



등록특허 10-2556825



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년07월17일
(11) 등록번호 10-2556825
(24) 등록일자 2023년07월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 21/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07H 21/02 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7004350
- (22) 출원일자(국제) 2017년07월17일
심사청구일자 2020년07월17일
- (85) 번역문제출일자 2019년02월14일
- (65) 공개번호 10-2019-0027907
- (43) 공개일자 2019년03월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/042463
- (87) 국제공개번호 WO 2018/014041
국제공개일자 2018년01월18일
- (30) 우선권주장
62/363,195 2016년07월15일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2015161170 A2*
WO2014110291 A1
J. Med. Chem., 2008, Vol. 51, No. 9, pp.
2766-2776*
Org. Lett., 2003, Vol. 5, No. 4, pp. 403-406
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
아이오니스 파마수티컬즈, 인코포레이티드
미합중국 캘리포니아주 92010 칼스바드 2855 가젤
코트
- (72) 발명자
리고, 프랑크
미국 92010 캘리포니아주 칼스바드 가젤 코트
2855
프라카쉬, 타자, 피.
미국 92010 캘리포니아주 칼스바드 가젤 코트
2855
세트, 푸닛, 피.
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 이소영

(54) 발명의 명칭 SMN2 조정을 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

SMN2의 스플라이싱을 조정하기 위한 화합물, 조성물 및 방법에 본 명세서에서 개시된다. 척수 근위축증의 치료 약물 제조에 공개된 화합물 및 조성물의 용도를 또한 제공한다.

(52) CPC특허분류

C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/3341 (2013.01)
C12N 2310/3521 (2013.01)
C12N 2310/3525 (2013.01)
C12N 2320/33 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

18개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되고 서열 번호: 3의 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이며, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지와 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 링키지에서 선택되는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 5-메틸 시토신을 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 나트륨 염 또는 칼륨 염인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 5

18개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되고 서열 번호: 1의 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이며, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지와 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 링키지에서 선택되는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 5-메틸 시토신을 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 8

청구항 5에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 나트륨 염 또는 칼륨 염인 변형된 올리고뉴클레오티드.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항의 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고머 화합물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 올리고머 화합물은 콘쥬게이트 기를 포함하는 것인 올리고머 화합물.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 콘쥬게이트 기는 지질 또는 친지성 그룹을 포함하는 것인 올리고머 화합물.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 지질 또는 친지성 그룹은

- a. 콜레스테롤, C₁₀-C₂₆ 포화된 지방산, C₁₀-C₂₆ 불포화된 지방산, C₁₀-C₂₆ 알킬, 트리글리세리드, 토코페롤, 또는 쿨린산에서 선택된 것;
- b. 포화된 탄화수소 쇄 또는 불포화된 탄화수소 쇄인 것;
- c. C₁₆ 알킬인 것; 또는
- d. 포화된 C₁₆인 것

인 올리고머 화합물.

청구항 13

청구항 9에 있어서, 상기 올리고머 화합물은 단일 가닥인 올리고머 화합물.

청구항 14

약학 조성물을 척수 근위축증의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 척수 근위축증을 치료하는 방법에서 사용하기 위한, 청구항 9의 올리고머 화합물과, 최소한 하나의 약학적으로 수용가능한 운반체 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 15

약학 조성물을 척수 근위축증의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 척수 근위축증을 치료하는 방법에서 사용하기 위한, 청구항 1 내지 8 중 어느 한 항의 변형된 올리고뉴클레오티드와, 최소한 하나의 약학적으로 수용가능한 운반체 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 16

청구항 14에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 수용가능한 희석제를 포함하고, 상기 약학적으로 수용가능한 희석제는 포스페이트-완충 식염수(PBS)인 약학 조성물.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 수용가능한 희석제를 포함하고, 상기 약학적으로 수용가능한 희석제는 포스페이트-완충 식염수(PBS)인 약학 조성물.

청구항 18

청구항 16에 있어서, 상기 약학 조성물은 상기 올리고머 화합물 및 PBS로 구성되는 것인 약학 조성물.

청구항 19

청구항 17에 있어서, 상기 약학 조성물은 상기 변형된 올리고뉴클레오티드 및 PBS로 구성되는 것인 약학 조성물.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록

[0002] 본 출원은 전자 포맷의 서열 목록과 함께 출원되었다. 서열 목록은 2017년 7월 17일에 88 Kb 크기로 생성된 BIOL0304WOSEQ_ST25.txt라는 제목의 파일로 제공된다. 서열 목록의 전자 포맷 내 정보는 그 전체가 본 명세서에서 참고로서 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] SMN2 조정을 위한 방법, 화합물 및 조성물을 본 명세서에서 제공한다.

배경 기술

[0005] 배경

근위 척수 근위축증(SMA)은 척추 운동 뉴런 손상으로 특징 지어지는 유전적 신경 퇴행성 장애다. SMA는 초기 발병의 상염색체(autosomal) 열성 질환이며, 현재 유아의 주요 사망 원인이다. SMA의 중증도는 환자마다 다르며, 세 가지 유형으로 분류된다. 유형 I SMA는 출생시 또는 6 개월 이내에 발병하는 가장 심각한 형태이며, 일반적으로 2 년 이내에 사망한다. 유형 I SMA를 가진 아이들은 앓거나 걸을 수 없다. 유형 II SMA는 중간 형태이며, 환자는 앓을 수 있지만 서거나 걸을 수는 없다. 만성 질환 형태인, 유형 III SMA 환자는 일반적으로 18 개월 후에 SMA를 발생된다(Lefebvre et al., Hum. Mol. Genet., 1998, 7, 1531-1536).

[0007] SMA의 분자적 기초는 생존 운동 뉴런 유전자 1(SMN1)의 양 사본의 손실에 기인하며, 이 단백질은 snRNP 생합성과 재활용에 관여한다고 여겨지는 다중-단백질 복합체의 일부인 SMN 텔로메릭(Telomeric)으로도 알려져 있다. 거의 동일한 유전자인 SMN2는 SMN 센토메릭(Centromeric)으로도 알려져 있으며, 염색체 5q13의 중복된 영역에 존재하며, 질병의 중증도를 조절한다. 정상적인 SMN1 유전자의 발현은 오직 생존 운동 뉴런(SMN) 단백질만 발현된다. SMN1과 SMN2는 동일한 단백질을 코드할 수 있는 가능성이 있지만, SMN2는 엑손 7의 +6 위치에 해독 침묵 돌연변이를 가지고 있으며, 이것은 SMN2 전사체에 엑손 7의 비효율적 봉입(inclusion)을 결과한다. 따라서, SMN2의 우세한 형태는 절두된 형태로, 엑손 7이 부족하며, 이는 불안정하고 비활성이다(Cartegni and Krainer, Nat. Genet., 2002, 30, 377-384). SMN2 유전자의 발현은 약 10-20 %의 SMN 단백질과 80-90 %의 불안정/비-기능성 SMNdelt7 단백질을 만든다. SMN 단백질은 스플라이스솜(splliceosome)의 어셈블리에서 잘 확립된 역할을 하며, 또한 뉴런의 축삭 및 신경 말단에서의 mRNA 트래피킹(trafficking)을 매개할 수 있다.

[0008] 안티센스 기술은 대체 스플라이스 산물을 포함하는 하나 이상의 특정 유전자 산물의 발현을 조절하는 효과적인 수단이며, 따라서 여러 치료, 진단 및 연구 응용에서 독특하게 유용하다. 안티센스 기술의 기본 원리는 표적 핵산에 혼성화하는 안티센스 화합물이 다수의 안티센스 기전 중 하나를 통해 전사, 스플라이싱 또는 해독과 같은 유전자 발현 활성을 조절한다는 것이다. 안티센스 화합물의 서열 특이성은 질병에 관여하는 유전자의 발현을 선택적으로 조절하는 치료제 뿐만 아니라, 표적 확인 및 유전자 기능화를 위한 도구로서 매우 유용하다.

[0009] 요약

[0010] 본 명세서는 SMN2 pre-mRNA 조정을 위한 화합물, 방법 및 조성물을 제공한다. 본 명세서는 예를 들어, 척수 근위축증의 하나 또는 그 이상의 증상을 치료, 예방 또는 개선하는데 유용한 화합물, 방법 및 조성물을 또한 제공한다.

[0011] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖고, SMN pre-mRNA에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하거나, 또는 이로 구성된 올리고머 화합물을 제공한다. 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 근육 조직에서 세포 흡수 및/또는 약리학적 활성을 증가시킨다. SMN2는 근육 조직에서 발현되기 때문에, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 근육 조직에서 개선된 활성을 가질 것이다.

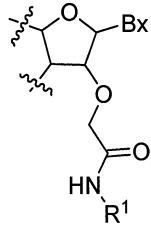
[0012] SMN2 pre-mRNA의 프로세싱을 조정하는데 유용한 화합물 및 방법이 본 명세서에서 제공된다. 상기 화합물은 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다. 특정 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 pre-mRNA의 스플라이싱을 조정한다. 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA 조정을 위한 강화된 약리학적 활성을 또한 보유한다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖고, SMN2 pre-mRNA를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드는 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티가 없는 변형된 올리고뉴클레오티드와 비교하여, 엑손 7의 봉입을 증가시킨다.

[0013] 콘쥬게이트 기와 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 또는 이로 구성된 올리고머 화합물의 세포 흡수를 강화시키는 방법, 이의 약리활성을 강화하는 방법, 그리고 이의 조직 분포를 조절하는 방법들이 본 명세서에서 더 제공된다. 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물의 치료 용도를 또한 제공한다. 세포 또는 조직에서 선택된 전구체(precursor) 전사체의

프로세싱을 조절하기 위한 약물의 제조용 화합물이 또한 제공된다.

[0014] 본 명세서는 다음의 번호가 붙은 구체예들을 제공하나, 이에 국한되지 않는다:

[0015] 구체예 1: 14-25개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 상보적이며; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 최소한 하나의 뉴클레오시드는 구조식 I의 구조를 갖는다:



I

[0016] 여기서 Bx는 핵염기이며;

[0018] 그리고 구조식 I의 각 뉴클레오시드의 R¹은 독립적으로 메틸, 에틸, 프로필, 및 이소프로필에서 선택된다.

[0019] 구체예 2: 구체예 1의 올리고머 화합물, 여기서 Bx는 아데닌, 구아닌, 시토신, 티민, 우라실, 및 5-메틸 시토신으로부터 선택된다.

[0020] 구체예 3: 구체예 1 또는 2의 올리고머 화합물, 여기서 R¹은 메틸이다.

[0021] 구체예 4: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 최소한 2개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0022] 구체예 5: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 7개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0023] 구체예 6: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 8개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0024] 구체예 7: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 9개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0025] 구체예 8: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 10개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0026] 구체예 9: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 11개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0027] 구체예 10: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 12개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0028] 구체예 11: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 13개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0029] 구체예 12: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 14개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0030] 구체예 13: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 15개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0031] 구체예 14: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 16개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

[0032] 구체예 15: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 17개

의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

- [0033] 구체예 16: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 18개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.
- [0034] 구체예 17: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 19개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.
- [0035] 구체예 18: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 20개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.
- [0036] 구체예 19: 구체예 1-18중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 구조식 I의 구조를 갖는 최소한 하나의 뉴클레오시드의 R^1 은 메틸이다.
- [0037] 구체예 20: 구체예 1-19중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 R^1 은 구조식 I의 구조를 갖는 모든 뉴클레오시드에서 동일하다.
- [0038] 구체예 21: 14-25개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 상보적이며; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 최소한 하나의 뉴클레오시드는 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0039] 구체예 22: 구체예 21의 올리고머 화합물, 여기서 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 각 뉴클레오시드의 당 모이어티는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 및 2'-0-(N-에틸 아세타미드)에서 선택된다.
- [0040] 구체예 23: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 7개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0041] 구체예 24: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 8개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0042] 구체예 25: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 9개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0043] 구체예 26: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 10개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0044] 구체예 27: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 11개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0045] 구체예 28: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 12개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0046] 구체예 29: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 13개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0047] 구체예 30: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 14개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0048] 구체예 31: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 15개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0049] 구체예 32: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 16개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0050] 구체예 33: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 17개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0051] 구체예 34: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 18개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0052] 구체예 35: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 19개 뉴클레

오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.

[0053] 구체예 36: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 20개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.

[0054] 구체예 37: 구체예 21-36중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 상기 뉴클레오시드의 최소한 하나의 당 모이어티는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티이다.

[0055] 구체예 38: 구체예 21-37중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티의 각 N-알킬 그룹은 동일한 N-알킬 그룹이다.

[0056] 구체예 39: 구체예 21-38중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티의 각각은 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 당 모이어티이다.

[0057] 구체예 40: 구체예 21-39중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드의 각 당 모이어티는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티이다.

[0058] 구체예 41: 구체예 1-40중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 16-23개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다.

[0059] 구체예 42: 구체예 1-40중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 18-20개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다.

[0060] 구체예 43: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 16개의 뉴클레오시드로 구성된다.

[0061] 구체예 44: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 17개의 뉴클레오시드로 구성된다.

[0062] 구체예 45: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 18개의 뉴클레오시드로 구성된다.

[0063] 구체예 46: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 19개의 뉴클레오시드로 구성된다.

[0064] 구체예 47: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 20개의 뉴클레오시드로 구성된다.

[0065] 구체예 48: 구체예 1-47중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다.

[0066] 구체예 49: 구체예 1-48중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다.

[0067] 구체예 50: 구체예 49의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지와 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지에서 선택된다.

[0068] 구체예 51: 구체예 50의 올리고머 화합물, 여기서 상기 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 링키지이다.

[0069] 구체예 52: 구체예 1-50중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지이다.

[0070] 구체예 53: 구체예 1-52중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함한다.

[0071] 구체예 54: 구체예 1-53중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 최소한 하나의 5-메틸 시토신을 포함한다.

[0072] 구체예 55: 구체예 1-54중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 핵염기는 티민, 5-메틸 시토신, 시토신, 아데닌, 우라실, 및 구아닌에서 선택된다.

- [0073] 구체예 56: 구체예 1-55중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 시토신은 5-메틸 시토신이다.
- [0074] 구체예 57: 구체예 1-56중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 핵염기는 티민, 5-메틸 시토신, 아데닌, 및 구아닌에서 선택된다.
- [0075] 구체예 58: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 70% 상보적이다.
- [0076] 구체예 59: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 75% 상보적이다.
- [0077] 구체예 60: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 80% 상보적이다.
- [0078] 구체예 61: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 85% 상보적이다.
- [0079] 구체예 62: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 90% 상보적이다.
- [0080] 구체예 63: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 95% 상보적이다.
- [0081] 구체예 64: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 100% 상보적이다.
- [0082] 구체예 65: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 7에 상보적이다.
- [0083] 구체예 66: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 ISS-N1에 상보적이다.
- [0084] 구체예 67: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 핵 염기 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 또는 3에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0085] 구체예 68: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 핵 염기 서열은 서열 식별 번호 12-239에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0086] 구체예 69: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 핵 염기 서열은 서열 식별 번호 1, 2, 3 또는 12-239에서 선택된 서열로 구성된다.
- [0087] 구체예 70: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7에 상보적이다.
- [0088] 구체예 71: 구체예 1-64의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 6에 상보적이다.
- [0089] 구체예 72: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7에서 엑손 스플라이싱 인핸서에 상보적이다.
- [0090] 구체예 73: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7에서 비정상적 엑손 스플라이싱 사일런스(silencer)에 상보적이다.
- [0091] 구체예 74: 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 올리고머 화합물은 콘쥬게이트 기를 포함한다.
- [0092] 구체예 75: 구체예 74의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 지질 또는 친지성 그룹을 포함한다.
- [0093] 구체예 76: 구체예 75의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 콜레스테롤, C₁₀-C₂₆ 포화

된 지방산, C₁₀-C₂₆ 불포화된 지방산, C₁₀-C₂₆ 알킬, 트리글리세리드, 토코페롤, 또는 콜린산에서 선택된다.

- [0094] 구체예 77: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 포화된 탄화수소 쇄 또는 불포화된 탄화수소 쇄이다.
- [0095] 구체예 78: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C₁₆ 지질이다.
- [0096] 구체예 79: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C₁₈ 지질이다.
- [0097] 구체예 80: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C₁₆ 알킬이다.
- [0098] 구체예 81: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C₁₈ 알킬이다.
- [0099] 구체예 82: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 콜레스테롤이다.
- [0100] 구체예 83: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 토코페롤이다.
- [0101] 구체예 84: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 포화된 C₁₆이다.
- [0102] 구체예 85: 구체예 74-84중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 5'-단부에서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드에 부착된다.
- [0103] 구체예 86: 구체예 74-85중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 3'-단부에서 상기 변형된 올리고뉴클레오티드에 부착된다.
- [0104] 구체예 87: 구체예 74-86중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 절단가능한 링커를 포함한다.
- [0105] 구체예 88: 구체예 87의 올리고머 화합물, 여기서 상기 절단가능한 링커는 하나 또는 그 이상의 링커 뉴클레오시드를 포함한다.
- [0106] 구체예 89: 상기 변형된 올리고뉴클레오티드로 구성된 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물.
- [0107] 구체예 90: 상기 변형된 올리고뉴클레오티드와 콘쥬게이트 기로 구성된 구체예 74-88중 임의의 올리고머 화합물.
- [0108] 구체예 91: 구체예 1-90중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 올리고머 화합물은 SMN2 pre-mRNA의 스플라이싱을 조정한다.
- [0109] 구체예 92: 구체예 1-91중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 올리고머 화합물은 단일 가닥이다.
- [0110] 구체예 93: 구체예 1-91중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 올리고머 화합물은 상보적 올리고머 화합물과 쌍을 이루어 이중 가닥 화합물을 만든다.
- [0111] 구체예 94: 구체예 93의 올리고머 화합물, 여기서 상기 상보적 올리고머 화합물은 콘쥬게이트 기를 포함한다.
- [0112] 구체예 95: 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물과 최소한 하나의 약학적으로 수용가능한 운반체 또는 회석제를 포함하는 약학 조성물.
- [0113] 구체예 96: 세포, 조직, 또는 기관에 구체예 1-95중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 조성물을 접촉시키는 것을 포함하는 SMN2 pre-mRNA의 스플라이싱을 조정하는 방법.
- [0114] 구체예 97: 세포, 조직 또는 기관에 구체예 1-91중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물에 접촉시키는 것을 포함하는 전술한 세포, 조직 또는 기관에서 SMN2 mRNA에서 엑손 7의 봉입을 촉진시키는 방법.

