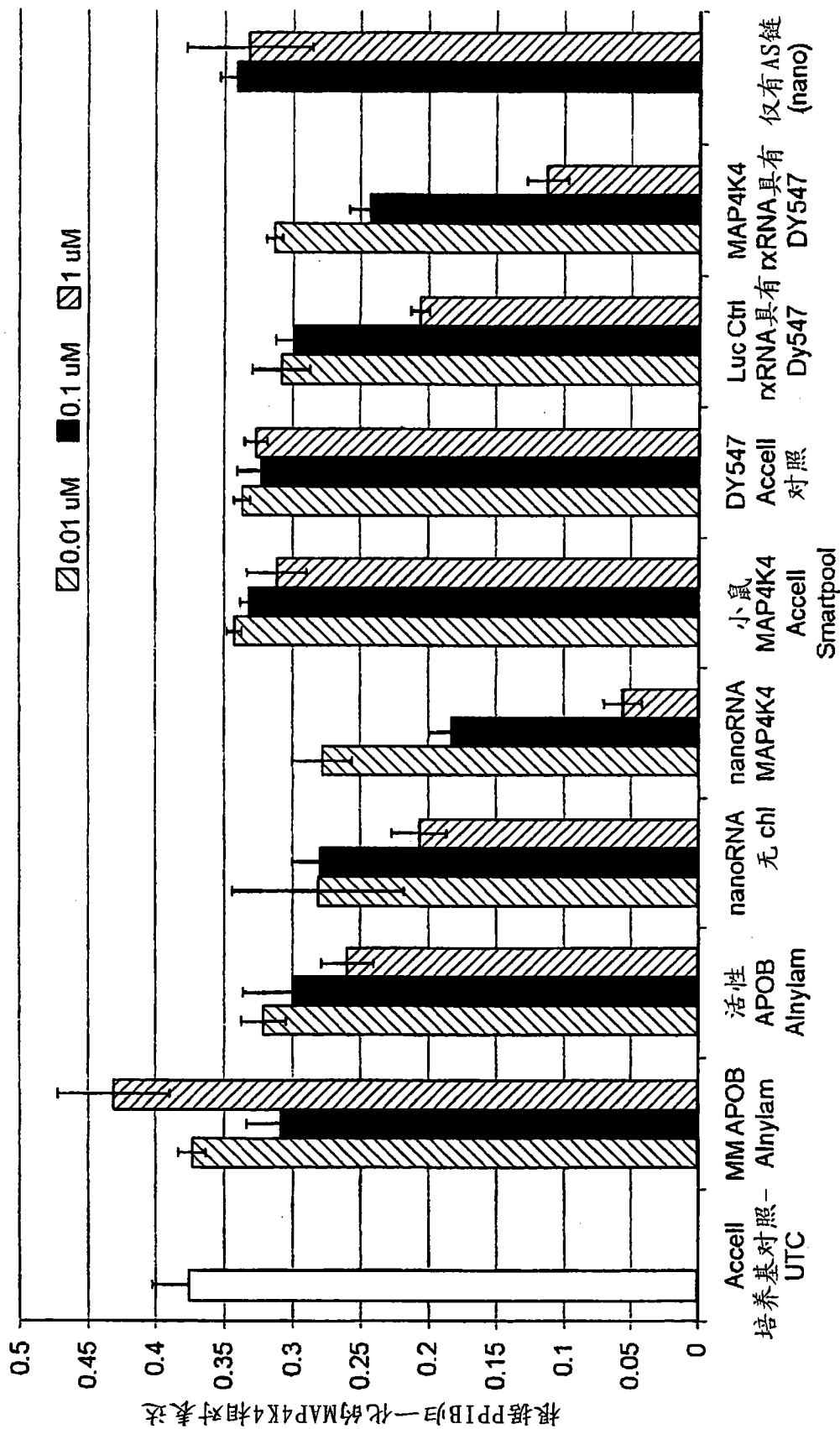


图 28

原代小鼠肝细胞中Alnylam siRNA的被动摄取

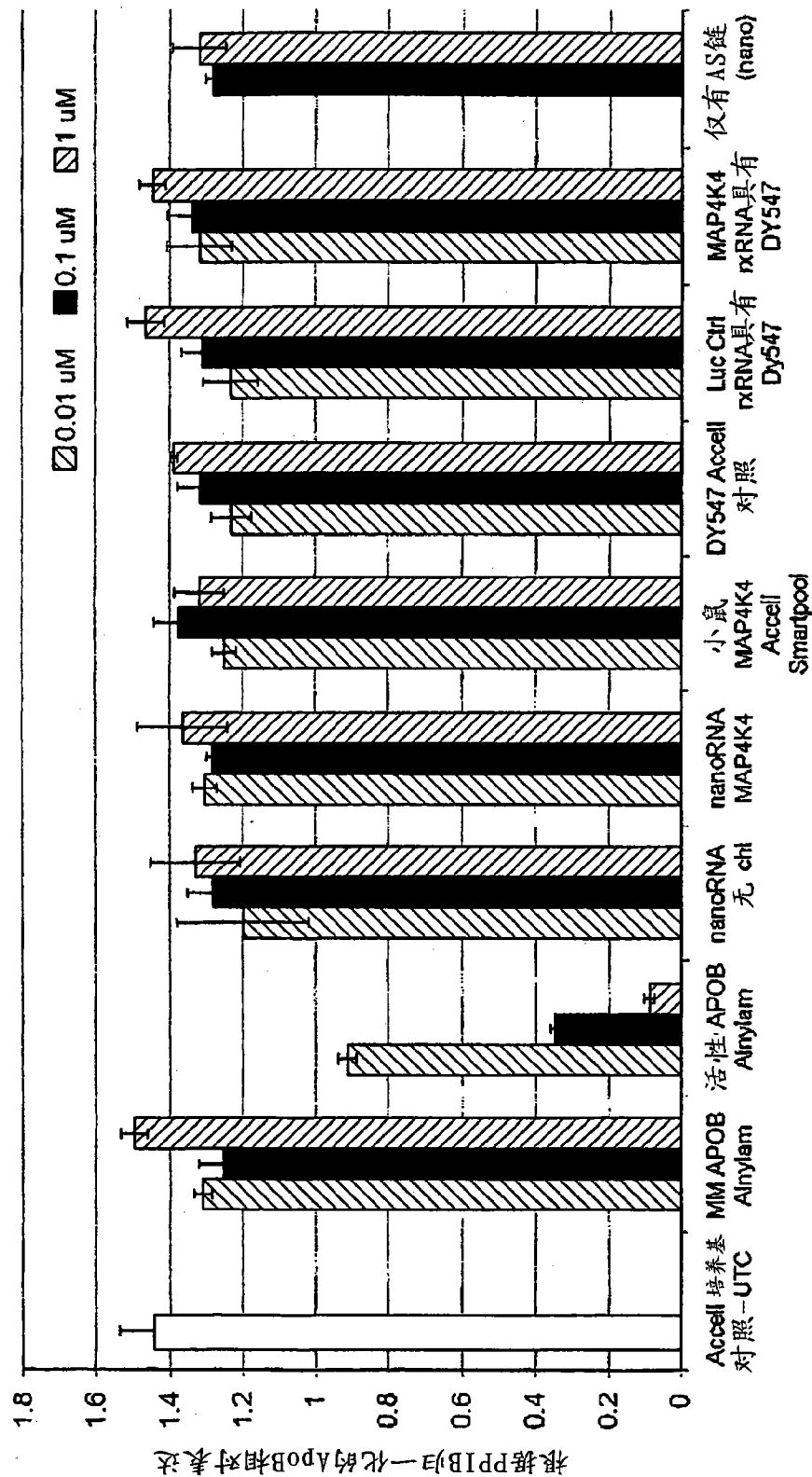


图 29

sd-nanoRNA可在原代人肝细胞中使基因沉默

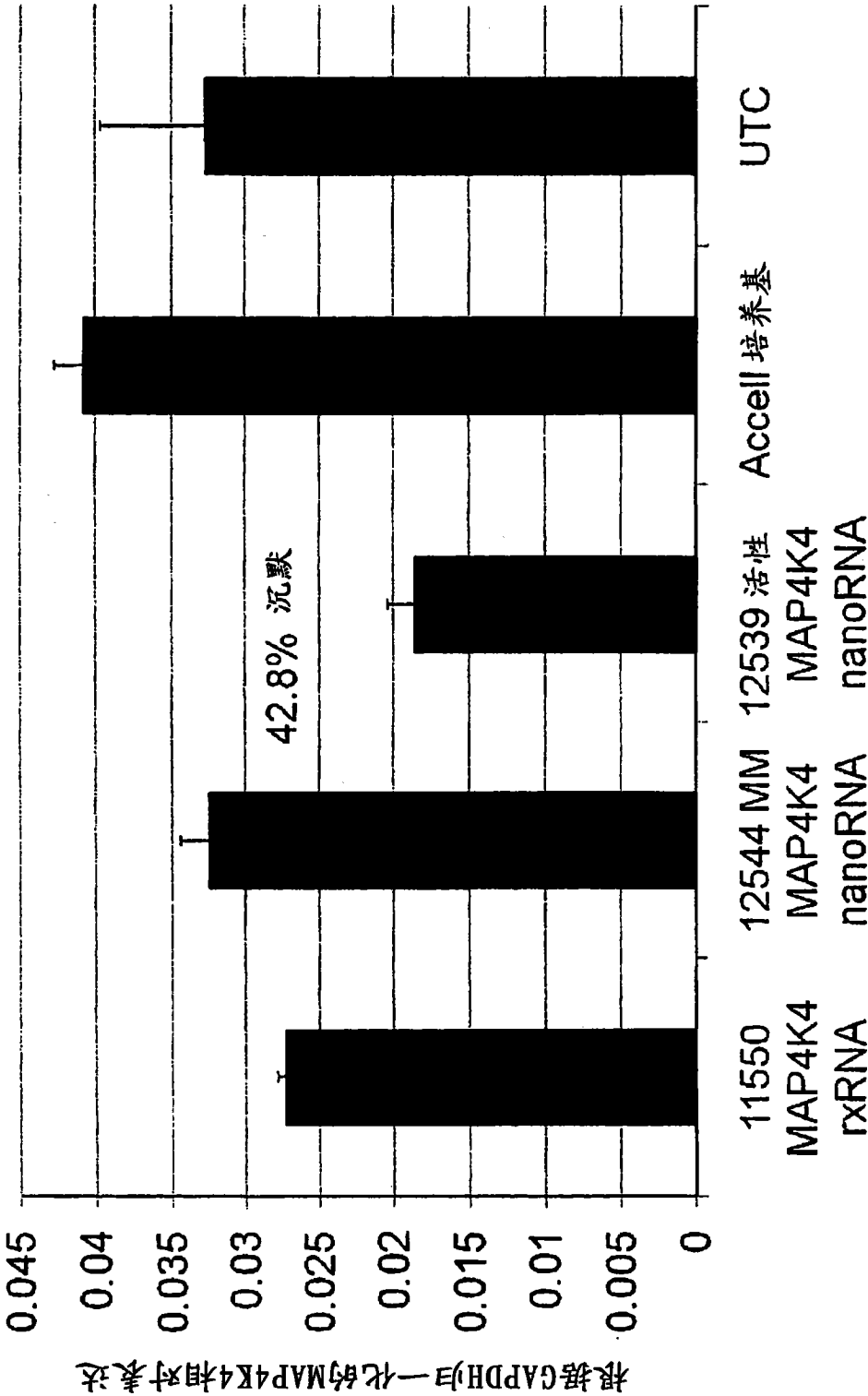


图 30

原代人肝细胞中的chol-siRNA沉默

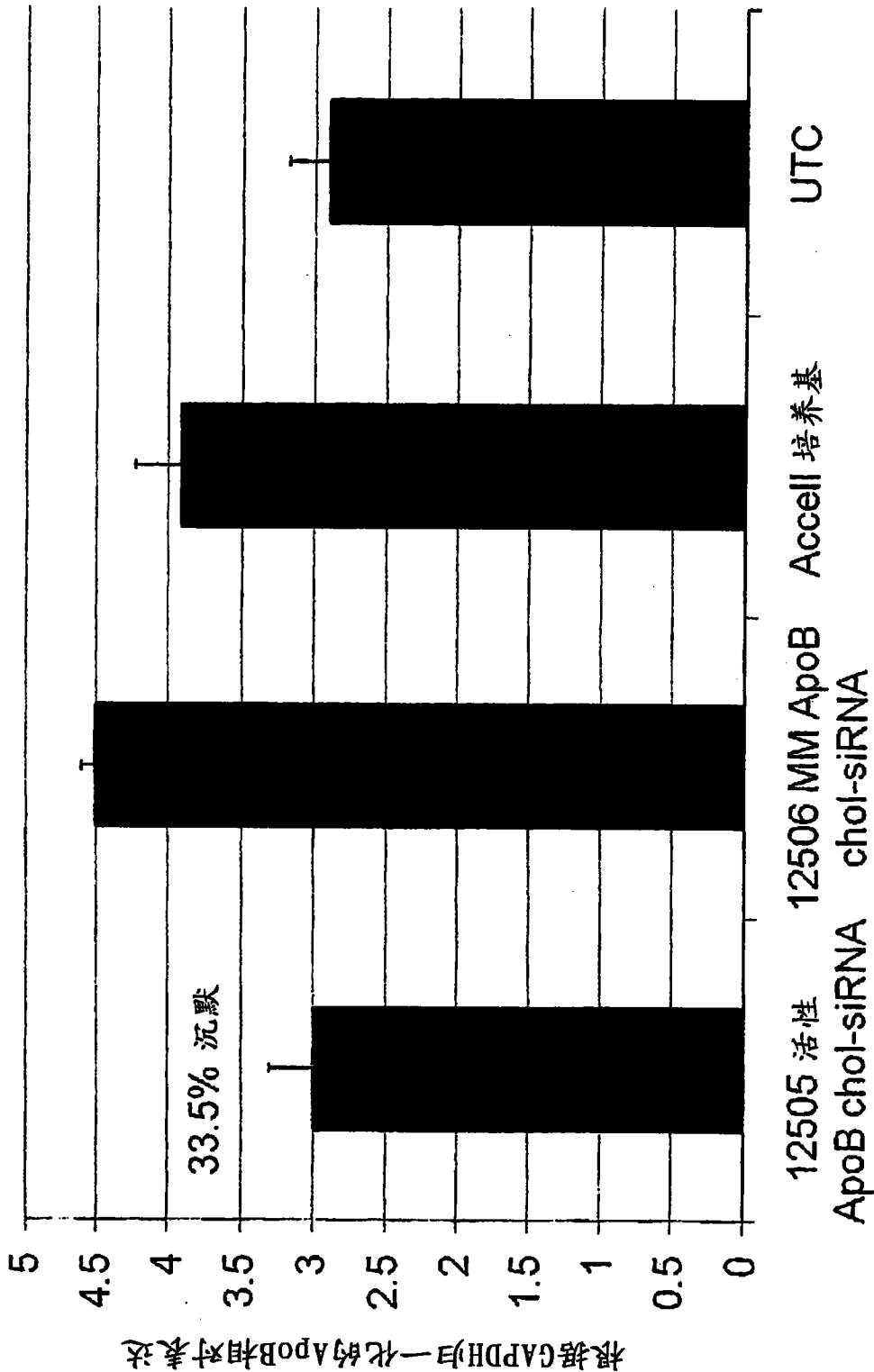
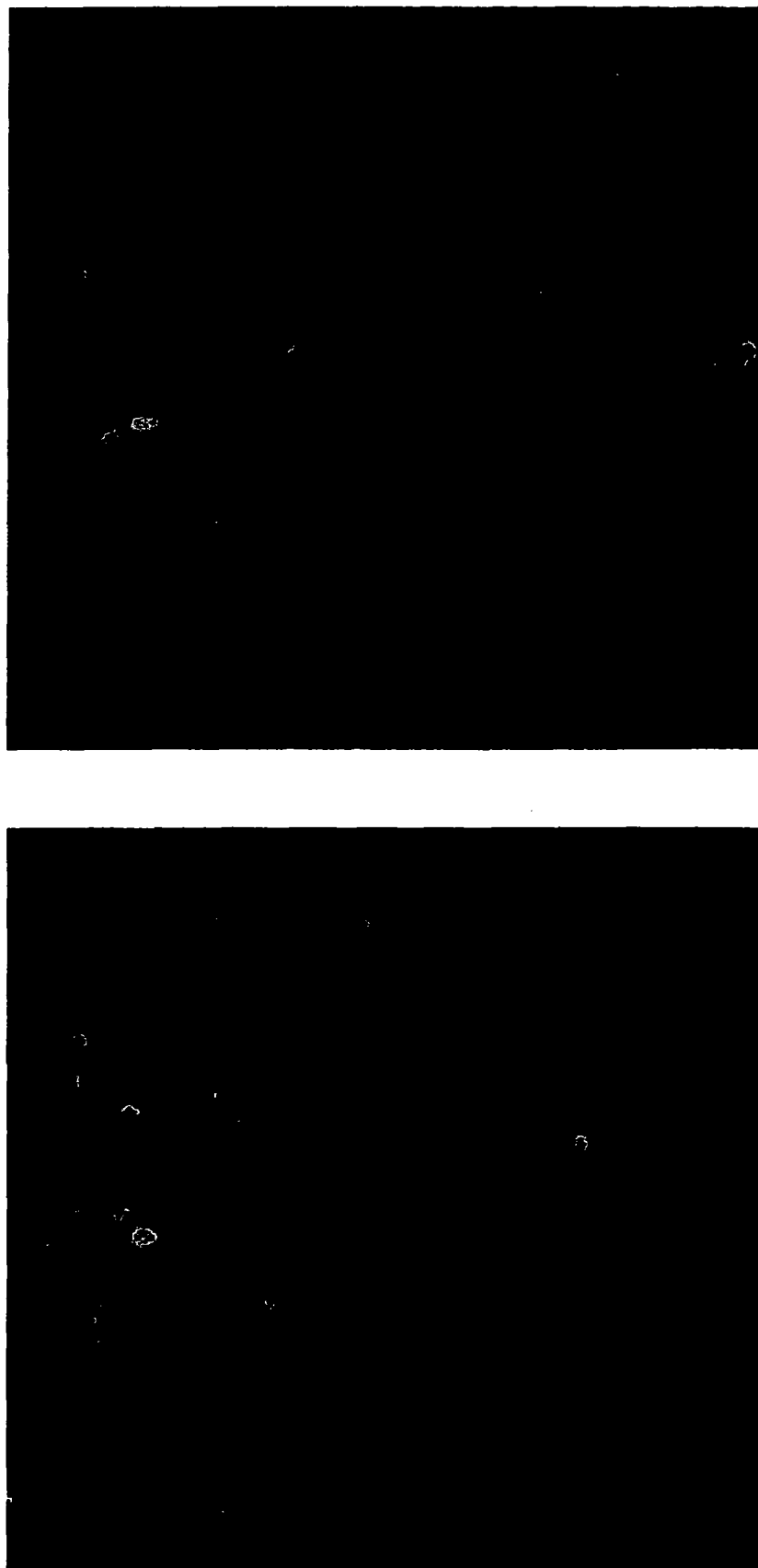


图 31

sd-rxRNA^{nano} 定位

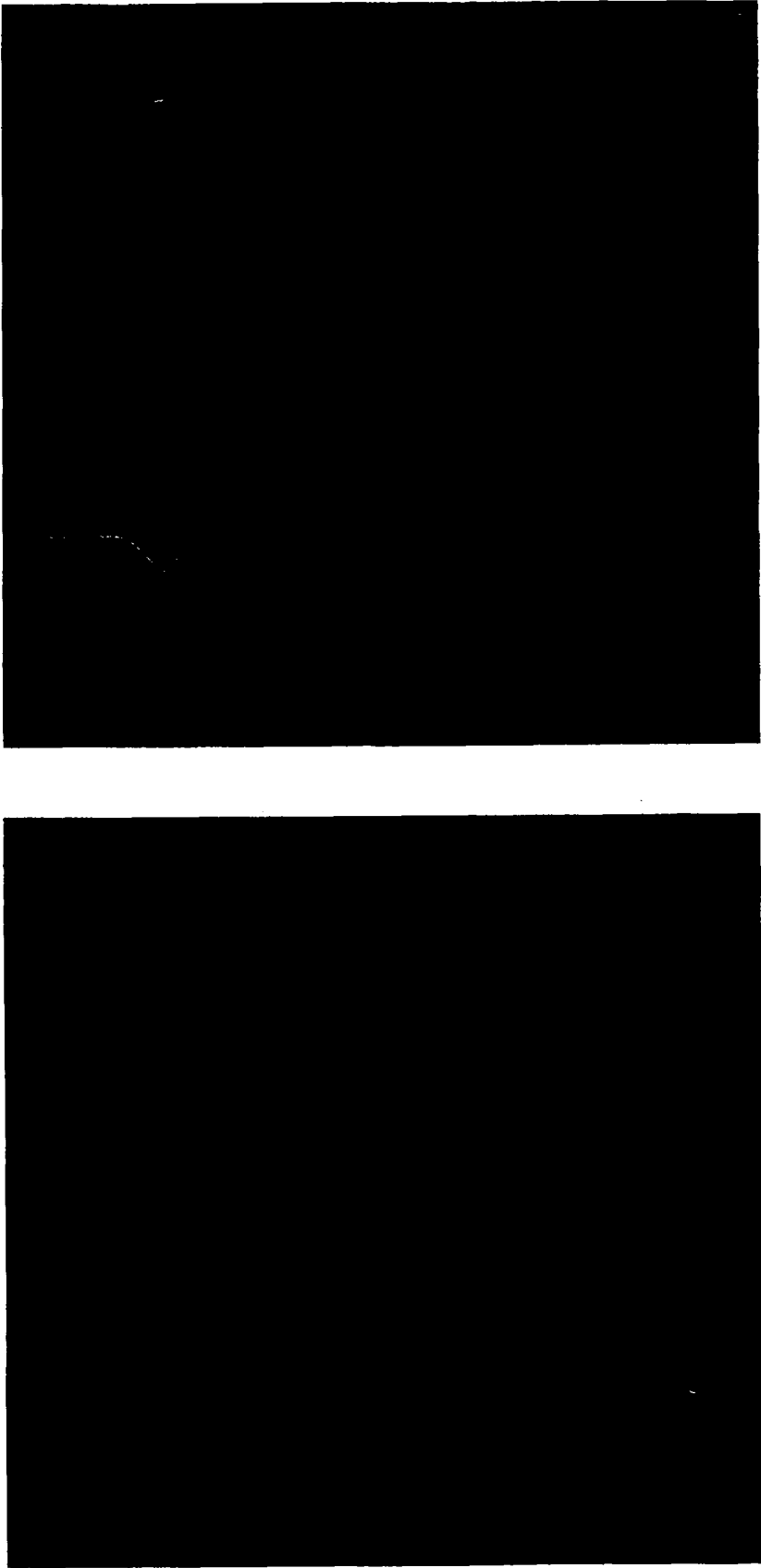


内

外

图 32

Chol-siRNA (Alnylam) 定位

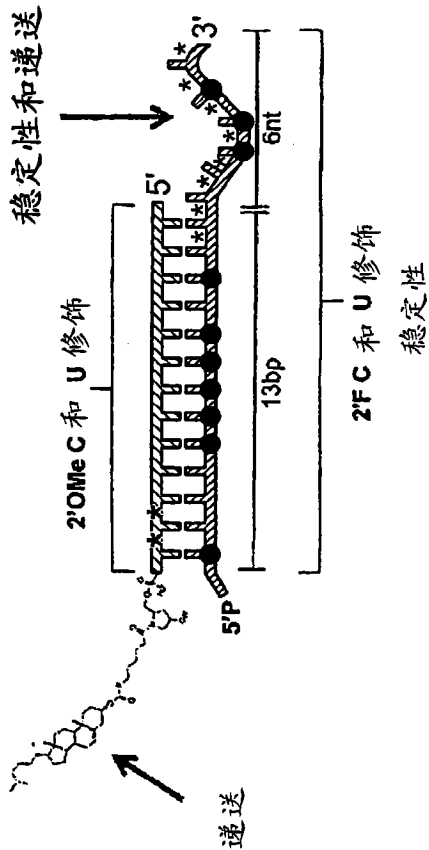


内

外

图 33

第一代 sd-rxRNA nano



• 我们为什么需要优化化学性质？

- 提高效率
 - 核苷酸长度
 - PS含量
- 降低毒性
 - 替换GS上的2'F
- 递送
 - 接头和甾醇修饰
- 易于制造
 - 替换OH-PS

注

* 硫代磷酸酯

● 2'F

图 34

为优化 Sd-rxRNA ^{nano} (G1) 而筛选的化学修饰

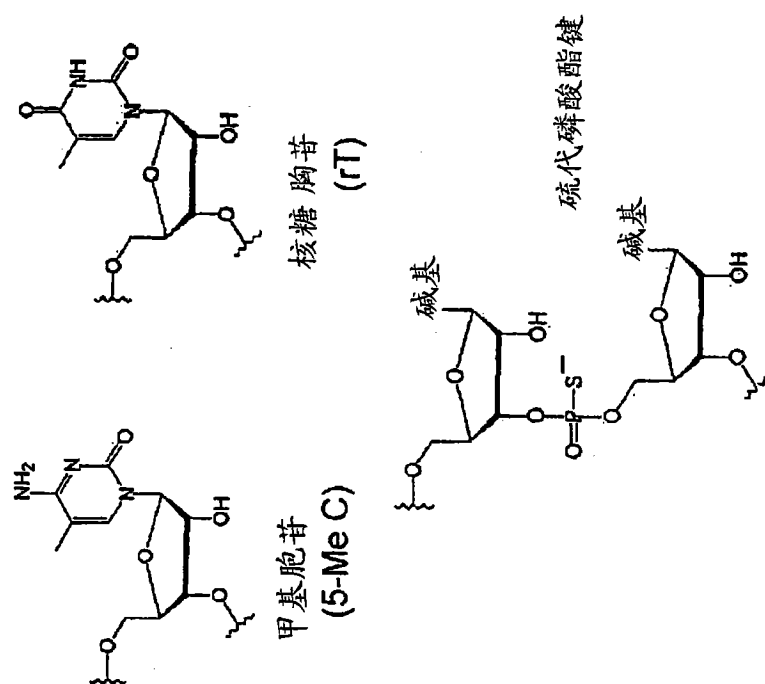


图 35

上图从 www.dharmacon.com 获得

优化GS长度和PS含量

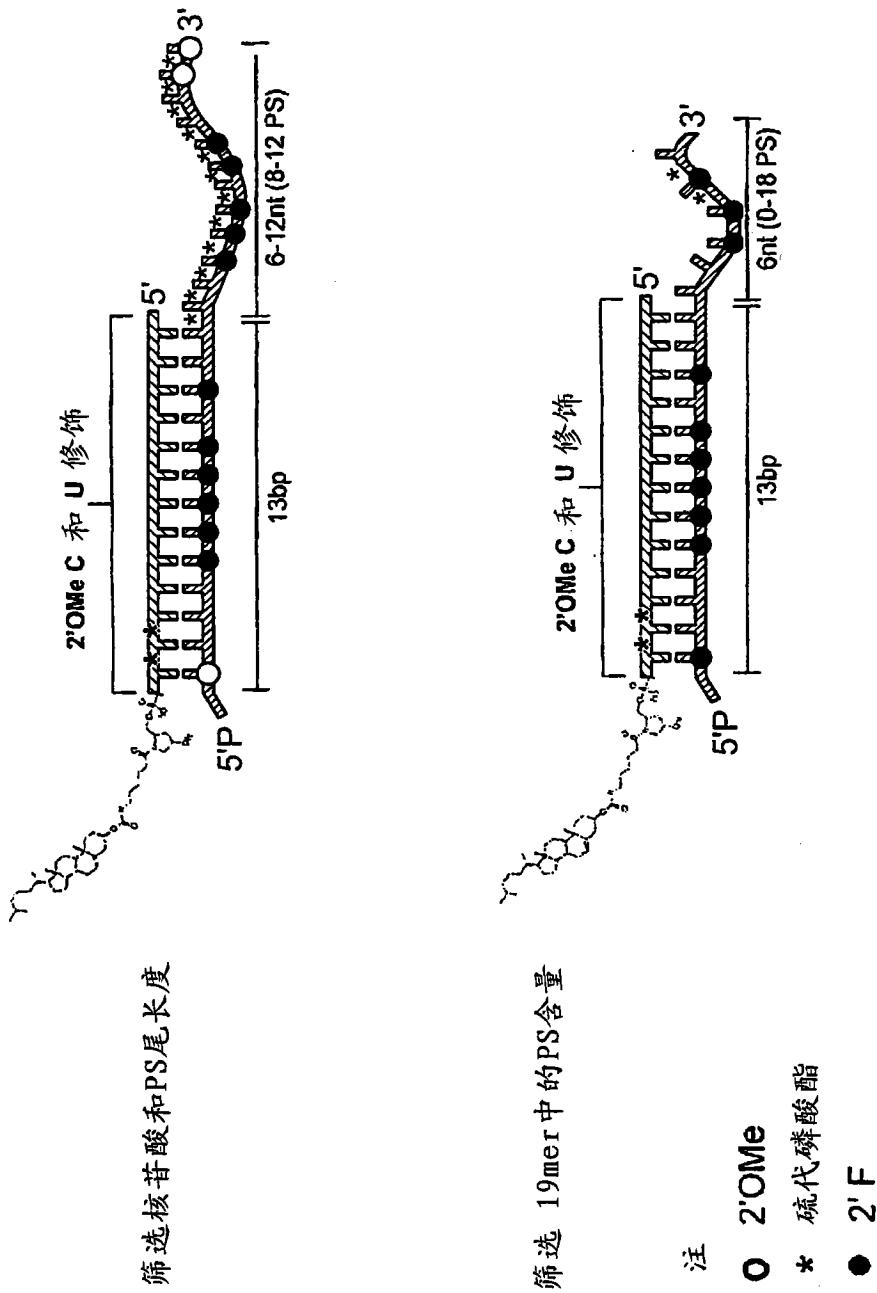


图 36

增加核苷酸长度降低了效力

脂质介导的转染

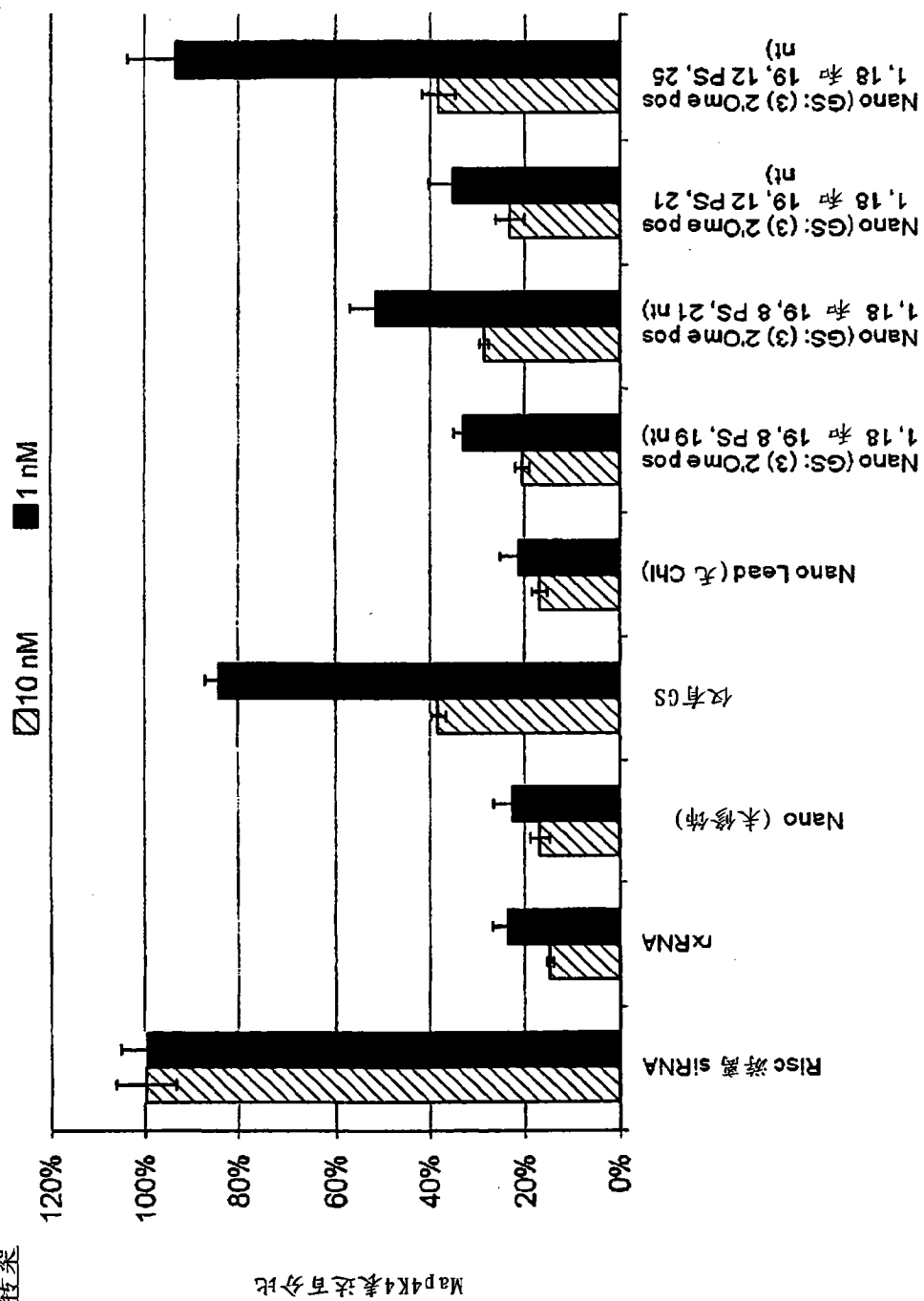


图 37

增加核苷酸和/或PS尾长度降低了效力

被动摄取

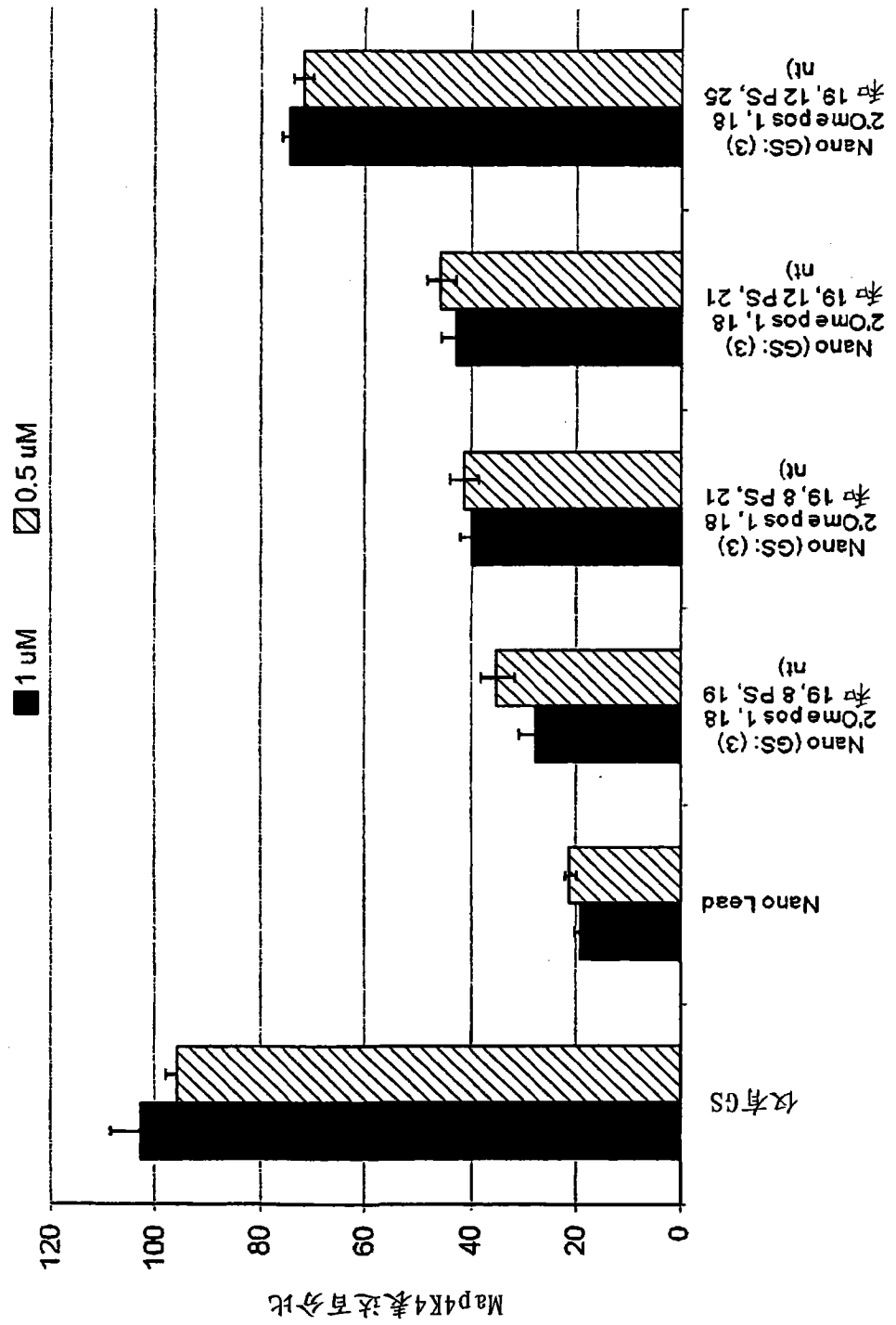


图 38

GS (19mer) 中容忍4至10个硫代磷酸酯

脂质介导的转染

▨ 0.1 nM ■ 1 nM ▤ 10 nM

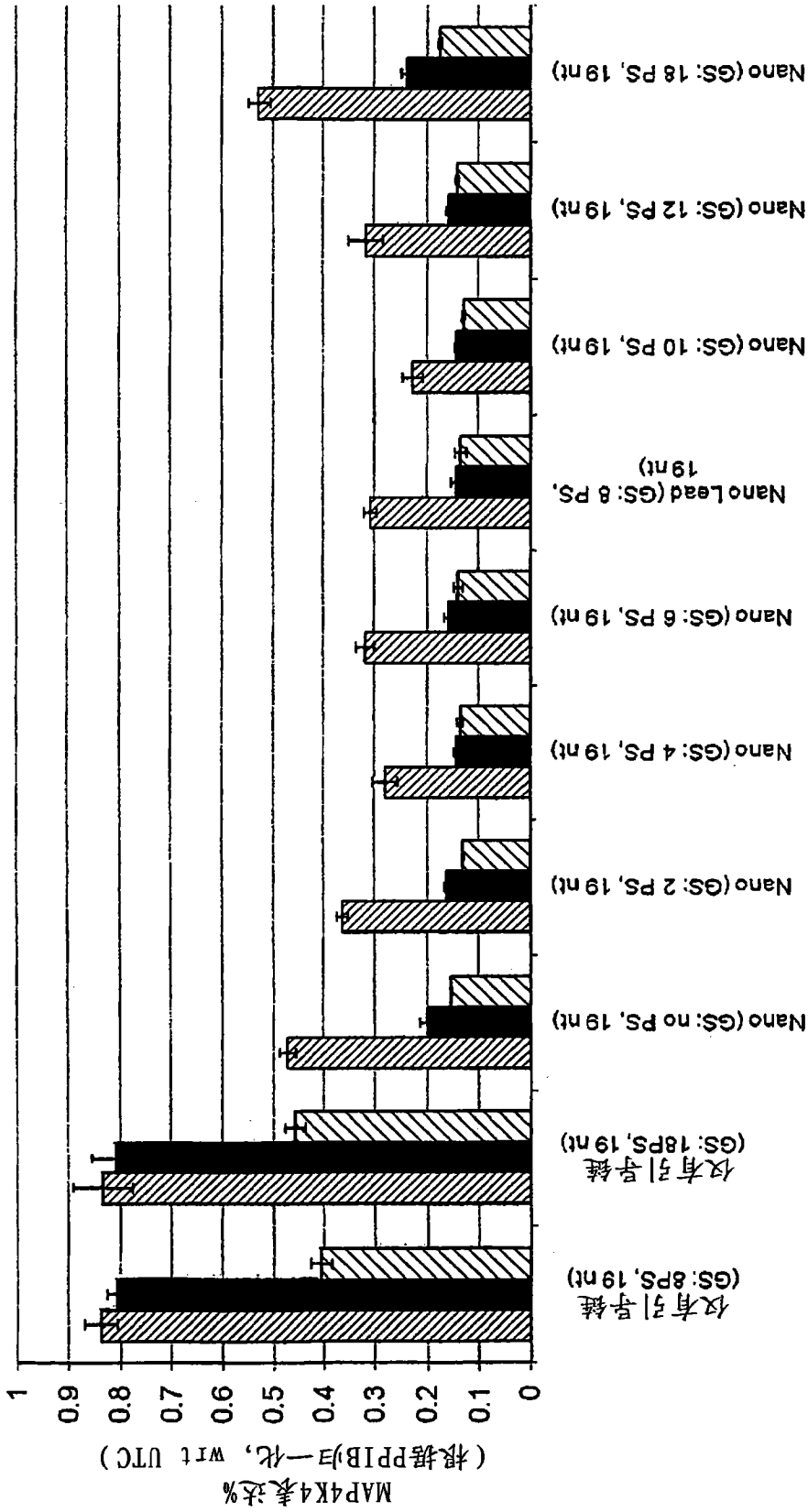


图 39

GS (19mer) 中容忍 4 至 10 个硫代磷酸酯

脂质介导的转染

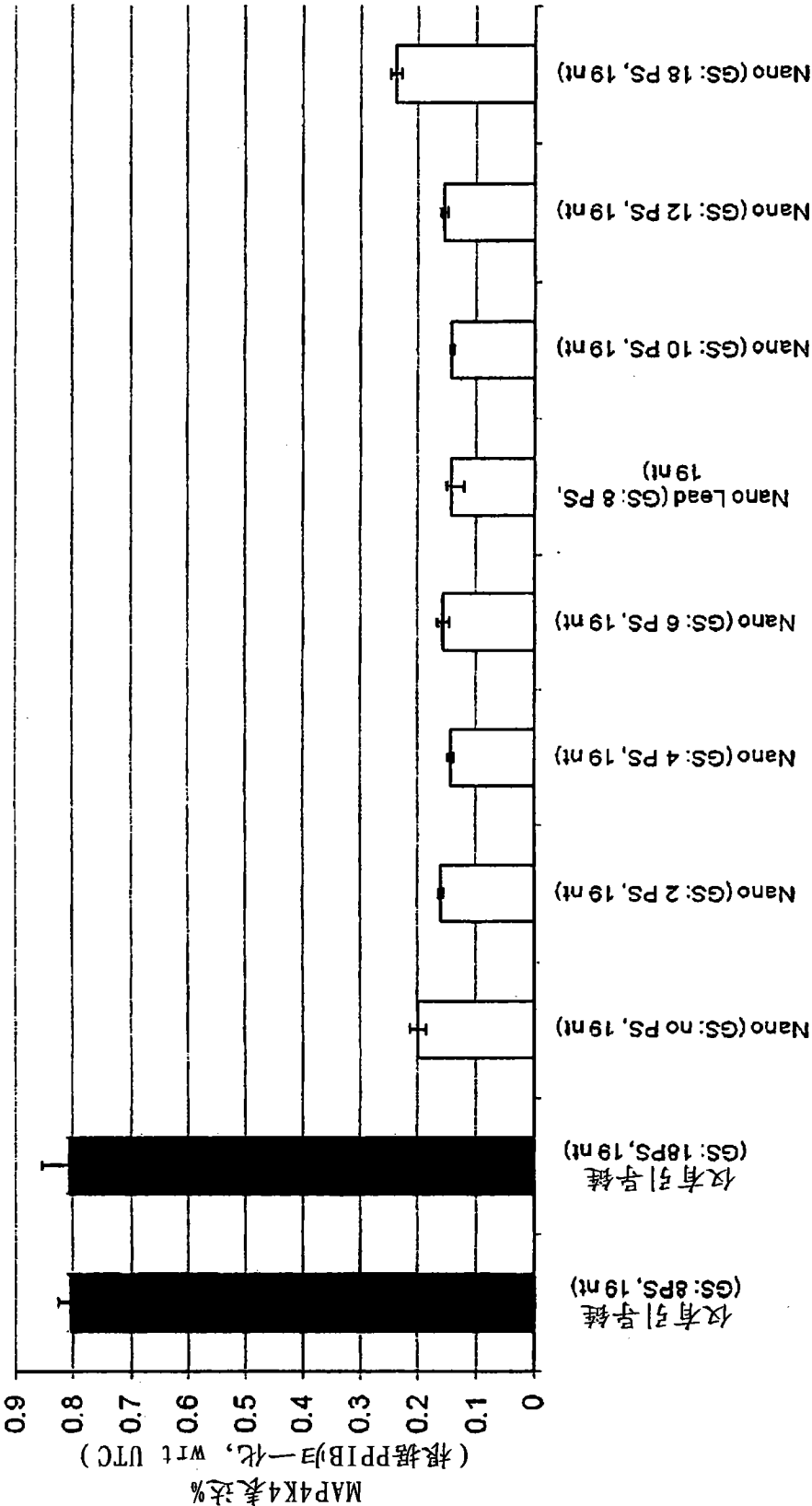


图 40

硫代磷酸酯含量对被动摄取很重要

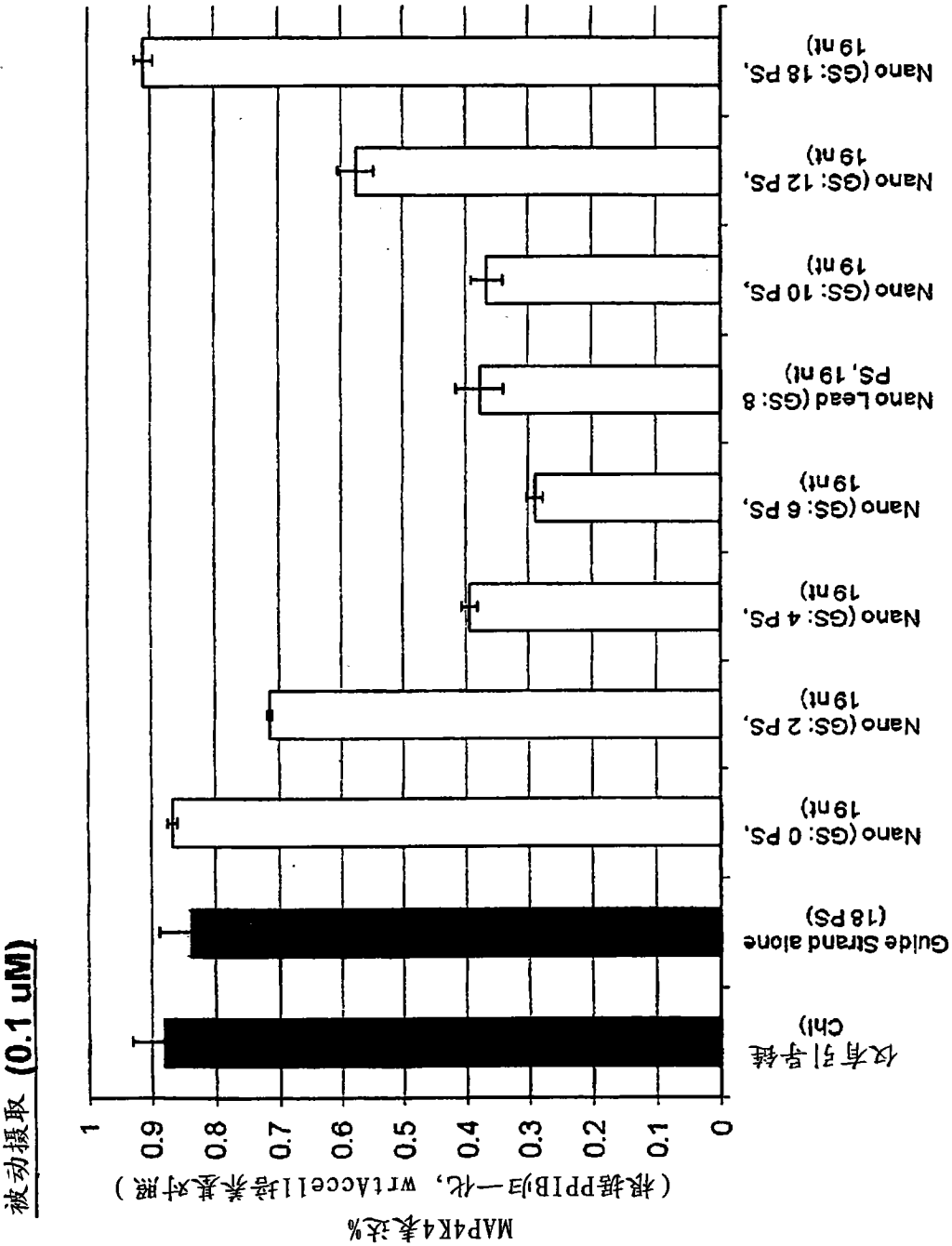