- [0115] 구체예 98: 구체예 96 또는 97의 방법, 여기서 상기 세포, 조직, 또는 기관은 동물에 있다.
- [0116] 구체예 99: 구체예 96 또는 97의 방법, 여기서 상기 세포, 조직, 또는 기관은 인간에 있다.
- [0117] 구체예 100: 환자의 척수 근위축증을 치료하는 방법, 이 방법은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0118] 구체예 101: 환자의 척수 근위축증 유형 I을 치료하는 방법, 이 방법은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0119] 구체예 102: 환자의 척수 근위축증 유형 II를 치료하는 방법, 이 방법은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0120] 구체예 103: 환자의 척수 근위축증 유형 III을 치료하는 방법, 이 방법은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0121] 구체예 104: 환자의 척수 근위축증 유형 IV를 치료하는 방법, 이 방법은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0122] 구체예 105: 구체예 100-104중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 중추신경계로 투여된다.
- [0123] 구체예 106: 구체예 105의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 경막내(*intrathecally*)로 투여된다.
- [0124] 구체예 107: 구체예 100-104중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 전신으로 투여된다.
- [0125] 구체예 108: 구체예 107의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 피하로 투여된다.
- [0126] 구체예 109: 구체예 107의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 근육내로 투여된다.
- [0127] 구체예 110: 구체예 100-109중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 중추신경계과 전신으로 투여된다.
- [0128] 구체예 111: 구체예 100-110중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 올리고머 화합물은 제 2 화합물과 함께 투여된다.
- [0129] 구체예 112: 구체예 111의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 소분자와 올리고머 화합물에서 선택된다.
- [0130] 구체예 113: 구체예 112의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 구체예 1-94에 따른 올리고머 화합물이다.
- [0131] 구체예 114: 구체예 111-113중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 CSF로 투여된다.
- [0132] 구체예 115: 구체예 114의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 경막내로 투여된다.
- [0133] 구체예 116: 구체예 111-115중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 제 2 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 제 2 올리고머 화합물이다.
- [0134] 구체예 117: 구체예 116의 방법, 여기서 상기 제 2 올리고머 화합물의 제 2 변형된 올리고뉴클레오티드의 변형된 뉴클레오시드의 변형된 당 모이어티는 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된다.
- [0135] 구체예 118: 구체예 116-117중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 변형된 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0136] 구체예 119: 구체예 118의 올리고머 화합물, 여기서 상기 제 2 올리고뉴클레오티드의 변형된 당 모이어티는 2'-MOE 당 모이어티이다.
- [0137] 구체예 120: 구체예 111 또는 112의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 몰포리노 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고머 화합물이다.
- [0138] 구체예 121: 구체예 111-120중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 올리고머 화합물은 서열 번호: 1의 핵염기 서열을 갖는다.
- [0139] 구체예 122: 구체예 121의 방법, 여기서 상기 제 2 올리고머 화합물은 상기 핵염기 서열과 Isis 396443의

화학적 변형 모티프를 갖는다.

- [0140] 구체예 123: 구체예 111-122중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 올리고머 화합물은 상기 변형된 올리고뉴클레오티드로 구성된다.
- [0141] 구체예 124: 구체예 111-123중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 투여하기 전, 투여된다.
- [0142] 구체예 125: 구체예 111-123중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물을 투여 후, 투여된다.
- [0143] 구체예 126: 구체예 111-123중 임의의 하나의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물의 투여보다 덜 빈번하게 투여된다.
- [0144] 구체예 127: 치료 용도의 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물.
- [0145] 구체예 128: 척수 근위축증 유형 I의 치료용 약물 제조를 위한 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물의 용도.
- [0146] 구체예 129: 척수 근위축증 유형 II의 치료용 약물 제조를 위한 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물의 용도.
- [0147] 구체예 130: 척수 근위축증 유형 III의 치료용 약물 제조를 위한 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물의 용도.
- [0148] 구체예 131: 척수 근위축증 유형 IV의 치료용 약물 제조를 위한 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 구체예 95의 조성물의 용도.
- [0149] 구체예 132: 척수 근위축증의 치료용 약물 제조를 위한 구체예 1-95중 임의의 하나의 올리고머 화합물의 용도.
- [0150] 구체예 133: (i) 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물을 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0151] 구체예 134: (i) 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물 또는 조성물을 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0152] 구체예 135: (i) 구체예 74-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물을 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법. (i) 구체예 74-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물을 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0153] 구체예 136: (i) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드와 콘쥬게이트를 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물을 포함하는 화합물 또는 조성물을 CNA으로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0154] 구체예 137: (i) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드와 콘쥬게이트 기를 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0155] 구체예 138: 구체예 137의 방법에서, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 콜레스테롤, C10-C26 포화된 지방산, C10-C26 불포화된 지방산, C10-C26 알킬, 트리글리세리드, 토코페롤, 및 콜린산에서 선택된 지질 또는 친지성 그룹을 포함한다.
- [0156] 구체예 139: 구체예 1-138중 임의의 하나의 올리고머 화합물 또는 방법, 여기서 SMN2 pre-mRNA는 서열 번호: 10, 11, 또는 240에서 선택된 핵염기 서열이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0157]

상세한 설명

[0158]

선행된 일반 설명 및 이어지는 상세한 설명은 청구되는 바와 같이, 모두 예시와 설명을 위한 것이며, 구체예로 제한하지 않는다는 것을 이해해야 한다. 본 명세서에서, 단수의 사용은 달리 구체적으로 언급되지 않은 한, 복수를 포함한다. 본 명세서에서 사용된, "또는"의 사용은 달리 언급되지 않은 한, "및/또는"을 포함한다. 게다가, 용어 "포함하는" 뿐 아니라 다른 형태, 가령, "포함한다" 및 "포함되다"는 제한하는 것이 아니다.

[0159]

본 명세서에서 사용된 섹션 제목은 오로지 구획을 분리하려는 목적을 위함이며 서술된 주제를 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 특히, 특히 출원, 물품, 서적, 조약, 및 GenBank 및 NCBI 기준 서열 기록을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 본 명세서에 인용된 모든 문서, 또는 문서의 일부는 본 명세서에 언급된 문서 일부 뿐만 아니라 그 전체가 참고로서 명시적으로 본 명세서에 포함된다.

[0160]

달리 지정되지 않는 한, 다음의 용어는 이하의 의미를 지닌다:

[0161]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "SMN2 pre-mRNA"는 인간 SMN2를 인코드하는 DNA로부터 전사된, 모든 엑손, 인트론, 및 해독안된 영역들이 포함된 RNA 서열을 의미한다. 특정 구체예들에서, SMN2를 인코드하는 DNA는 서열 번호: 240으로 본 명세서에서 참고자료에 편입된, 뉴클레오티드 19939708_내지 19967777로부터 절두된, GENBANK 수탁 번호 NT_006713.14에서 제공되는 인간 SMN2 계놈 서열을 포함한다. 특정 구체예들에서, SMN2 pre-mRNA는 서열 번호: 10을 포함한다. 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 1-60는 인트론 6의 일부분을 나타내며, 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 61-114는 엑손 7을 나타내고, 그리고 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 115-174는 인트론 7의 일부를 나타낸다.

[0162]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "ISS-N1"은 인트론 7에서 인트론 스플라이스 사일런싱 도메인을 말한다. 특정 구체예들에서, ISS-N1은 서열 번호: 11의 핵염기 서열을 포함한다.

[0163]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "2'-데옥시리보뉴클레오시드"는 자연 발생적 데옥시리보핵산(DNA)에서 볼 수 있는 바와 같이, 2'-H(H) 퓨라노실 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 특정 구체예들에서, 2'-데옥시리보뉴클레오시드는 변형된 핵염기를 포함하거나, 또는 RNA 핵염기(우라실)를 포함할 수 있다.

[0164]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "2'-치환된 뉴클레오시드" 또는 "2-변형된(modified) 뉴클레오시드"는 2'-치환된 또는 2'-변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 당 모이어티를 기준으로 "2'-치환된" 또는 "2-변형된"은 H 또는 OH가 아닌 최소한 하나의 2'-치환기를 포함하는 당 모이어티를 의미한다.

[0165]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "안티센스 활성(antisense activity)"은 안티센스 화합물이 이의 표적 핵산에 혼성화됨으로써 나타나는 임의의 검출가능하거나 및/또는 측정가능한 활성을 의미한다. 특정 구체예에서, 안티센스 활성은 안티센스 화합물이 부재할 때의 표적 핵산 수준 또는 표적 단백질 수준과 비교하여, 표적 핵산 또는 이러한 표적 핵산에 의해 인코딩되는 단백질의 양 또는 발현이 감소하는 것이다.

[0166]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "안티센스 화합물"은 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 임의로 하나 이상의 추가적인 특징, 가령, 콘쥬게이트 기 또는 말단 기를 포함하는 화합물을 의미한다.

[0167]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 표적 핵산에 최소한 부분적으로 상보적인 핵염기 서열을 가지는 올리고뉴클레오티드를 의미한다.

[0168]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, 치료와 관련하여 "개선하다(ameliorate)"란 치료가 없을 때 동일한 증상에 비교하여 최소한 하나의 증상이 개선되었음을 의미한다. 특정 구체예들에서, 개선은 증상의 중증도 또는 빈도의 감소, 또는 증상의 중증도 또는 빈도의 진행 지연 또는 발병 지연이다.

[0169]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, "바이사이클릭 뉴클레오시드(bicyclic nucleoside)" 또는 "BNA"는 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 본 명세서에서 사용된, "바이사이클릭 당(bicyclic sugar)" 또는 "바이사이클릭 당 모이어티(bicyclic sugar moiety)"는 두 개의 고리를 포함하는 변형된 당 모이어티를 의미하며, 여기서 두 번째 고리는 첫 번째 고리에서 두 개의 원자를 연결하는 가교를 통해 형성되고, 이를 통해 바이사이클릭 구조를 형성한다. 특정 구체예에서, 바이사이클릭 당 모이어티의 첫 번째 고리는 퓨라노실 모이어티이다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 퓨라노실 모이어티는 리보실 모이어티다. 특정 구체예에서, 바이사이클릭 당 모이어티는 퓨라노실 모이어티를 포함하지 않는다.

- [0170] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "분지(branching) 그룹"은 적어도 3개의 기에 공유 링키지를 형성할 수 있는 적어도 3개의 위치를 가지는 원자의 군을 의미한다. 특정 구체예에서, 분지 그룹은 콘쥬게이트 링커 및/또는 절단가능 모이어티를 통해 올리고뉴클레오티드에 테터(tether)로 매인 리간드를 연결하기 위한 다수의 반응성 부위를 제공한다.
- [0171] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "세포-표적화 모이어티(cell-targeting moiety)"는 세포-표적화 모이어티가 부족한 올리고머 화합물과 비교하여, 특정 세포 유형에서 개선된 흡수 및/또는 특정 조직으로의 개선된 분포를 초래하는 콘쥬게이트 기 또는 콘쥬게이트 기의 일부분을 의미한다.
- [0172] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "절단가능한 모이어티(cleavable moiety)"는 생리학적 조건 하에서, 예를 들면, 세포, 동물, 또는 인간 내부에서 절단되는 원자의 결합 또는 군을 의미한다.
- [0173] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드의 언급에서 "상보적(complementary)"이란 이러한 올리고뉴클레오티드의 핵염기의 최소한 70% 또는 이의 하나 또는 그 이상의 영역들과 또다른 핵산의 핵염기 또는 이의 하나 또는 그 이상의 영역들이 이를 올리고뉴클레오티드의 핵염기 서열이 다른 핵산과 반대 방향으로 나란히 정렬될 때, 서로 수소 결합을 할 수 있다는 것을 말한다. 상보적 핵염기는 서로 수소 결합을 형성할 수 있는 핵염기를 말한다. 상보적 핵염기 쌍은 아데닌(A)과 티민(T), 아데닌(A)과 우라실(U), 시토신(C)과 구아닌(G), 5-메틸 시토신(⁵C)과 구아닌(G)을 포함한다. 상보적 올리고뉴클레오티드 및/또는 핵산은 각각의 뉴클레오시드에 핵염기 상보성을 가질 필요가 없다. 오히려, 일부 미스매치(mismatches)가 용인된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드와 관련하여 "완전히 상보적(fully complementary)" 또는 "100% 상보적"이란 이러한 올리고뉴클레오티드는 또다른 올리고뉴클레오티드에 상보적이거나, 또는 이 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오시드에서 핵산에 상보적이다.
- [0174] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘쥬게이트 기(conjugate group)"란 올리고뉴클레오티드에 직접 또는 간접적으로 부착된 원자 그룹을 의미한다. 콘쥬게이트 기는 콘쥬게이트 모이어티, 그리고 올리고뉴클레오티드에 상기 콘쥬게이트 모이어티를 부착시키는 콘쥬게이트 링커를 포함한다.
- [0175] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘쥬게이트 링커(conjugate linker)"는 콘쥬게이트 모이어티를 올리고뉴클레오티드에 연결시키는 최소한 하나의 결합을 포함하는 원자 그룹을 말한다.
- [0176] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘쥬게이트 모이어티(conjugate moiety)"는 콘쥬게이트 링커를 통하여 올리고뉴클레오티드에 부착되는 원자 그룹을 말한다.
- [0177] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드와 관련하여 "연접한(contiguous)"은 서로의 바로 옆에 있는 뉴클레오시드, 핵염기, 당 모이어티, 또는 뉴클레오시드간 연결을 가리킨다. 예를 들면, "연접한 핵염기(contiguous nucleobases)"는 서로의 바로 옆에 있는 핵염기를 의미한다.
- [0178] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "이중-가닥 안티센스 화합물(double-stranded antisense compound)"은 서로 상보적이며 이중복합체를 형성하는 두 개의 올리고머 화합물을 포함하는 안티센스 화합물을 의미하며, 여기서 상기 두 개의 올리고머 화합물 중 하나는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다.
- [0179] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드와 관련하여 "전부 변형된(fully modified)"이란 각 당 모이어티가 변형된, 변형된 올리고뉴클레오티드를 의미한다. 변형된 올리고뉴클레오티드와 관련하여, "균일하게 변형된(Uniformly modified)"이란 각 당 모이어티가 완전히 동일하게 변형된 올리고뉴클레오티드를 말한다. 예를 들면, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드는 각각 2'-MOE 변형이지만 상이한 핵염기 변형을 가질 수 있고, 뉴클레오시드간 링키지는 상이할 수 있다.
- [0180] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "캡머(gapmer)"는 변형된 당 모이어티가 포함된 하나 또는 그 이상의 뉴클레오시드를 갖는 외부 영역들 사이에 위치한 변형안된 당 모이어티를 포함하는 다수의 뉴클레오시드를 갖는 내부 영역을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 말하며, 여기서 각 내부 영역에 인접한 외부 영역들의 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 내부 영역은 "캡(gap)"으로 지칭될 수 있고, 외부 영역은 "날개(wing)"로 지칭될 수 있다.
- [0181] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "혼성화(hybridization)"는 상보적 올리고뉴클레오티드 및/또는 핵산의 쌍 형성 또는 어닐링(annealing)을 의미한다. 특정 기전에 제한되지 않지만, 가장 일반적인 혼성화 기전은 상보적 핵염기 간의 수소 결합을 수반하며, 이는 왓슨-크릭형(Watson-Crick), 후그스틴형(Hoogsteen) 또는 역전된 후그스

탄형 수소 결합일 수 있다.

[0182] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "발현 또는 활성의 저해(inhibiting the expression or activity)"란 미쳐리 또는 대조 샘플에서의 발현 또는 활성과 비교하여 발현 또는 활성이 감소 또는 차단되는 것을 가리키며, 반드시 발현 또는 활성의 완전한 제거를 의미하지는 않는다.

[0183] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "뉴클레오시드간 링키지(internucleoside linkage)"는 올리고뉴클레오티드 내 인접한 뉴클레오시드 사이에 공유 연결을 형성하는 기 또는 결합을 의미한다. 본 명세서에서 사용된 "변형된 뉴클레오시드간 링키지(modified internucleoside linkage)"은 자연발생적인 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지이 아닌 임의의 뉴클레오시드간 링키지를 의미한다. 비-포스페이트 링키지는 본 명세서에서 변형된 뉴클레오시드간 링키지로 지칭된다. "포스포로티오에이트 링키지(Phosphorothioate linkage)"란 비-가교성 산소 원자 중 하나가 황 원자로 대체된, 변형된 포스페이트 링키지를 말한다. 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지는 변형된 뉴클레오시드간 링키지이다. 변형된 뉴클레오시드간 링키지에는 무염기성(abasic) 뉴클레오시드를 포함하는 링키지가 포함된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "무염기성 뉴클레오시드(abasic nucleoside)"란 올리고뉴클레오티드 또는 올리고머 화합물에서 핵염기에 직접적으로 연계되지 않은 당 모이어티를 의미한다. 특정 구체 예들에서, 무염기성 뉴클레오시드는 올리고뉴클레오티드에서 하나 또는 2개의 뉴클레오시드에 인접한다.

[0184] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "Isis 396443"는 다음 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드를 말한다:



[0186] 여기서 "^mC"은 5-메틸 시토신을 나타내며; "e"는 2'-MOE 변형을 나타내며; "C"는 시티딘을 나타내며, "T"는 티미딘을 나타내며, "A"는 아데노신을 나타내며, "G"는 구아노신을 나타내며, 그리고 "s"는 포스포로티오에이트 링키지를 나타낸다. Isis 396443는 당분야에서 누시네르센(Nusinersen) 및 Ionis-SMNRx로 지칭된다.

[0187] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "링커-뉴클레오시드(linker-nucleoside)"는 올리고뉴클레오티드를 콘쥬게이트 모이어티에 직접 또는 간접적으로 연계시키는 뉴클레오시드를 의미한다. 링커-뉴클레오시드는 올리고머 화합물의 콘쥬게이트 링커 안에 위치한다. 링커-뉴클레오시드는 이들이 비록 상기 올리고뉴클레오티드에 연접하더라도 올리고머 화합물의 올리고뉴클레오티드 부분의 일부로 간주되지 않는다.

[0188] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "비-바이사이클릭 변형된 당(non-bicyclic modified sugar)" 또는 "비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티(non-bicyclic modified sugar moiety)"는 제 2 고리를 형성하기 위하여 당의 2개 원자 사이에 다리를 형성하지 않는 변형, 이를 테면, 치환체를 포함하는 변형된 당 모이어티를 의미한다.

[0189] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "연계된 뉴클레오시드(linked nucleosides)"는 연속된 서열(즉, 연결 사이에 추가적인 뉴클레오시드가 존재하지 않는 서열)에서 연결된 뉴클레오시드이다.

[0190] 본 명세서에서 사용된, "미스매치(mismatch)" 또는 "비-상보적(non-complementary)"은 첫 번째 및 두 번째 올리고머 화합물을 정렬시켰을 때, 첫 번째 올리고뉴클레오티드의 핵염기가 두 번째 올리고뉴클레오티드 또는 표적 핵산의 상응하는 핵염기에 상보적이지 않은 것을 의미한다.