图 41

硫代磷酸酯含量对被动摄取很重要

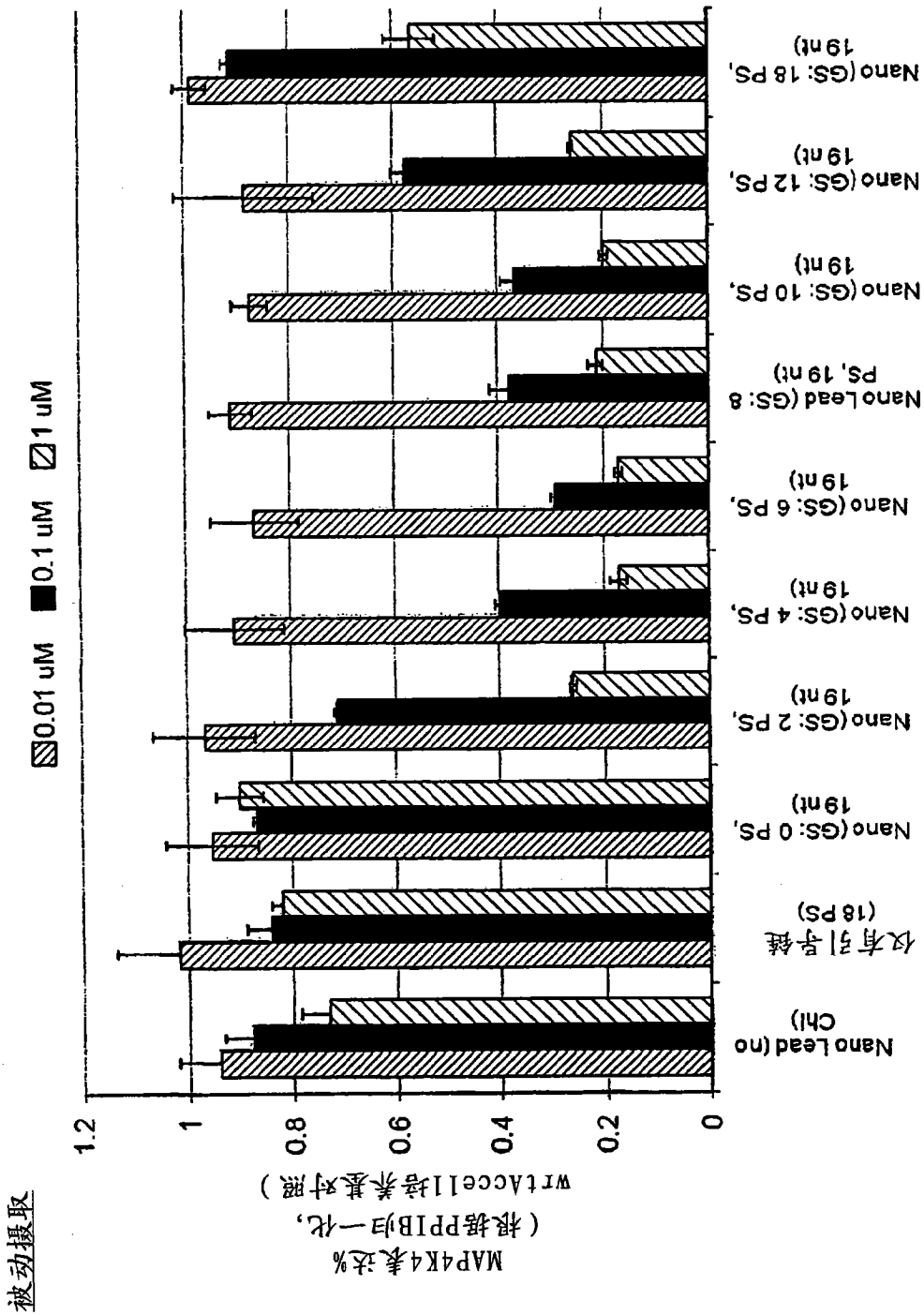


图 42

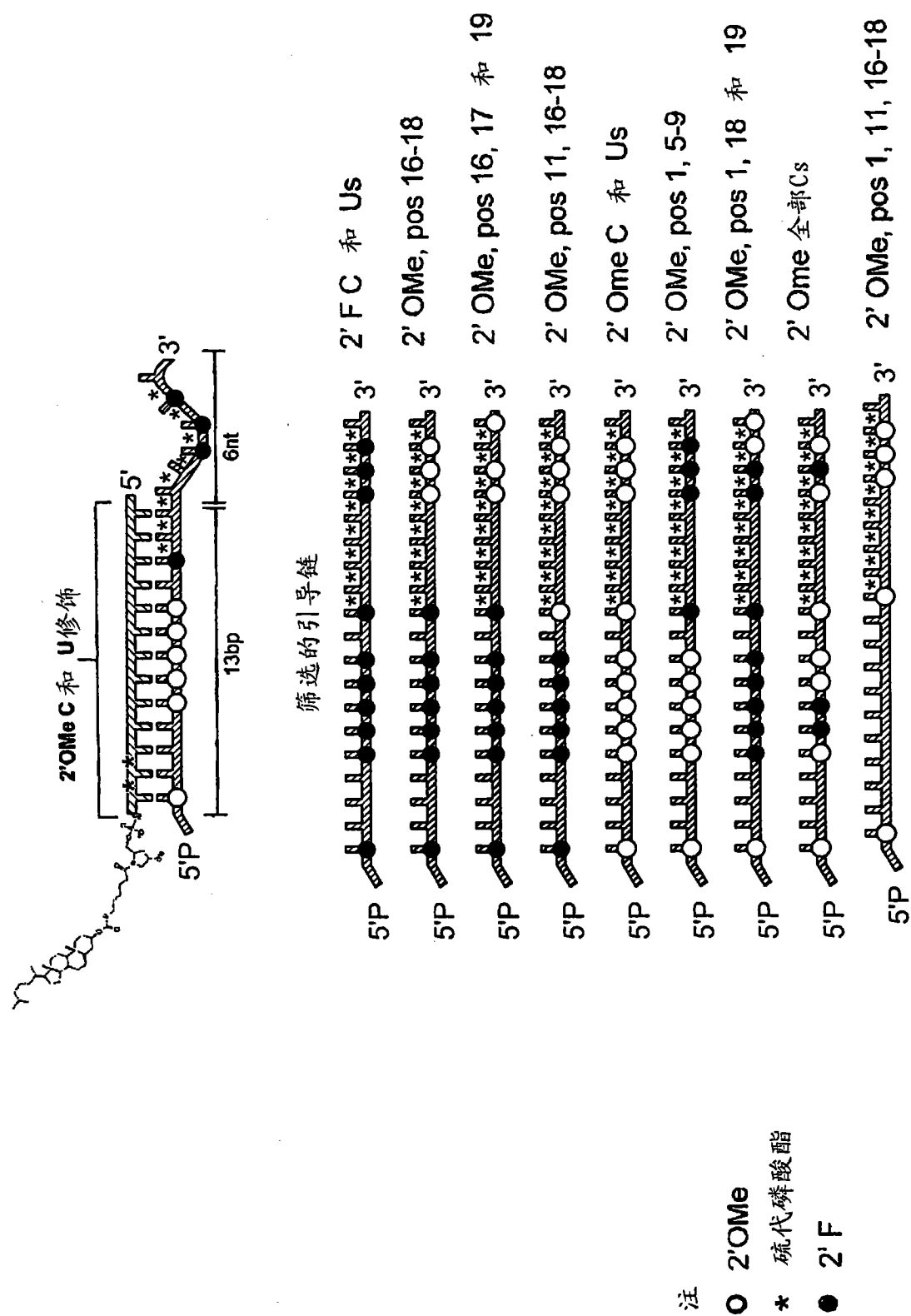


图 43

引导链3'末端容忍2' OMe

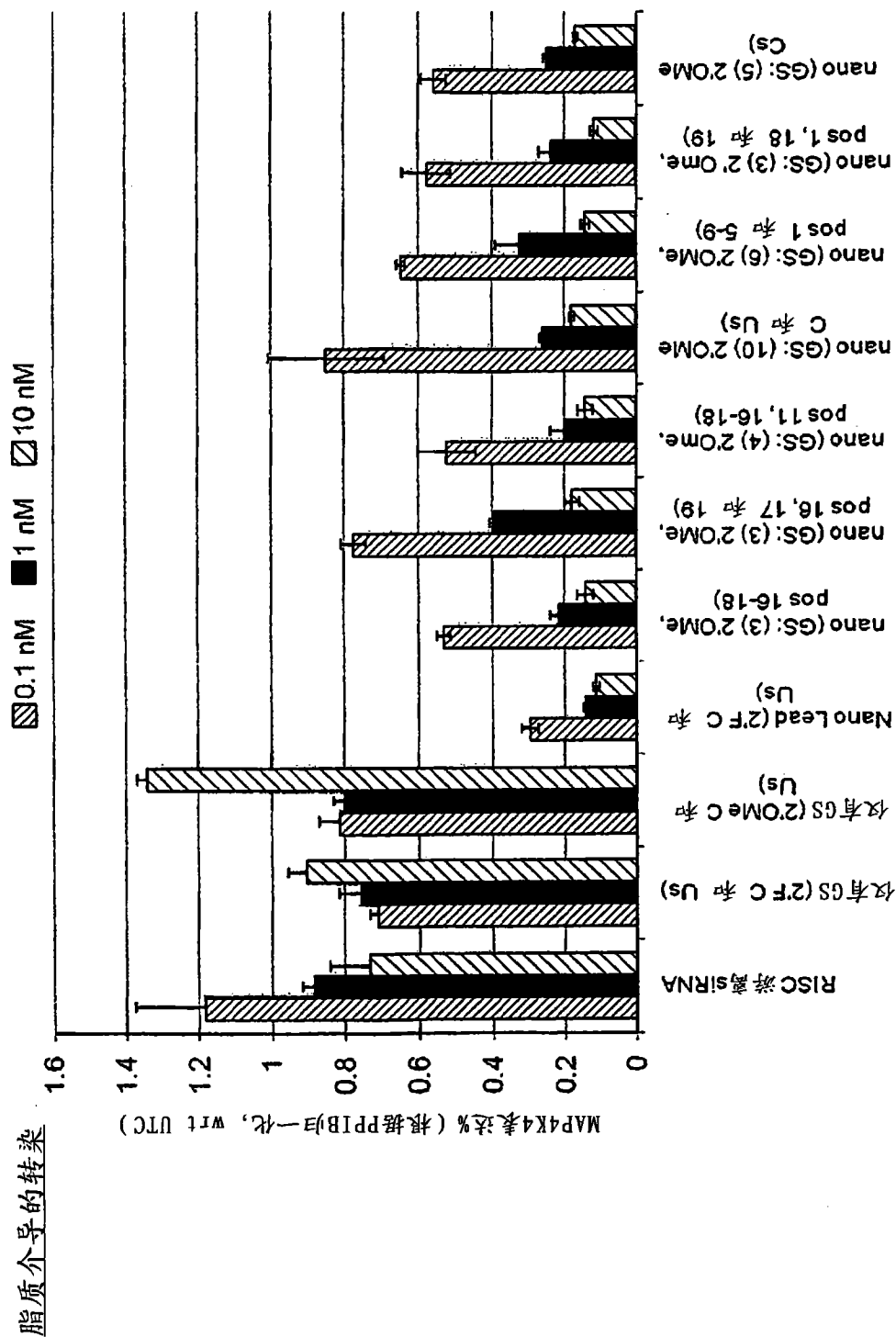


图 44

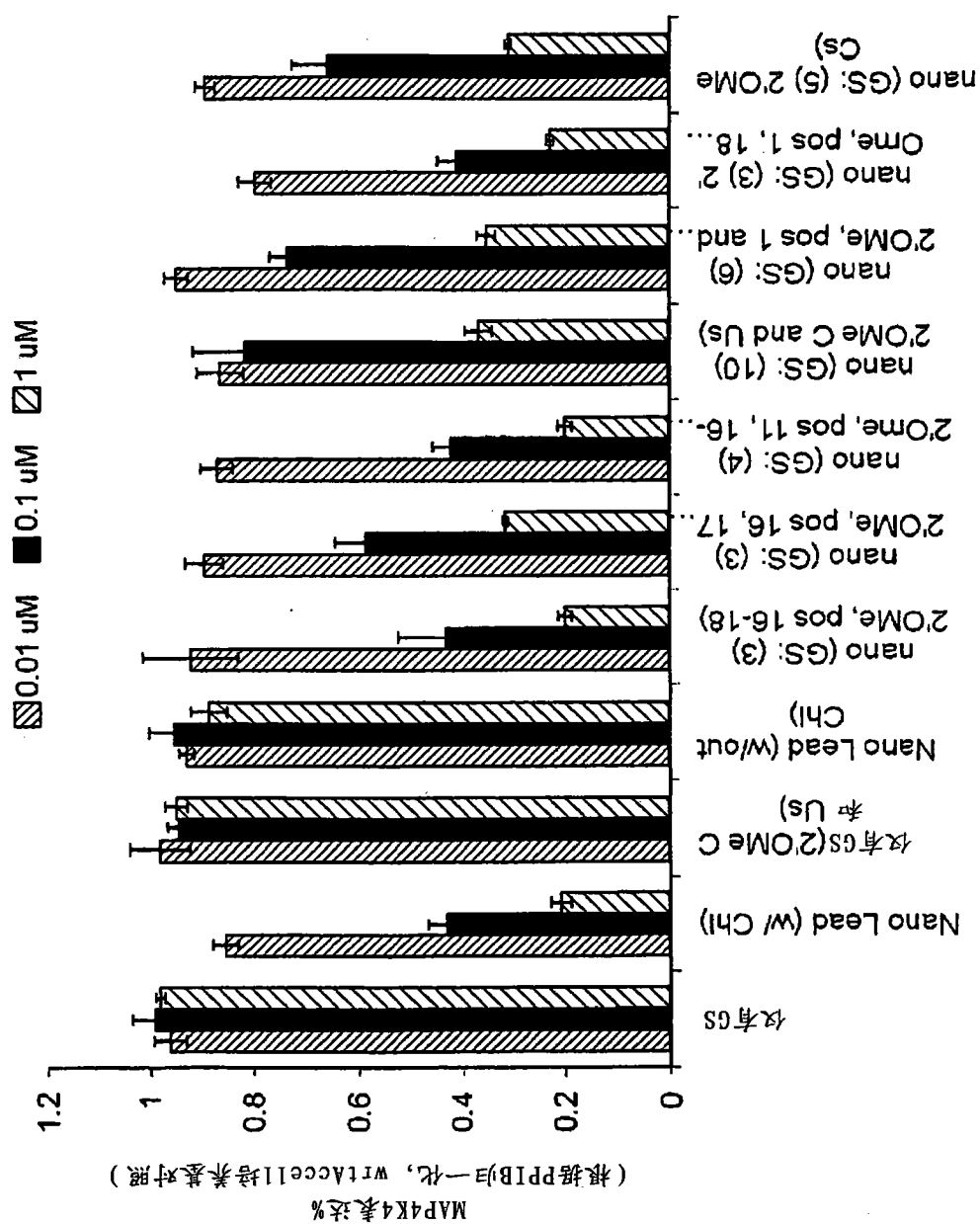


图 45

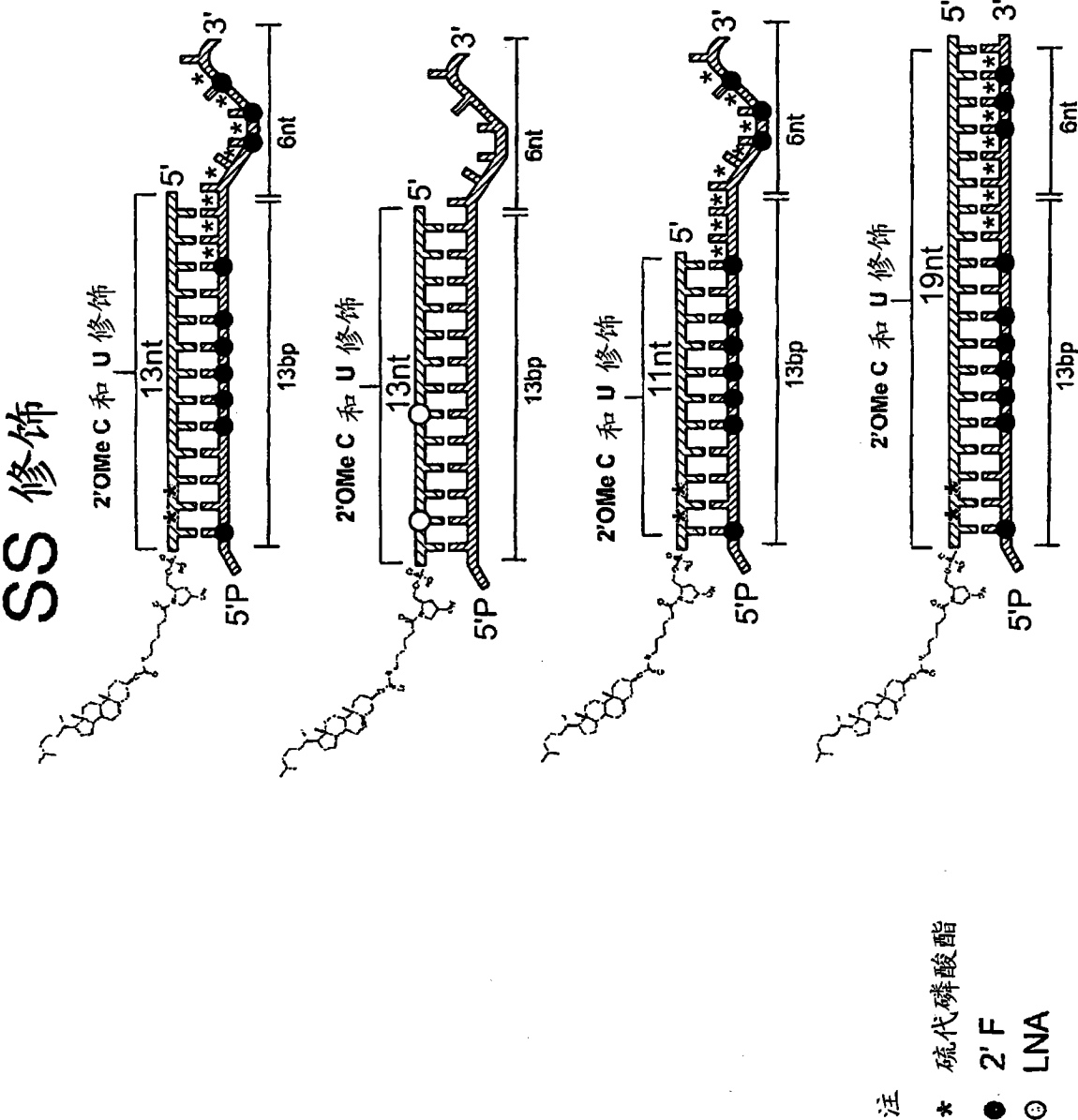


图 46

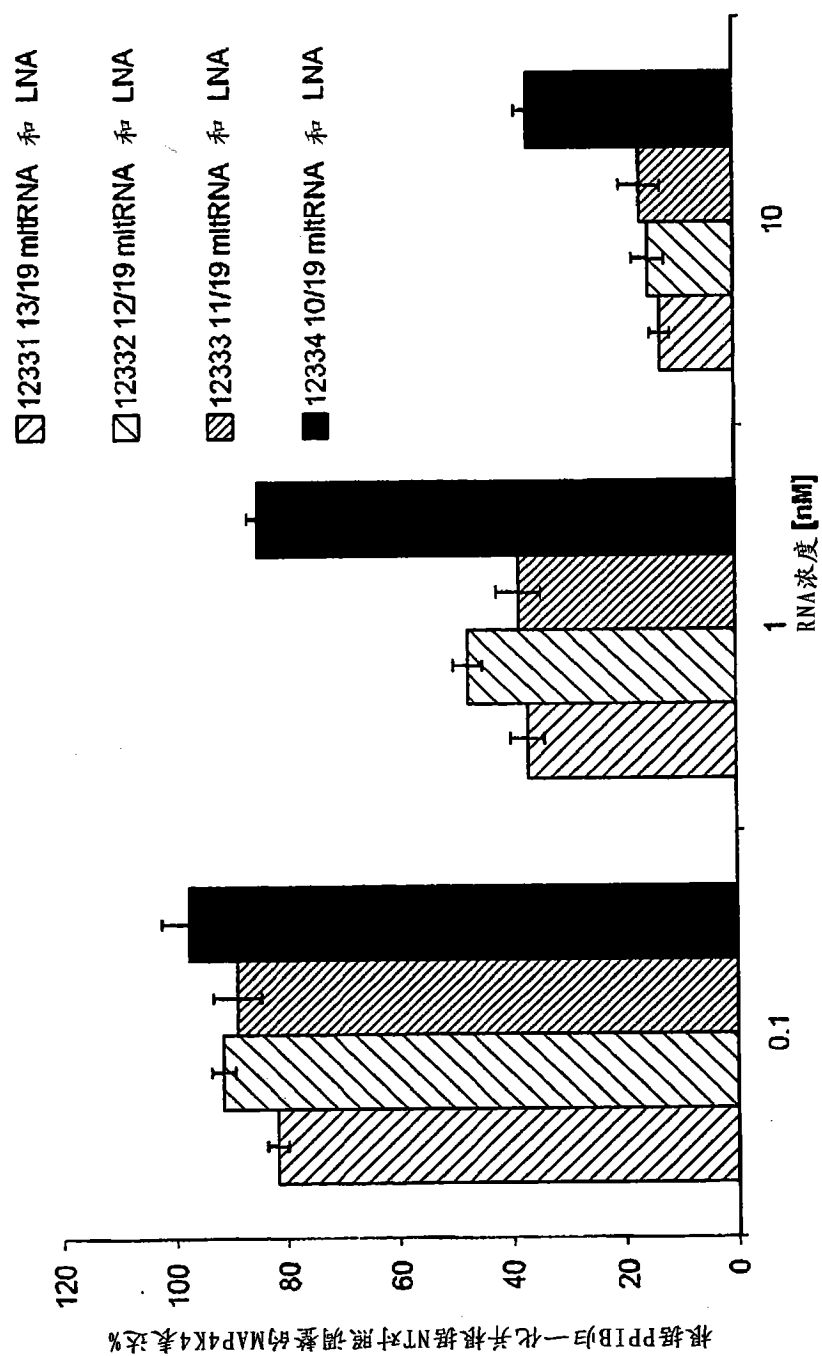


图 47

有义链13碱基的最佳长度

被动摄取

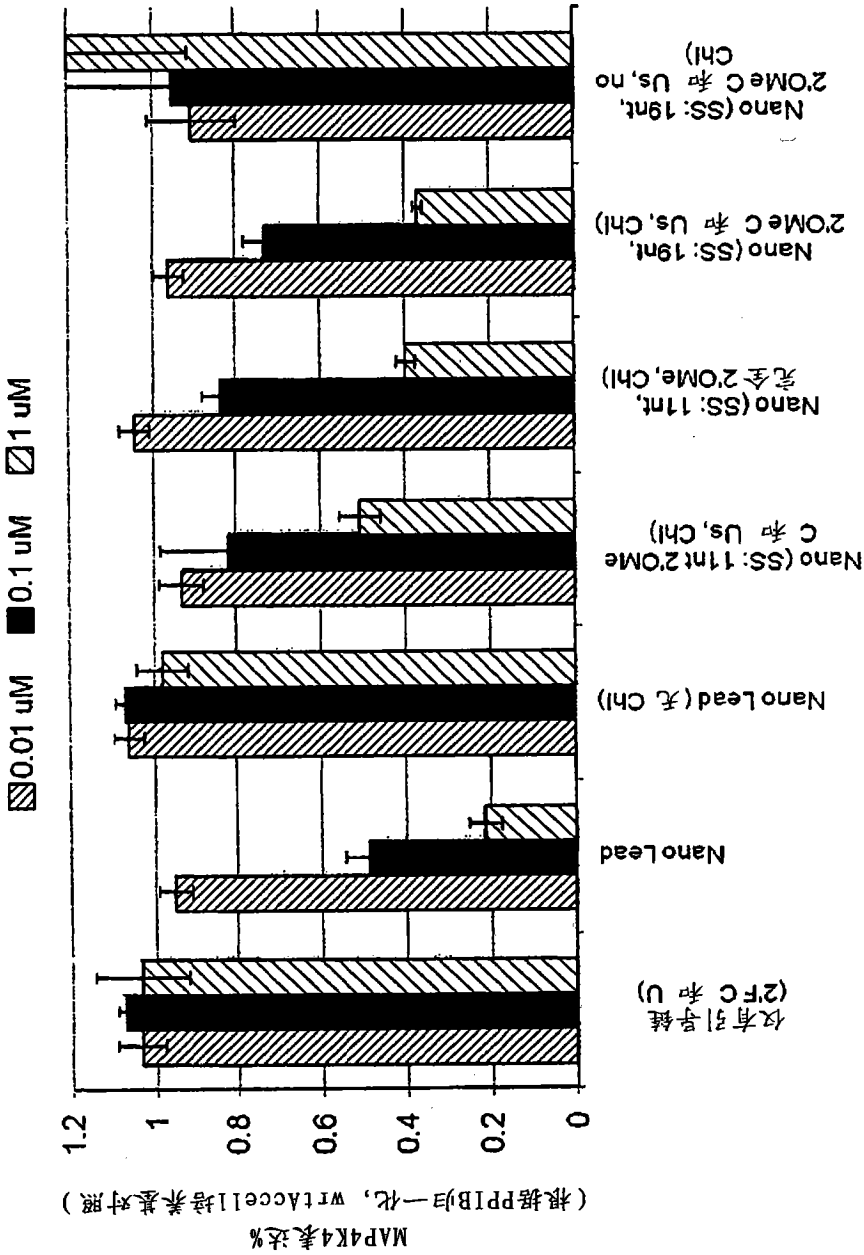


图 48

有义链的被动摄取不需要硫代磷酸酯

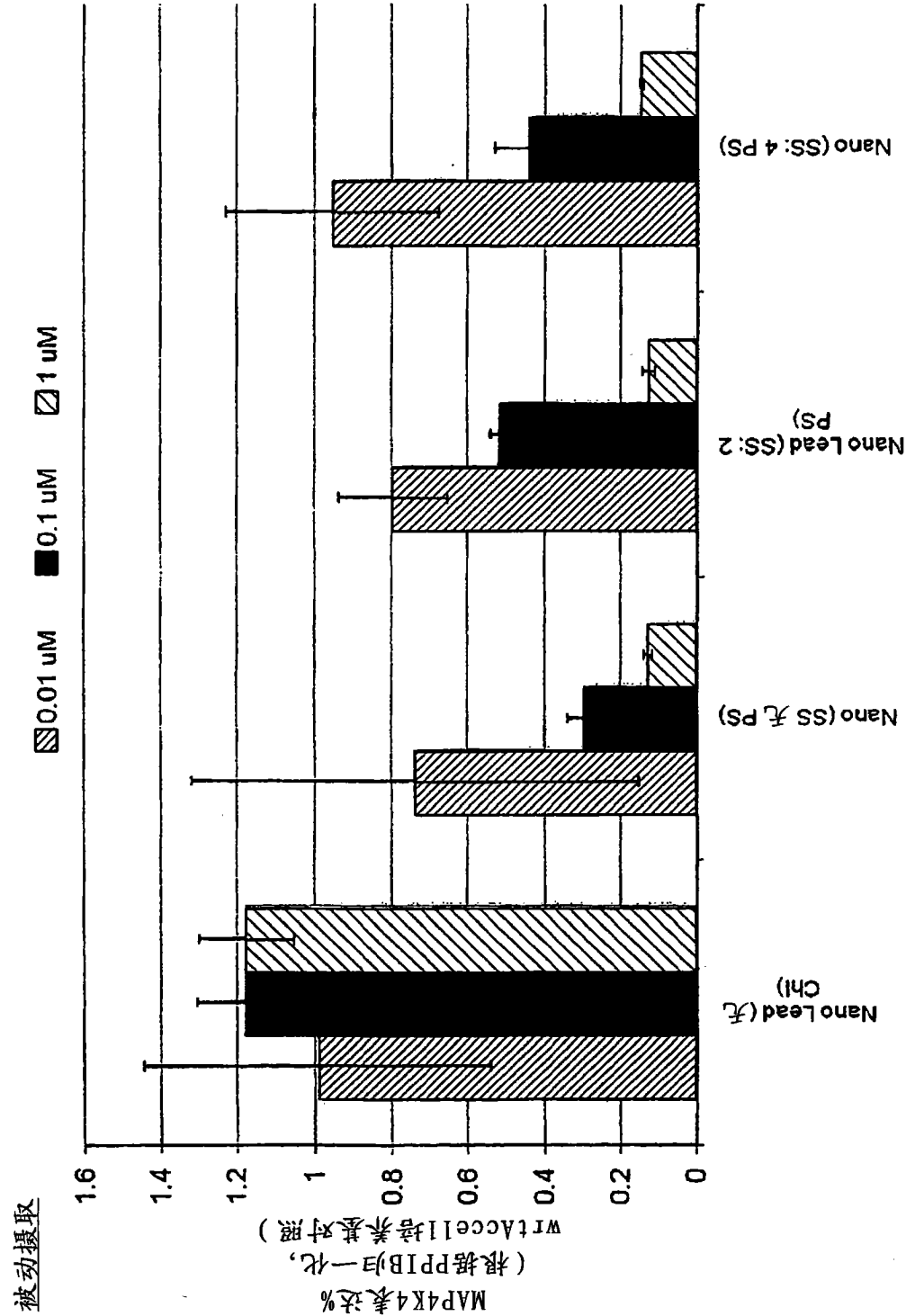


图 49

第二代 sd-rxRNA ^{nano} Lead

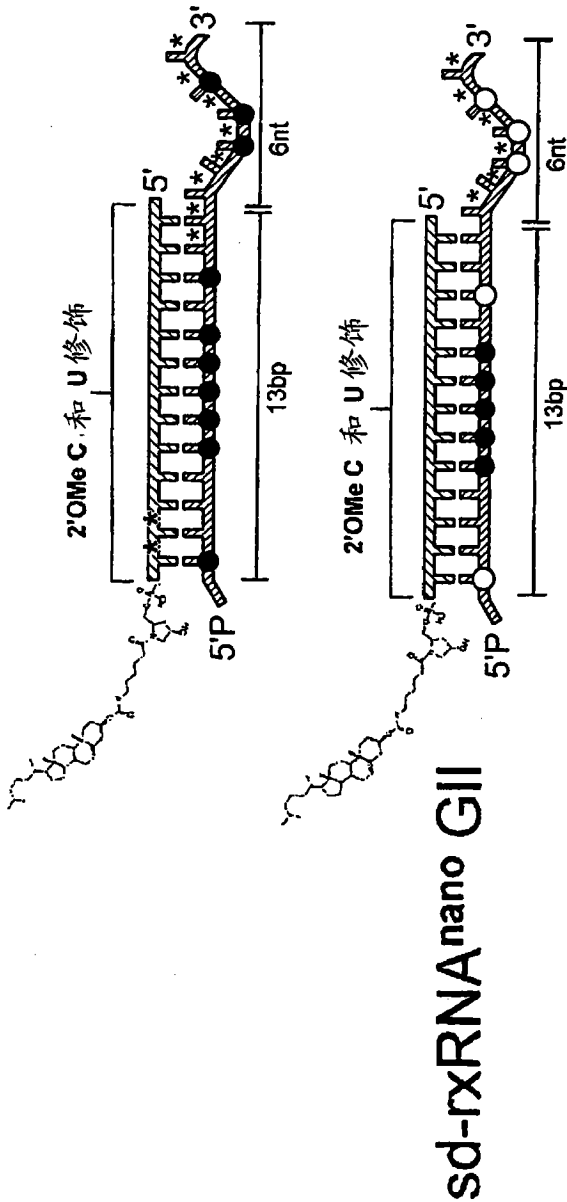


图 50

- PS含量降低40%
- 2' F含量降低40-50%

注
○ 2'OMe
* 硫代磷酸酯
● 2' F

sd-rxRNA™：无递送载体的自发细胞摄取和效力

- 具有自递送部分的化学修饰双向RNAi分子
- 促进递送（脂质介导的转染）后的皮克摩尔活性
- 细胞培养物中无转染试剂（自递送）的纳摩尔活性
- 被细胞培养物中的大部分细胞类型有效摄取（>95%）
- 稳定（在100%人血清中多于3天）
- 导致组织扩散；降低肾清除
- 与SC施用相容
- 高特异性（少或无免疫诱导）

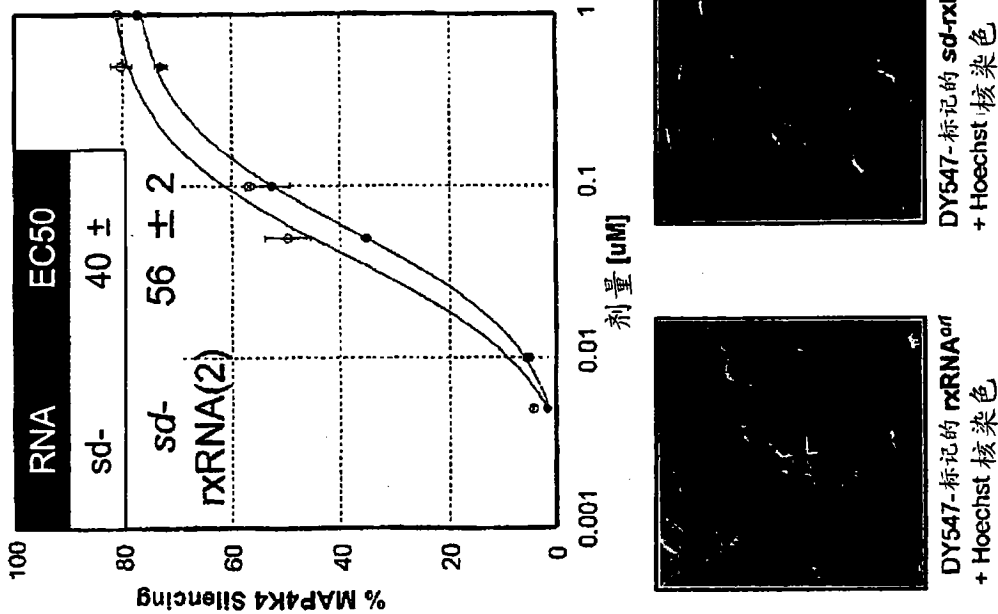
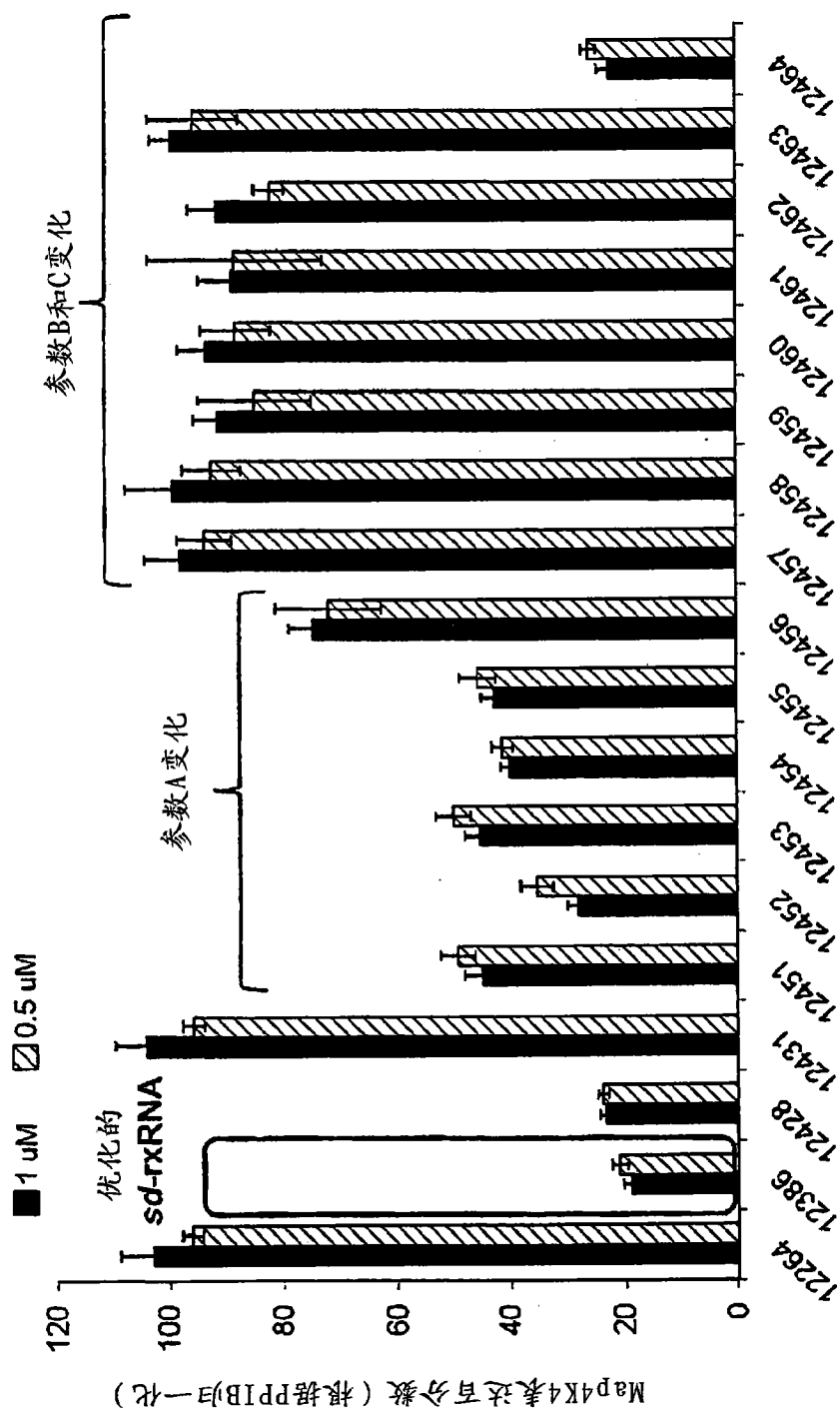


图 51

化学性质和构型之间的相互作用 产生强的 *sd-rxRNA*TM



- HeLa 细胞; 72 小时
- 改变三种不同参数

图 52

化学性质类型和含量对
*sd-rxRNA*TM 的效力而言很重要
被动摄取 (0.1 uM)

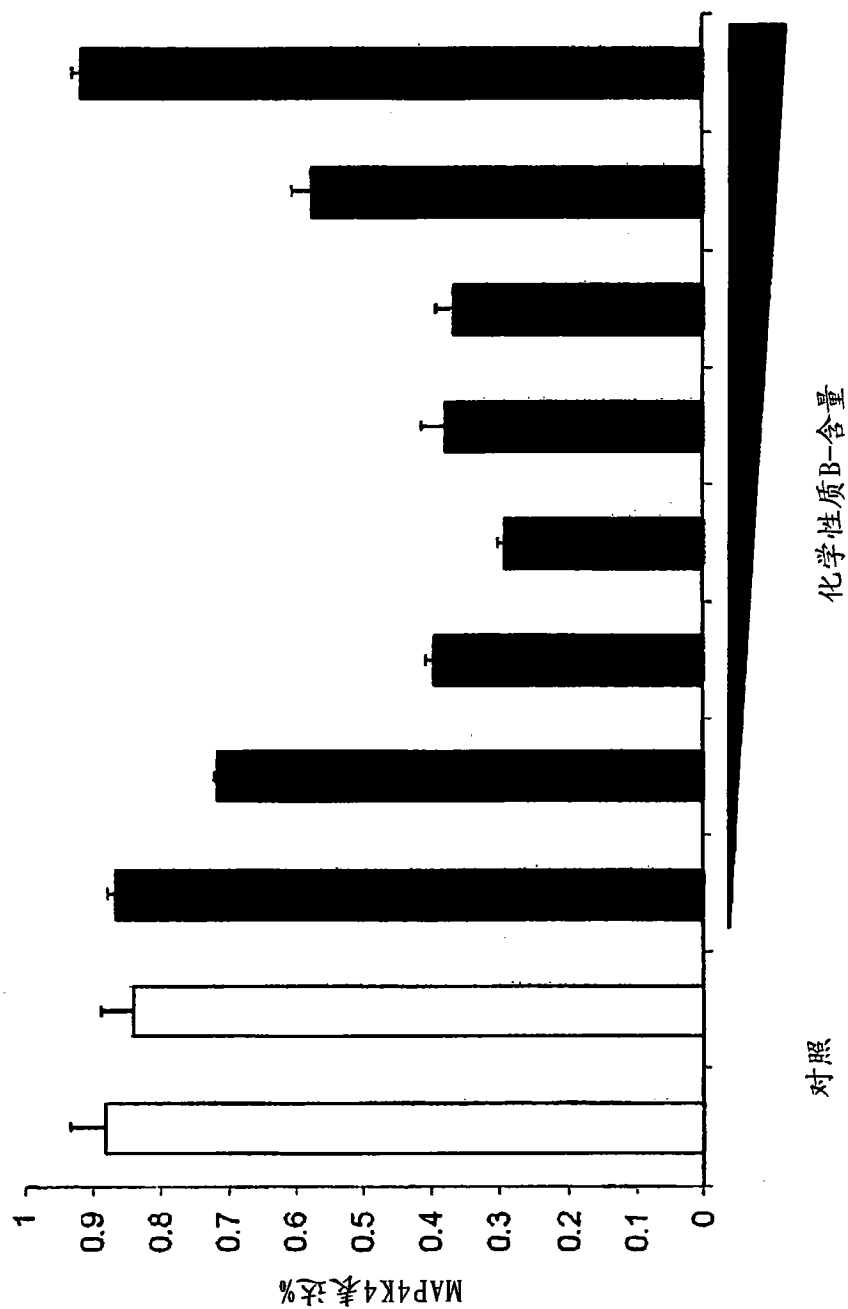


图 53

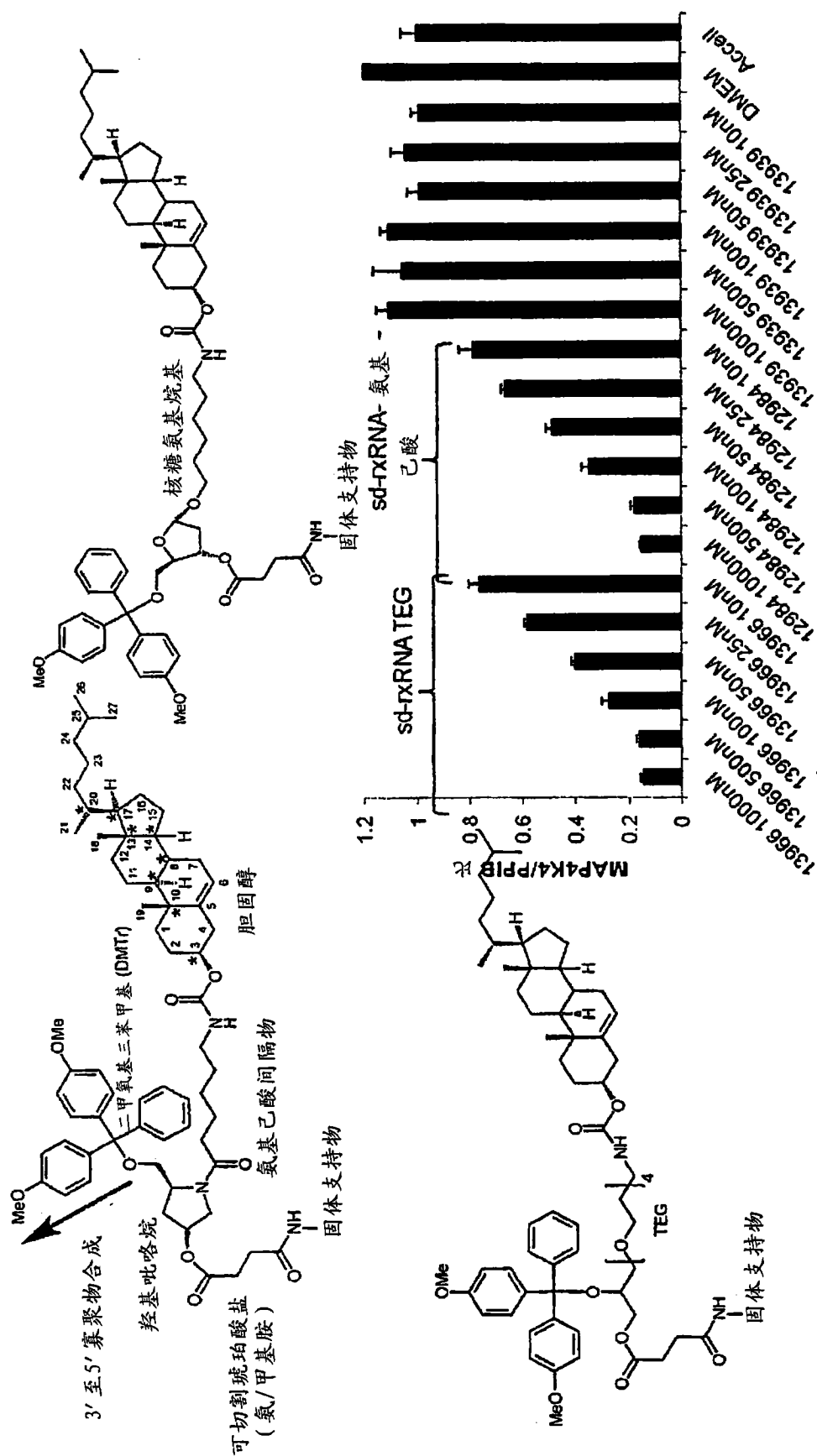


图 54

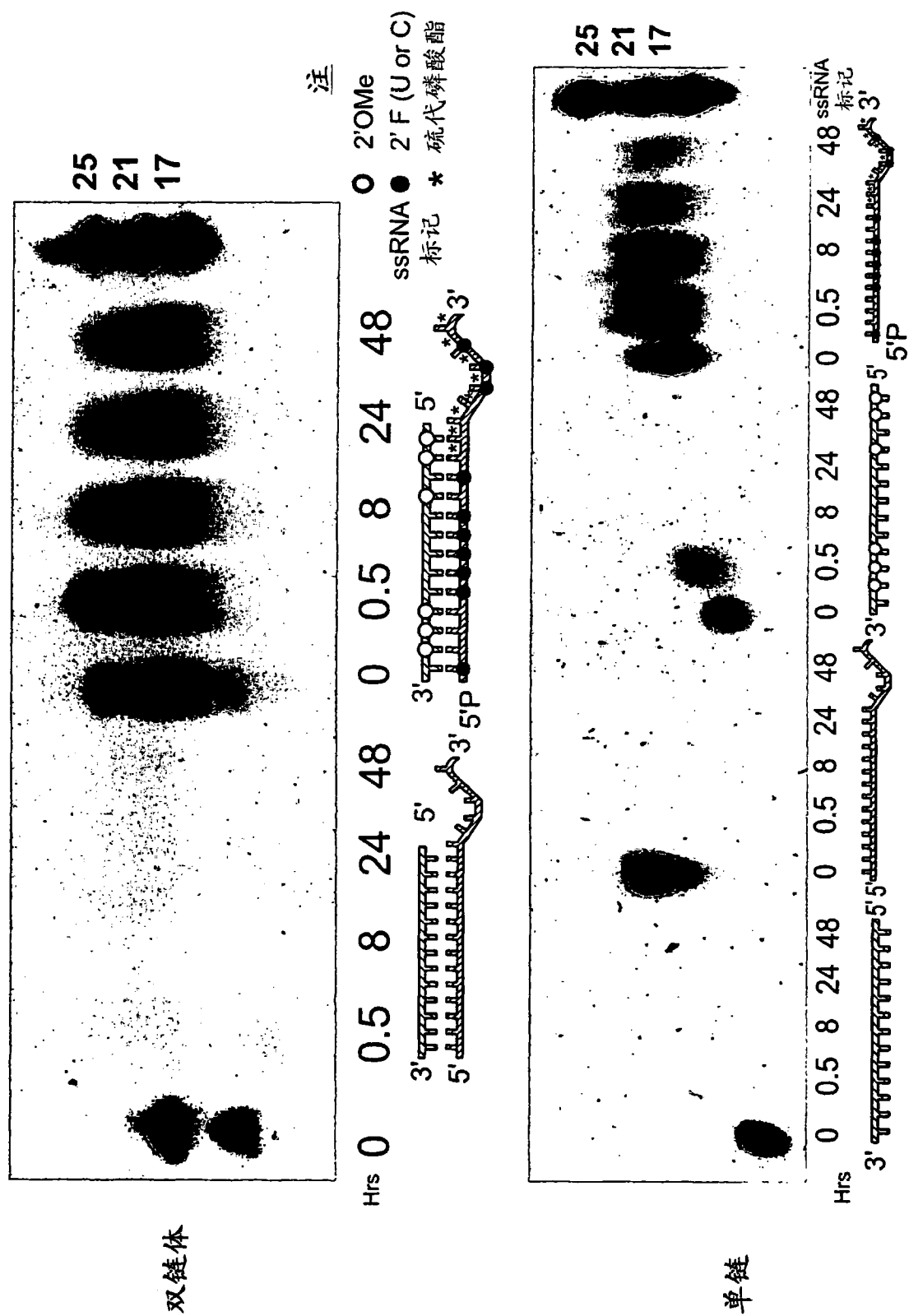
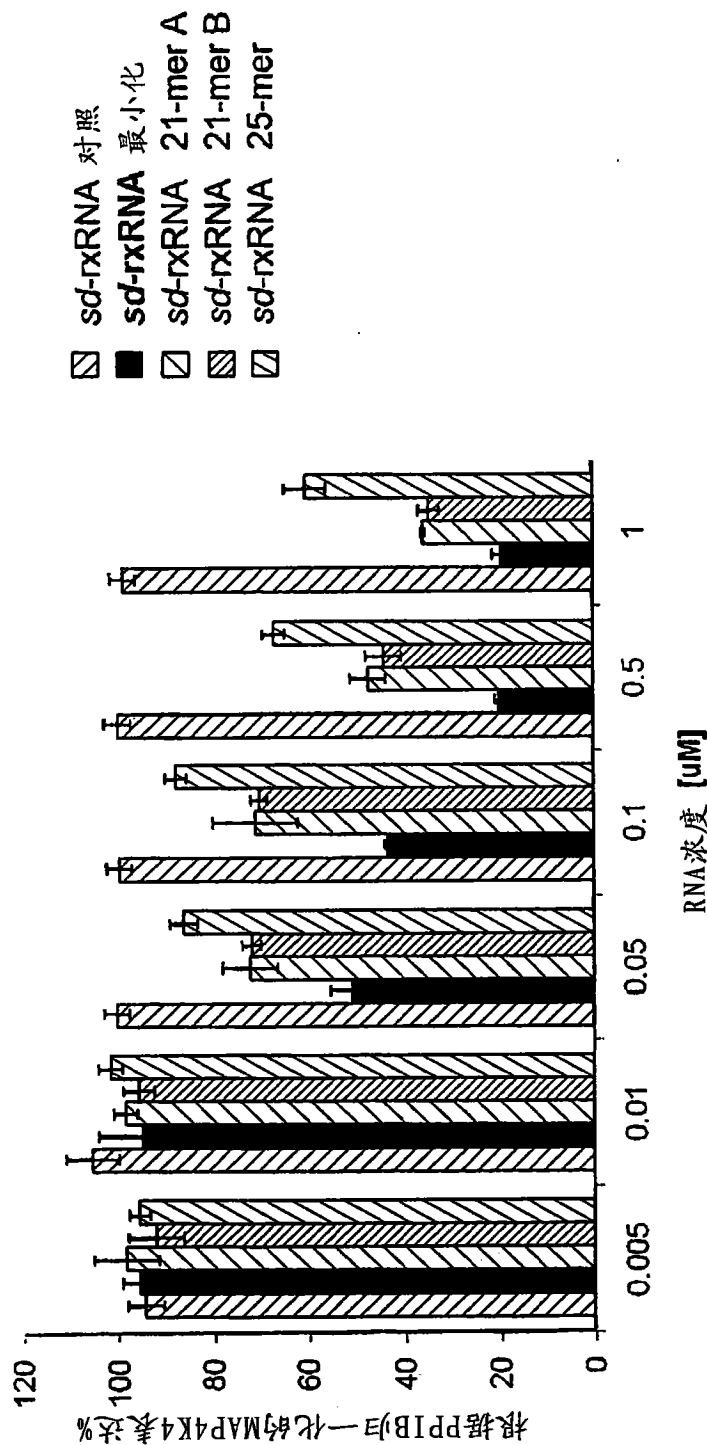