[0191] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "MOE"는 메톡시에틸을 의미한다. "2'-MOE"는 퓨라노실 고리의 2' 위치에 -OCH₂CH₂OCH₃ 그룹을 말한다.

[0192] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "모티프(motif)"는 올리고뉴클레오티드에서 변형되지 않은 및/또는 변형된 당 모이어티, 핵염기, 및/또는 뉴클레오시드간 링키지의 패턴을 의미한다.

[0193] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "자연 발생적(naturally occurring)" 이란 자연에서 발견되는 것을 의미한다

[0194] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "핵염기(nucleobase)"는 자연 발생적 핵염기 또는 변형된 핵염기를 말한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "자연 발생적 핵염기(naturally occurring nucleobase)"는 아데닌(A), 티민(T), 시토신(C), 우라실(U), 및 구아닌(G)이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 변형된 핵염기는 최소한 하나의 자연 발생적 핵염기와 쌍을 이룰 수 있는 원자 그룹이다. 보편적 염기는 상기 다섯 가지의 변형되지 않은 핵염기 중 어느 하나와 쌍을 이룰 수 있는 핵염기이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "핵염기 서열"(nucleobase sequence)이란 임의의 당 또는 뉴클레오시드간 링키지 변형과 독립적인 핵산 또는 올리고뉴클레오티드에 있는 연접 핵염기 순서를 말한다.

[0195] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "뉴클레오시드(nucleoside)"는 핵염기와 당 모이어티를 포함하는 화합물이다.

핵염기 및 당 모이어티는 각각, 독립적으로, 변형되지 않거나 변형된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "변형된 뉴클레오시드(modified nucleoside)"는 변형된 핵염기 및/또는 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.

- [0196] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "2'-O-(N-알킬 아세타미드)"는 퓨라노실 고리의 2' 위치에서 $-O-CH_2-C(O)-NH-$ 알킬 그룹을 말한다.
- [0197] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "2'-O-(N-메틸 아세타미드)" 또는 "2'-NMA"는 퓨라노실 고리의 2' 위치에서 $-O-CH_2-C(O)-NH-CH_3$ 그룹을 말한다.
- [0198] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "올리고머 화합물(oligomeric compound)"이란 올리고뉴클레오티드 및 임의로 하나 이상의 추가적인 특징, 가령, 콘쥬게이트 기 또는 말단 기로 구성된 화합물을 의미한다.
- [0199] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)"는 뉴클레오시드간 링키지를 통하여 연계된 뉴클레오시드 가닥을 의미하며, 여기서 각 뉴클레오시드와 뉴클레오시드간 링키지는 변형되거나, 또는 변형되지 않을 수 있다. 다른 언급이 없는 한, 올리고뉴클레오티드는 8-50개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "변형된 올리고뉴클레오티드(modified oligonucleotide)"는 올리고뉴클레오티드를 말하며, 여기서 최소한 하나의 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드간 링키지는 변형된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "변형안된 올리고뉴클레오티드(unmodified oligonucleotide)"는 임의의 뉴클레오시드 변형 또는 뉴클레오시드간 변형을 포함하지 않는 올리고뉴클레오티드를 의미한다.
- [0200] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제(pharmaceutically acceptable carrier or diluent)"는 동물에 투여하기에 적절한 매체 또는 희석제를 의미한다. 특정의 이러한 담체는 약제 조성물이 예를 들어, 대상이 경구 섭취를 위한 테블릿, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 젤, 시럽, 슬러리, 혼탁액 및 로젠지로 제형화 될 수 있도록 한다. 특정 구체예들에서, 약학적으로 수용가능한 운반체 또는 희석제는 멸균수; 멸균 염수; 또는 멸균 완충제 용액이다.
- [0201] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용되는 염(pharmaceutically acceptable salts)"은 화합물, 가령, 올리고머 화합물의 생리학적으로 그리고 약학적으로 수용가능한 염, 가령, 모 화합물의 요망되는 생물학적 활성을 보유하지만 동물에게 원치않는 독성 효과를 일으키지 않는 염을 의미한다.
- [0202] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "약학 조성물(pharmaceutical composition)"은 대상에게 투여하기에 적합한 물질의 혼합물을 의미한다. 예를 들면, 약학 조성물은 안티센스 화합물과 멸균 수성 용액을 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 특정 세포 계통에서 자유 흡수 분석(free uptake assay)에서 활성을 나타낸다.
- [0203] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "인 모이어티(phosphorus moiety)"는 인 원자를 포함하는 원자의 군을 의미한다. 특정 구체예에서, 인 모이어티는 모노-, 디-, 또는 트리-포스페이트, 또는 포스포로티오에이트를 포함한다.
- [0204] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "포스포디에스테르 뉴클레오시드간 링키지(phosphodiester internucleoside linkage)"는 변형된 올리고뉴클레오티드의 두개 인접 뉴클레오시드에 공유적으로 결합된 포스페이트 그룹을 말한다.
- [0205] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "전구체 전사체(precursor transcript)"는 처리된 또는 성숙한 전사체 형태를 형성하기 위해 가공을 거치는 코딩 또는 비 코딩 RNA를 의미한다. 전구체 전사체는 pre-mRNAs, 긴 비-코딩 RNAs, pri-miRNAs, 및 인트론 RNAs를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0206] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 전구체 전사체에 대한 "가공(processing)"은 전구체 전사체가 상응하는 처리된 전사체로 전환 형성되는 것을 의미한다. 전구체 전사체의 가공은 전구체 전사체의 가공 부위에서의 뉴클레아제 절단(nuclease cleavage) 이벤트를 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0207] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "프로드럭(prodrug)"은 신체 외부에서는 치료제 형태이지만, 신체 또는 이의 세포 안에서는 상이한 형태로 변환되는 것을 치료제를 말한다. 전형적으로 신체 내의 프로드럭의 전환은 효소(예를 들어, 내인성 또는 바이러스성 효소), 또는 세포 또는 조직에 존재하는 화학 물질의 작용 및/또는 생리적 조건에 의해 촉진된다.
- [0208] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "RNAi 화합물"은 적어도 부분적으로, RISC 또는 Ago2를 통해 표적 핵산 및/또는 표적 핵산에 의해 인코딩되는 단백질을 조절하도록 작용하는 안티센스 화합물을 의미한다. RNAi 화합물은

이중-가닥 siRNA, 단일-가닥 RNA(ssRNA), 및 microRNA, 가령, microRNA 모방체(mimics)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구체예들에서, RNAi 화합물은 표적 핵산의 양, 활성, 및/또는 스플라이싱을 말한다. 용어 RNAi 화합물은 RNase H를 통해 작용하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 배제한다.

[0209] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 안티센스 화합물에 있어서 용어 "단일-가닥(single-stranded)"은 듀플렉스를 형성하기 위하여, 제 2 올리고머 화합물과 쌍을 이루지 않는 하나의 올리고머 화합물을 말한다. 안티센스 화합물 또는 올리고머 화합물과 관련하여 "자가-상보성(self-complementary)"은 그 자신과 최소한 부분적으로 혼성화되는 화합물을 의미한다. 하나의 올리고머 화합물로 구성된 화합물, 여기서 상기 올리고머 화합물의 올리고뉴클레오티드는 자가-상보적, 단일-가닥 화합물이다. 단일-가닥 안티센스 또는 올리고머 화합물은 이중복합체를 형성하기 위하여 상보적 올리고머 화합물에 결합할 수 있다.

[0210] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "스플라이싱(splicing)"이란 pre-mRNA가 가공되어, 대응하는 mRNA로 만들어지는 공정을 말한다. 스플라이싱은 pre-mRNA로부터 인트론이 제거되며, 엑손들이 함께 연결되는 것을 말하지만, 이에 국한되지 않는다.

[0211] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "당 모이어티(sugar moiety)"란 변형안된 당 모이어티 또는 변형된 당 모이어티를 말한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "변형안된 당 모이어티(unmodified sugar moiety)"는 RNA에서 볼 수 있는 2'-OH(H) 퓨라노실 모이어티("변형안된 RNA 당 모이어티"), 또는 DNA에서 볼 수 있는 2'-H(H) 모이어티("변형안된 DNA 당 모이어티")를 말한다. 변형되지 않은 당 모이어티는 한 개의 수소를 각각의 1', 3', 및 4' 위치에, 한 개의 산소를 3' 위치에, 및 두 개의 수소를 5' 위치에 가진다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "변형된 당 모이어티" 또는 "변형된 당"이란 변형된 퓨라노실 당 모이어티 또는 당 대용체를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 변형된 퓨라노실 당 모이어티는 변형안된 당 모이어티의 하나의 수소를 대신에 비수소 치환기를 포함하는 퓨라노실 당을 의미한다. 특정 구체예들에서, 변형된 퓨라노실 당 모이어티는 2'-치환된 당 모이어티이다. 이러한 변형된 퓨라노실 당 모이어티는 바이사이클릭 당과 비-바이사이클릭 당을 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "당 대용체(sugar surrogate)"는 올리고뉴클레오티드에서 핵염기를 또 다른 기, 가령, 뉴클레오시드간 링키지, 콘쥬게이트 기, 또는 말단 기에 연결할 수 있는 퓨라노실 모이어티를 가지지 않는 변형된 당 모이어티를 의미한다. 당 대용체를 포함하는 변형된 뉴클레오시드는 올리고뉴클레오티드 안에 하나 또는 그 이상의 위치에 통합될 수 있고, 이러한 올리고뉴클레오티드는 상보적 올리고머 화합물 또는 핵산에 혼성화될 수 있다.

[0212] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "표적 전구체 전사체(target precursor transcript)"는 올리고뉴클레오티드가 혼성화되도록 기획된 전구체 전사체를 의미한다. 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체는 표적 pre-mRNA이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "표적 가공된(processed) 전사체"란 상응하는 표적 전구체 전사체의 가공으로 인한 RNA를 말한다. 특정 구체예들에서, 표적 가공된 전사체는 표적 mRNA이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "표적 pre-mRNA"는 올리고뉴클레오티드에 혼성화되도록 기획된 pre-mRNA를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "표적 mRNA"는 상응하는 표적 pre-mRNA의 스플라이싱으로 결과된 mRNA를 말한다.

[0213] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "말단 기(terminal group)"는 올리고뉴클레오티드의 말단에 공유적으로 연결되는 화학 기 또는 원자의 군을 의미한다.

척수 근위축증

[0215] SMA는 척수 운동 뉴런의 퇴행을 특징으로 하는 유전 장애다. SMA는 SMN1 유전자의 두 기능적 복제의 동형 접합체 결손이 원인이다. 그러나, SMN2 유전자는 SMN1과 동일한 단백질을 코딩하고, 따라서 SMA 환자의 유전적 결함을 극복할 가능성이 있다. SMN2는 엑손 7의 +6 위치에 해독 침묵 돌연변이(C→T)를 가지고 있으며, 이것은 SMN2 전사체에 엑손 7의 비효율적 봉입을 초래한다. 그러므로, 엑손 7이 결핍된 SMN2의 주된 형태는 불안정하고 비활성이다. 따라서, 엑손 7을 함유하는 SMN2 전사체의 백분율이 증가되도록 SMN2 스플라이싱을 조절할 수 있는 치료 화합물은 SMA의 치료에 유용할 것이다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 엑손 7이 함유된 SMN2 전사체의 백분율을 증가시키는 것을 포함한, SMN2 pre-mRNA 조정을 위한 강화된 약리학적 활성을 갖는다.

[0216] SMA는 일반적으로 척수 운동 뉴런의 퇴행을 특징으로 하지만, SMN2는 근육 세포를 포함하는 신체의 세포에서 산

재적으로 나타난다. 특정 구체예들에서, 근육 세포에서 개선된 SMN 활성을 치료요법적 이익을 제공한다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 근육 조직이 포함된 신체 조직에 강화된 세포 분포를 갖는다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 근육 조직이 포함된 신체 조직에 강화된 세포 분포를 갖는다.

[0217] 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 세포의 분포 및/또는 약리학적 활성을 더 강화시킬 수 있는 콘쥬게이트를 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 콘쥬게이트는 근육 조직으로의 분포를 강화시킨다. 특정 구체예들에서, 상기 콘쥬게이트는 지질이다.

[0218] 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 세포의 분포 및/또는 약리학적 활성을 더 강화시킬 수 있는 콘쥬게이트를 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 콘쥬게이트는 근육 조직으로의 분포를 강화시킨다. 특정 구체예들에서, 상기 콘쥬게이트는 지질이다.

[0219] SMN2 pre-mRNA를 표적으로 하는 특정 핵산 염기 서열의 비-제한적인 예시가 하기 표에 제시되어 있다. 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있다. 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있다.

[0220] 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있고, 콘쥬게이트 모이어티를 포함할 수 있다. 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있고, 콘쥬게이트 모이어티를 포함할 수 있다.

SMN2 Pre-mRNA 를 표적으로 하는 핵염기 서열

서열	길이	서열 번호
AUUCACUUUCAUAAUGCUGG	20	12
CUUCAUAUAGCUGG	15	13
UUUCAUAUAGCUGGC	15	14
UUCAUAAUGCUGGCA	15	15
UCAUAAUGCUGGCAG	15	16
ACUUUCAUAAUGCUG	15	17
CACUUUCAUAAUGCU	15	18
UCACUUUCAUAAUGC	15	19
UUUCAUAAUGCUGG	14	20
CUUUCAUAAUGCUG	14	21
UUCAUAAUGCUGG	13	22
CUUUCAUAAUGCU	13	23
UUUCAUAAUGCUG	13	24
UCAUAAUGCUGG	12	25
UUCAUAAUGCUG	12	26
UUUCAUAAUGCU	12	27
TTTCATAATGCTGG	14	28
CTTTCATAATGCTG	14	29
TGGTGTCAATTAGTGCTGCT	20	30
CATATAATAGCCAGTATGATAGCC	24	31
TCACTTCATCTGTTGAAACTTGG	24	32
CCUCUGUGGACACCAAG	16	33
CUUUCAUAAUGCUGG	15	13
UUAAUUUAAGGAA	13	34
UUAAUUUAAGGAAUGUG	17	35
CACUUUCAUAAUGCUGG	17	36
UUUGAUUUUGUCUAAAACC	19	37
GAUUUUGUCUAAAACCCUG	19	38
UUJUGAUUUUGACUAAAACC	19	39
GAUUUUGUCAAAAACCCUG	19	40
GCUAUACCAGCGUCGUCAU	19	41
UAGCUUUUAUGGAUGUUA	19	42
UAAAACCCUGUAAGGAAAA	19	43
UCUAAAACCCUGUAAGGAA	19	44
CUUUCAUAAUGCUGGCAGA	19	45
UCACUUUCAUAAUGCUGGC	19	46
CUUUCUAACAUUGAACUU	19	47
CAACUUUCUAACAUUCUGAA	19	48
UAGCUUUAUUJUGGAUGUUA	19	49
GUUUCACAACACAUUUUAC	19	50

[0221]

UUUUGUCUAUUACCCUGUA	19	51
AGGAAUGUGACCACCUUCC	19	52
CUUUCAUAAGCUGGCAGA	19	53
UCACUUUCAAAUGCUGGC	19	54
CUUCUAACUUCUGAACUU	19	55
AUUCACUUUCAUAUAGCUGG	20	12
TTTTGATTTGTCT	15	56
ATTAAGGAATGTGA	15	57
ATTCACTTTCATAATGCTG	19	58
ATTCACTTTCATAATGCTGG	20	59
TCCTTTAAAGTATTGTGACC	20	2
TTATATACTTTAACATATAGAAGATAG	29	60
AGATTCTCTTGATGATGCTGAATG	24	61
GTTTCAGACAAAATCAAAAAGAAGGA	26	62
TCTATAACGCTTCACATTCAGATCT	26	63
ATGCCAGCATTCTCCTTAATTAAAGG	27	64
GTCAACCCCCACCGTGTCTT	20	65
TTGGAACCTTGTCTGCAAACA	21	66
CTTGGGCCGCGTCT	14	67
CCTCTTACCTCAGTTACAATTATA	25	68
AAGTCTGCAGGTCTGCCTACTAGTG	25	69
AAGTCTGCAGGTCAGCCTACTAGTG	25	70
AAGTCTGCTGGTCTGCCTAC	20	71
GTITCCACAAACCAGCAGACTT	23	72
TTCAACTTTCTAACATCTGAACCTT	25	73
CTAGTAGGGATGTAGATTAAACCTT	25	74
CTAACATCTGCAAACCAACAGCAGACTT	25	75
CTTCCACACAAACCAACCAAGTTAAGT	25	76
CTAGTAGGTCAAACCATGCAGACTT	25	77
GCGTGGTGGCTCAGGCTAGGCACAG	25	78
TAGCTATATAGACATAGATAGCTAT	25	79
ATAGACATAGATTTGGCTCAGGCTA	25	80
ATGTGAGCACCTCCTCTTTTGA	25	81
ATTTAAGGAATGTGA	15	57
TTTTGATTTGTCTAAAAC	20	82
AAGGAATGTGATTTTTGATTTGT	25	83
AAGGAATGTGATTGATTGATTTGTCTAA	25	84
CTTCTAACATCTGAACCTTTAAA	25	85
CCTTCAACTTCTAACATCTGAAC	25	86
ATTAACCTTCAACTTCTAACATC	25	87
CTATATATAGATAGTTATTCAACAAA	25	88
TAGATAGCTTACATTACTTATT	25	89
TATGGATGTTAAAAGCATTGTT	25	90

[0222]

CTATATATAGATAGCTTATATGGA	25	91
CATTTTACTTATTATTCACAAA	25	92
GCTTATATGGACATTTACTTATT	25	93
GATGTTAAAAAGCGTTTCACAAGAC	25	94
TATATGGATGTTATTATTCAACAAA	25	95
GCATTTGTTCACAAAGTTATTCAA	25	96
CTATATATAGATAGCGACATTTAC	25	97
AGATAGCTTATATGGATTATTCAA	26	98
CTATATATAGTTATTCAACA	20	99
TTTATATGGATGAAGACATTTAC	24	100
ATTCACTTCTATAATGCTGG	20	2
CACTTCATAATGCTGG	17	101
TTTCATAATGCTGG	14	28
CTAGTATTCCTGCAAATGAG	21	102
CCAGCATTCCCTGCAAATGAG	21	103
ATGCCAGCATTCCCTGCAAATGAGA	25	104
GCTCTATGCCAGCATTCCTGCAA	25	105
GCTGAGTGATTACTTA	16	106
ATGCTGAGTGATTACT	16	107
AGATGCTGAGTGATTA	16	108
AAAGATGCTGAGTGAT	16	109
GAAAAGATGCTGAGTG	16	110
AGGAAAAGATGCTGAG	16	111
TCAGGAAAAGATGCTG	16	112
TGTCAGGAAAAGATG	16	113
ATTGTCAGGAAAAGAT	16	114
AAATTGTCAGGAAAAG	16	115
AAAAATTGTCAGGAAA	16	116
AAAAAAATTGTCAGGA	16	117
ACAAAAAAATTGTCAG	16	118
CTACAAAAAAATTGTC	16	119
AACTACAAAAAAATTG	16	120
ATAACTACAAAAAAAT	16	121
CATAACTACAAAAAA	16	122
CACATAACTACAAAAAA	16	123
GTCACATAACTACAAA	16	124
AAGTCACATAACTACA	16	125
CACATAACTACA	12	126
CAAAGTCACATAACTA	16	127
GTCACATAACTA	12	128
AAACAAAGTCACATAAC	16	129
AAGTCACATAAC	12	130
AAAACAAAGTCACATA	16	131

[0223]

CAAAGTCACATA	12	132
ACAAAACAAAGTCACA	16	133
AACAAAGTCACA	12	134
TTACAAAACAAAGTCA	16	135
ATTACAAAACAAAGT	16	136
AAATTTACAAACACAA	16	137
ATAAATTTACAAACACA	16	138
TATAAATTTACAAACAC	16	139
GACATTTACTTATT	16	140
AAGACATTTACTTAT	16	141
ACAAGACATTTACTT	16	142
TCACAAGACATTTAC	16	143
TTTCACAAGACATTT	16	144
GTTCACAAGACATTT	16	145
TGTTTCACAAGACATT	16	146
TTGTTTCACAAGACAT	16	147
TTTGTTTCACAAGAC	16	148
CATTTGTTTCACAAG	16	149
AGCATTGGTTTCACA	16	150
AAAGCATTTGTTCA	16	151
TAAAAAGCATTGGTT	16	152
GTAAAAAGCATTGTT	16	153
ATGTTAAAAGCATT	16	154
TGGATGTTAAAAGCA	16	155
TATGGATGTTAAAAG	16	156
TTATATGGATGTTAA	16	157
GCTTATATGGATGTT	16	158
TAGCTTATATGGATG	16	159
GATAGCTTATATGGA	16	160
TAGATAGCTTATATG	16	161
TATAGATAGCTTATA	16	162
TATATAGATAGCTTA	16	163
TATATATAGATAGCTT	16	164
AAAAACATTGTTTC	16	165
TCAAAAACATTGTTT	16	166
GTTCAAAAACATTGT	16	167
ATGTTCAAAAACATT	16	168
AAATGTTCAAAAACAT	16	169
TTAAATGTTCAAAAAC	16	170
TTTAAATGTTCAAAA	16	171
GTTTTAAATGTTCAA	16	172
AAGTTTTAAATGTTC	16	173
TGAAGTTTTAAATGT	16	174

[0224]

CTGAAGTTTTAAATG	16	175
TCTGAAGTTTTAAAT	16	176
CATCTGAAGTTTTAA	16	177
AACATCTGAAGTTTT	16	178
CTAACATCTGAAGTTT	16	179
TTCTAACATCTGAAGT	16	180
CTTCTAACATCTGAA	16	181
AACTTCTAACATCTG	16	182
TCAACTTCTAACATC	16	183
TTTCAACTTTCTAACAA	16	184
CTTCACACTTCTAAC	16	185
CCTTCAACTTCTAA	16	186
TTAACCTTCAACTTT	16	187
CATTAACCTTCAACT	16	188
AUCACUUUCAUAAUGCUGG	20	12
GUAAGAUUCACUUCAUAAUGCUGG	25	189
GAUAGCUAUAAUAGAUAGCUUU	23	190
AUAGAUAGCUAUAAUAGAUAGCUUU	26	191
GAUAGCUAUAAUAGAUAGC	20	192
AUAGAUAAUAGAUAGCUAAU	20	193
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUU	23	194
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUUUGG	26	195
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAU	20	196
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUCU	23	197
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUCUUA	26	198
UCUAAUAGUUUUGGCAUCAA	20	199
UCUAAUAGUUUUGGCAUCAAAAU	23	200
GAUCUGUCUGAUCGUUUCUU	20	201
AUCUUCUAAACGCUUCACAUUCCA	25	202
UCUAAUACGCUUCACAUUCCAGAUC	25	203
CUUCUAAACGCUUCACAUUCCAGA	25	204
UUUGUUUCACAAGACAUUUU	20	205
ACCUUCCUUCUUUUUGAUUUUGUCU	25	206
CUGGCAGACUUACUCCUUAAUUUAAGGAAU	30	207
UCCUUCUUUUGAUUUUGUCU	21	208
CACCUUCCUUCUUUUUGAUU	20	209
ACAACUUUGGGAGGCAGGAGG	20	210
AAUCCCACACUUUGGGAGG	20	211
GCUCAUGCCUACAACCCAC	20	212
GCAGUGGCUCUAUGCCUACAA	20	213
CAAUUUUAGGCUGCAGUUA	20	214
TATCCCAAAGAAAACAATT	20	215
UUUUAAUGUACUUAAAAGU	20	216

[0225]

AUAGUCUUUUAAUGUACUUU	20	217
UAUGAUCAGAAAUAAGUUG	20	218
UAUCAACAAAAUAGAUCA	20	219
UUUGGCAUCAAAAUUCUUUAU	25	220
AAUAGUUUUGGCAUCAAAUUCUU	25	221
UCAAUAGUUUUGGCAUCAAAUUCUU	28	222
CCUUUAUCUAAUAGUUUUGGCAUCAAAAU	30	223
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUUUGGCAUC	30	224
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUUUG	25	225
AUUAACCUUUUAUCUAAUAG	20	226
UAGAUUAACCUUUAUCUAAUAG	23	227
AUGUAGAUUAACCUUUAUCUAAUAG	26	228
GAAUUCUAGUAGGGAUAGUAG	20	229
AAAAUGGCAUCAUAUCCUAA	20	230
GAUAAAUGGCAUCAUAUCCUAA	25	231
UAUAAAUGGCAUCAUAUCC	20	232
GAJAUAAAUGGCAUCAUAU	20	233
AAUAGUUUUGGCUUCAAAAUUCU	23	234
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUUU	23	235
UGGAGCUUGACACCCACCG	20	236
ACUUGAGACCUGGAGCUUGA	20	237
UAGGGGGAUCACUUGAGACC	20	238
GAGGCAGGGAGGUAGGGGAUC	20	239

[0226]

SMN2 Pre-mRNA 를 표적화하는 올리고머 화합물을 함유하는 특정 NMA

화학적 표기	서열 번호:
G _{ns} T _{nx} ^m C _{nx} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	241
T _{ns} ^m C _{nx} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	242
T _{ns} ^m C _{nx} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	243
^m C _{ns} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{nx} T _{ns} G _n	244
^m C _{ns} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{ns} T _n	245
^m C _{ns} T _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	246
T _{ns} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	247
T _{ns} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{nx} T _{ns} G _n	248
T _{ns} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	249
T _{ns} G _{nx} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	250
G _{ns} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{ns} A _n	251
G _{ns} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	252
G _{ns} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{nx} T _{ns} G _n	253
G _{ns} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	254
G _{ns} ^m C _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	255
^m C _{ns} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	256
^m C _{ns} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	257
^m C _{ns} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	258
^m C _{ns} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	259
^m C _{ns} ^m C _{nx} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n	260
^m C _{ns} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _{ns} ^m C _n	261
^m C _{ns} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{ns} T _n	262
^m C _{ns} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} G _{nx} T _{nx} G _{ns} A _n	263
^m C _{ns} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _{ns} G _n	264
^m C _{ns} A _{nx} G _{nx} ^m C _{nx} A _{nx} T _{nx} T _{nx} A _{nx} T _{nx} G _{nx} A _{nx} A _{nx} A _{ns} G _n T _n	265

[0227]

상기 표에서 아래첨자: "x"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지 또는 포스페이트 뉴클레오시드간 링키

지에서 선택된 뉴클레오시드간 링키지를 나타내며, "n" 은 2'-0-(N-메틸아세타미드) 변형된 뉴클레오시드를 나타낸다. 윗첨자: C앞에 붙은 "m"은 5-메틸시스테인을 나타낸다.

[0229]

특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 제공한다: 서열 번호: 1, 2, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 또는 265.

[0230]

특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열로 구성된 변형된 올리고뉴클레오티드를 제공한다: 서열 번호: 1, 2, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 또는 265.

[0231]

특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 제공한다: 서열 번호: 1, 2, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 또는 265; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티의 최소한 1, 최소한 2, 최소한 3, 최소한 4, 최소한 5, 또는 최소한 6개의 뉴클레오시드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.

[0232]

특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열로 구성된 변형된 올리고뉴클레오티드를 제공한다: 서열 번호: 1, 2, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76,

77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264 또는 265; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오티의 최소한 1, 최소한 2, 최소한 3, 최소한 4, 최소한 5, 또는 최소한 6개의 뉴클레오시드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.

[0233] 특정 조합 투여

[0234] 특정 구체예들에서, 본 명세서에 기재된 화합물을 포함하는 제 1 물질은 하나 이상의 제 2 물질과 함께 투여된다. 특정 구체예들에서, 이러한 제 2 물질은 본 명세서에 기재된 제 1 물질과 동일한 질환, 장애 또는 상태를 치료하도록 고안된다. 특정 구체예들에서, 제 2 물질은 제 1 물질과 함께 투여되어 복합 효과를 생성한다. 특정 구체예들에서, 제 2 물질은 제 1 물질과 함께 투여되어 공조 효과를 생성한다. 특정 구체예들에서, 제 1 물질과 제 2 물질의 공동 투여는 이 물질이 독립적 치료제로서 투여되는 경우 치료 효과 또는 예방 효과를 달성하는데 필요한 것보다 더 적은 투여량의 사용을 허용한다.

[0235] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 제 2 안티센스 화합물의 전신 전달과 함께 CSF 내로 제 1 안티센스 화합물을 투여하는 것을 제공한다. 전신 투여와 CSF 투여는 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 실행될 수 있다. 특정 구체예들에서, 대상은 CSF에서 제 1 투여분량의 안티센스 화합물을 투여 받고, 이어서 제 2 투여분량의 안티센스 화합물을 전신적으로 투여 받는다. 특정 구체예들에서, CSF로 투여된 안티센스 화합물은 Isis 396443이다. 특정 구체예들에서, CSF로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이다. 특정 구체예들에서, CSF로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 콘쥬게이트화된, 변형된 올리고뉴클레오티드이다.

[0236] 특정 구체예들에서, 전신으로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이다. 특정 구체예들에서, 전신으로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이다. 특정 구체예들에서, 전신으로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티와 콘쥬게이트 기를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이다. 특정 구체예들에서, 전신으로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티와 콘쥬게이트 기를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드이다.

[0237] 투여는 임의의 순서 및 빈도로 실행할 수 있다. 예를 들면, 대상은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여분량을 제공받고, 그 다음 후속적으로 투여분량의 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)을 CSF로 제공받는다. 대안으로, 대상은 투여분량의 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)을 CSF로 제공받은 후, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여분량을 제공받을 수 있다. 대안으로, 대상은 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)의 CSF 투여분량과 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여분량을 동시에 제공받을 수 있다. CSF 투여 및 전신 투여는 상이한 시점 및 상이한 빈도로 실행할 수 있다. 예를 들면, 대상은 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드를 주단위 또는 월단위로 전신 투여를 받고, 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)을 CSF로의 CSF 투여를 매 4개월에 한번 또는 매 6개월에 한번 제공받을 수 있다. 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)의 CSF 투여분량과, 하나 또는 그 이상의 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여분량 투여는 별도, 연속적으로 또는 순차적으로 투여되며, 이러한 분량의 투여는 매일, 주별 또는 월별과 같은 다양한 기간에 의해 서로 간격을 둘 수 있다.

[0238] I. 특정 올리고뉴클레오티드

[0239] 특정 구체예들에서, 본 발명은 연계된 뉴클레오시드로 구성된 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 올리고뉴클레오티드는 변형안된 올리고뉴클레오티드(변형안된 RNA 또는 DNA)이거나, 또는 변형된 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형안된 RNA 또는 DNA에 비교하여 최소한 하나의 변형을 포함한다(가령, 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드(변형된 당 모이어티 및/또는 변형된 핵염기를 포함하는) 및/또는 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다).

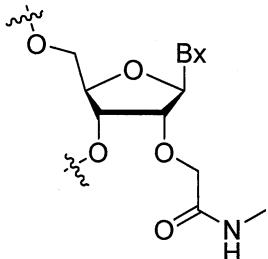
[0240] A. 특정 변형된 뉴클레오시드

[0241] 변형된 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티, 또는 변형된 핵염기, 또는 변형된 당 모이어티와 변형된 핵염기를 모두 포함한다.

[0242] 1. 특정 당 모이어티

[0243] 특정 구체예들에서, 변형된 당 모이어티는 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티이다. 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 바이사이클릭 또는 트리사이클릭 당 모이어티이다. 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 당 대용체이다. 이러한 당 대용체는 다른 유형의 변형된 당 모이어티의 그것에 상응하는 하나 이상의 치환을 포함할 수 있다.

[0244] 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 2', 4' 및/또는 5' 위치에 치환기를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 하나 이상의 비고리형 치환기를 갖는 퓨라노실 고리를 포함하는 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티이다. 특정 구체예들에서, 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티의 하나 또는 그 이상의 비환형(acyclic) 치환체는 분기된다. 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티를 위해 적절한 2'-치환기의 예시는 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: 2'-O-(N-알킬 아세타미드), 가령, 2'-O-(N-메틸 아세타미드). 예를 들면, U.S. 6,147,200 및 Prakash et al., *Org. Lett.*, 5, 403-6(2003) 참고. "2'-O-(N-메틸 아세타미드)" 또는 "2'-NMA" 변형된 뉴클레오시드는 하기에 나타낸다:



[0245] [0246] 특정 구체예들에서, 2'-치환체 그룹은 다음에서 선택된다: 2'-F, 2'-OCH₃("OMe" 또는 "O-메틸"), 2'-O(CH₂)₂OCH₃("MOE"), 할로, 알릴, 아미노, 아지도, SH, CN, OCN, CF₃, OCF₃, O-C₁-C₁₀ 알콕시, O-C₁-C₁₀ 치환된 알콕시, O-C₁-C₁₀ 알킬, O-C₁-C₁₀ 치환된 알킬, S-알킬, N(R_m)-알킬, O-알케닐, S-알케닐, N(R_m)-알케닐, O-알카닐, S-알카닐, N(R_m)-알카닐, O-알카릴, O-알카릴, 0-(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n) 또는 OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n), 여기서 각 R_m 및 R_n은 독립적으로, H, 아미노 보호기, 또는 치환된 또는 치환안된 C₁-C₁₀ 알킬, 그리고 Cook et al., U.S. 6,531,584; Cook et al., U.S. 5,859,221; 그리고 Cook et al., U.S. 6,005,087에서 기술된 2'-치환체 그룹. 이들 2'-치환 기의 특정 구체예는 다음: 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카르복시, 벤질, 폐닐, 니트로(NO₂), 티올, 티오알콕시, 티오알킬, 할로겐, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알카릴 중에서 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환 기로 더욱 치환될 수 있다. 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티에 적합한 4'-치환체 기의 예로는 알콕시(가령, 메톡시), 알킬, 그리고 Manoharan et al., WO 2015/106128에서 기술된 것들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티를 위해 적절한 5'-치환기의 예시는 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: 5'-메틸(R 또는 S), 5'-비닐, 및 5'-메톡시. 특정 구체예에서, 선형으로 변형된 당은 하나 이상의 비-가교성 당 치환기, 예를 들면, 2'-F-5'-메틸 당 모이어티, Migawa et al., WO 2008/101157 및 Rajeev et al., US2013/0203836에서 기술된 변형된 당 모이어티와 변형된 뉴클레오시드를 포함한다).

[0247] 특정 구체예들에서, 2'-치환된 뉴클레오시드 또는 2'-비-바이사이클릭 변형된 뉴클레오시드는 다음에서 선택된

비-가교 2'-치환체 그룹을 포함하는 당 모이어티를 포함한다: F, NH₂, N₃, OCF₃, OCH₃, O(CH₂)₃NH₂, CH₂CH=CH₂, OCH₂CH=CH₂, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n), O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, and N-치환된 아세타미드 (OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n)), 이때 각 R_m 및 R_n은 독립적으로, H, 아미노 보호기, 또는 치환된 또는 치환안된 C₁-C₁₀ 알킬이다. 특정 구체예들에서, 각 R_m 및 R_n은 독립적으로, H 또는 C₁-C₃ 알킬이다. 특정 구체예들에서, 각 R_m 및 R_n은 독립적으로, H 또는 메틸이다.

[0248] 특정 구체예들에서, 2'-치환된 뉴클레오시드 또는 2'-비-바이사이클릭 변형된 뉴클레오시드는 다음에서 선택된 비-가교 2'-치환체 그룹을 포함하는 당 모이어티를 포함한다: F, OCF₃, OCH₃, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(CH₃)₂, O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, 및 OCH₂C(=O)-N(H)CH₃.

[0249] 특정 구체예들에서, 2'-치환된 뉴클레오시드 또는 2'-비-바이사이클릭 변형된 뉴클레오시드는 다음에서 선택된 비-가교 2'-치환체 그룹을 포함하는 당 모이어티를 포함한다: F, OCH₃, OCH₂CH₂OCH₃, 및 OCH₂C(=O)-N(H)CH₃.

[0250] 변형된 당 모이어티, 이를 테면, 비-바이사이클릭 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드는 뉴클레오시드의 당 모이어티 상의 치환(들)의 위치(들)에 의해 지칭된다. 예를 들면, 2'-치환된 또는 2-변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드는 2'-치환된 뉴클레오시드 또는 2-변형된 뉴클레오시드로 지칭된다.

[0251] 특정한 변형된 당 모이어티는 두 번째 고리를 형성하여 바이사이클릭 당 모이어티를 생성하는 가교성 당 치환기를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 바이사이클릭 당 모이어티는 4' 및 2' 퓨라노스 고리 원자 사이에 가교를 포함한다. 이러한 4'에서 2'로의 가교성 당 치환기의 예시는 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다: 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-O-2' ("LNA"), 4'-CH₂-S-2', 4'-(CH₂)₂-O-2' ("ENA"), 4'-CH(CH₃)-O-2'(S 배위인 경우 "제한된(constrained)에틸" 또는 "cEt"로 지칭됨), 4'-CH₂-O-CH₂-2', 4'-CH₂-N(R)-2', 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' ("제한된 MOE" 또는 "cMOE") 및 이의 유사체(가령, Seth et al., U.S. 7,399,845, Bhat et al., U.S. 7,569,686, Swayze et al., U.S. 7,741,457, 및 Swayze et al., U.S. 8,022,193 참고), 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' 및 이의 유사체(가령, Seth et al., U.S. 8,278,283 참고), 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' 및 이의 유사체(가령, Prakash et al., U.S. 8,278,425 참고), 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (가령, Allerson et al., U.S. 7,696,345 및 Allerson et al., U.S. 8,124,745 참고), 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (가령, Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134 참고), 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' 및 이의 유사체(가령, Seth et al., U.S. 8,278,426 참고), 4'-C(R_aR_b)-N(R)-O-2', 4'-C(R_aR_b)-O-N(R)-2', 4'-CH₂-O-N(R)-2', 및 4'-CH₂-N(R)-O-2', 여기서 각 R, R_a, 및 R_b는 독립적으로, H, 보호기, 또는 C₁-C₁₂ 알킬이다(가령, Imanishi et al., U.S. 7,427,672 참고).