图 55

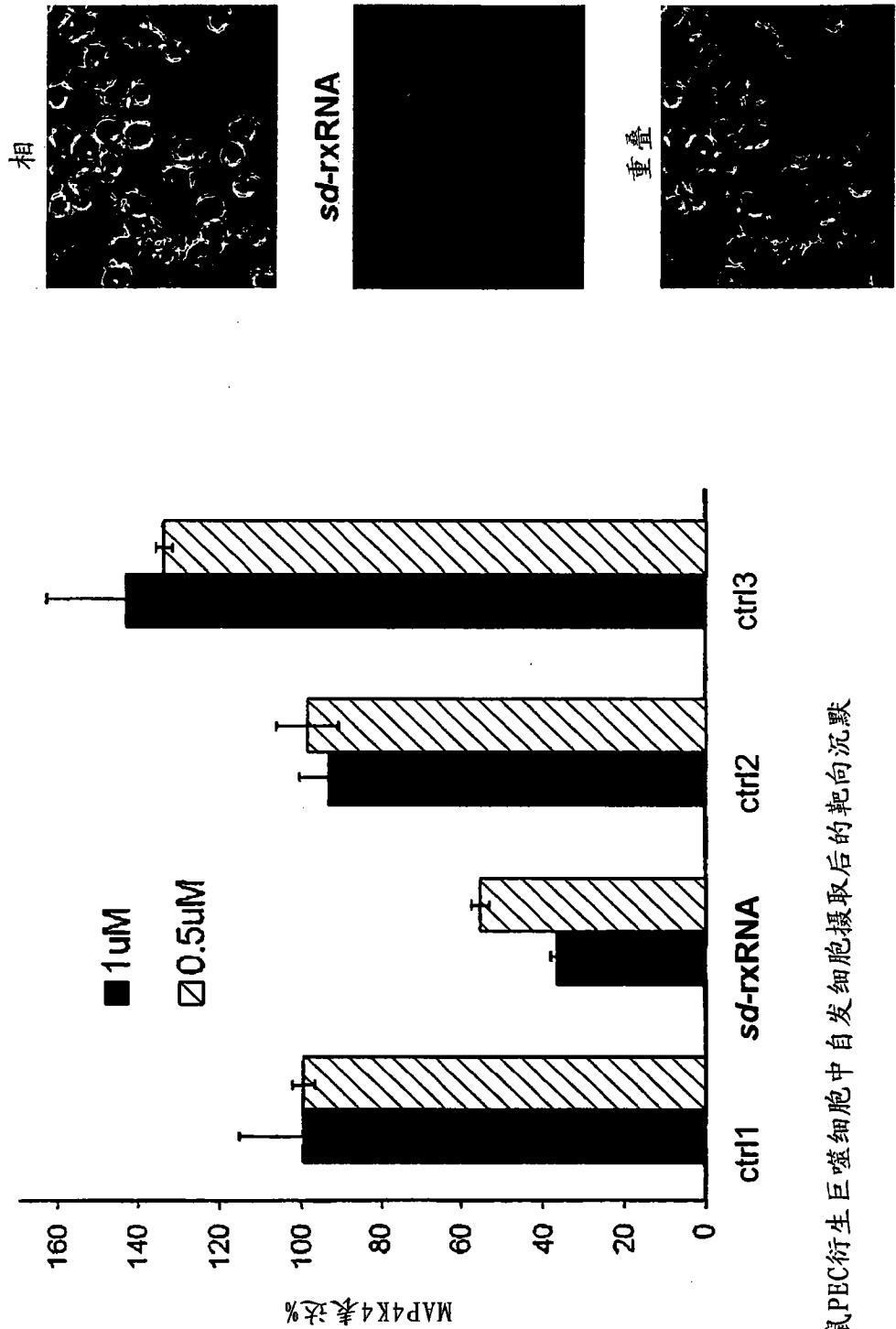
sd-rxRNA™：使寡核苷酸含量最小化对细胞摄取而言很重要



- 自发细胞摄取 (HeLa)
- Lead sd-rxRNA 化合物是基于 rxRNA^{nano}
- 使寡核苷酸含量最小化对有效摄取而言很重要

图 56

sd-rxRNA™：原代细胞中的自发摄取和靶基因沉默



• 小鼠PEC衍生巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶向沉默

图 57

sd-rxRNA™:原代细胞中的自发摄取和靶标基因沉默



• 小鼠原代巨噬细胞中自发细胞摄取后的靶标敲低

图 58

无需抑制剂向RPE细胞递送sd-rxRNA

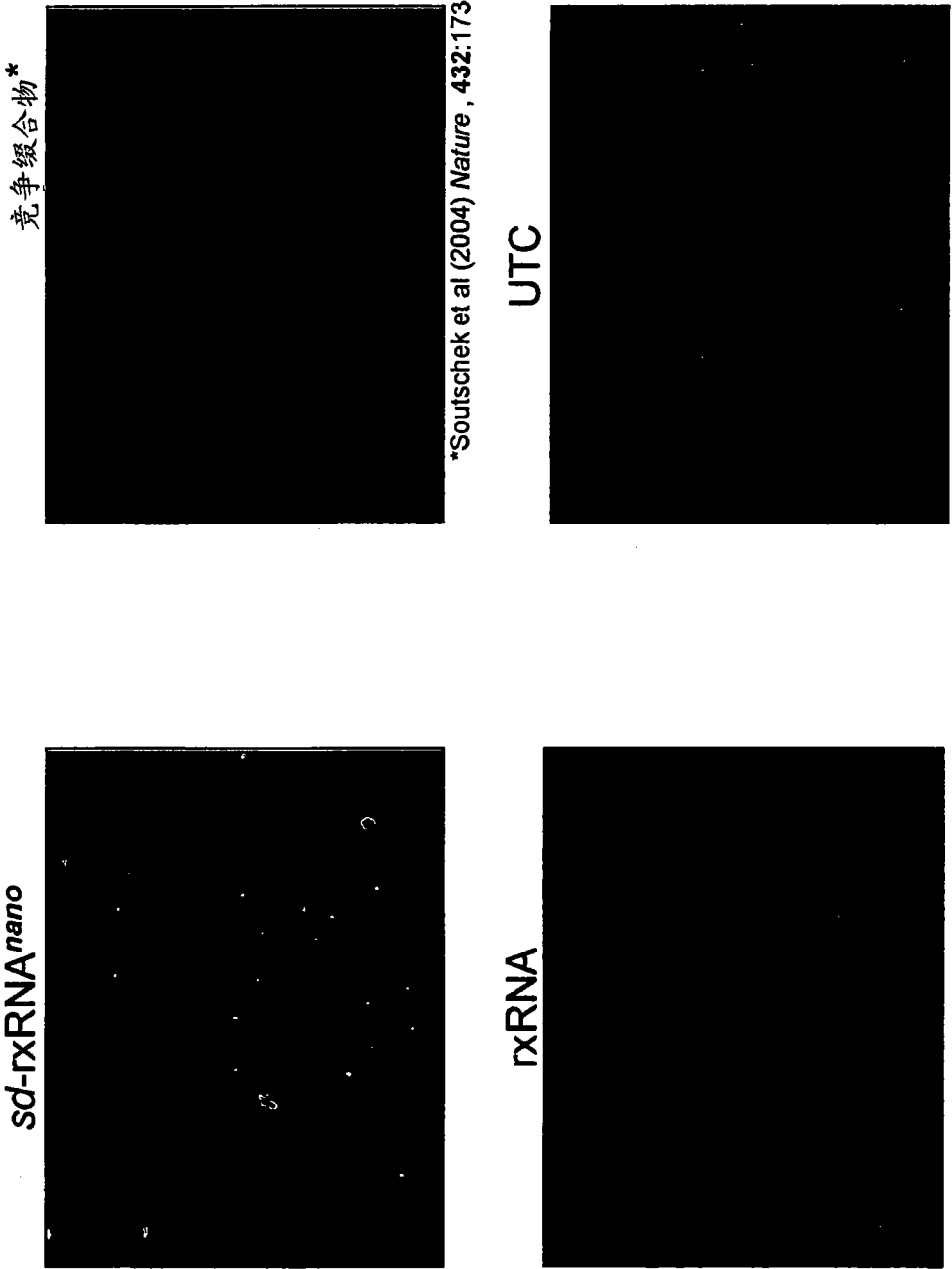


图 59

用 *sd-rxRNA^{nano}* 处理RPE细胞沉默MAP4K4

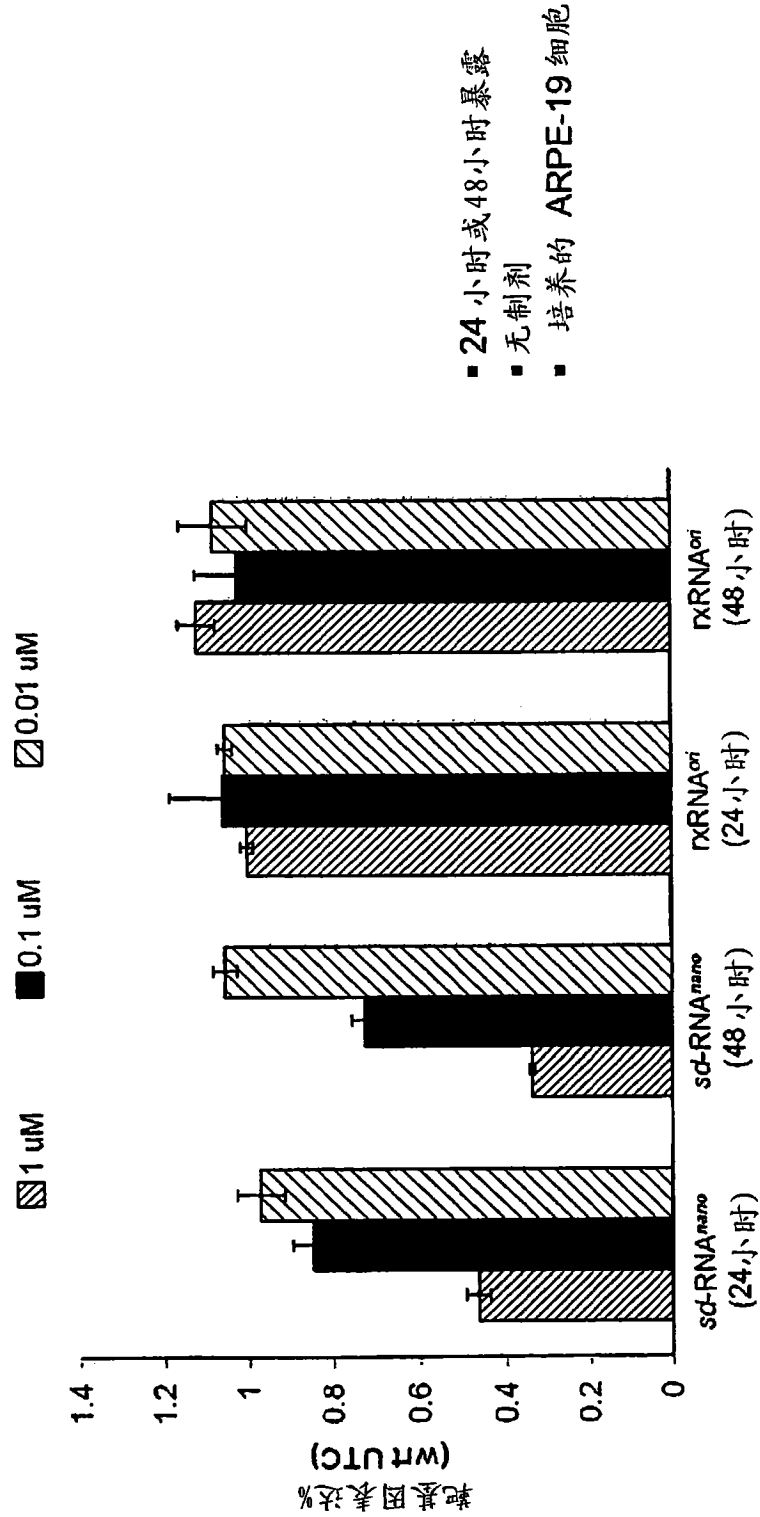


图 60

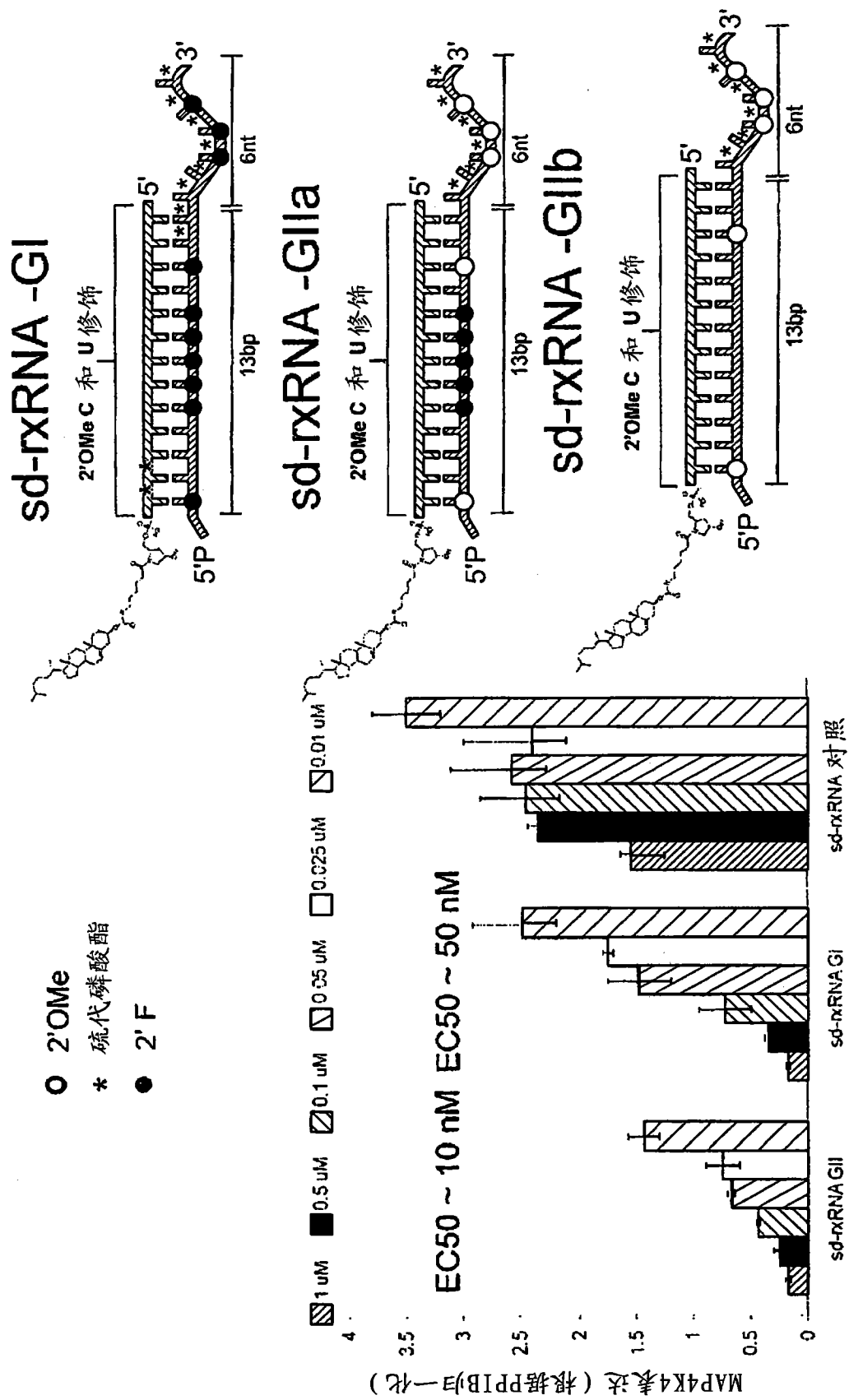


图 61

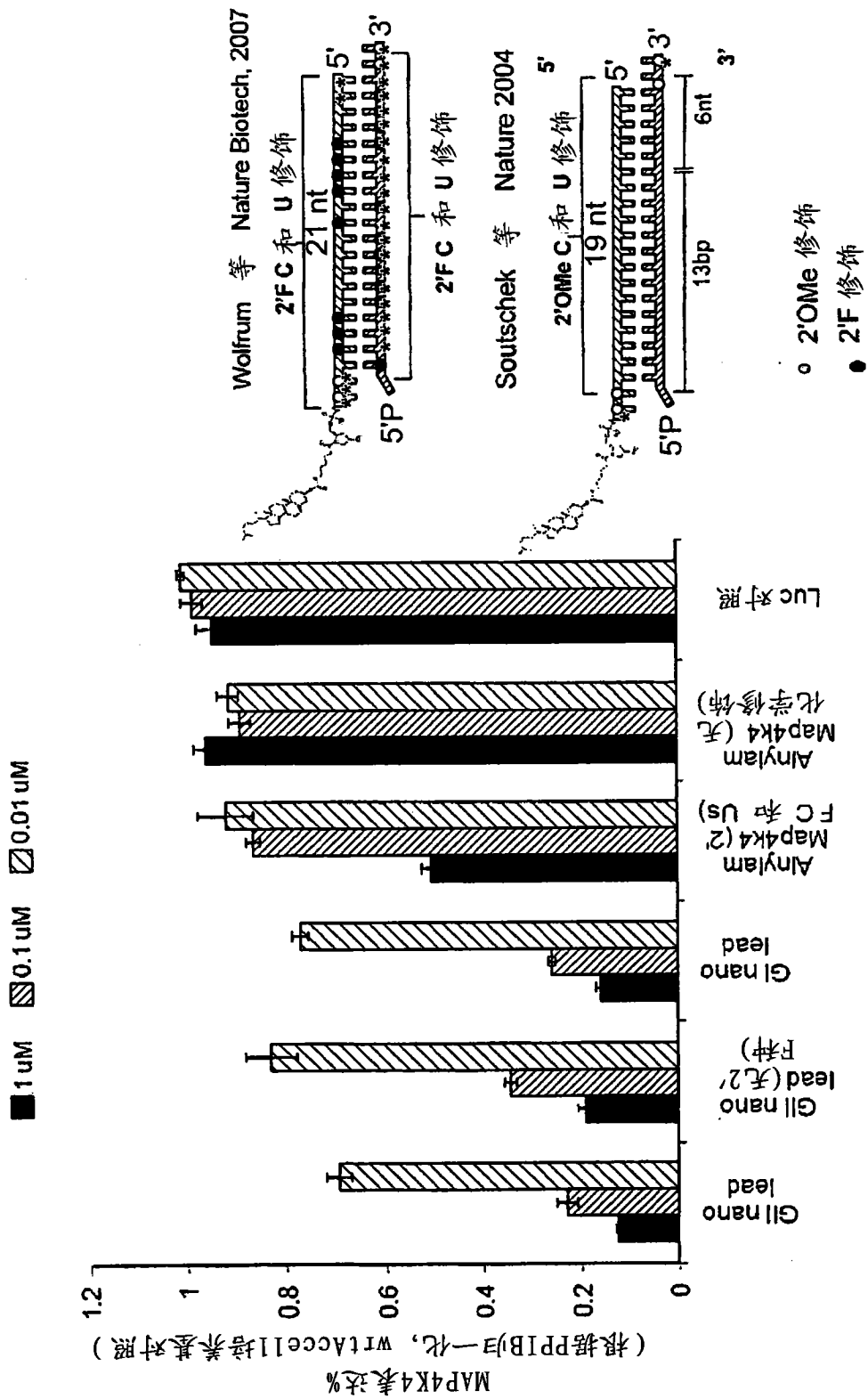


图 62

sd-rxRNA™ 被有效递送到胞质

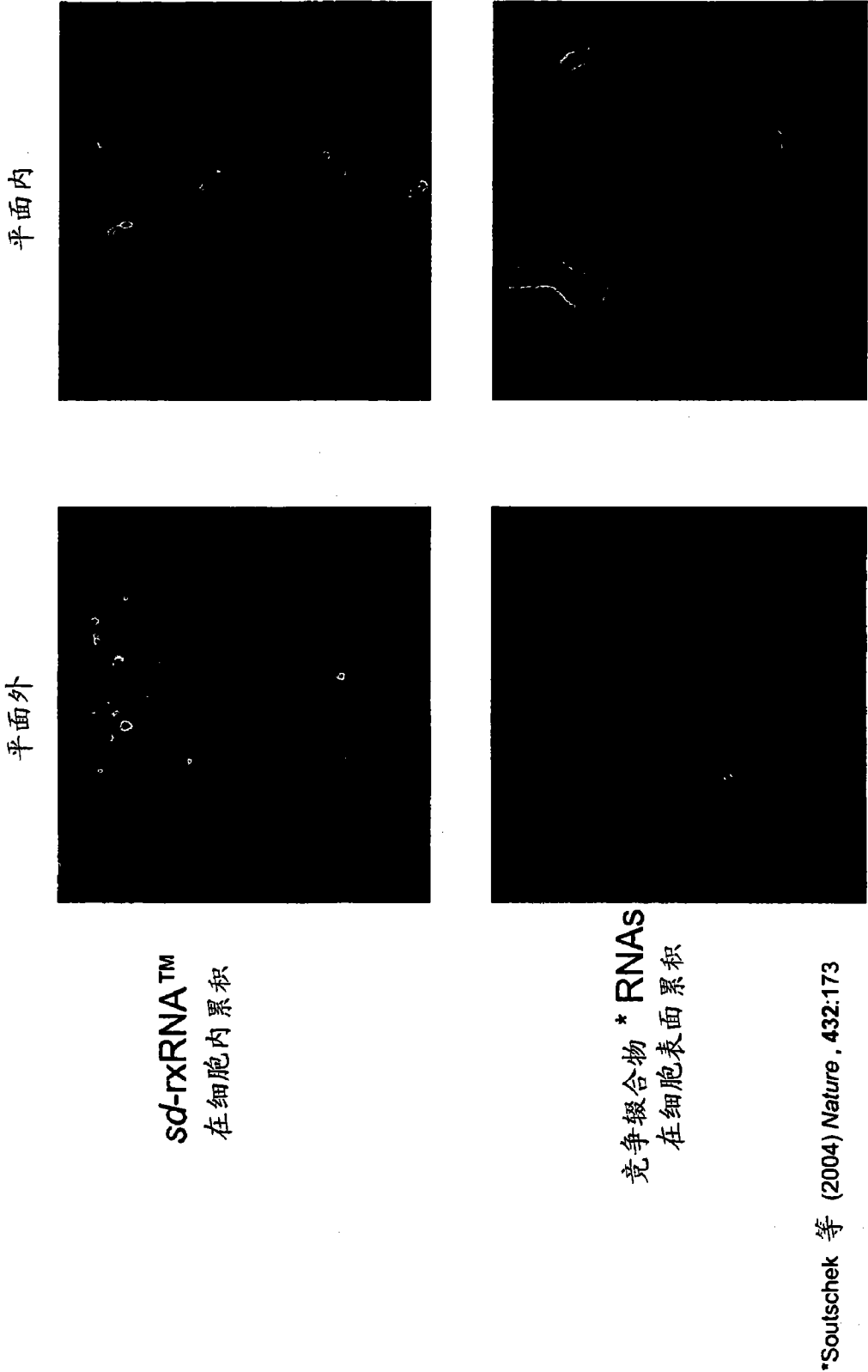


图 63

sd-rxRNA™ 在几分钟内被内化，竞争分子则不然

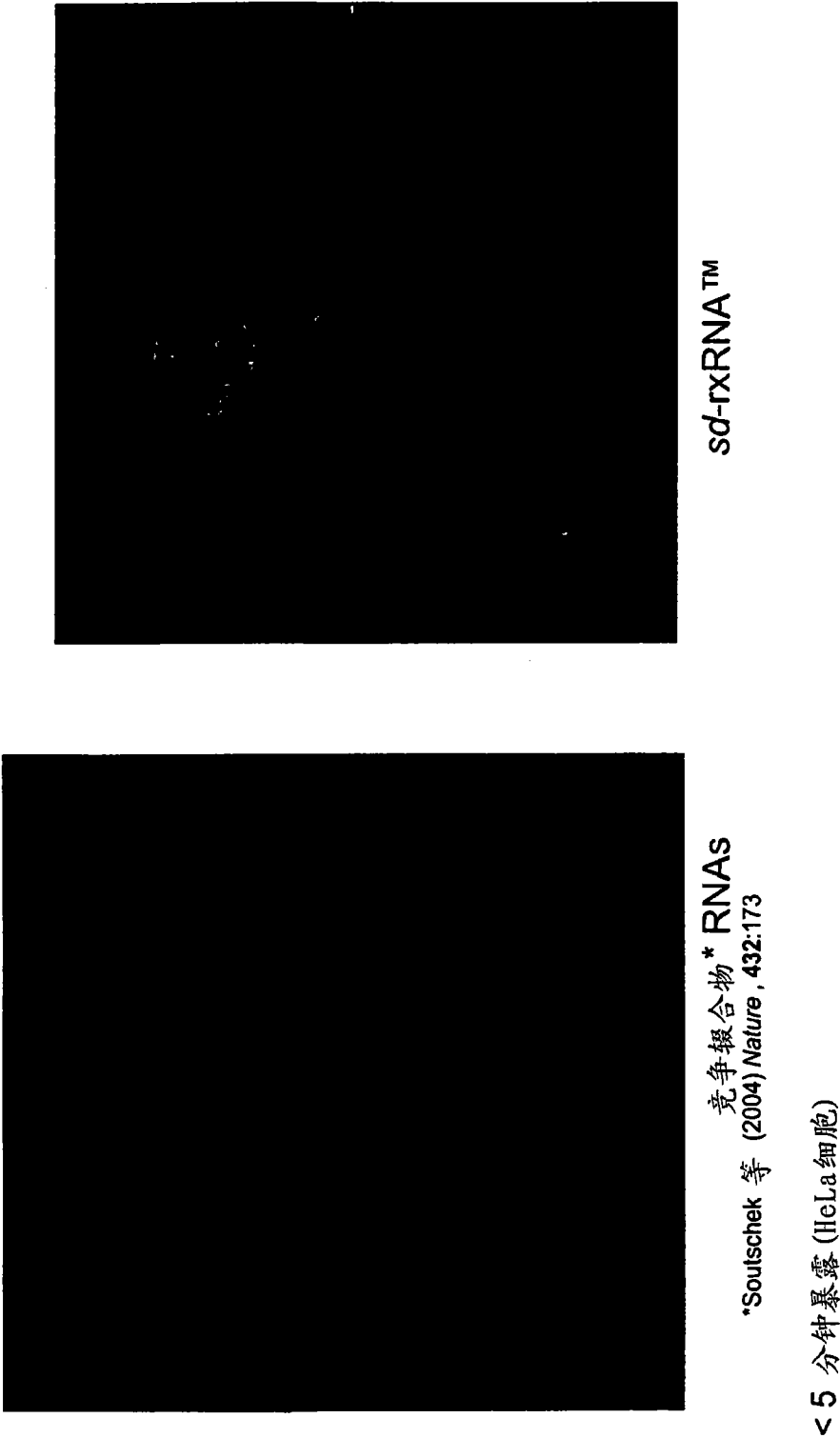


图 64

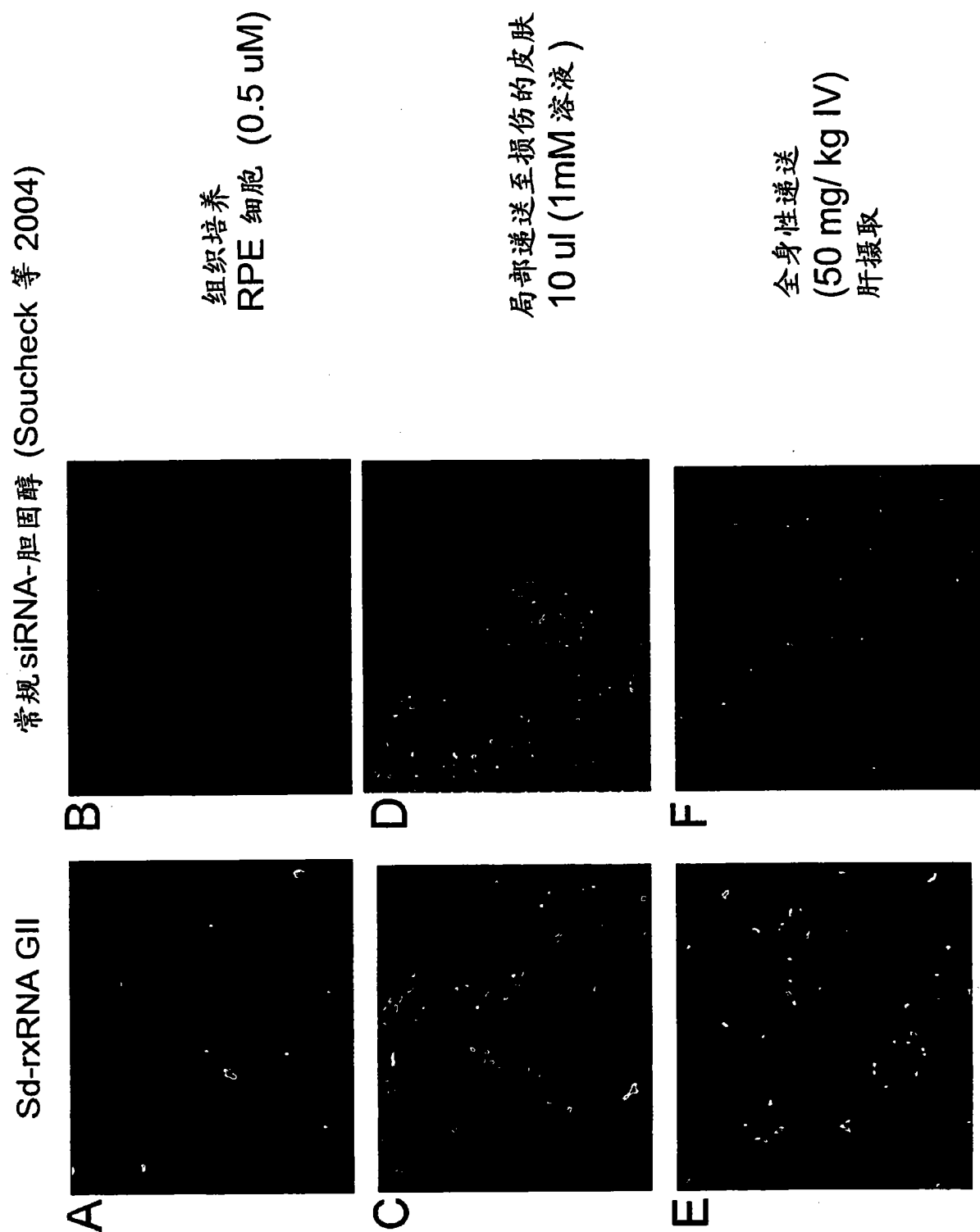
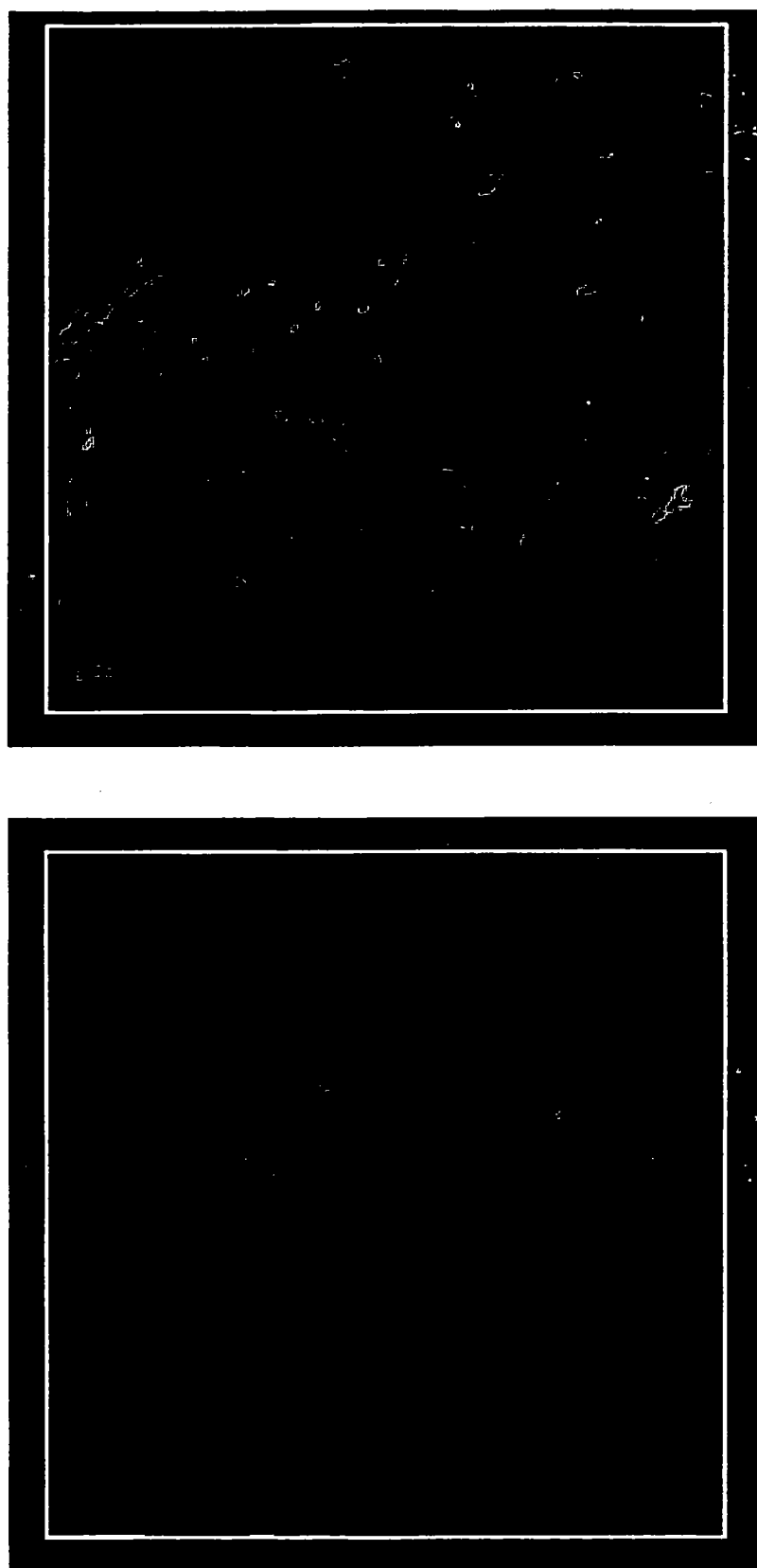


图 65

sd-rxRNATM 的局部递送：实验性研究

sd-rxRNATM

rxRNA^{ori}



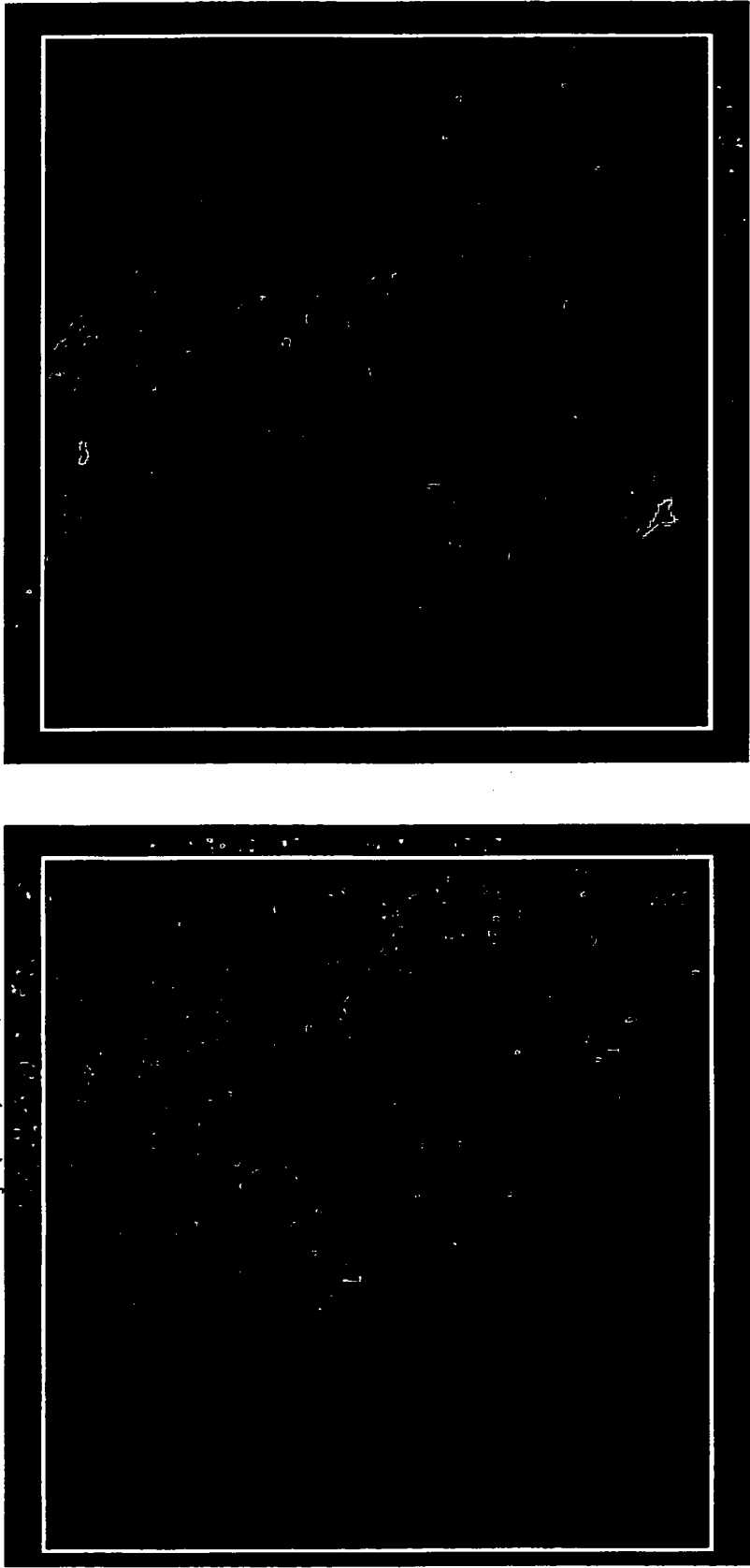
- 递送后24小时
- Hoechst 和 DY547

图 66

sd-rxRNA™ 的局部递送：实验性研究

竞争辍合物,* RNAS
*Soulschek 等 (2004) Nature, 432:173

sd-rxRNA™



- 递送后24小时
- Hoechst 和 DY547

图 67

TARGET 筛选归一化的 T751 SPP1/PP1B 比值
/bDNA/A-549 JL.032.1967 细胞 rxRNA

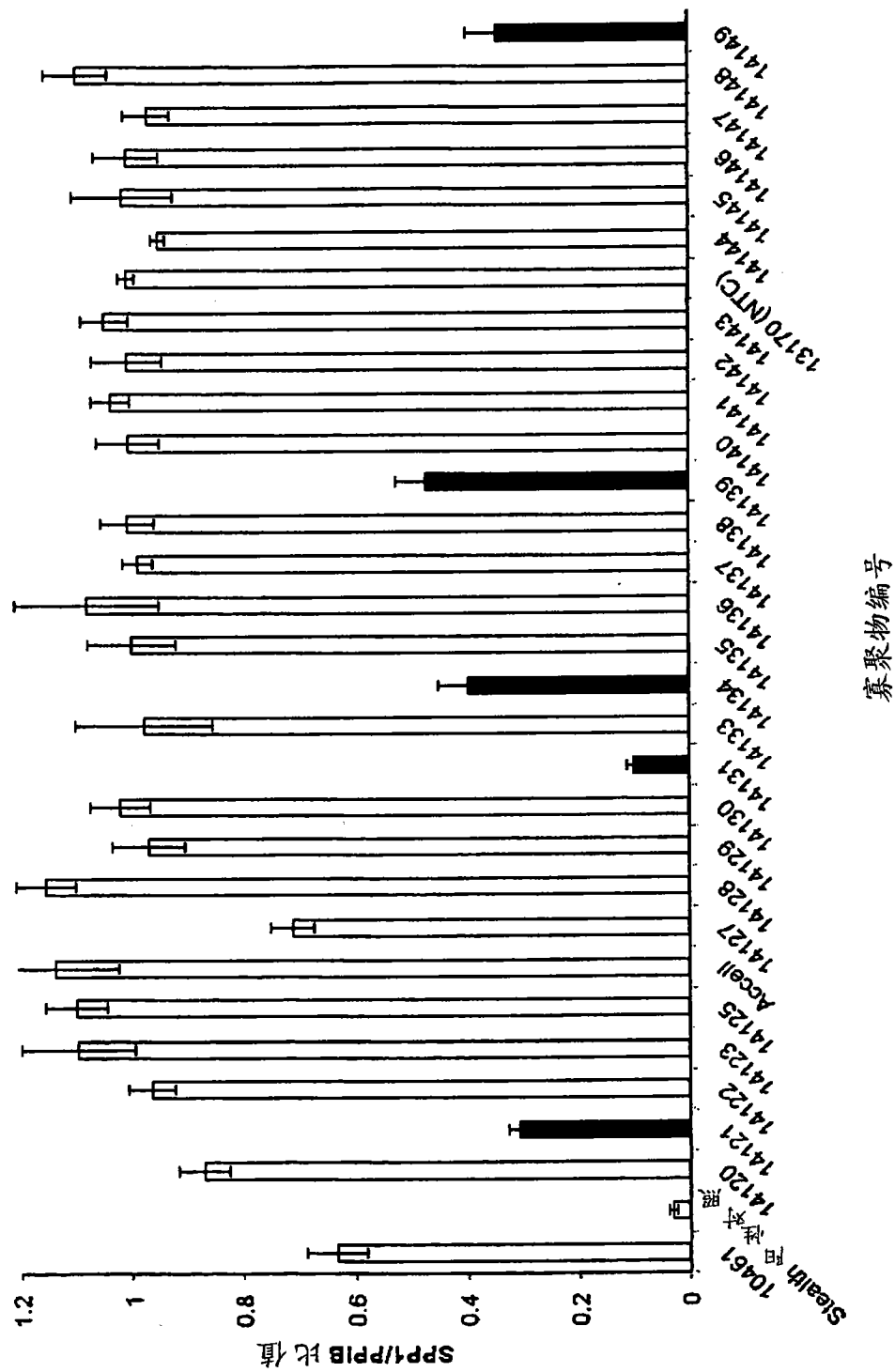
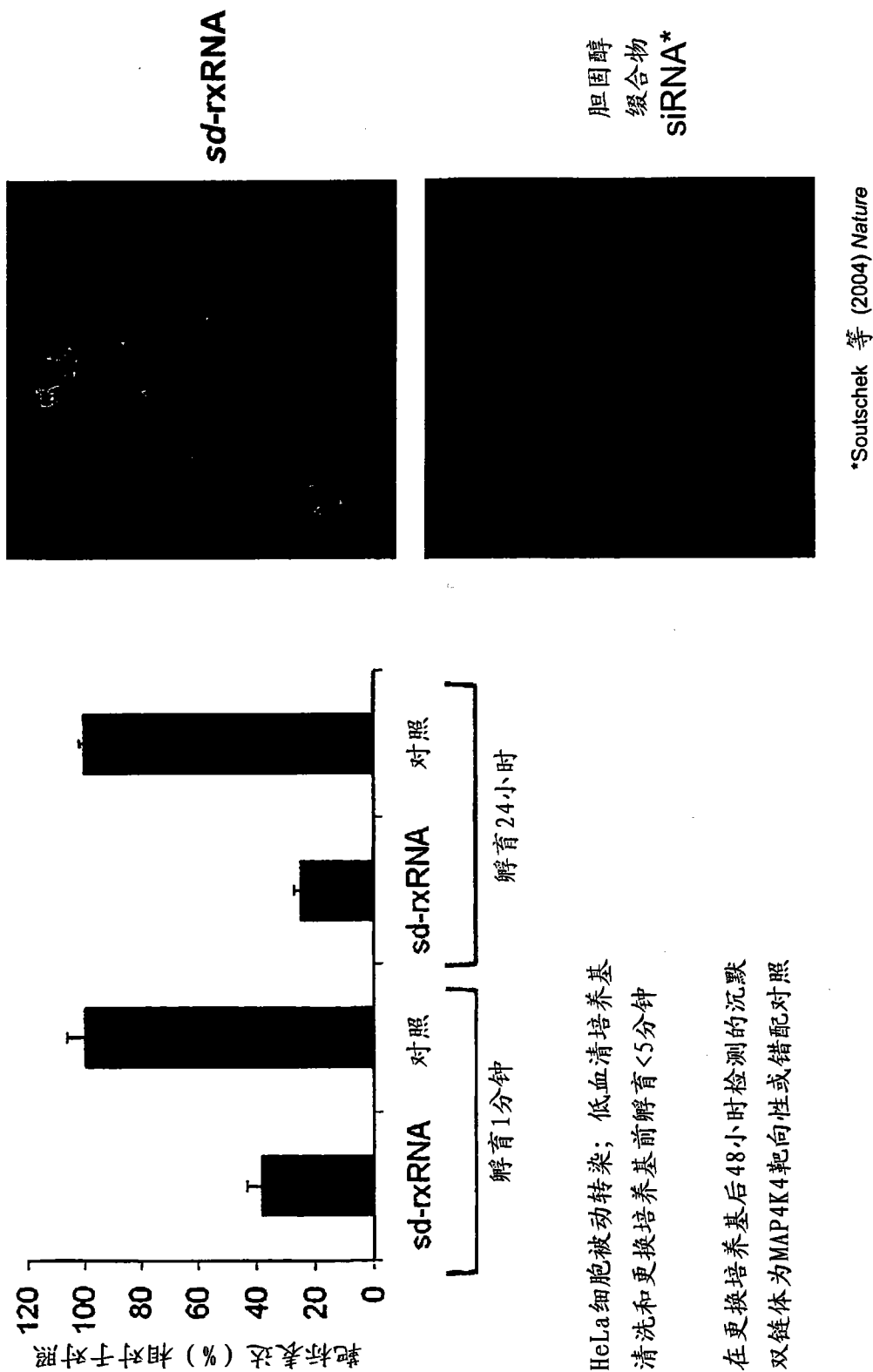