[0252] 특정 구체예에서, 이러한 4'에서 2'로의 가교는 독립적으로 -[C(R_a)(R_b)]_n- , -[C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=NR_a)-, -C(=O)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R_a)₂- , -S(=O)_x- , 및 -N(R_a)-중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 연결된 기를 포함하고;

[0253] 여기서:

[0254] x는 0, 1, 또는 2임;

[0255] n은 1, 2, 3, 또는 4임;

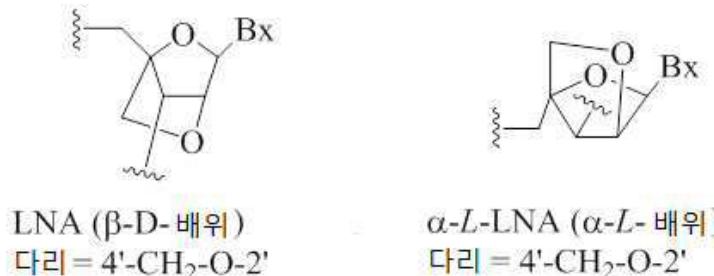
[0256] 각각의 R_a 및 R_b는 독립적으로, H, 보호기, 하이드록실, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알카닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알카닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 혼테로사이클 라디칼, 치환된 혼테로사이클 라디칼, 혼테로아릴, 치환된 혼테로아릴, C₅-C₇ 지방족고리 라디칼, 치환된 C₅-C₇ 지방족고리 라디칼, 할로겐, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, CN, 설포닐(S(=O)₂-J₁), 또는 설포실(S(=O)-J₁)이고; 및

[0257] 각각의 J₁ 및 J₂는 독립적으로, H, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알카닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알카닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, 혼테로사이클 라

디칼, 치환된 헤톤로사이클 라디칼, C₁-C₁₂ 아미노알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 아미노알킬, 또는 보호기이다.

[0258] 추가적인 바이사이클릭 당 모이어티는 당해 분야에서 예를 들면, 다음을 참고: Freier et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443; Albaek et al., *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740; Singh et al., *Chem. Commun.*, 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630; Kumar et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, 129, 8362-8379; Wengel et al., U.S. 7,053,207; Imanishi et al., U.S. 6,268,490; Imanishi et al., U.S. 6,770,748; Imanishi et al., U.S. RE44,779; Wengel et al., U.S. 6,794,499; Wengel et al., U.S. 6,670,461; Wengel et al., U.S. 7,034,133; Wengel et al., U.S. 8,080,644; Wengel et al., U.S. 8,034,909; Wengel et al., U.S. 8,153,365; Wengel et al., U.S. 7,572,582; 그리고 Ramasamy et al., U.S. 6,525,191;; Torsten et al., WO 2004/106356; Wengel et al., WO 1999/014226; Seth et al., WO 2007/134181; Seth et al., U.S. 7,547,684; Seth et al., U.S. 7,666,854; Seth et al., U.S. 8,088,746; Seth et al., U.S. 7,750,131; Seth et al., U.S. 8,030,467; Seth et al., U.S. 8,268,980; Seth et al., U.S. 8,546,556; Seth et al., U.S. 8,530,640; Migawa et al., U.S. 9,012,421; Seth et al., U.S. 8,501,805; 그리고 U.S. 특허 공개. Allerson et al., US2008/0039618 및 Migawa et al., US2015/0191727.

[0259] 특정 구체예에서, 이러한 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 바이사이클릭 당 모이어티 및 뉴클레오시드는 이성질체 배위에 의해 더욱 한정된다. 예를 들면, LNA 뉴클레오시드(본 명세서에서 기술됨)는 α-L 배위 (configuration) 또는 β-D 배위로 존재할 수 있다.



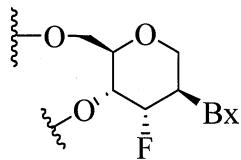
[0260]

[0261] α-L-메틸렌옥시(4'-CH₂-O-2') 또는 α-L-LNA 바이사이클릭 뉴클레오시드는 안티센스 활성을 보였던 안티센스 올리고뉴클레오티드 내에 포함되었다(Frieden et al., *Nucleic Acids Research*, 2003, 21, 6365-6372). 본 명세서에서, 바이사이클릭 뉴클레오시드의 일반적인 설명은 두 가지 이성질체 배위를 다 포함한다. 특정한 바이사이클릭 뉴클레오시드(예컨대, LNA 또는 cEt)의 위치가 본 명세서에 예시된 구체예에서 규명된 경우, 이들은 달리 명시하지 않은 한, β-D 배위가다.

[0262] 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 하나 이상의 비-가교성 당 치환기 및 하나 이상의 가교성 당 치환기(예컨대, 5'-치환된 및 4'-2' 가교된 당)를 포함한다.

[0263] 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 당 대용체이다. 이러한 특정 구체예에서, 당 모이어티의 산소 원자는 예컨대, 황, 탄소 또는 질소 원자로 대체된다. 이러한 특정 구체예에서, 이러한 변형된 당 모이어티는 또한 본 명세서에서 기술된 바와 같은 가교성 및/또는 비-가교성 치환기를 포함한다. 예를 들면, 특정 당 대용체는 4'-황 원자 및 2'-위치(예컨대, 령, Bhat et al., U.S. 7,875,733 및 Bhat et al., U.S. 7,939,677를 참조) 및/또는 5' 위치에 치환을 포함한다.

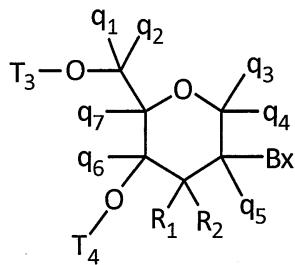
[0264] 특정 구체예에서, 당 대용체는 5개 원자를 가지지 않는 고리를 포함한다. 예를 들면, 특정 구체예에서, 당 대용체는 6-원 테트라하이드로피란("THP")을 포함한다. 이러한 테트라하이드로피란은 더욱 변형되거나 치환될 수 있다. 이러한 변형된 테트라하이드로피란을 포함하는 뉴클레오시드는 핵시톨 핵산("HNA"), 아니톨 핵산("ANA"), 만니톨 핵산("MNA")(가령, Leumann, CJ. *Bioorg. & Med. Chem.* 2002, 10, 841-854 참조), 플루오로 HNA:



F-HNA

[0265]

("F-HNA", 가령, Swayze et al., U.S. 8,088,904; Swayze et al., U.S. 8,440,803; Swayze et al., U.S. 8,796,437; 그리고 Swayze et al., U.S. 9,005,906 참고; F-HNA는 또한 F-THP 또는 3'-플루오로 테트라하이드로피란으로 지칭될 수 있다), 및 다음 식을 가지는 추가적인 변형된 THP 화합물을 포함하는 뉴클레오시드를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며:



[0267]

여기서, 독립적으로, 각각의 상기 변형된 THP 뉴클레오시드에 있어서:

[0268]

Bx는 핵염기 모이어티이고;

[0269]

T₃ 및 T₄는 각각, 독립적으로, 변형된 THP 뉴클레오시드를 나머지 올리고뉴클레오티드에 연결하는 뉴클레오시드 간 연결 기이거나, 또는 T₃ 및 T₄ 중 하나가 변형된 THP 뉴클레오시드를 나머지 올리고뉴클레오티드에 연결하는 뉴클레오시드간 연결 기이고, T₃ 및 T₄ 중 다른 하나는 H, 하이드록실 보호기, 연결된 콘쥬게이트 기, 또는 5' 또는 3'-말단 기이고; q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇는 각각, 독립적으로, H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 또는 치환된 C₂-C₆ 알키닐이고;

[0270]

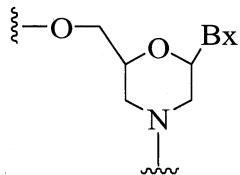
각각의 R₁ 및 R₂는 수소, 할로겐, 치환되거나 치환안된 알콕시, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂, 및 CN 중에서 독립적으로 선택되고, 여기서 X는 O, S 또는 NJ₁이고, 각각의 J₁, J₂, 및 J₃는 독립적으로, H 또는 C₁-C₆ 알킬이다.

[0271]

특정 구체예들에서, 변형된 THP 뉴클레오시드가 제공되며, 여기서 q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇는 각각 H이다. 특정 구체예들에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇ 중 최소한 하나는 H이외의 것이다. 특정 구체예들에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇의 최소한 하나는 메틸이다. 특정 구체예들에서, 변형된 THP 뉴클레오시드가 제공되는 데, 여기서 R₁ 및 R₂중 하나는 F이다. 특정 구체예에서, R₁은 F이고 R₂는 H이고, 특정 구체예에서, R₁은 메톡시이고 R₂는 H이고, 특정 구체예에서, R₁은 메톡시에톡시이고 R₂는 H이다.

[0272]

특정 구체예에서, 당 대용체는 5개 초과의 원자 및 하나 초과의 해테로원자를 가지는 고리를 포함한다. 예를 들면, 몰포리노 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오티드에서 이들의 사용이 보고되어 있다 (가령, Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510 및 Summerton et al., U.S. 5,698,685; Summerton et al., U.S. 5,166,315; Summerton et al., U.S. 5,185,444; 그리고 Summerton et al., U.S. 5,034,506 참고). 본 명세서에서 사용된 용어 "몰포리노(morpholino)"는 다음 구조를 가지는 당 대용체를 의미한다:



[0274]

[0275] 특정 구체예에서, 몰포리노는 예를 들면, 다양한 치환기를 부가 또는 변경하여 상기 몰포리노 구조로부터 변형될 수 있다. 이러한 당 대용체는 본 명세서에서 "변형된 몰포리노(modified morpholinos)"로 지칭된다.

[0276] 특정 구체예에서, 당 대용체는 비고리형 모이어티를 포함한다. 이러한 비고리형 당 대용체를 포함하는 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오티드의 예시는 펩티드 핵산("PNA"), 비고리형 부틸 핵산(예컨대, Kumar et al., *Org. Biomol. Chem.*, 2013, 11, 5853-5865을 참조), 및 Manoharan et al., WO2011/133876호에 기술된 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오티드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0277] 변형된 뉴클레오시드에서 사용될 수 있는 많은 다른 바이사이클릭 및 트리사이클릭 당 및 당 대용체 고리 시스템이 당해 분야에 공지되어 있다.

[0278]

2. 특정 변형된 핵염기

[0279] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형되지 않은 핵염기를 포함하는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형된 핵염기를 포함하는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다.

[0280]

특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 다음 중에서 선택된다: 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘, 알킬 또는 알키닐 치환된 피리미딘, 알킬 치환된 퓨린, 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린. 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 다음 중에서 선택된다: 2-아미노프로필아데닌, 5-하이드록시메틸 시토신, 잔틴, 히포잔틴, 2-아미노아데닌, 6-N-메틸구아닌, 6-N-메틸아데닌, 2-프로필아데닌, 2-티오우라실, 2-티오타민 및 2-티오시토신, 5-프로피닐(-C≡C-CH₃) 우라실, 5-프로피닐시토신, 6-아조우라실, 6-아조시토신, 6-아조티민, 5-리보실우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실, 8-아자 및 다른 8-치환된 퓨린, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸, 5-할로우라실, 및 5-할로시토신, 7-메틸구아닌, 7-메틸아데닌, 2-F-아데닌, 2-아미노아데닌, 7-데아자구아닌, 7-데아자아데닌, 3-데아자구아닌, 3-데아자아데닌, 6-N-벤조일아데닌, 2-N-이소부티릴구아닌, 4-N-벤조일시토신, 4-N-벤조일우라실, 5-메틸 4-N-벤조일시토신, 5-메틸 4-N-벤조일우라실, 보편 염기, 소수성 염기, 무차별성 염기, 크기-확장된 염기, 및 플루오르화 염기. 더욱 변형된 핵염기는 트리사이클릭 피리미딘, 가령, 1,3-디아자페녹사진-2-온, 1,3-디아자페노티아진-2-온 및 9-(2-아미노에톡시)-1,3-디아자페녹사진-2-온(G-클램프)을 포함한다. 변형된 핵염기는 또한 퓨린 또는 피리미딘 염기가 다른 헤테로사이클, 예를 들면 7-데아자-아데닌, 7-데아자구아노신, 2-아미노피리딘 및 2-피리돈으로 대체된 것들을 포함할 수 있다. 추가적인 핵염기는 Merigan et al., U.S. 3,687,808, *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, Kroschwitz, J.I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859에 개시된 것들; Englisch et al., *Angewandte Chemie*, International Edition, 1991, 30, 613; Sanghvi, Y.S., Chapter 15, *Antisense Research and Applications*, Crooke, S.T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288; 그리고 Chapters 6 and 15, *Antisense Drug Technology*, Crooke S.T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166 and 442-443에 개시된 것들을 포함한다.

[0281]

상기 명시된 특정 변형된 핵염기, 뿐만 아니라 다른 변형된 핵염기를 준비하는 것을 교시하는 공개는 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: Manoharan et al., US2003/0158403; Manoharan et al., US2003/0175906; Dinh et al., U.S. 4,845,205; Spielvogel et al., U.S. 5,130,302; Rogers et al., U.S. 5,134,066; Bischofberger et al., U.S. 5,175,273; Urdea et al., U.S. 5,367,066; Benner et al., U.S. 5,432,272; Matteucci et al., U.S. 5,434,257; Gmeiner et al., U.S. 5,457,187; Cook et al., U.S. 5,459,255; Froehler et al., U.S. 5,484,908; Matteucci et al., U.S. 5,502,177; Hawkins et al., U.S. 5,525,711; Haralambidis et al., U.S. 5,552,540; Cook et al., U.S. 5,587,469; Froehler et al., U.S. 5,594,121; Switzer et al., U.S. 5,596,091; Cook et al., U.S. 5,614,617; Froehler et al., U.S. 5,645,985; Cook et al., U.S. 5,681,941; Cook et al., U.S. 5,811,534; Cook et al., U.S. 5,750,692; Cook et al., U.S. 5,948,903; Cook et al., U.S. 5,587,470; Cook et al., U.S. 5,457,191; Matteucci et al., U.S. 5,763,588; Froehler et al., U.S. 5,830,653; Cook et al., U.S. 5,808,027; Cook et al., 6,166,199; 그리고 Matteucci

et al., U.S. 6,005,096.

[0282] B. 특정 변형된 뉴클레오시드간 링키지

[0283] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드는 임의의 뉴클레오시드간 링키지를 이용하여 서로 연계될 수 있다. 뉴클레오시드간 연계 기 중 주된 두 가지 종류는 인 원자의 존재 또는 부재에 의해 규정된다. 대표적인 인-함유 뉴클레오시드간 링키지는 포스포디에스테르 결합("P=O") (또한 변형되지 않은 또는 자연발생적 링키지로도 지칭됨), 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포라미데이트, 및 포스포로티오에이트 ("P=S"), 및 포스포로디티오에이트("HS-P=S")를 함유하는 포스페이트를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 대표적인 비-인 함유 뉴클레오시드간 연계 기는 메틸렌메틸이미노(-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-), 티오디에스테르, 티오노카르바메이트(-O-C(=O)(NH)-S-) ; 실록산(-O-SiH₂-O-) ; 및 N,N'-디메틸히드라진(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 자연발생적 포스페이트 링키지에 비해, 변형된 뉴클레오시드간 링키지는 올리고뉴클레오티드의 뉴클레아제 저항성을 개선, 전형적으로는 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 키랄 원자를 가지는 뉴클레오시드간 링키지는 라세미 혼합물, 또는 분리형 거울상이성질체로 제조될 수 있다. 대표적인 키랄 뉴클레오시드간 링키지는 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 인-함유 및 비-인-함유 뉴클레오시드간 링키지의 제작 방법은 당해 분야의 숙련가에게 널리 공지되어 있다.

[0284] 중성 뉴클레오시드간 링키지는 제한없이, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, MMI(3'-CH₂-N(CH₃)-O-5'), 아미드-3(3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5'), 아미드-4(3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5'), 포름아세탈(3'-O-CH₂-O-5'), 메톡시, 및 티오포름아세탈(3'-S-CH₂-O-5')을 포함한다. 또한 중성 뉴클레오시드간 링키지는 실록산(디알킬실록산), 카르복실레이트 에스테르, 카르복사미드, 설플라이드, 설포네이트 에스테르 및 아미드를 포함하는 비이온성 링키지를 포함한다(예를 들면, *Carbohydrate Modifications in Antisense Research*; Y.S. Sanghvi and P.D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, 40-65 참조). 또한 중성 뉴클레오시드간 링키지는 혼합된 N, O, S 및 CH₂ 성분 부분을 포함하는 비이온성 링키지를 포함한다.

[0285] C. 특정 모티프

[0286] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형된 당을 포함하는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형된 핵염기를 포함하는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다. 이러한 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 변형된, 변형되지 않은, 그리고 상이하게 변형된 당 모이어티, 핵염기, 및/또는 뉴클레오시드간 링키지가 패턴 또는 모티프를 정의한다. 특정 구체예에서, 당 모이어티, 핵염기, 및 뉴클레오시드간 링키지의 패턴은 각각 서로 독립적이다. 따라서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 이의 당 모티프, 핵염기 모티프 및/또는 뉴클레오시드간 연결 모티프에 의해 기술될 수 있다(본 명세서에서 사용된 핵염기 모티프는 핵염기 서열과 독립적인 핵염기에 대한 변형을 기술한다).

[0287] 1. 특정 당 모티프

[0288] 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 소정의 패턴 또는 당 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역을 따라 배위된 하나 이상의 유형의 변형된 당 및/또는 변형되지 않은 당 모이어티를 포함한다. 특정한 경우에, 이러한 당 모티프는 본 명세서에서 논의된 당 변형 중 어느 하나를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0289] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 두 개의 외부 영역 또는 "날개" 및 중앙 또는 내부 영역 또는 "캡"을 포함하는 캡머 모티프를 가지는 영역을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 캡머 모티프의 세 영역(5'-날개, 캡, 3'-날개)은 뉴클레오시드의 연접한 서열을 형성하며 여기서 각각의 날개의 뉴클레오시드의 당 모이어티의 적어도 일부는 캡의 뉴클레오시드의 당 모이어티의 적어도 일부와 상이하다. 특정하게는 적어도 캡에서 가장 가까운 각각의 날개의 뉴클레오시드의 당 모이어티(5'-날개의 3'-극단 뉴클레오시드 및 3'-날개의 5'-극단 뉴클레오시드)는 이웃하는 캡 뉴클레오시드의 당 모이어티, 즉 변형되지 않은 당 모이어티와 상이하게 변형된 당 모이어티이며, 따라서 날개 및 캡 사이의 경계를 한정한다(즉, 날개/캡 연결부). 특정 구체예에서, 캡 내부의 당 모이어티는 서로 동일하다. 특정 구체예에서, 캡은 캡의 하나 이상의 다른 뉴클레오시드의 당 모이어티와 상이한 당 모이어티를 가지는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 두 날개의 당 모티프는 서로 동일하다(대칭 캡머). 특정 구체예에서, 5'-날개의 당 모티프는 3'-날개의 당 모티프와 상이하다(비대칭 캡머).

- [0290] 특정 구체예에서, 캡머의 날개는 1-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 날개는 2-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 날개는 3-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 뉴클레오시드는 전부 변형된 뉴클레오시드이다.
- [0291] 특정 구체예에서, 캡은 7-12개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 캡은 7-10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 캡은 8-10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 캡은 10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 캡의 각각의 뉴클레오시드는 변형되지 않은 2'-데옥시 뉴클레오시드이다.
- [0292] 특정 구체예에서, 캡머는 데옥시 캡머이다. 이러한 구체예에서, 각각의 날개/캡 연결부의 캡쪽 뉴클레오시드는 변형되지 않은 2'-데옥시 뉴클레오시드이고 각각의 날개/캡 연결부의 날개쪽 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드이다. 이러한 특정 구체예에서, 캡의 각각의 뉴클레오시드는 변형되지 않은 2'-데옥시 뉴클레오시드이다. 이러한 특정 구체예에서, 각각의 날개의 각각의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드이다.
- [0293] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 전부 변형된 당 모티프를 가지는 영역을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 이러한 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 전부 변형된 영역의 각각의 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 전체 변형된 올리고뉴클레오티드에 대한 각각의 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 전부 변형된 당 모티프를 가지는 영역을 포함하거나 이것으로 이루어지고, 여기서 전부 변형된 영역 내부의 각각의 뉴클레오시드는 본명세서에서 균일하게 변형된 당 모티프로 지칭되는 동일한 변형된 당 모이어티를 포함한다. 특정 구체예에서, 전부 변형된 올리고뉴클레오티드는 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드이다. 특정 구체예에서, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각 뉴클레오시드는 동일한 2'-변형을 포함한다. 특정 구체예들에서, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각 뉴클레오시드는 2'-0-(N-알킬 아세타미드) 그룹을 포함한다. 특정 구체예들에서, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각 뉴클레오시드는 2'-0-(N-메틸 아세타미드) 그룹을 포함한다.
- [0294] **2. 특정 핵염기 모티프**
- [0295] 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 소정의 패턴 또는 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역을 따라 배위된 변형된 및/또는 변형되지 않은 핵염기를 포함한다. 특정 구체예들에서, 각 핵염기는 변형된다. 특정 구체예에서, 어떠한 핵염기도 변형되지 않는다. 특정 구체예에서, 각각의 퓨린 또는 각각의 피리미딘은 변형된다. 특정 구체예에서, 각각의 아데닌은 변형된다. 특정 구체예에서, 각각의 구아닌은 변형된다. 특정 구체예에서, 각각의 티민은 변형된다. 특정 구체예에서, 각각의 우라실은 변형된다. 특정 구체예에서, 각각의 시토신은 변형된다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드 내 일부 또는 모든 시토신 핵염기는 5-메틸시토신이다.
- [0296] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 변형된 핵염기의 블록을 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 블록(block)은 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에 있다. 특정 구체예에서 블록은 올리고뉴클레오티드의 3'-말단의 3개의 뉴클레오시드 내부에 있다. 특정 구체예에서, 블록은 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 있다. 특정 구체예에서 블록은 올리고뉴클레오티드의 5'-말단의 3개의 뉴클레오시드 내부에 있다.
- [0297] 특정 구체예에서, 캡머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드는 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 변형된 핵염기를 포함하는 하나의 뉴클레오시드는 캡머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드의 중앙 캡에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 뉴클레오시드의 당 모이어티는 2'-데옥시리보실 모이어티이다. 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 2-티오피리미딘 및 5-프로포피리미딘 중에서 선택된다.
- [0298] **3. 특정 뉴클레오시드간 링키지 모티프**
- [0299] 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 소정의 패턴 또는 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역을 따라 배위된 변형된 및/또는 변형되지 않은 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다. 특정 구체예에서, 본질적으로 각각의 뉴클레오시드간 링키지 그룹은 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지(P=O)이다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드간 연결 기는 포스포로티오에이트(P=S)이다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드간 연결 기는 포스포로티오에이트 및 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지 중에서 독립적으로 선택된다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오티드의 당 모티프는 캡머이고 캡내부의 뉴클레오시드간 링키지는 모두 변형된다. 이러한 특정 구체예에서, 날개의 일부 또는 모든 뉴클레오시드간 연결은 변형되지 않은 포스페이트 연결이다. 특정 구체예에서, 말단 뉴클레오시드간 링키지는 변형된다.

[0300]

D. 특정 길이

[0301]

특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드(변형된 올리고뉴클레오티드 포함)는 임의의 다양한 범위의 길이를 가질 수 있다. 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드는 X 내지 Y개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되며, 여기에서 X는 범위 내의 가장 작은 뉴클레오시드 수를 나타내고, Y는 이 범위 내의 가장 큰 뉴클레오시드 수를 나타낸다. 이러한 특정 구체예에서, $X \leq Y$ 인 경우, X와 Y는 각각 독립적으로 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 및 50에서 선택된다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드는 12 내지 13, 12 내지 14, 12 내지 15, 12 내지 16, 12 내지 17, 12 내지 18, 12 내지 19, 12 내지 20, 12 내지 21, 12 내지 22, 12 내지 23, 12 내지 24, 12 내지 25, 12 내지 26, 12 내지 27, 12 내지 28, 12 내지 29, 12 내지 30, 13 내지 14, 13 내지 15, 13 내지 16, 13 내지 17, 13 내지 18, 13 내지 19, 13 내지 20, 13 내지 21, 13 내지 22, 13 내지 23, 13 내지 24, 13 내지 25, 13 내지 26, 13 내지 27, 13 내지 28, 13 내지 29, 13 내지 30, 14 내지 15, 14 내지 16, 14 내지 17, 14 내지 18, 14 내지 19, 14 내지 20, 14 내지 21, 14 내지 22, 14 내지 23, 14 내지 24, 14 내지 25, 14 내지 26, 14 내지 27, 14 내지 28, 14 내지 29, 14 내지 30, 15 내지 16, 15 내지 17, 15 내지 18, 15 내지 19, 15 내지 20, 15 내지 21, 15 내지 22, 15 내지 23, 15 내지 24, 15 내지 25, 15 내지 26, 15 내지 27, 15 내지 28, 15 내지 29, 15 내지 30, 16 내지 17, 16 내지 18, 16 내지 19, 16 내지 20, 16 내지 21, 16 내지 22, 16 내지 23, 16 내지 24, 16 내지 25, 16 내지 26, 16 내지 27, 16 내지 28, 16 내지 29, 16 내지 30, 17 내지 18, 17 내지 19, 17 내지 20, 17 내지 21, 17 내지 22, 17 내지 23, 17 내지 24, 17 내지 25, 17 내지 26, 17 내지 27, 17 내지 28, 17 내지 29, 17 내지 30, 18 내지 19, 18 내지 20, 18 내지 21, 18 내지 22, 18 내지 23, 18 내지 24, 18 내지 25, 18 내지 26, 18 내지 27, 18 내지 28, 18 내지 29, 18 내지 30, 19 내지 20, 19 내지 21, 19 내지 22, 19 내지 23, 19 내지 24, 19 내지 25, 19 내지 26, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 29, 19 내지 30, 20 내지 21, 20 내지 22, 20 내지 23, 20 내지 24, 20 내지 25, 20 내지 26, 20 내지 27, 20 내지 28, 20 내지 29, 20 내지 30, 21 내지 22, 21 내지 23, 21 내지 24, 21 내지 25, 21 내지 26, 21 내지 27, 21 내지 28, 21 내지 29, 21 내지 30, 22 내지 23, 22 내지 24, 22 내지 25, 22 내지 26, 22 내지 27, 22 내지 28, 22 내지 29, 22 내지 30, 23 내지 24, 23 내지 25, 23 내지 26, 23 내지 27, 23 내지 28, 23 내지 29, 23 내지 30, 24 내지 25, 24 내지 26, 24 내지 27, 24 내지 28, 24 내지 29, 24 내지 30, 25 내지 26, 25 내지 27, 25 내지 28, 25 내지 29, 25 내지 30, 26 내지 27, 26 내지 28, 26 내지 29, 26 내지 30, 27 내지 28, 27 내지 29, 27 내지 30, 28 내지 29, 28 내지 30, 또는 29 내지 30개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다.

[0302]

E. 특정 변형된 올리고뉴클레오티드

[0303]

특정 구체예들에서, 상기 변형(당, 핵염기, 뉴클레오시드간 링키지)은 변형된 올리고뉴클레오티드 안에 통합된다. 특정 구체예들에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 이들의 변형 모티프와 전체 크기에 의해 특징화된다. 특정 구체예에서, 이러한 척도는 각각 서로 독립적이다. 따라서, 달리 지정되지 않는 한, 캡머 당 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 변형되거나 변형되지 않을 수 있고 당 변형의 캡머 변형 패턴을 따를 수 있거나 따르지 않을 수 있다. 예를 들면, 당 캡머의 날개 영역 내부의 뉴클레오시드간 링키지는 서로 동일하거나 상이할 수 있고, 당 모티프의 캡 영역의 뉴클레오시드간 링키지와 동일하거나 상이할 수 있다. 유사하게, 이러한 당 캡머 올리고뉴클레오티드는 당 변형의 캡머 패턴과 독립적인 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함할 수 있다. 더욱이, 특정 경우에서, 올리고뉴클레오티드는 전체 길이 또는 범위 그리고 2 개 이상의 영역(예를 들어, 명시된 당 변형을 갖는 뉴클레오 시드의 영역)의 길이 또는 길이 범위에 의해 기술되며, 이러한 상황에서는 전체 길이가 특정 범위를 벗어나는 올리고뉴클레오티드를 갖도록 각 범위의 수를 선택하는 것이 가능할 수 있다. 이러한 상황에서는 두 요소가 모두 충족되어야 한다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 변형된 올리고뉴클레오티드는 15-20개의 계된 뉴클레오시드로 구성되며, 3개 영역들, A, B, 및 C로 구성된 당 모티프를 갖고, 여기서 영역 A는 명시된 당 모티프를 갖는 2-6개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되며, 영역 B는 명시된 당 모티프를 갖는 6-10개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되며, 그리고 영역 C는 명시된 당 모티프를 갖는 2-6개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다. 이러한 구체예에서 A와 C는 각각 6개의 연계된 뉴클레오시드로 구성되고, B는 10개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오티드는 포함하지 않는데(비록 이들 수의 뉴클레오시드가 A, B, 및 C에 대한 요건 범위 안에 허용되기는 하지만), 그 이유는 이러한 올리고뉴클레오티드의 전체 길이는 22이며, 이것은 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 전체 길이의 상한(20)을 초과하기 때문이다. 본 명세서에서, 하나 이상의 척도에 대한 올리고뉴클레오티드의 설명이 없다면, 이러한 척도는 제한되지 않는다. 따라서, 추가의 설명 없이, 캡머 당 모티프를 가지는 것만 기술된 변형된 올리고뉴클레오티드는

임의의 길이, 뉴클레오시드간 연결 모티프, 및 핵염기 모티프를 가질 수 있다. 달리 지정되지 않는 한, 모든 변형은 핵염기 서열과 독립적이다.

F. 핵염기 서열

특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드(변형안된 또는 변형된 올리고뉴클레오티드)는 이들의 핵염기 서열에 의해 더 설명된다. 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 두 번째 올리고뉴클레오티드 또는 확인된 참고 핵산, 이를 테면, 표적 전구체 전사체에 상보적인 핵염기 서열을 가진다. 이러한 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드의 영역은 두 번째 올리고뉴클레오티드 또는 확인된 참고 핵산, 이를 테면, 표적 전구체 전사체에 상보적인 핵염기 서열을 가진다. 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드의 영역 또는 전체 길이의 핵염기 서열은 두 번째 올리고뉴클레오티드 또는 핵산, 이를 테면, 표적 전구체 전사체에 대해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적이다.

II. 특정 올리고머 화합물

특정 구체예들에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드(변형된 또는 변형안된) 그리고 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 기 및/또는 말단 기로 구성된 올리고머 화합물을 제공한다. 콘쥬게이트 기는 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 모이어티와, 상기 콘쥬게이트 모이어티를 올리고뉴클레오티드에 연계시키는 콘쥬게이트 링커로 구성된다. 콘쥬게이트 기는 올리고뉴클레오티드의 한쪽 또는 양쪽 말단 및/또는 임의의 내부 위치에 부착될 수 있다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 변형된 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드의 2'-위치에 부착된다. 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드의 한쪽 또는 양쪽 말단에 부착된 콘쥬게이트 기는 말단 기이다. 이러한 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기 또는 말단 기는 올리고뉴클레오티드의 3' 및/또는 5'-말단에 부착된다. 이러한 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기(또는 말단 기)는 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에 부착된다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기(또는 말단 기)는 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 부착된다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 올리고뉴클레오티드의 5'-말단 근처에 부착된다.

말단 기의 예시는 콘쥬게이트 기, 캡핑기, 포스페이트 모이어티, 보호기, 무염기성 뉴클레오시드, 변형되거나 변형되지 않은 뉴클레오시드, 및 독립적으로 변형되거나 변형되지 않은 둘 이상의 뉴클레오시드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

A. 특정 콘쥬게이트 기

특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 기에 공유적으로 부착된다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 부착된 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 특성, 가령, 이에 제한되지 않지만, 약력학, 약동학, 안정성, 결합, 흡수, 조직의 분포, 세포의 흡수, 전하 및 투명도를 변형시킨다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 부착된 올리고뉴클레오티드에 신규한 특성, 예컨대, 올리고뉴클레오티드의 검출을 가능하게 하는 형광단 또는 리포터 기를 부여한다. 특정 콘쥬게이트 기 및 콘쥬게이트 모이어티는 기준에, 예를 들면, 콜레스테롤 모이어티(Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556), 콜산(Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060), 티오에테르, 예컨대, 헥실-S-트리틸티올(Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770), 티오콜레스테롤(Oberhauser et al. Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538), 지방족 사슬, 예컨대, 도-데칸-디올 또는 운데실 잔기(Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al. FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54), 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-락-글리세롤 또는 트리에칠-암모늄 1,2-디-0-헥사데실-락-글리세로-3-H-포스포네이트(Manoharan et al. Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973), 또는 아다만탄 아세트산(Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654), 팔미틸 모이어티(Mishra et al. Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237), 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(Crooke et al. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937), 토코페롤 기(Nishina et al., Molecular Therapy Nucleic Acids, 2015, 4, e220; doi:10.1038/mtna.2014.72 및 Nishina et al., Molecular Therapy, 2008, 16, 734-740), 또는 GaINAc 클러스터(예컨대, WO2014/179620호)에 기술된 바 있다.

특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 기는 C22 알킬, C20 알킬, C16 알킬, C10 알킬, C21 알킬, C19 알킬, C18 알킬, C15 알킬, C14 알킬, C13 알킬, C12 알킬, C11 알킬, C9 알킬, C8 알킬, C7 알킬, C6 알킬, C5 알킬,

C22 알케닐, C20 알케닐, C16 알케닐, C10 알케닐, C21 알케닐, C19 알케닐, C18 알케닐, C15 알케닐, C14 알케닐, C13 알케닐, C12 알케닐, C11 알케닐, C9 알케닐, C8 알케닐, C7 알케닐, C6 알케닐, 또는 C5 알케닐 중 임의의 것으로부터 선택될 수 있다.

[0312] 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 기는 C22 알킬, C20 알킬, C16 알킬, C10 알킬, C21 알킬, C19 알킬, C18 알킬, C15 알킬, C14 알킬, C13 알킬, C12 알킬, C11 알킬, C9 알킬, C8 알킬, C7 알킬, C6 알킬, 및 C5 알킬로부터 선택될 수 있고, 여기에서 알킬 쇄는 하나 또는 그 이상의 불포화된 결합을 가질 수 있다.

1. 콘쥬게이트 모이어티

[0314] 콘쥬게이트 모이어티는 제한없이, 삽입제(intercalator), 리포터 분자, 폴리아민, 폴리아미드, 펩티드, 탄수화물(가령, GalNAc), 비타민 모이어티, 폴리에틸렌 글리콜, 티오에테르, 폴리에테르, 콜레스테롤, 티오콜레스테롤, 콜산 모이어티, 폴레이트, 지질, 친지성 그룹, 인지질, 비오틴, 페나진, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아다만탄, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린, 형광단, 및 염료를 포함한다.

[0315] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 모이어티기는 활성 약물 물질, 예를 들면, 아스피린, 와파린, 페닐부타존, 이부프로펜, 수프로펜, 웬-부펜, 케토프로펜,(S)-(+)–프라노프로펜, 카프로펜, 단실사르코신, 2,3,5-트리아이오도벤조산, 평골리모드, 플루페남산, 폴린산, 벤조티아디아지드, 클로로티아지드, 디아제핀, 인도-메티신, 바비투레이트, 세팔로스포린, 설파제, 항당뇨제, 항균제 또는 항생제를 포함한다.

2. 콘쥬게이트 링커

[0317] 콘쥬게이트 모이어티는 콘쥬게이트 링커를 통하여 올리고뉴클레오티드에 부착된다. 특정 올리고머 화합물, 상기 콘쥬게이트 링커는 단일 화학적 결합이다(가령, 상기 콘쥬게이트 모이어티는 단일 결합을 통하여 올리고뉴클레오티드에 직접적으로 부착된다). 특정 올리고머 화합물에서, 콘쥬게이트 모이어티는 콘쥬게이트 링커를 구성하는 하위-단위인, 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 링커 모이어티를 포함하는 더 복잡한 콘쥬게이트 링커를 통하여 올리고뉴클레오티드에 부착된다. 특정 구체예에서, 접합 링커는 사슬 구조, 가령, 하이드로카르빌 사슬, 또는 반복 단위, 가령, 에틸렌 글리콜, 뉴클레오시드, 또는 아미노산 단위의 올리고머를 포함한다.