图 68



- HeLa 细胞被转染; 低血清培养基
- 清洗和更换培养基前孵育<5分钟
- 在更换培养基后48小时检测的沉默
- 双链体为MAP4K4靶向性或错配对照

图 69

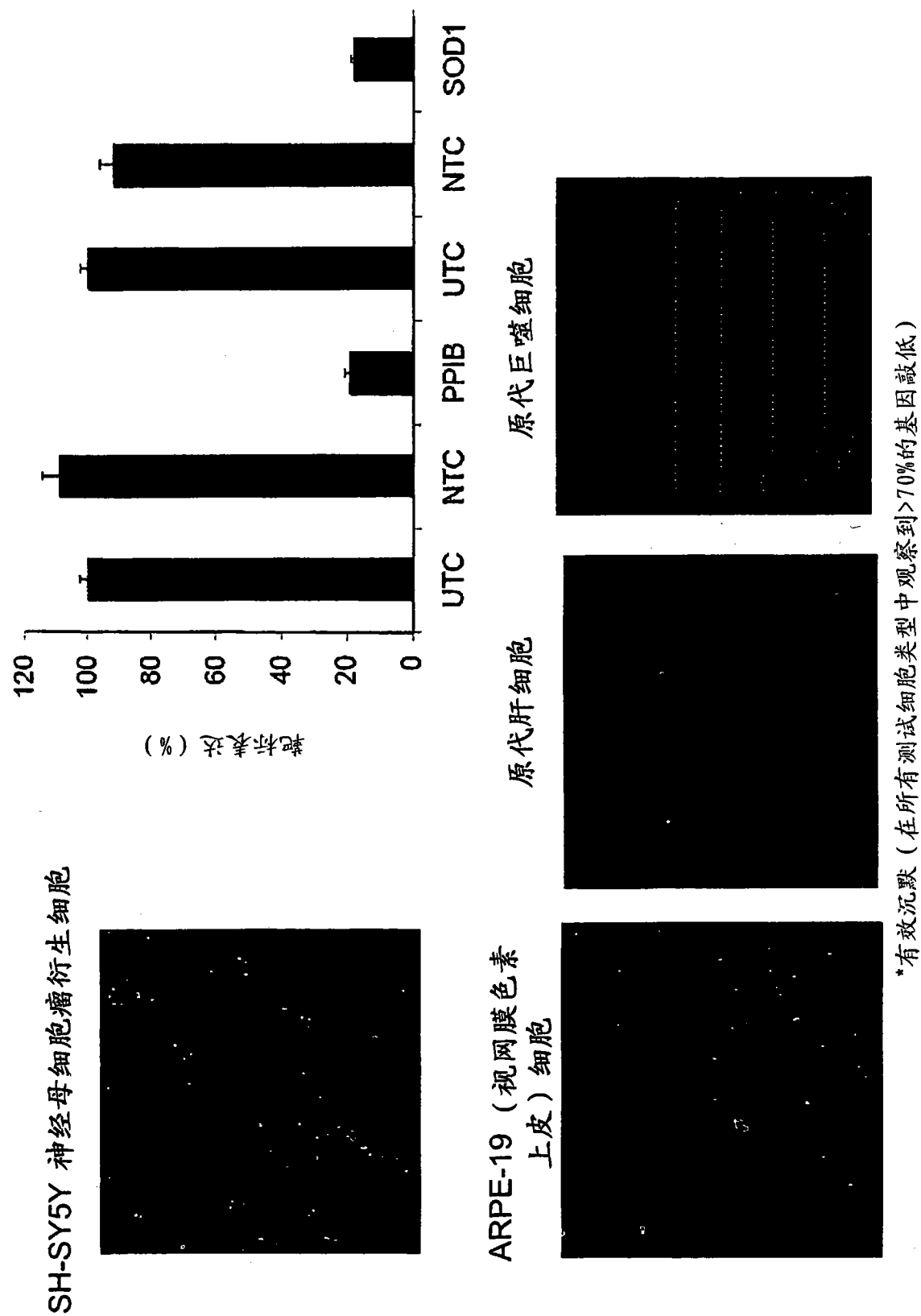


图 70

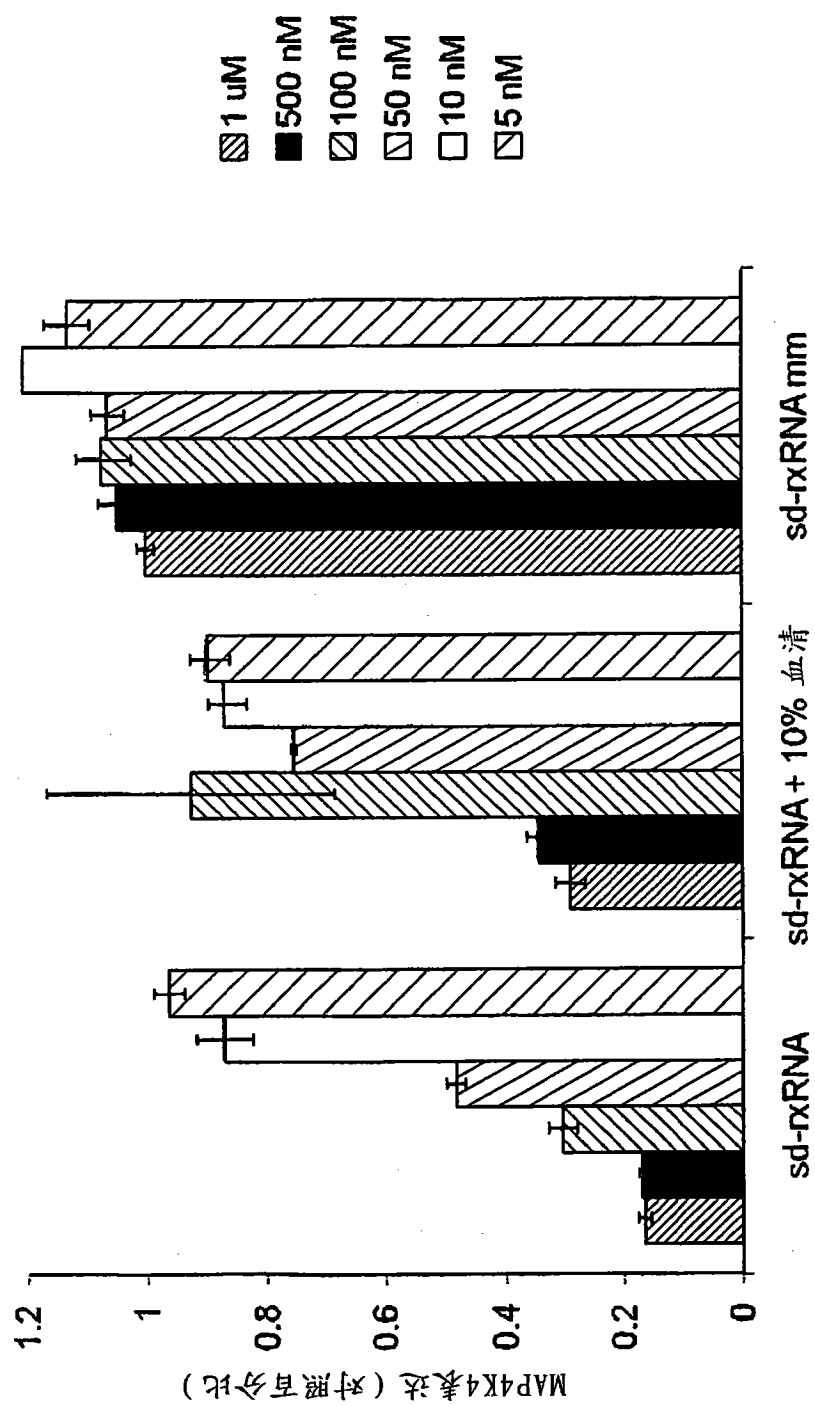


图 71

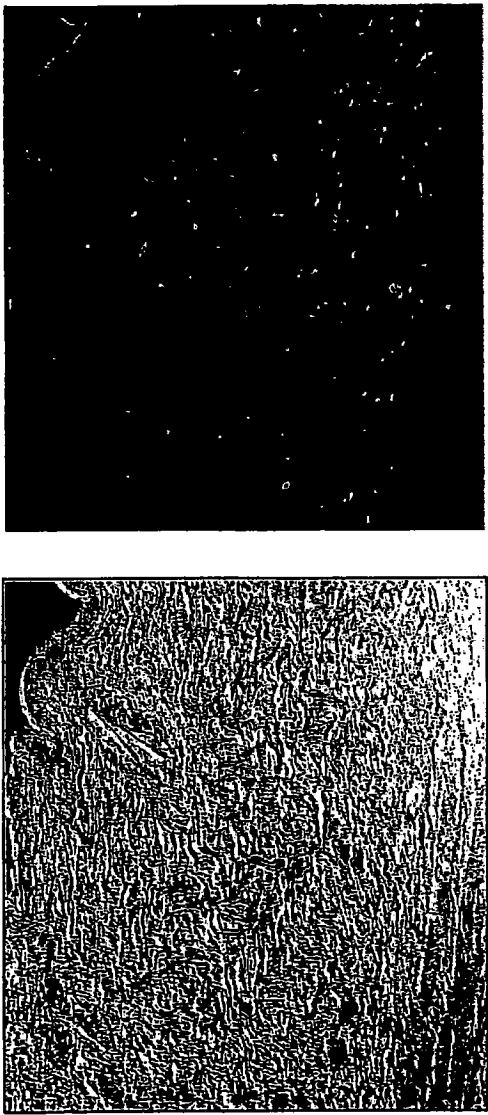
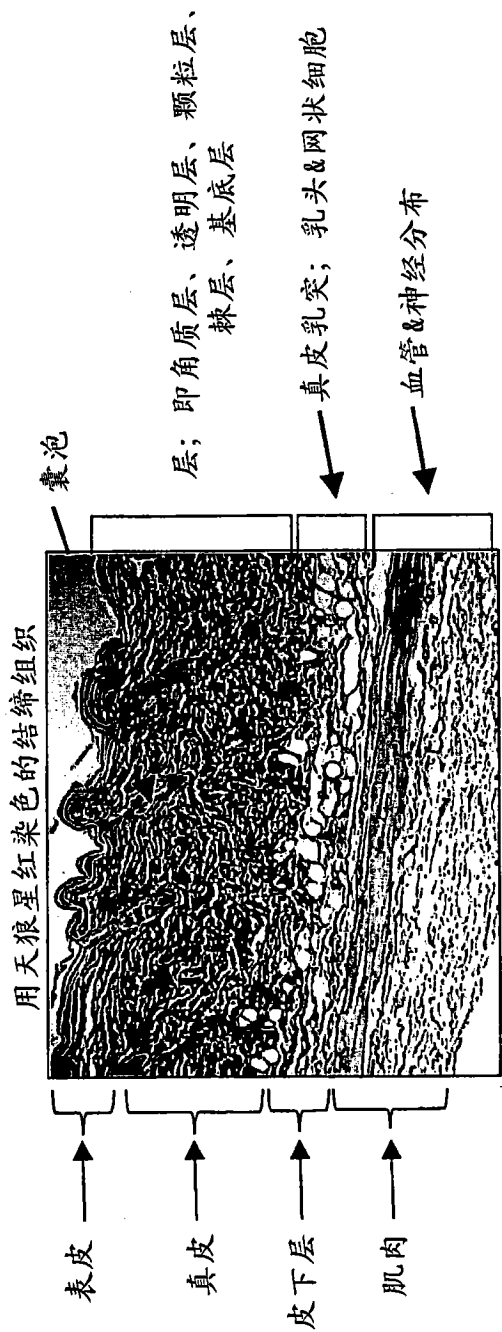


图 72

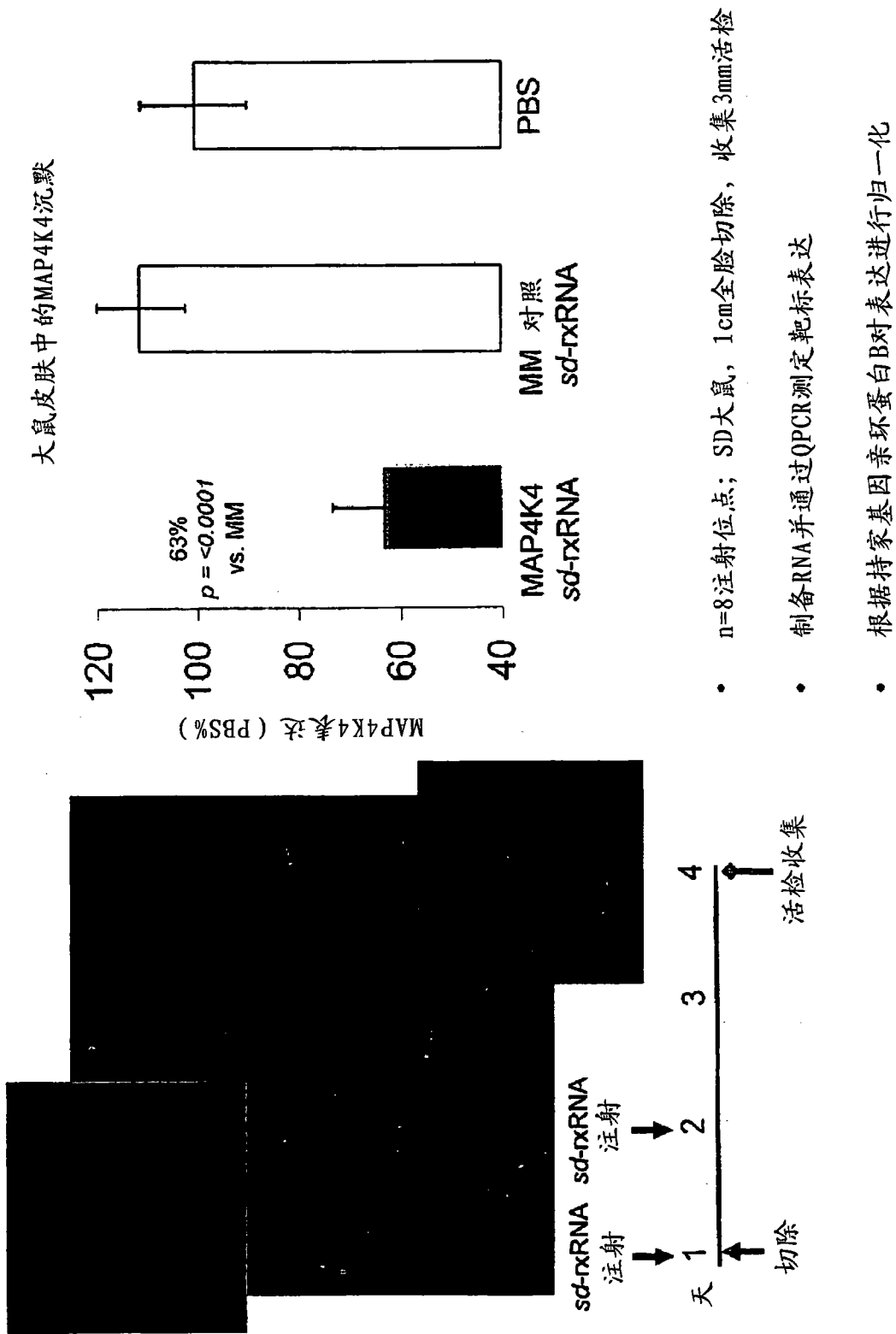
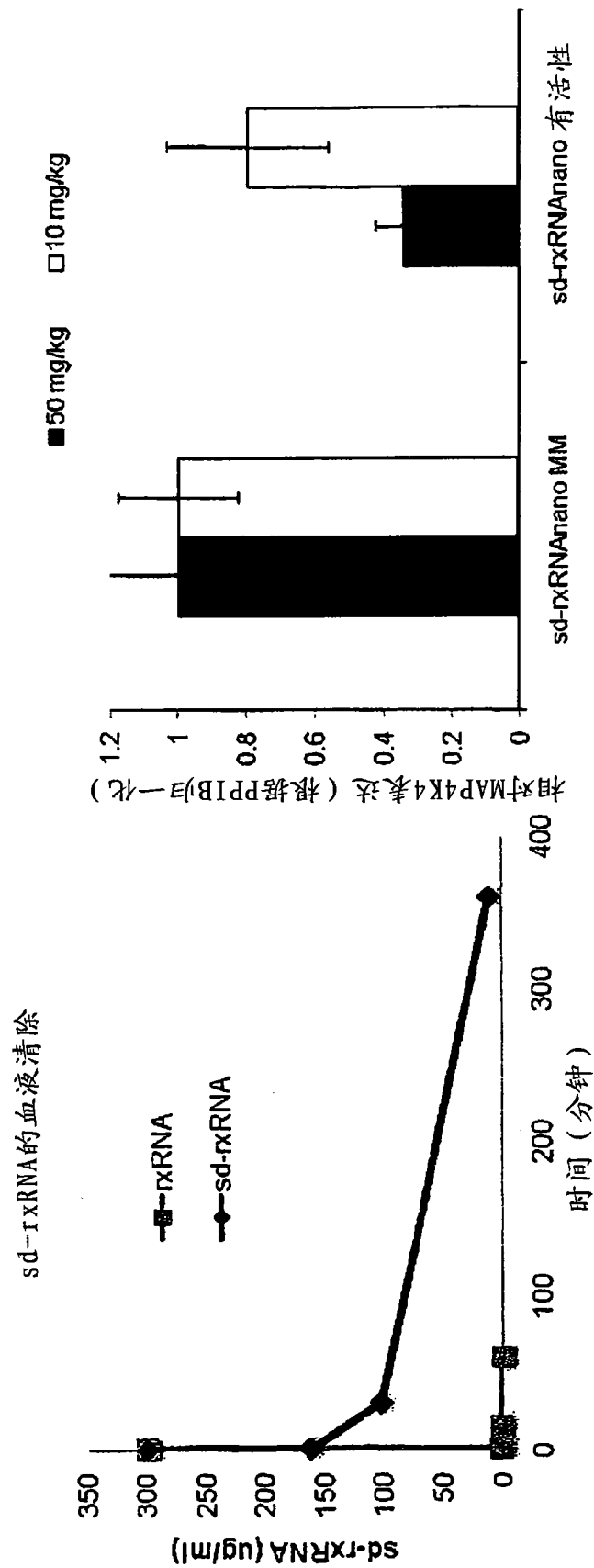


图 73



- 实验性研究：存留在小鼠血液的sd-rxRNA (n=1)
- 通过荧光检测DY547标记的RNA
- 在组织裂解物中检测的可见荧光 (剂量50mg/kg)
- 共聚焦成像证实了细胞内递送
- 通过RT-PCR检测到肝中靶基因的有效沉默

图 74

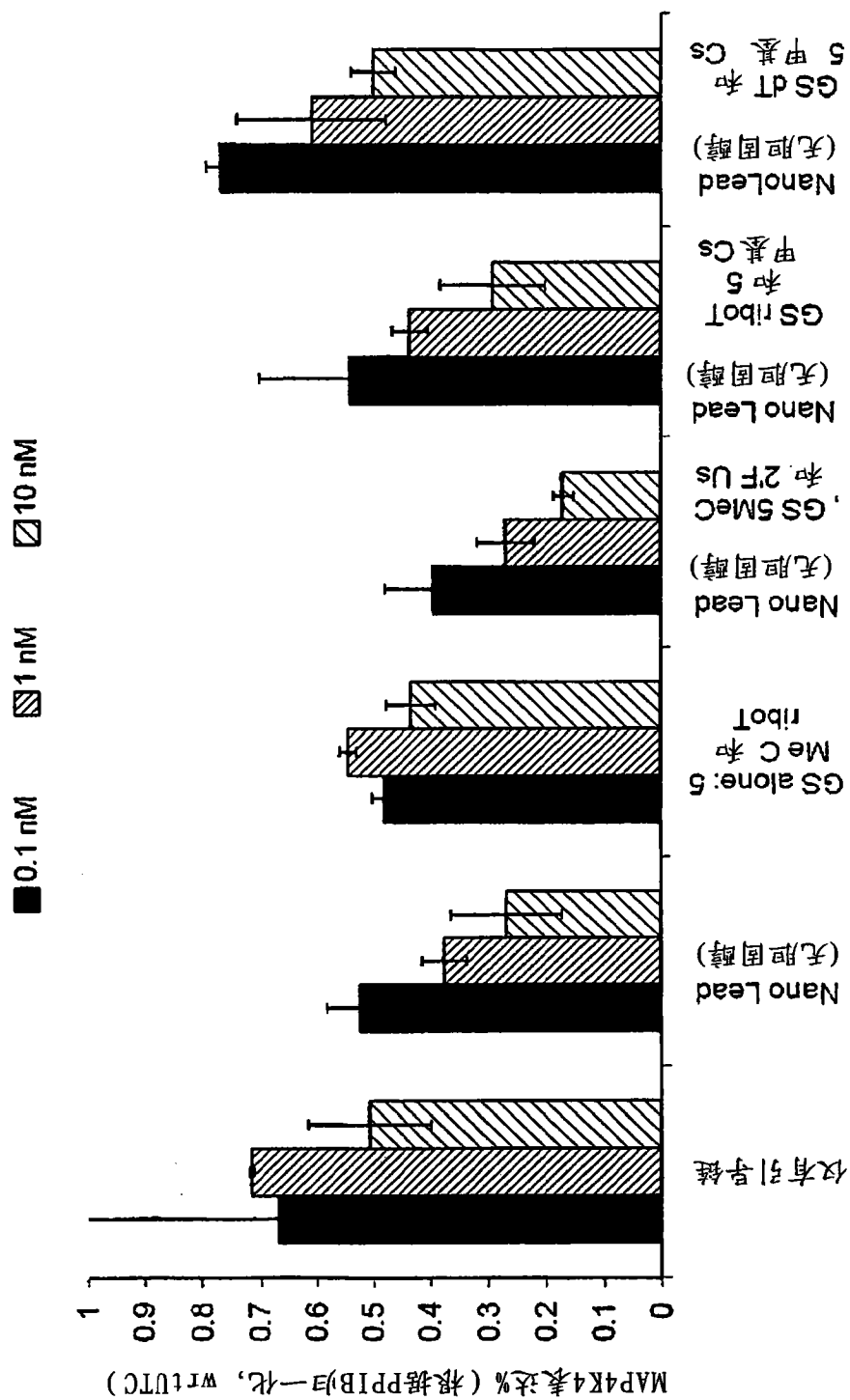


图 75

在引导链中掺入5 Me C和/或核糖胸苷降低了效力

被动摄取

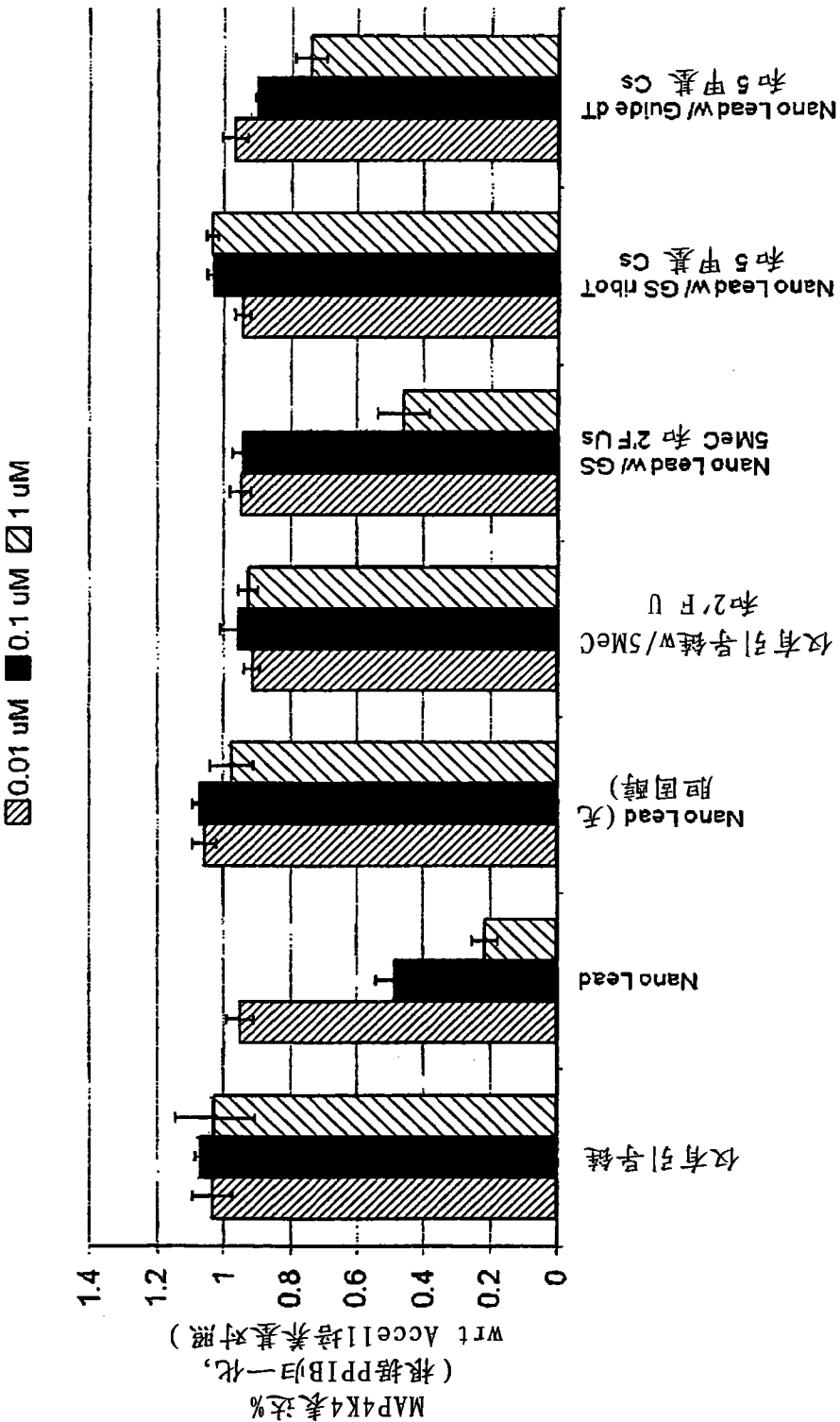
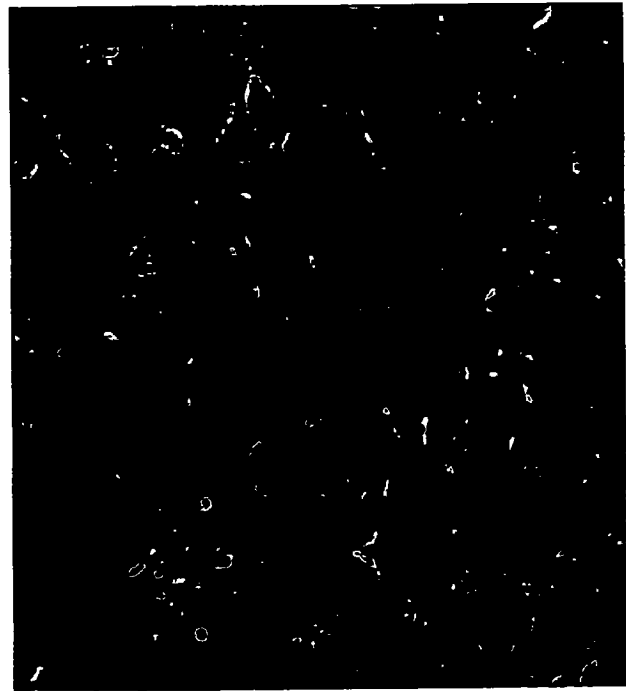