[0318] 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 알킬, 아미노, 옥소, 아미드, 디설파이드, 폴리에틸렌 글리콜, 에테르, 티오에테르, 및 하이드록실아미노 중에서 선택된 하나 이상의 기를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 링커는 알킬, 아미노, 옥소, 아미드 및 에테르 기 중에서 선택된 기를 포함한다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 링커는 알킬 및 에테르 기 중에서 선택된 기를 포함한다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 링커는 적어도 하나의 인 모이어티를 포함한다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 링커는 적어도 하나의 포스페이트 기를 포함한다. 특정 구체예에서, 콘쥬게이트 링커는 적어도 하나의 중성 연계 기를 포함한다.

[0319] 특정 구체예에서, 상기 기술된 콘쥬게이트 링커를 비롯한 콘쥬게이트 링커는 이기능성 연계 모이어티, 예컨대, 모 화합물, 가령, 본 명세서에 제공된 올리고뉴클레오티드에 콘쥬게이트 기를 부착하기 위해 유용한 것으로 당해 분야에 공지된 것들이다. 일반적으로, 이기능성 연계 모이어티는 적어도 두 개의 기능기를 포함한다. 하나의 기능기는 모 화합물 상의 특정 부위에 결합하도록 선택되고, 다른 하나는 콘쥬게이트 기에 부착하도록 선택된다. 이기능성 연계 모이어티에서 사용되는 기능기의 예시는 친핵성 기와 반응하기 위한 친전자체 및 친전자성 기와 반응하기 위한 친핵체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구체예에서, 이기능성 연계 모이어티는 아미노, 하이드록실, 카르복실산, 티올, 알킬, 알케닐, 및 알키닐 중에서 선택된 하나 이상의 기를 포함한다.

[0320] 콘쥬게이트 링커의 예시는 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥탄산(ADO), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카르복실레이트(SMCC) 및 6-아미노헥산산(AHEX 또는 AHA)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 다른 콘쥬게이트 링커는 치환되거나 치환안된 C₁-C₁₀ 알킬, 치환되거나 치환안된 C₂-C₁₀ 알케닐 또는 치환되거나 치환안된 C₂-C₁₀ 알키닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 여기서 바람직한 치환 기의 비제한적인 목록은 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카르복시, 벤질, 페닐, 니트로, 티올, 티오알콕시, 할로겐, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알키닐을 포함한다.

[0321] 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 1-10개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 이러한 링커-뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드이다. 특정 구체예들에서, 이러한 링커-뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 특정 구체예들에서, 링커-뉴클레오시드는 변형안된다. 특정 구체예들에서, 링커-뉴클레오시

드는 퓨린, 치환된 퓨린, 피리미딘 또는 치환된 피리미딘 중에서 선택된 임의로 보호된 헤테로사이클릭 염기를 포함한다. 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 우라실, 티민, 시토신, 4-N-벤조일시토신, 5-메틸시토신, 4-N-벤조일-5-메틸시토신, 아데닌, 6-N-벤조일아데닌, 구아닌 및 2-N-이소부티릴구아닌 중에서 선택된 뉴클레오시드이다. 링커-뉴클레오시드가 표적 조직에 도달한 후, 올리고머 화합물로부터 절단되는 것이 일반적으로 바람직하다. 따라서, 링커-뉴클레오시드는 전형적으로 서로 그리고 절단 가능한 결합을 통해 올리고머 화합물의 잔기에 연결된다. 특정 구체예들에서, 이러한 절단가능한 결합은 포스포디에스테르 결합이다.

[0322] 여기에서, 링커-뉴클레오시드는 올리고뉴클레오티드의 일부분으로 간주되지 않는다. 따라서, 명시된 수, 또는 명시된 범위의 연계된 뉴클레오시드로 구성된 및/또는 기준 핵산에 명시된 백분율로 구성된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고머 화합물, 그리고 상기 올리고머 화합물은 링커-뉴클레오시드가 포함된 콘쥬게이트 링커를 포함하는 콘쥬게이트 기를 또한 포함하는 구체예들에서, 이들 링커-뉴클레오시드는 이 올리고뉴클레오티드의 길이에 가산되지 않고, 그리고 기준 핵산에 대한 올리고뉴클레오티드의 상보성 백분율을 결정하는데 이용되지 않는다. 예를 들면, 올리고머 화합물은(1) 8-30개의 뉴클레오시드로 구성된 올리고뉴클레오티드, 그리고(2) 상기 변형된 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드와 인접한 1-10개의 링커-뉴클레오시드를 포함하는 콘쥬게이트 기를 포함할 수 있다. 이러한 올리고머 화합물에서 연속 연계된 뉴클레오시드의 총 수는 30이상이다. 대안으로, 올리고머 화합물은 8-30개의 뉴클레오시드로 구성되며, 콘쥬게이트 기가 없는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 올리고머 화합물에서 연속 연계된 뉴클레오시드의 총 수는 단 30이다. 다른 언급이 없는 한, 콘쥬게이트 링커는 단지 10개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 단지 5개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 단지 3개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 단지 2개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 링커는 단지 1개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다.

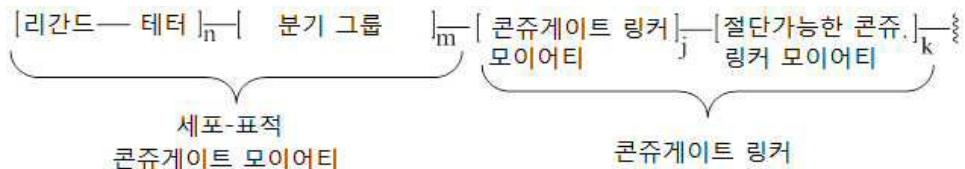
[0323] 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드로부터 콘쥬게이트 기를 잘라내는 것이 바람직할 것이다. 예를 들면, 특정 환경에서, 특정 콘쥬게이트 모이어티를 포함하는 올리고머 화합물은 특정 세포 유형에서 더 잘 취입되지만, 일단 상기 올리고머 화합물이 취입된 후, 상기 콘쥬게이트 기가 절단되어, 콘쥬게이트화안된 또는 모계(parent) 올리고뉴클레오티드를 방출하는 것이 바람직하다. 따라서, 특정 콘쥬게이트 링커는 하나 또는 그 이상의 절단가능한 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 절단가능한 결합이다. 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 최소한 하나의 절단가능한 결합을 포함하는 원자 그룹이다. 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 1, 2, 3, 4, 또는 4개 이상의 절단가능한 결합을 갖는 원자 그룹을 포함한다. 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 세포 또는 세포내 구획, 이를 테면, 리소좀 내부에서 선택적으로 절단된다. 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 내인성 효소, 가령, 뉴클레아제에 의해 선택적으로 절단된다.

[0324] 특정 구체예에서, 절단가능한 결합은 아미드, 에스테르, 에테르, 포스포디에스테르의 하나 또는 두 개의 에스테르, 포스페이트 에스테르, 카르바메이트, 또는 디설파이드 중에서 선택된다. 특정 구체예에서, 절단가능한 결합은 포스포디에스테르의 하나 또는 두 개의 에스테르이다. 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 포스페이트 또는 포스포디에스테르를 포함한다. 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 올리고뉴클레오티드 및 콘쥬게이트 모이어티 또는 콘쥬게이트 기 사이의 포스페이트 링키지다.

[0325] 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 하나 또는 그 이상의 링커-뉴클레오시드를 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 이러한 특정 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 링커-뉴클레오시드는 서로 연계되거나, 및/또는 절단 가능한 결합을 통하여 올리고머 화합물의 나머지에 연계된다. 특정 구체예들에서, 이러한 절단가능한 결합은 변형안된 포스포디에스테르 결합이다. 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 올리고뉴클레오티드의 3' 또는 5'-말단 뉴클레오시드에 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지에 의해 부착되고, 그리고 콘쥬게이트 링커 또는 콘쥬게이트 모이어티의 나머지에 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 링키지에 의해 공유적으로 부착된 2'-데옥시 뉴클레오시드이다. 이러한 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 2'-데옥시아데노신이다.

3. 특정 세포-표적화 콘쥬게이트 모이어티

[0326] 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 기는 세포-표적화 콘쥬게이트 모이어티를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘쥬게이트 기는 일반 구조식을 갖는다:



[0328]

[0329] 여기서 n 은 1 내지 약 3이고, m 은 n 이 1일 때 0이고, m 은 n 이 2 또는 그 이상일 때 1이고, j 는 1 또는 0이고, k 는 1 또는 0이다.

[0330]

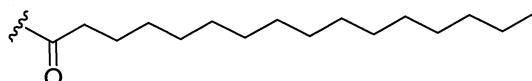
특정 구체예에서, n 은 1이고, j 는 1이고, k 는 0이다. 특정 구체예에서, n 은 1이고, j 는 0이고, k 는 1이다. 특정 구체예에서, n 은 1이고, j 는 1이고, k 는 1이다. 특정 구체예에서, n 은 2이고, j 는 1이고, k 는 0이다. 특정 구체예에서, n 은 2이고, j 는 1이고, k 는 1이다. 특정 구체예에서, n 은 3이고, j 는 1이고, k 는 0이다. 특정 구체예에서, n 은 3이고, j 는 0이고, k 는 1이다. 특정 구체예에서, n 은 3이고, j 는 1이고, k 는 1이다.

[0331]

특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 적어도 하나의 테터로 매인(tethered) 리간드를 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다. 특정 구체예에서, 세포-표적화 모이어티는 분자 기에 공유적으로 부착된 두 개의 테터로 매인 리간드를 포함한다. 특정 구체예에서, 세포-표적화 모이어티는 분자 기에 공유적으로 부착된 세 개의 테터로 매인 리간드를 포함한다.

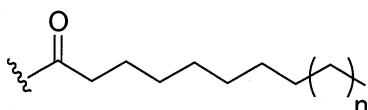
[0332]

특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0333]

[0334] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:

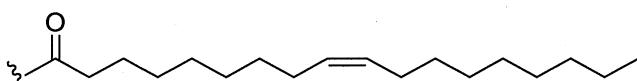


[0335]

[0336] 여기서 n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7에서 선택된 정수다. 특정 구체예들에서, n 은 1이다. 특정 구체예들에서, n 은 2이다. 특정 구체예들에서, n 은 3이다. 특정 구체예들에서, n 은 4이다. 특정 구체예들에서, n 은 5이다.

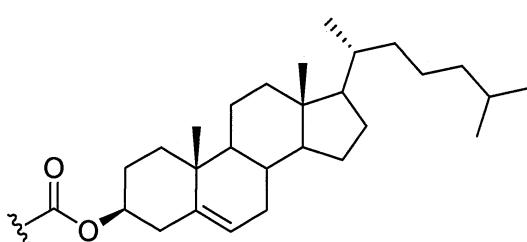
[0337]

특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



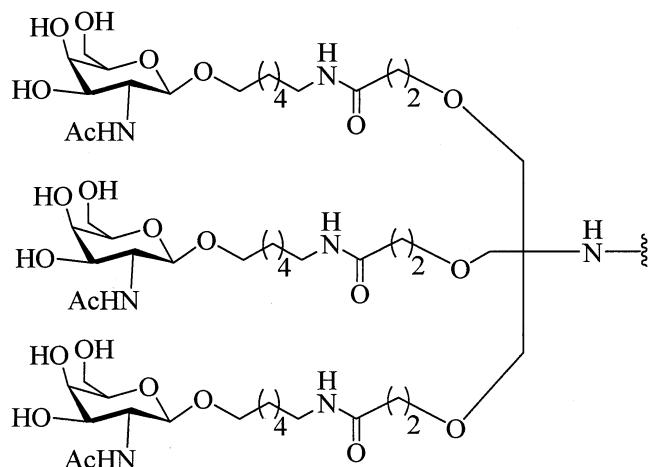
[0338]

[0339] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



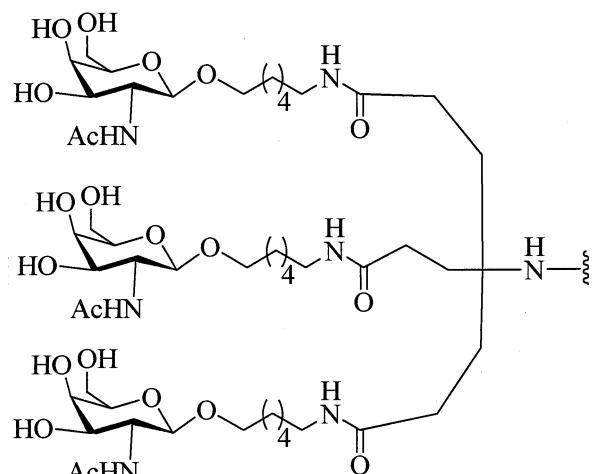
[0340]

[0341] 특정 구체예에서, 콘쥬게이트기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



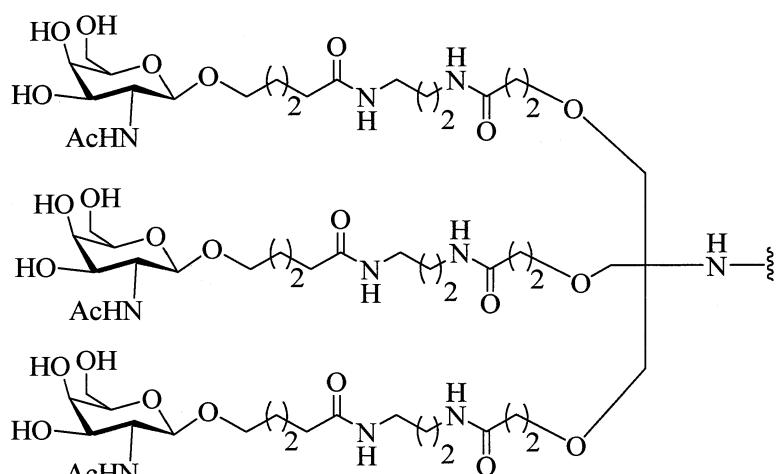
[0342]

특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



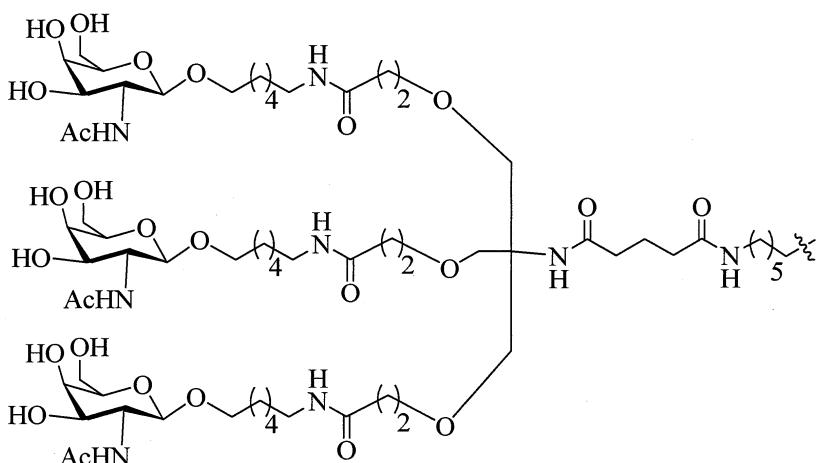
[0344]

특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



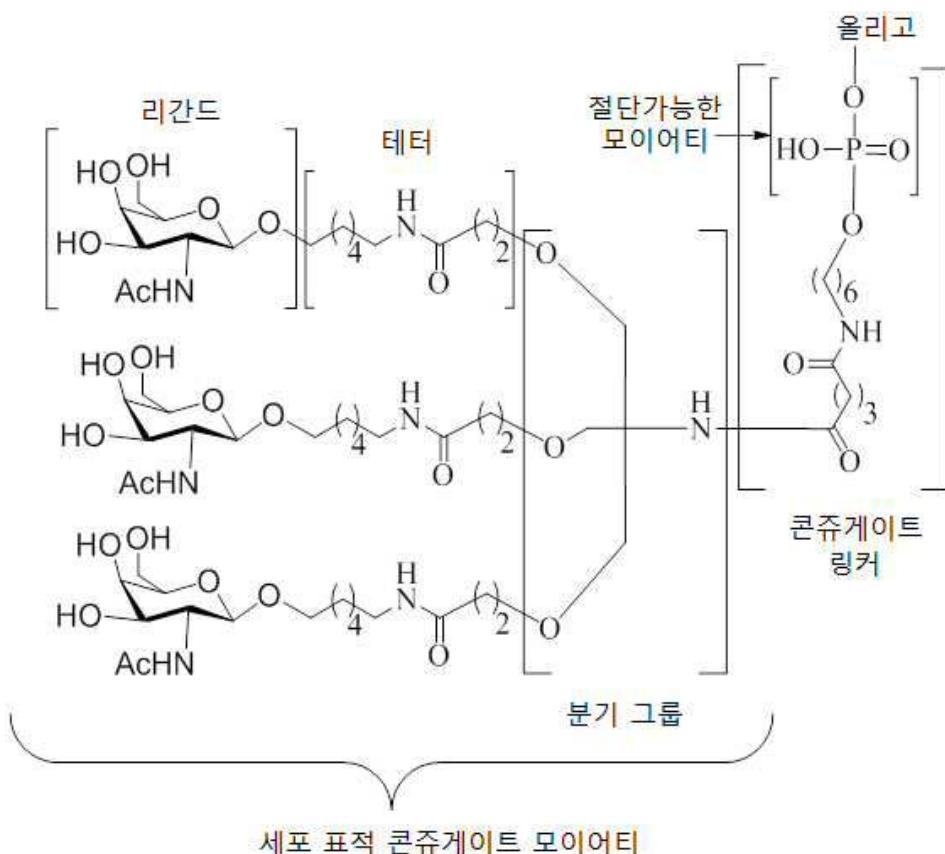
[0346]

특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 본 명세서에서 "LICA-1"로 기술된 콘쥬게이트 기를 포함한다. LICA-1은 다음 구조식을 갖는다:



[0348]

[0349] 특정 구체예들에서, LICA-1을 포함하는 올리고머 화합물은 다음 구조식을 갖는다:



[0350]

[0351] 여기서 올리고는 올리고뉴클레오티드이다.