图 76

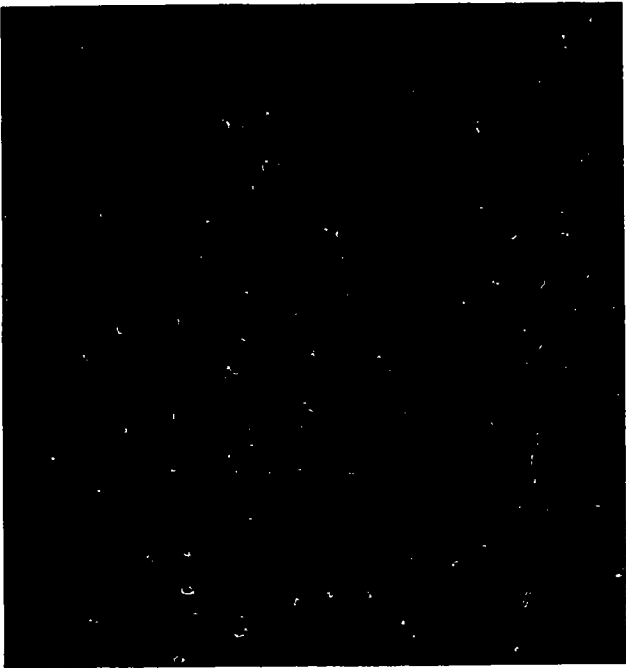
sd-rxRNA^{nano} 相对于竞争剂：对肝的全身性递送

sd-rxRNA^{nano}

竞争剂辍合物 *
*Soutschek 等 (2004) *Nature*, 432:173



增益 = 380; 50 mg/kg



增益 = 400; 50 mg/kg

图 77

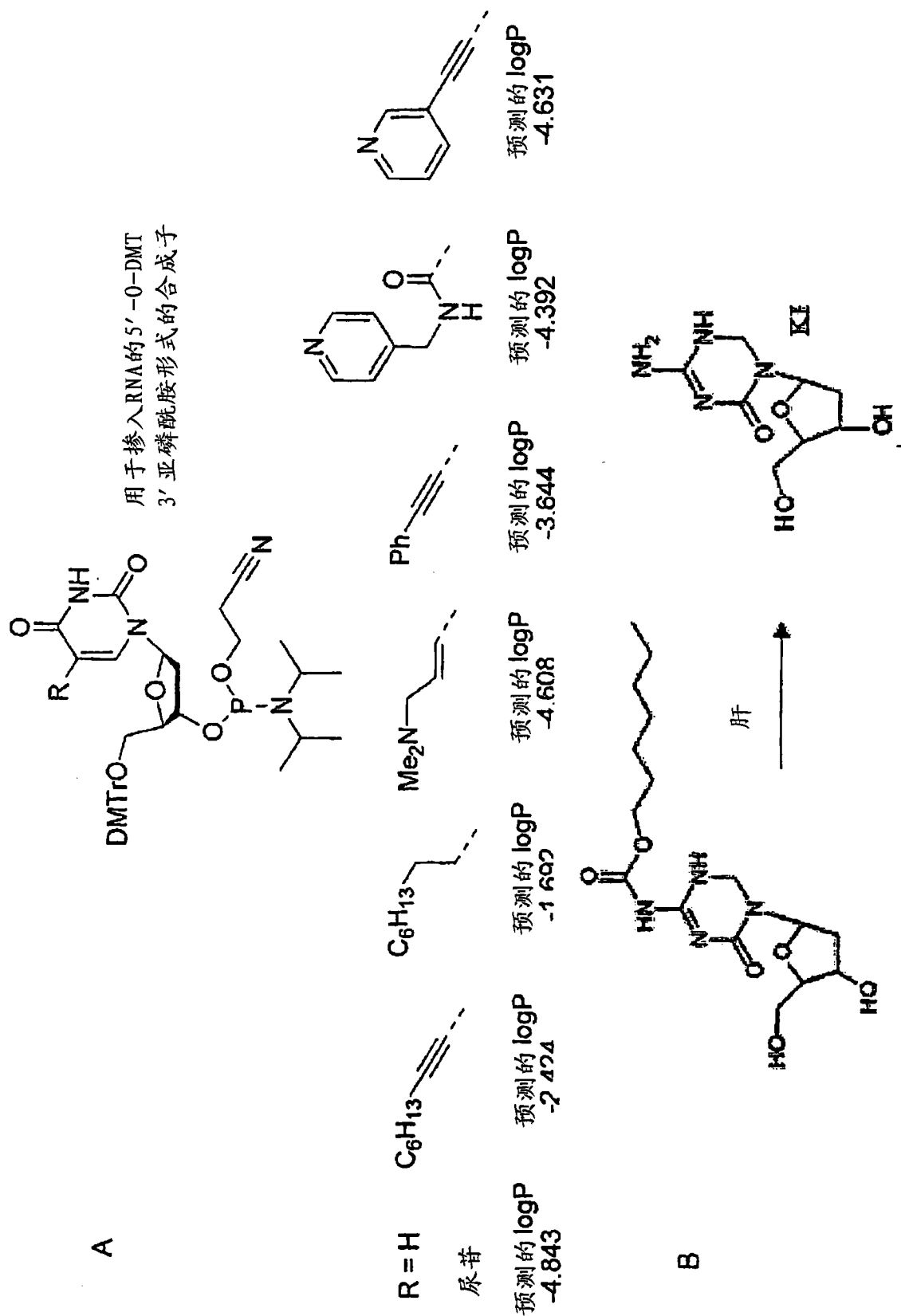


图 78

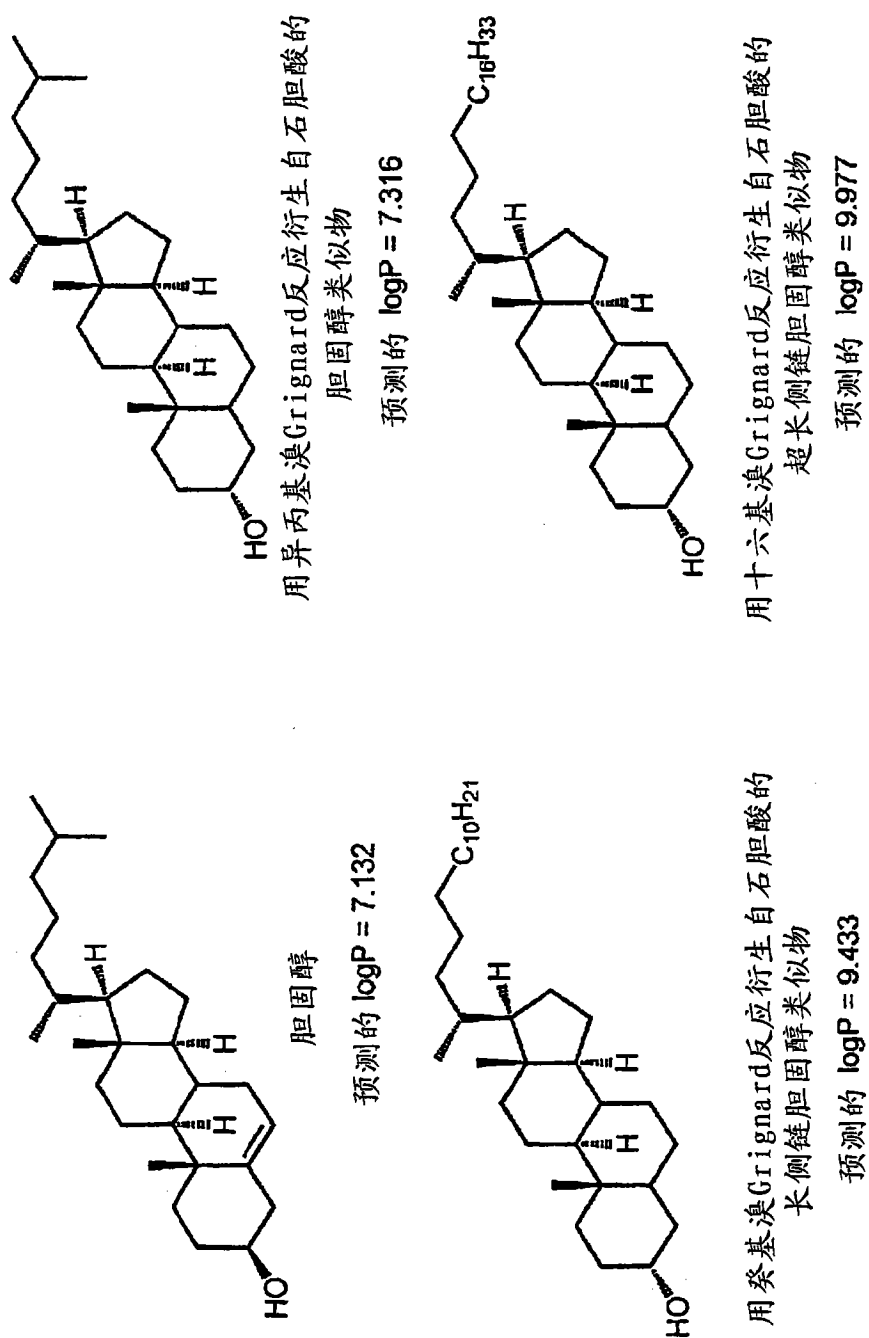


图 79

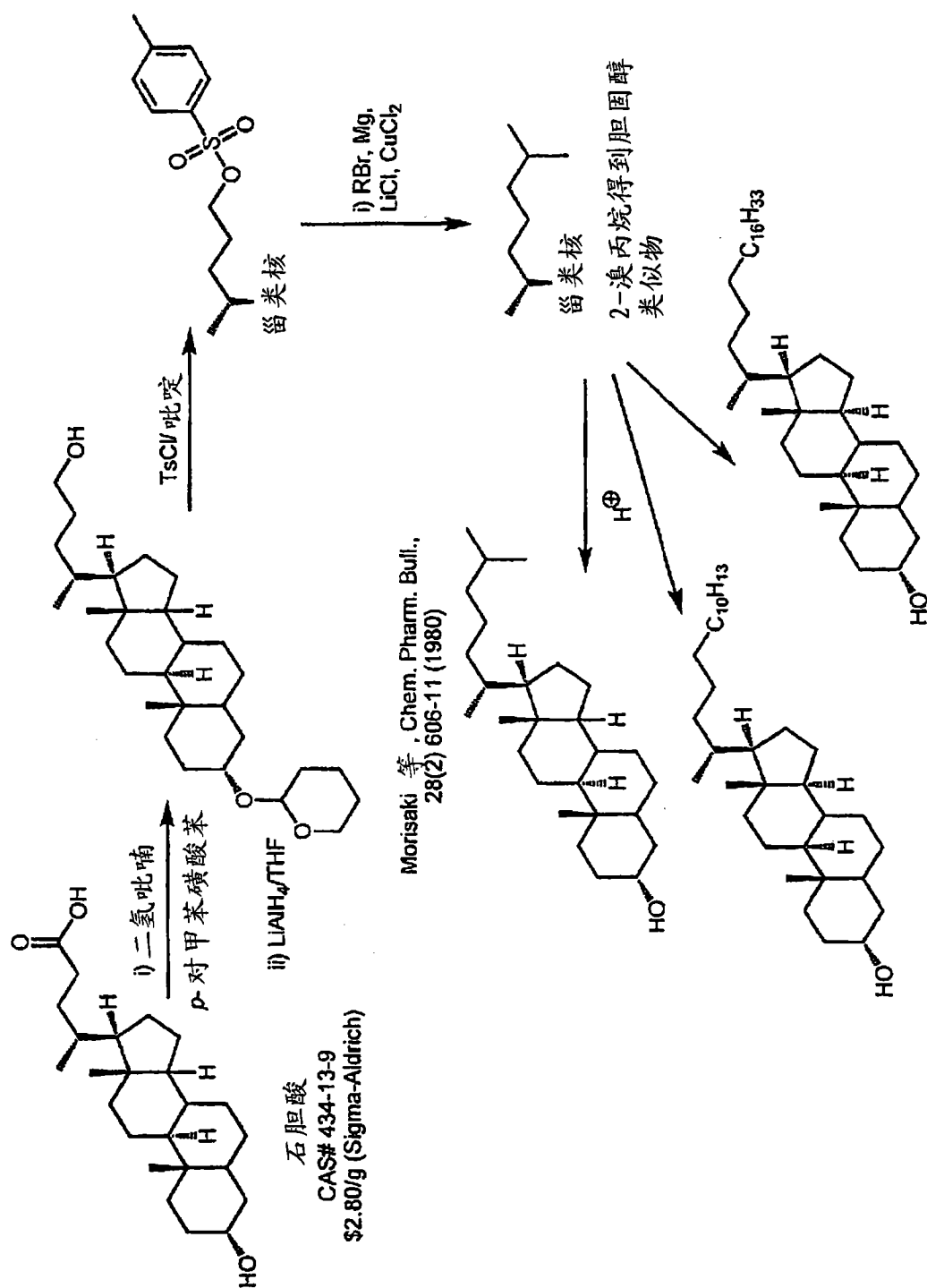


图 80

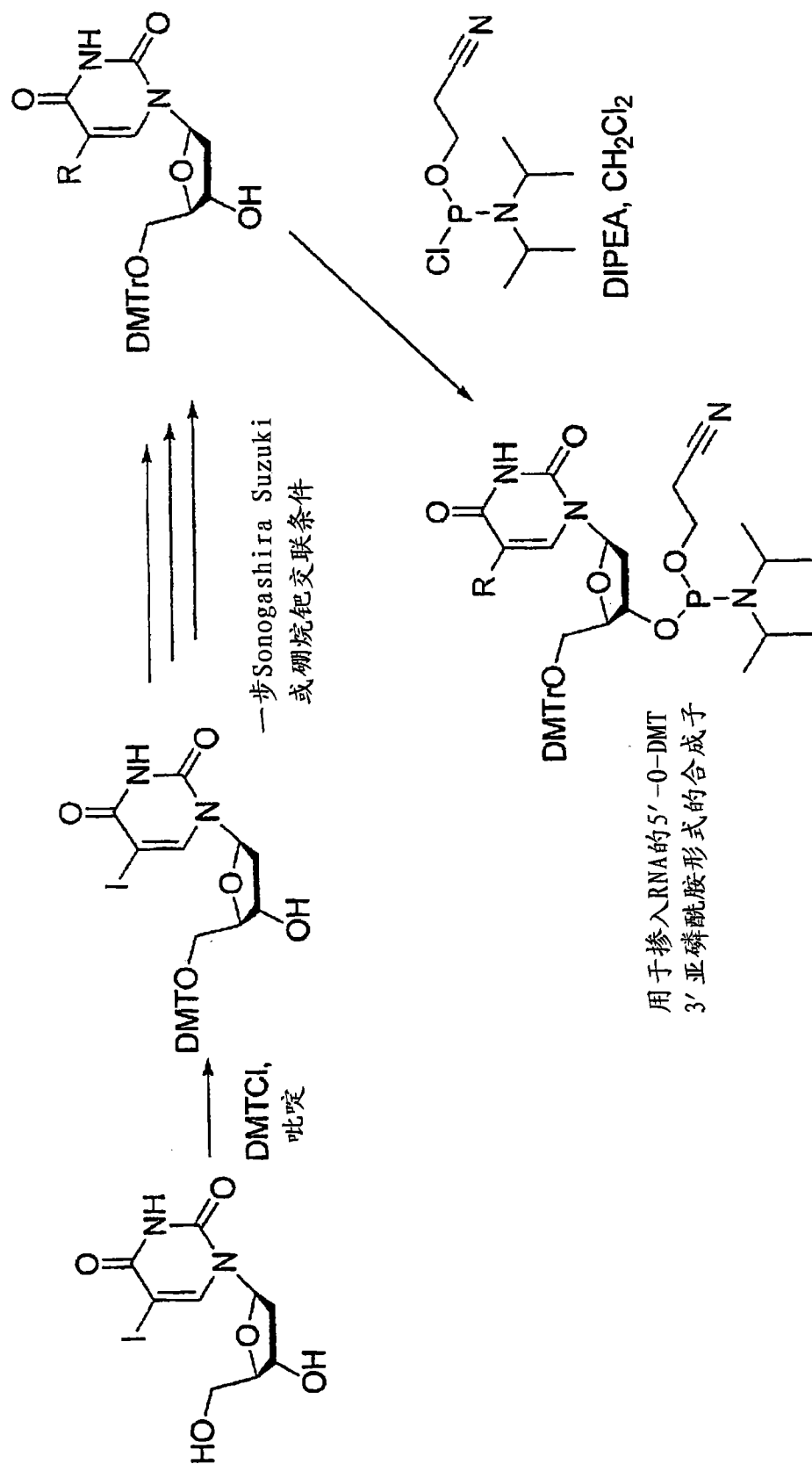


图 81

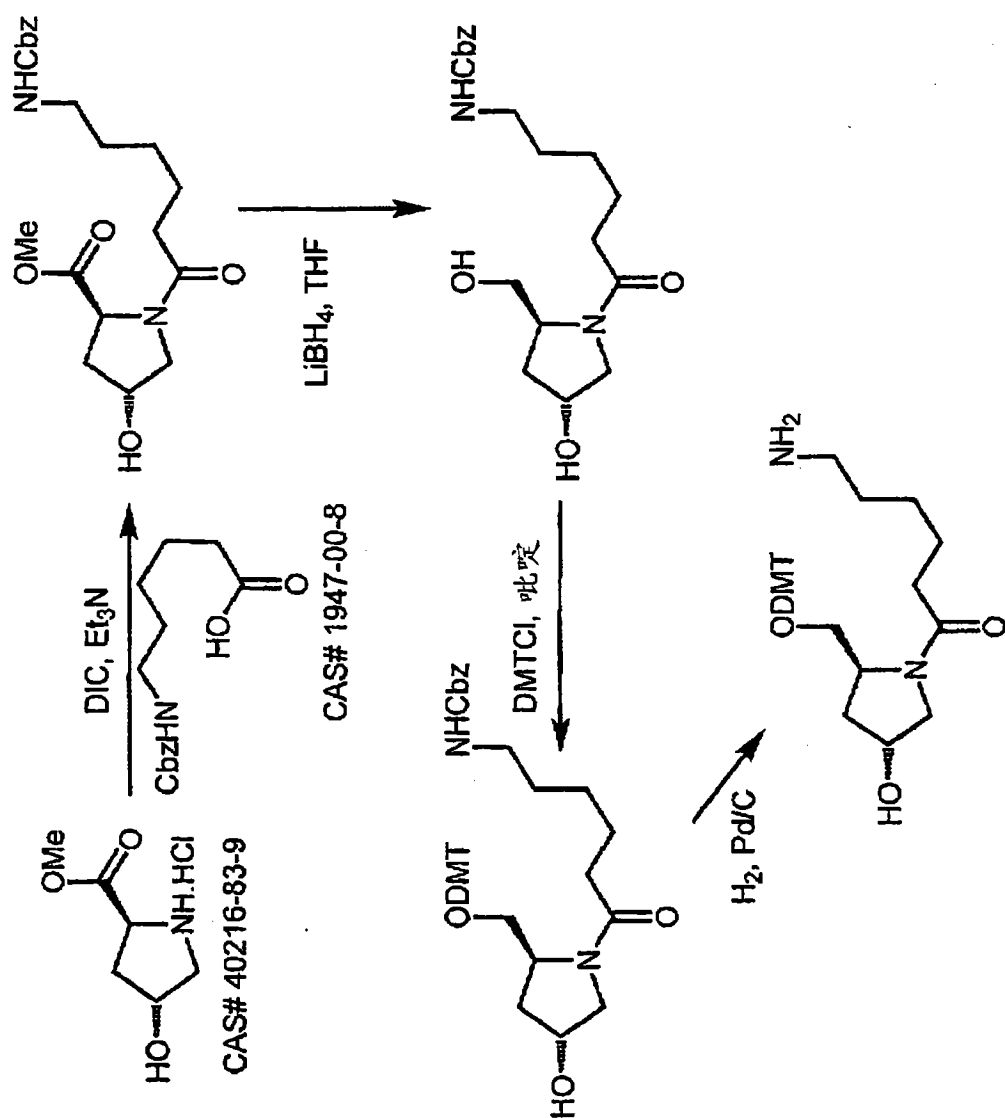


图 82

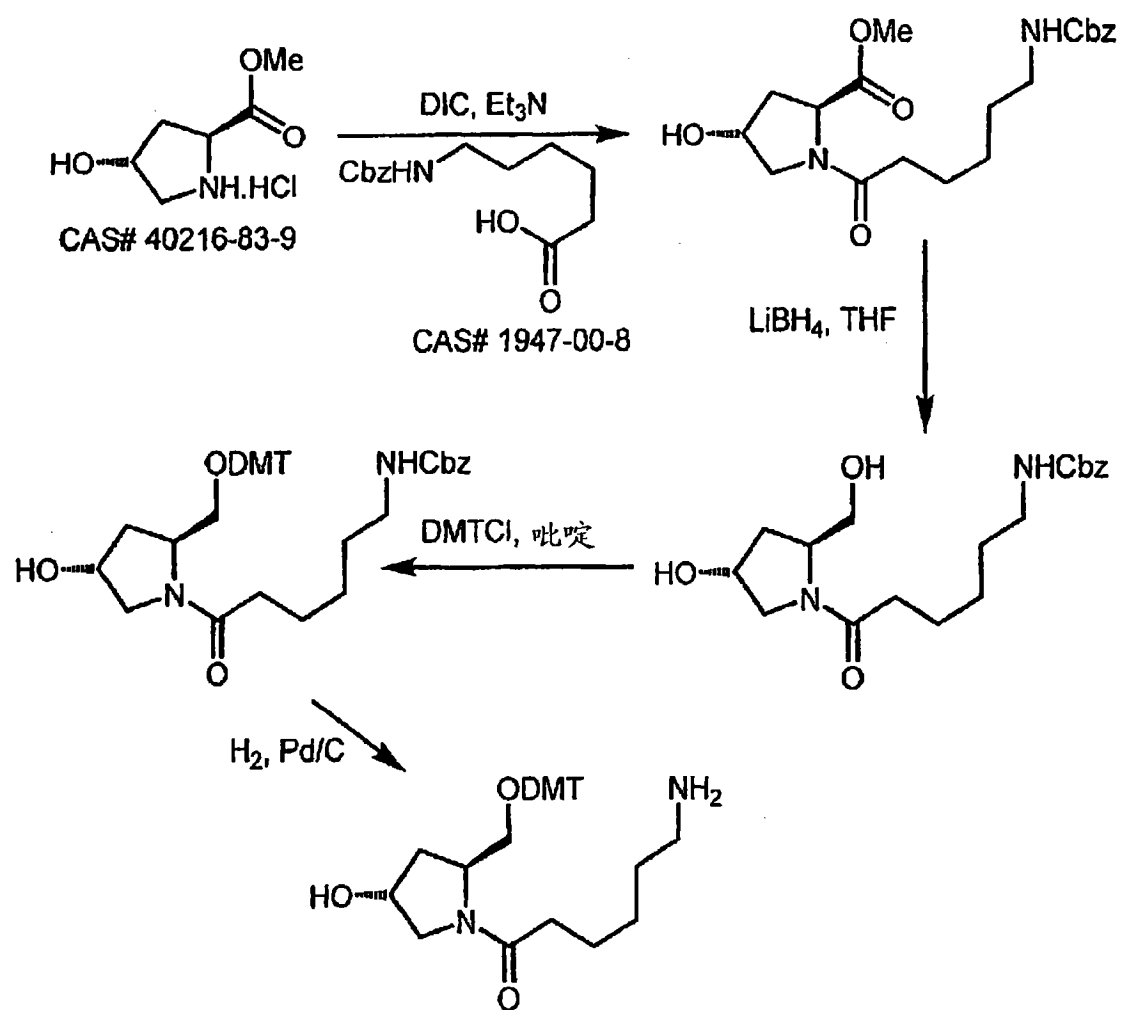


图 83

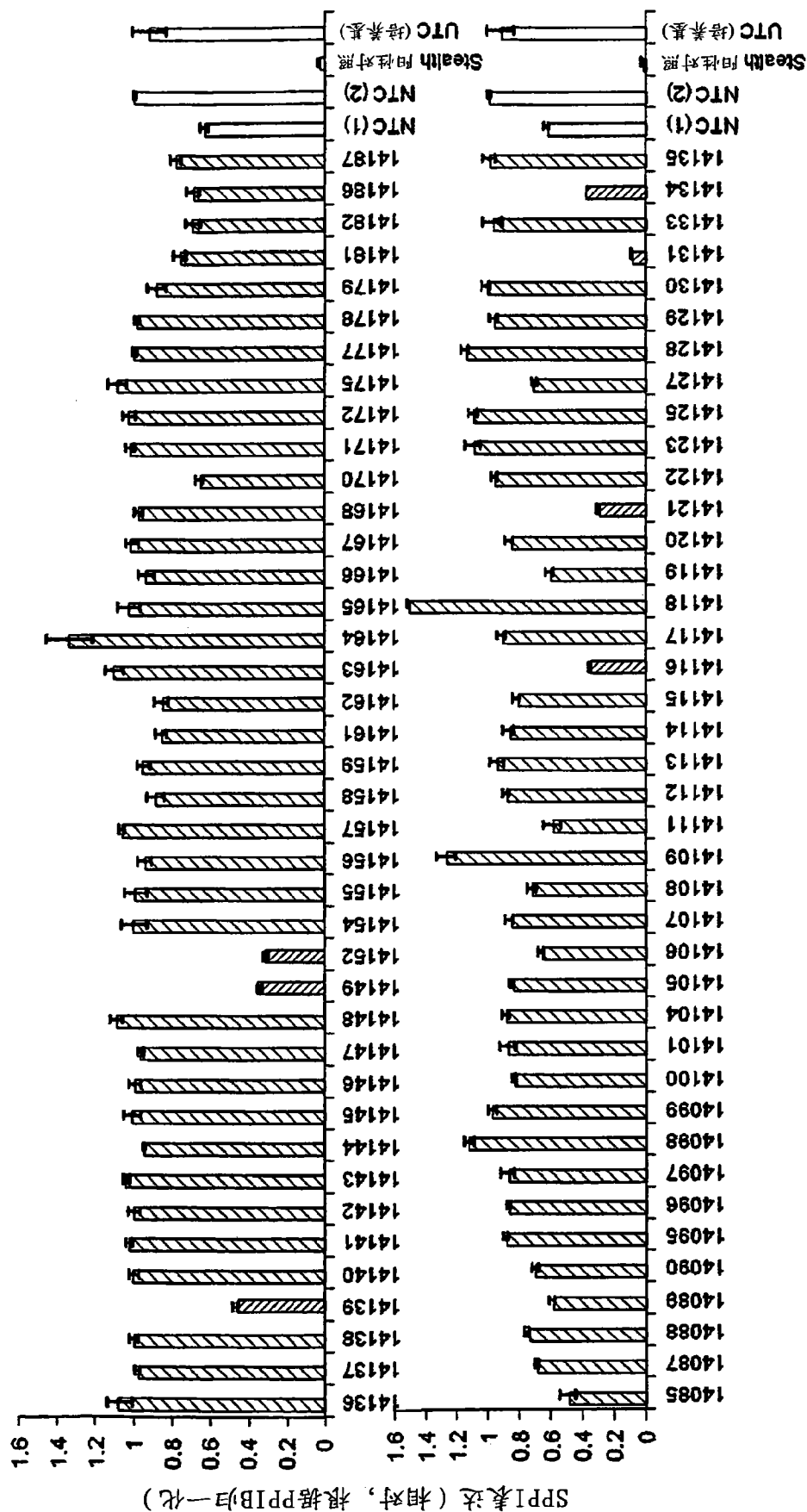


图 84

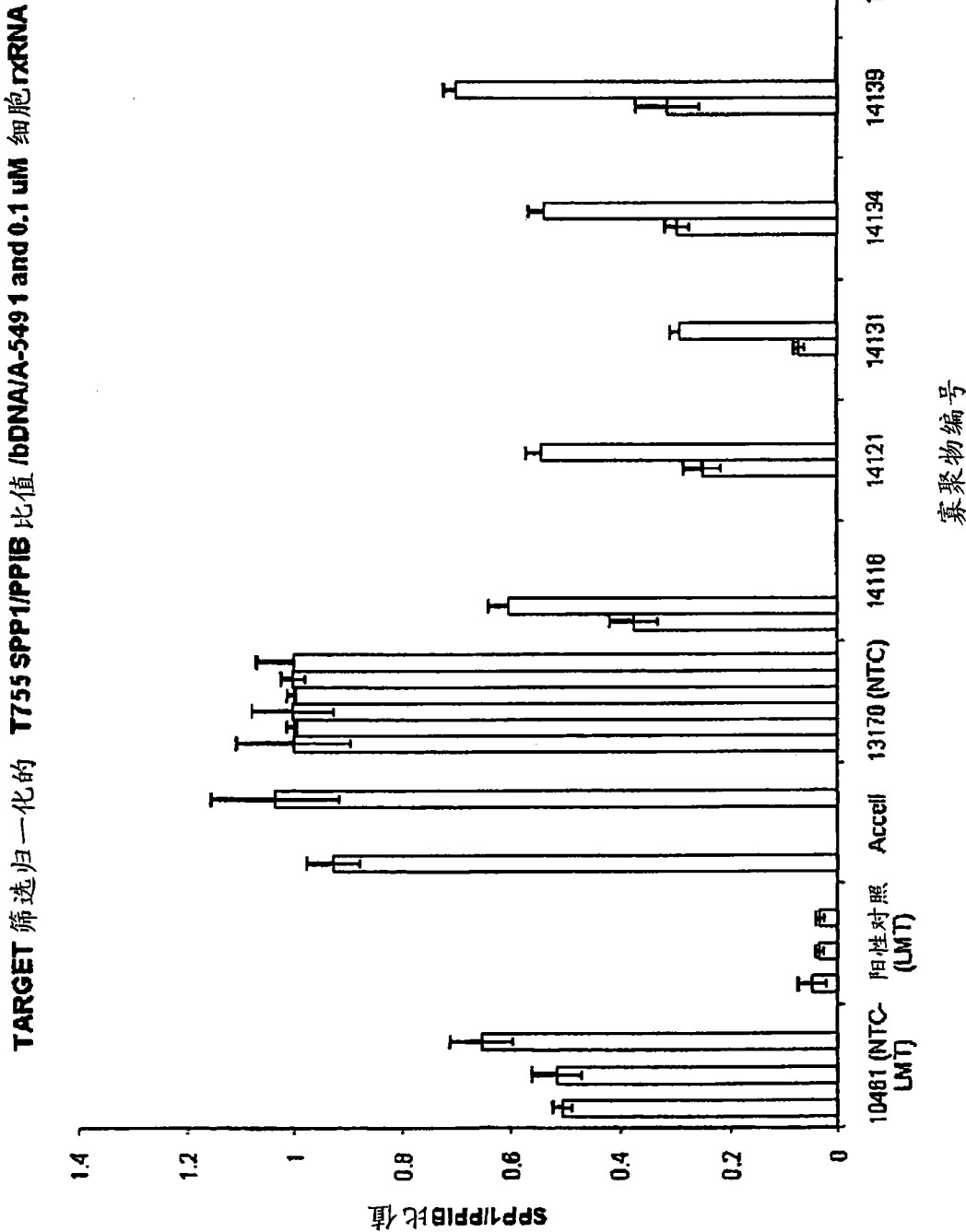


图 85

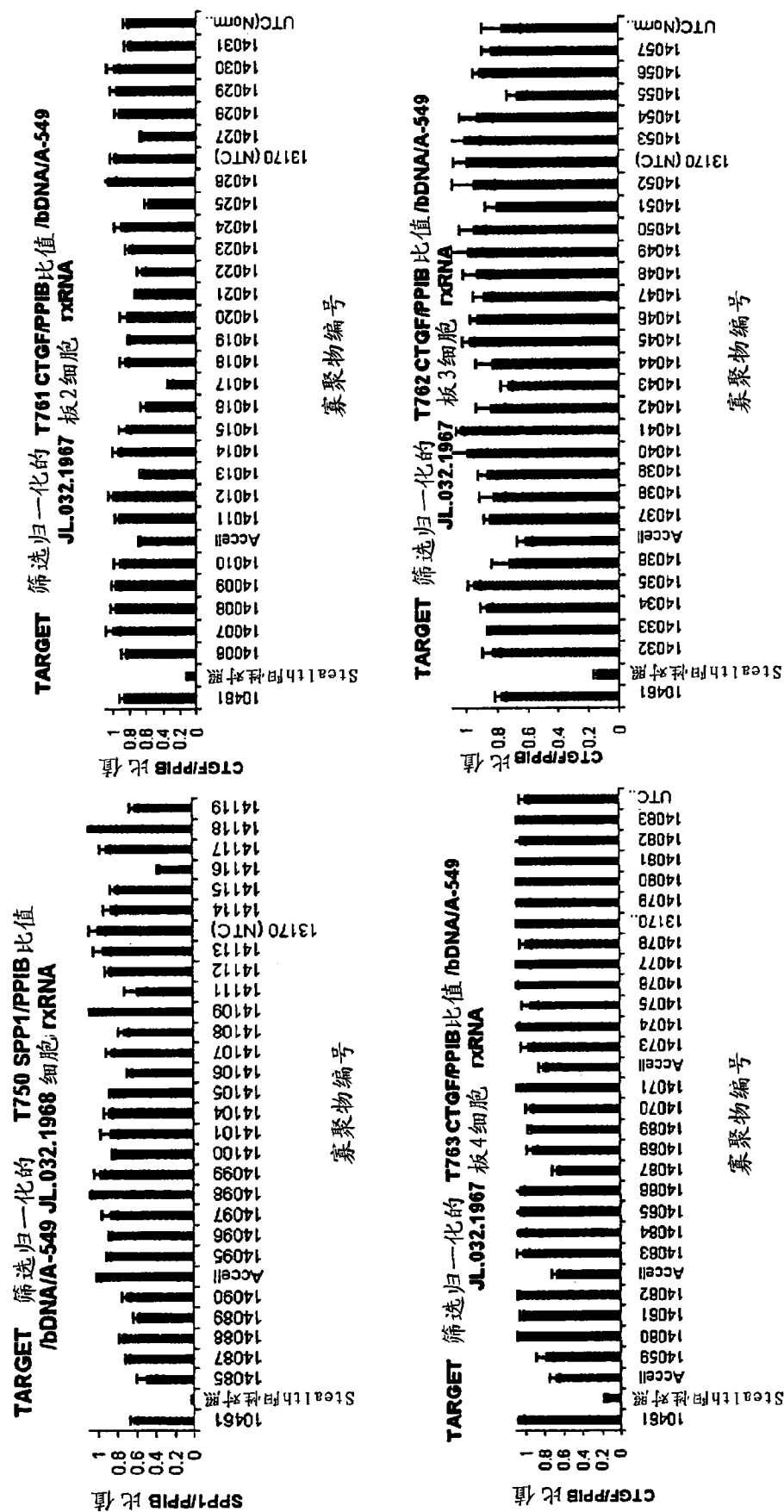
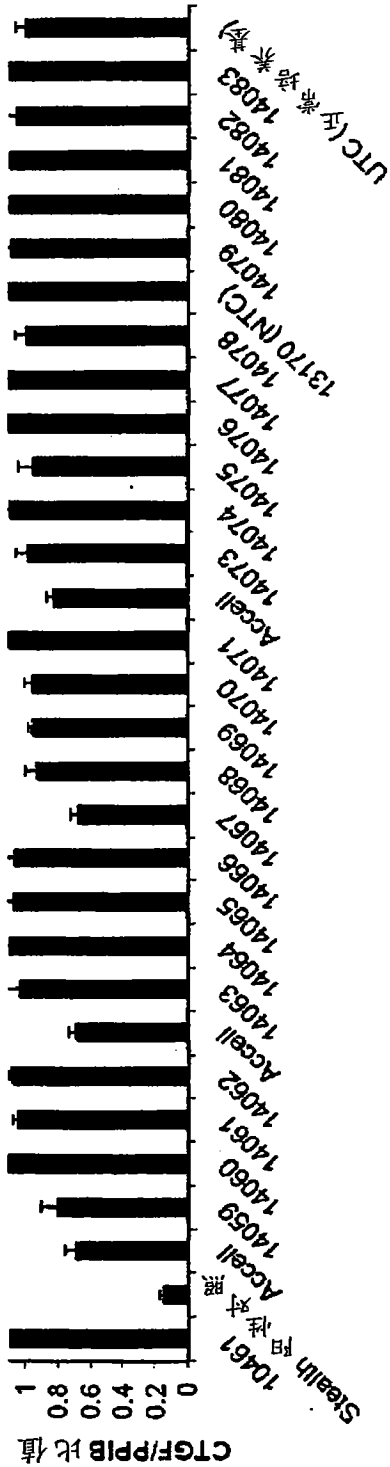


图 86

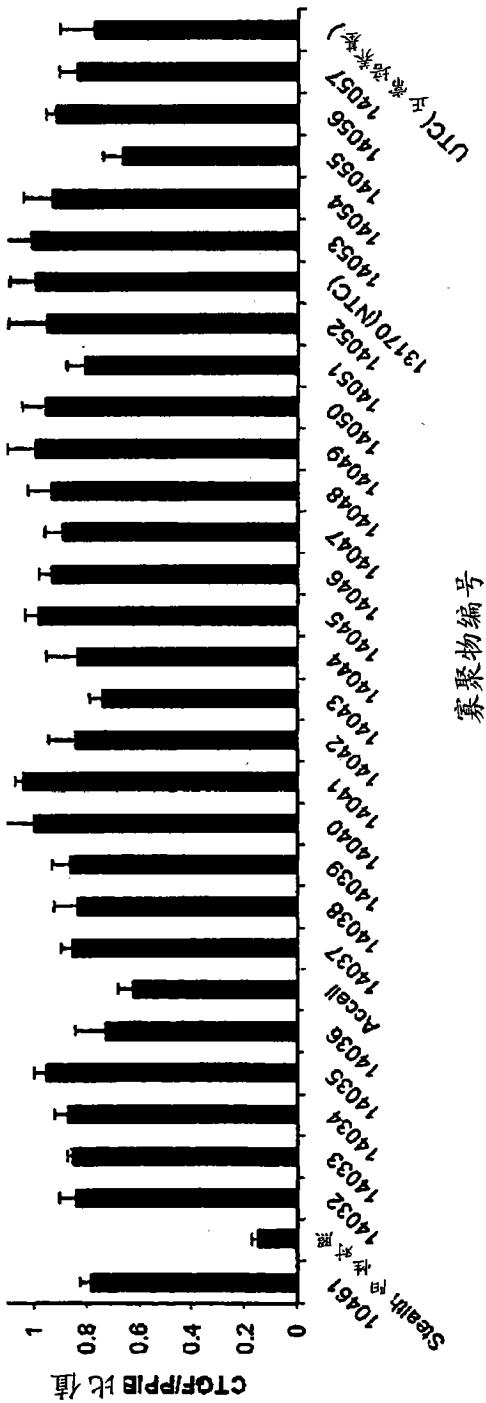
TARGET 筛选归一化的 T763 CTGF/PP1B 比值 /bDNA/A-549 JL.032.1967

板 4 细胞 rxRNA



TARGET 筛选归一化的 T762 CTGF/PP1B 比值 /bDNA/A-549 JL.032.1967 板 3 细胞

rxRNA



寡聚物编号

图 87

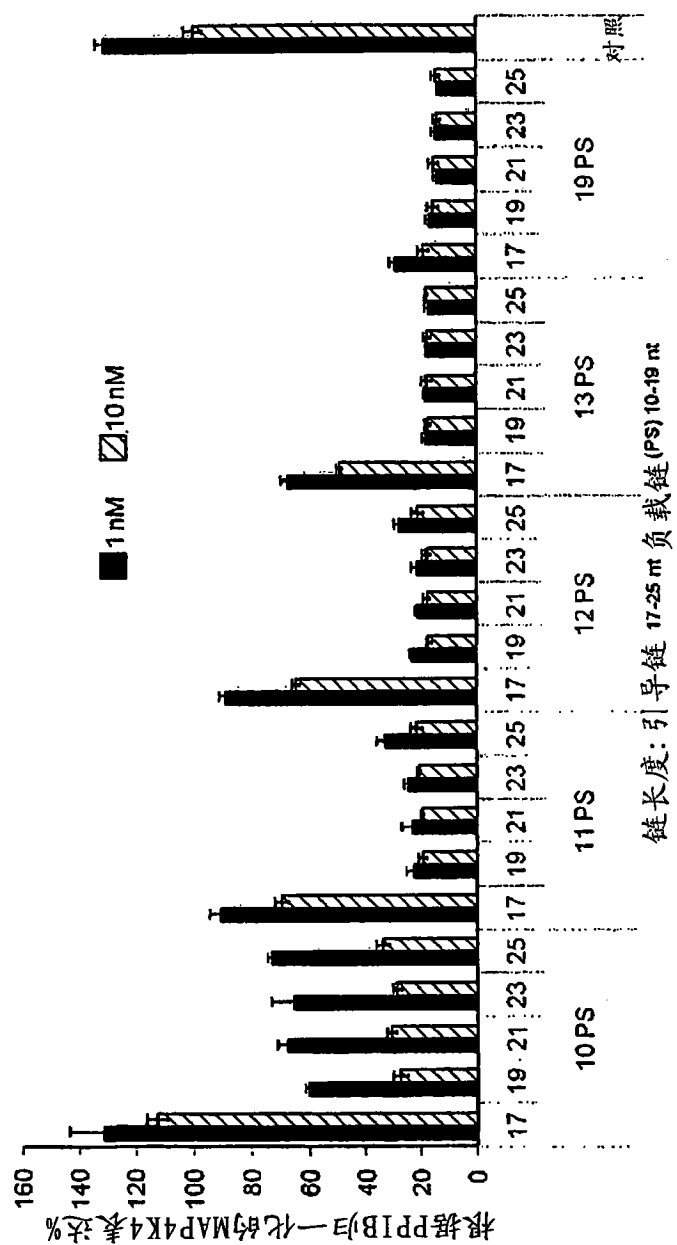


图 88

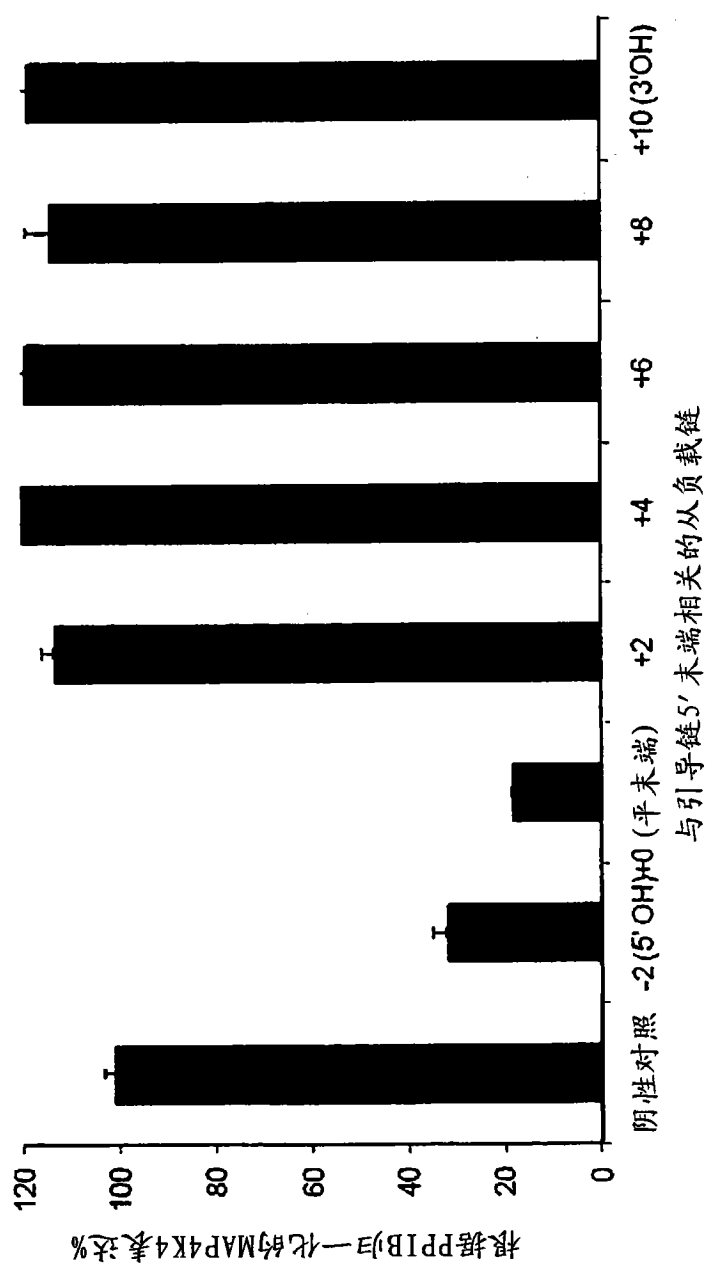


图 89

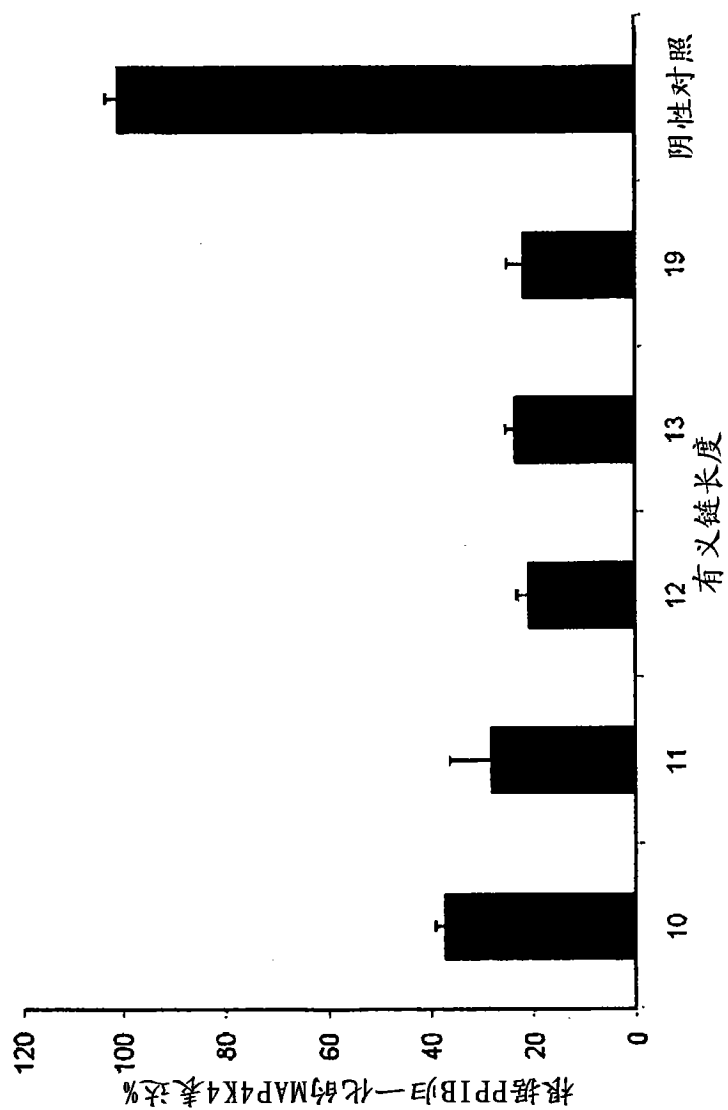


图 90

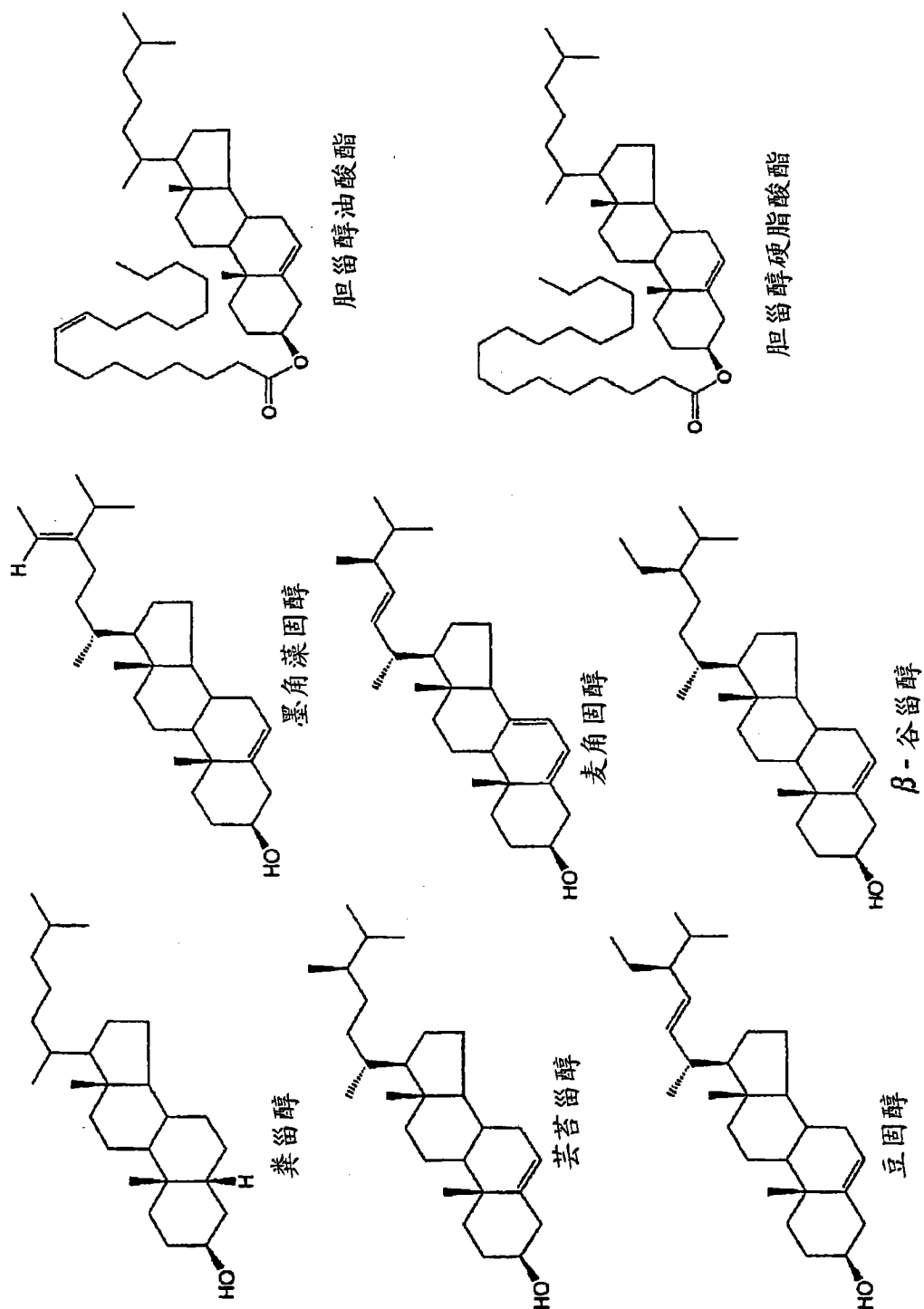


图 91

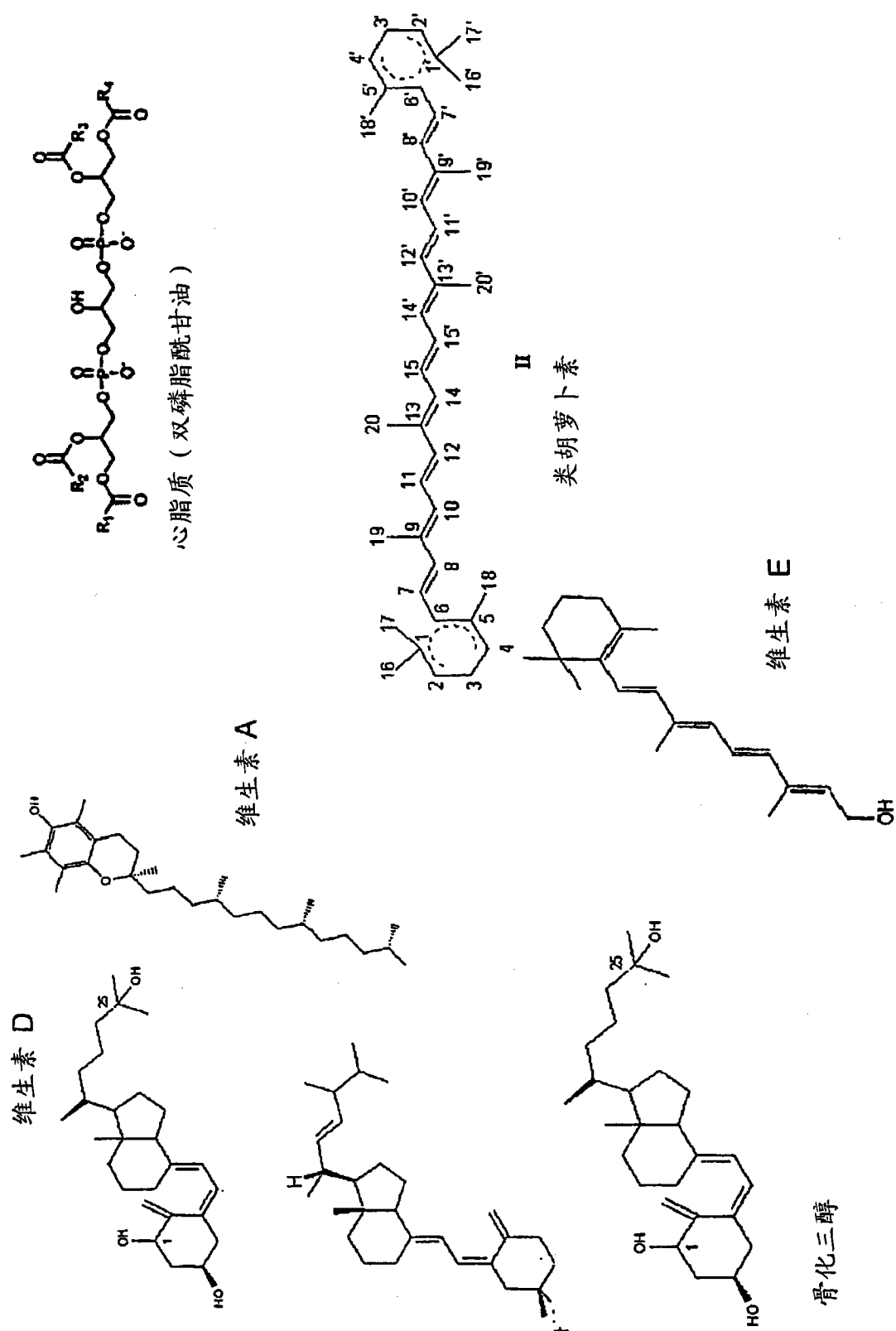


图 92