[0352]

콘쥬게이트 기, 테터, 접합 링커, 분지 기, 리간드, 절단가능한 모이어티 뿐만 아니라 다른 변형을 포함하는 상기 언급된 특정한 콘쥬게이트 기, 올리고머 화합물의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허, 미국 특허 공보, 국제 특허 공보, 및 다른 공개는 제한없이, US 5,994,517, US 6,300,319, US 6,660,720, US 6,906,182, US 7,262,177, US 7,491,805, US 8,106,022, US 7,723,509, US 2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 및 WO 2012/037254, Biessen et al., *J. Med. Chem.* 1995, 38, 1846-1852, Lee et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011, 19, 2494-2500, Rensen et al., *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 37577-37584, Rensen et al., *J. Med. Chem.* 2004, 47, 5798-5808, Slidregt et al., *J. Med. Chem.* 1999, 42, 609-618, 그리고 Valentijn et al., *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770를 포함한다.

[0353]

특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 전부 변형된 딩 모티프 및 적어도 하나, 둘, 또는 세 개의 GaINAc 리간드를 포함하는 콘쥬게이트 기를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구체예에서 안티센스 화합물 및 올리고머 화합물은 다음 문현 중 어느 하나에서 발견되는 콘쥬게이트 기를 포함한다: Lee, *Carbohydr*

Res, 1978, 67, 509-514; Connolly et al., *J Biol Chem*, 1982, 257, 939-945; Pavia et al., *Int J Pep Protein Res*, 1983, 22, 539-548; Lee et al., *Biochem*, 1984, 23, 4255-4261; Lee et al., *Glycoconjugate J*, 1987, 4, 317-328; Toyokuni et al., *Tetrahedron Lett*, 1990, 31, 2673-2676; Biessen et al., *J Med Chem*, 1995, 38, 1538-1546; Valentijn et al., *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770; Kim et al., *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 3487-3490; Lee et al., *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 762-765; Kato et al., *Glycobiol*, 2001, 11, 821-829; Rensen et al., *J Biol Chem*, 2001, 276, 37577-37584; Lee et al., *Methods Enzymol*, 2003, 362, 38-43; Westerlind et al., *Glycoconj J*, 2004, 21, 227-241; Lee et al., *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(19), 5132-5135; Maierhofer et al., *Bioorg Med Chem*, 2007, 15, 7661-7676; Khorev et al., *Bioorg Med Chem*, 2008, 16, 5216-5231; Lee et al., *Bioorg Med Chem*, 2011, 19, 2494-2500; Kornilova et al., *Analyt Biochem*, 2012, 425, 43-46; Pujol et al., *Angew Chemie Int Ed Engl*, 2012, 51, 7445-7448; Biessen et al., *J Med Chem*, 1995, 38, 1846-1852; Slidregt et al., *J Med Chem*, 1999, 42, 609-618; Rensen et al., *J Med Chem*, 2004, 47, 5798-5808; Rensen et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26, 169-175; van Rossenberg et al., *Gene Ther*, 2004, 11, 457-464; Sato et al., *J Am Chem Soc*, 2004, 126, 14013-14022; Lee et al., *J Org Chem*, 2012, 77, 7564-7571; Biessen et al., *FASEB J*, 2000, 14, 1784-1792; Rajur et al., *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 935-940; Duff et al., *Methods Enzymol*, 2000, 313, 297-321; Maier et al., *Bioconjug Chem*, 2003, 14, 18-29; Jayaprakash et al., *Org Lett*, 2010, 12, 5410-5413; Manoharan, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2002, 12, 103-128; Merwin et al., *Bioconjug Chem*, 1994, 5, 612-620; Tomiya et al., *Bioorg Med Chem*, 2013, 21, 5275-5281; 국제 출원 WO1998/013381; WO2011/038356; WO1997/046098; WO2008/098788; WO2004/101619; WO2012/037254; WO2011/120053; WO2011/100131; WO2011/163121; WO2012/177947; WO2013/033230; WO2013/075035; WO2012/083185; WO2012/083046; WO2009/082607; WO2009/134487; WO2010/144740; WO2010/148013; WO1997/020563; WO2010/088537; WO2002/043771; WO2010/129709; WO2012/068187; WO2009/126933; WO2004/024757; WO2010/054406; WO2012/089352; WO2012/089602; WO2013/166121; WO2013/165816; U.S. 특허 4,751,219; 8,552,163; 6,908,903; 7,262,177; 5,994,517; 6,300,319; 8,106,022; 7,491,805; 7,491,805; 7,582,744; 8,137,695; 6,383,812; 6,525,031; 6,660,720; 7,723,509; 8,541,548; 8,344,125; 8,313,772; 8,349,308; 8,450,467; 8,501,930; 8,158,601; 7,262,177; 6,906,182; 6,620,916; 8,435,491; 8,404,862; 7,851,615; 공개된 U.S. 특허 출원 공개 US2011/0097264; US2011/0097265; US2013/0004427; US2005/0164235; US2006/0148740; US2008/0281044; US2010/0240730; US2003/0119724; US2006/0183886; US2008/0206869; US2011/0269814; US2009/0286973; US2011/0207799; US2012/0136042; US2012/0165393; US2008/0281041; US2009/0203135; US2012/0035115; US2012/0095075; US2012/0101148; US2012/0128760; US2012/0157509; US2012/0230938; US2013/0109817; US2013/0121954; US2013/0178512; US2013/0236968; US2011/0123520; US2003/0077829; US2008/0108801; 및 US2009/0203132.

[0354] 특정 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 단일-가닥이다. 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 제 2 올리고뉴클레오티드 또는 올리고머 화합물과 쌍을 이루어, 이중-가닥의 듀플렉스를 형성한다.

III. 특정 안티센스 화합물

[0356] 특정 구체예들에서, 본 발명은 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 표적 핵산에 상보적인 핵염기 서열을 갖는 올리고머 화합물을 포함하거나, 또는 이로 구성되는 안티센스 화합물을 제공한다. 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물은 단일-가닥이다. 이러한 단일-가닥 안티센스 화합물은 전형적으로 변형된 올리고뉴클레오티드와 임의선택적으로 콘쥬게이트 기를 포함하거나, 또는 이로 구성되는 올리고머 화합물을 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물은 이중-가닥이다. 이러한 이중-가닥 안티센스 화합물은 표적 핵산에 상보적 영역을 갖는 제 1 올리고머 화합물과, 이 제 1 올리고머 화합물에 상보적인 영역을 갖는 제 2 올리고머 화합물을 포함한다. 이러한 이중 가닥 안티센스 화합물의 제 1 올리고머 화합물은 전형적으로 변형된 올리고뉴클레오티드와 임의선택적으로 콘쥬게이트 기를 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 이러한 이중-가닥 안티센스 화합물의 제 2 올리고머 화합물의 올리고뉴클레오티드는 변형된 또는 변형안된 것일 수 있다. 이중-가닥 안티센스 화합물의 한쪽 올리고머 화합물 또는 양쪽 올리고머 화합물은 콘쥬게이트 기를 포함할 수 있다. 이중-가닥 안티센스 화합물의 올리고머 화합물은 비-상보적 오버행(overhanging) 뉴클레오시드를 포함할 수 있다.

[0357] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물의 올리고머 화합물은 표적 핵산에 혼성화되어, 적어도 하나의 안티센스 활성을 생성할 수 있다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 하나 이상의 표적 핵산에 선택적으로 작용한다. 이러한 선택적 안티센스 화합물은 하나 이상의 표적 핵산에 혼성화되어 하나 이상의 요망되는 안티센스 활성을 생성

하고, 하나 이상의 비-표적 핵산에는 혼성화되지 않거나 유의적인 원치않는 안티센스 활성을 생성하는 하나 이상의 비-표적 핵산에는 혼성화되지 않는 핵염기 서열을 포함한다.

[0358] 특정 구체예들에서, 표적 핵산에 안티센스 화합물의 혼성화는 표적 전구체 전사체의 가공, 가령, 스플라이싱의 변경을 야기한다. 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체에 안티센스 화합물의 혼성화는 표적 핵산과 단백질 또는 다른 핵산 사이에 결합 상호작용을 저해하게 된다. 이러한 특정 구체예에서, 표적 전구체 전사체에 안티센스 화합물의 혼성화는 표적 핵산의 해독 변경을 야기한다.

[0359] 안티센스 활성을 직접 또는 간접적으로 관찰될 수 있다. 특정 구체예에서, 안티센스 활성의 관찰 또는 검출은 세포 또는 동물에서 표적 핵산 또는 이러한 표적 핵산에 의해 인코딩되는 단백질의 양 변화, 핵산 또는 단백질의 스플라이스 변이체의 비율 변화, 및/또는 표현형 변화를 관찰하거나 검출하는 것을 포함한다.

IV. 특정 표적 핵산

[0361] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 표적 핵산에 상보적인 영역을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 포함하거나 이것으로 이루어진다. 특정 구체예들에서, 표적 핵산은 SMN2를 인코드하는 DNA로써, 서열 번호: 240으로 본 명세서에서 참고자료에 편입된, 뉴클레오티드 19939708_내지 19967777이 절두된, GENBANK 수탁 번호 NT_006713.14에서 제공되는 인간 SM2 게놈 서열을 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 표적 핵산은 서열 번호: 10을 포함한다. 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 1-60는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 6의 일부분을 나타내며, 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 61-114는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7을 나타내고, 그리고 서열 번호: 10의 뉴클레오티드 115-174는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 7의 일부를 나타낸다. 특정 구체예들에서, 표적 핵산은 서열 번호: 11의 핵염기 서열을 포함하는 ISS-N1을 포함한다.

A. 표적 핵산에 대한 상보성/미스매치

[0363] 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물 및/또는 올리고머 화합물은 올리고뉴클레오티드의 전장에 걸쳐 표적 핵산에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 99% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 95% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 90% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 85% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 80% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 올로기뉴클레오티드의 전장에 걸쳐 최소한 80% 상보적이며, 표적 핵산에 100% 또는 완전히 상보적인 영역을 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 완전히 상보적인 영역의 길이는 6 내지 20개의 핵염기이다. 이러한 특정 구체예에서, 전체 상보성 영역의 길이는 10 내지 18개 핵염기이다. 이러한 특정 구체예에서, 전체 상보성 영역의 길이는 18 내지 20개 핵염기이다.

[0364] 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물 및/또는 안티센스 화합물은 표적 핵산에 대해 하나 이상의 미스매치 핵염기를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 표적에 대한 안티센스 활성을 이러한 미스매치에 의해 감소되지만, 비-표적에 대한 활성을 더 큰 양으로 감소된다. 따라서, 이러한 특정 구체예에서 안티센스 화합물의 선택성이 향상된다. 특정 구체예에서, 미스매치는 캡머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드 내부에 특이적으로 위치한다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 캡 영역의 5'-말단으로부터 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 캡 영역의 3'-말단으로부터 위치 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 날개 영역의 5'-말단으로부터 위치 1, 2, 3, 또는 4에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 날개 영역의 3'-말단으로부터 위치 4, 3, 2, 또는 1에 있다.

B. 특정 표적 핵산의 가공 조정

[0366] 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 표적 전구체 전사체에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 표적 전구체 전사체는 표적 pre-mRNA이다. 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체에 상보적인 화합물을 세포에 접촉시키면 표적 전구체 전사체의 가공이 조정된다. 이러한 특정 구체예에서, 생성된 표적 가공된 전사체는 상기 화합물이 부재인 상태에서 생성된 표적 가공된 전사체와 상이한 핵염기 서열을 갖는다. 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체는 표적 pre-mRNA이며, 표적 pre-mRNA에 상보적인 화합물에 세포를 접촉시키면 표적 pre-mRNA의 스플라이싱이 조정된다. 이러한 특정 구체예에서, 생성된 표적 가공된 mRNA는 상기 화합물이 부재인 상태에서 생성된 표적 가공된 mRNA와 상이한 핵염기 서열을 갖는다. 이러한 특정 구체예에서, 엑손은 표적 mRNA으로부터 배제된다. 특정 구체예들에서, 엑손은 표적 mRNA에 포함된다. 특정 구체예들에서, 엑손의 배제 또는 봉입으로 표적 mRNA의 네센스 중개된 봉괴가 유도되거나 또는 방지되고, 표적 mRNA로부터 미숙 종료 코돈이 제거 또는 추가되거나, 및/또는 표적 mRNA로부터 판

독 틀이 변경된다.

C. 특정 표적 핵산과 연합된 특정 질환 및 상태

[0367] 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체는 질환 또는 상태와 연합된다. 이러한 특정 구체예에서, 표적 전구체 전사체에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하거나, 또는 이로 구성된 올리고머 화합물은 질환 또는 상태를 치료하는데 이용된다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 화합물은 유익한 표적 가공된 전사체를 만들기 위하여 표적 전구체 전사체의 가공을 조정한다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 질환 또는 상태는 전구체 전사체의 비정상적 가공과 연관된다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 질환 또는 상태는 pre-mRNA의 비정상적 스플라이싱과 연관된다.

V. 특정 약학 조성물

[0369] 특정 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 안티센스 화합물 또는 이들의 염을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 적절한 약제학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 포함한다. 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 살균 식염수 용액 및 하나 이상의 안티센스 화합물을 포함한다. 특정 구체예에서, 이러한 약제학적 조성물은 살균 식염수 용액 및 하나 이상의 안티센스 화합물로 구성된다. 특정 구체예에서, 살균 식염수는 약제 등급 식염수이다. 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 안티센스 화합물 및 멸균수를 포함한다. 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 하나의 안티센스 화합물 및 멸균수로 이루어진다. 특정 구체예에서, 멸균수는 약제 등급 물이다. 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 안티센스 화합물 및 포스페이트-완충 식염수(PBS)를 포함한다. 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 안티센스 화합물 및 무균 PBS로 이루어진다. 특정 구체예에서, 무균 PBS는 약제 등급 PBS이다.

[0370] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 하나 또는 그 이상의 안티센스 화합물 및 하나 또는 그 이상의 부형제를 포함한다. 이러한 특정 구체예들에서, 부형제는 물, 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토오스, 아밀라아제, 스테아레이트 마그네슘, 활석, 규산, 점성 파라핀, 히드록시 메틸 셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈으로부터 선택된다.

[0371] 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물은 약학 조성물 또는 제제(formulations)를 만들기 위한 약학적으로 수용 가능한 활성 및/또는 비활성 물질과 혼합될 수 있다. 약제학적 조성물의 제형화를 위한 조성물 및 방법은 투여 경로, 질환의 수준, 또는 투여되어야 하는 용량을 비롯하지만 이에 제한되지 않는 수많은 기준에 따라 달라진다.

[0372] 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물 및/또는 안티센스 화합물이 포함된 약학 조성물은 안티센스 화합물의 임의의 약학적으로 수용가능한 염, 안티센스 화합물의 에스테르 또는 이러한 에스테르의 염을 포함한다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 안티센스 올리고뉴클레오티드가 포함된 안티센스 화합물 및/또는 올리고머 화합물을 포함하는 약학 조성물은 인간을 비롯한 동물에게 투여시, 생물학적으로 활성인 대사산물 또는 이의 잔여물을 (직접 또는 간접적으로) 제공할 수 있다. 따라서, 예를 들면, 본 개시는 또한 안티센스 화합물의 약제학적으로 허용되는 염, 프로드럭, 이러한 프로드럭의 약제학적으로 허용되는 염, 및 다른 생물학적 균등물에 적용된다. 적절한 약제학적으로 허용되는 염은 나트륨 및 칼륨 염을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구체예들에서, 프로드럭은 올리고뉴클레오티드에 부착된 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 기를 포함하며, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 체내에서 내인성 뉴클레아제에 의해 절단된다.

[0373] 지질 모이어티는 다양한 방법에서 핵산 요법에 이용되었다. 이러한 특정 방법에서, 핵산, 이를 테면, 안티센스 화합물은 리포좀 및 양이온 지질과 중성 지질의 혼합물로 만들어진 리포플렉스(lipoplexes) 안에 도입된다. 특정 방법에서, 중성 지질 없이 단일-또는 다중-양이온 지질과 DNA 복합체가 형성된다. 특정 구체예들에서, 지질 모이어티는 특정 세포 또는 조직으로 약학 물질의 분포를 증가시키도록 선택된다. 특정 구체예들에서, 지질 모이어티는 지방 조직으로 약학 물질의 분포를 증가시키도록 선택된다. 특정 구체예들에서, 지질 모이어티는 근육 조직으로 약학 물질의 분포를 증가시키도록 선택된다.

[0374] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 전달 시스템을 포함한다. 전달 시스템의 예로는 리포좀 및 에멀전이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 전달 시스템은 소수성 화합물을 포함하는 특정 약학 조성물을 제조하는데 유용하다. 특정 구체예들에서, 디메틸 셀록시드와 같은 특정 유기 용매가 사용된다.

[0375] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 본 발명의 하나 또는 그 이상의 약학 물질이 특정 조직 또는 세포 유형에 운반되도록 기획된 하나 또는 그 이상의 조직-특이적 운반 분자를 포함한다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 약학

조성물은 조직-특이적 항체로 피복된 리포솜을 포함한다.

[0377] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 공-용매 시스템을 포함한다. 이러한 특정 공-용매 시스템은 예를 들어, 벤질 알코올, 비극성 계면 활성제, 수-흔화성 유기 중합체 및 수성상을 포함한다. 특정 구체예들에서, 이러한 공-용매 시스템은 소수성 화합물에 이용된다. 이러한 공-용매 시스템의 비-제한적 예는 3 % w/v의 벤질 알코올, 8 % w/v의 비극성 계면 활성제인 Polysorbate 80TM 및 65% w/v 폴리에틸렌 글리콜 300을 포함하는 무수 에탄올의 용액인 VPD 공-용매 시스템이다. 이러한 공-용매 시스템의 비율은 용해도 및 독성 특성을 크게 변경하지 않으면서 상당히 가변적일 수 있다. 더욱이, 공-용매 성분의 정체는 다양할 수 있다: 예를 들어, Polysorbate 80TM 대신에 다른 계면 활성제가 사용될 수 있고; 폴리에틸렌 글리콜의 분획 크기는 다양할 수 있고; 다른 생체 적합성 중합체는 예컨대, 폴리비닐 피롤리돈을 대체하고; 그리고 다른 당 또는 폴리사카라이드는 텍스트로즈를 대신할 수 있다.

[0378] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 경구 투여용으로 제조된다. 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 볼(buccal) 투여용으로 제조된다. 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 주사(가령, 정맥내, 피하, 근육내, 등등)에 의한 투여용으로 준비된다. 이러한 특정 구체예에서, 약학 조성물은 담체를 포함하고, 물 또는 생리학적으로 양립 가능한 완충액, 예를 들어, 행크스 용액(Hanks's solution), 링거액(Ringer's solution) 또는 생리 식염수 완충액과 같은 수용액으로 제형화된다. 특정 구체예들에서, 다른 성분(예를 들면, 용해도를 보조하거나 방부제로서 작용하는 성분)이 포함된다. 특정 구체예들에서, 주사가능한 혼탁액은 적절한 액체 담체, 혼탁제 및 이와 유사한 것들을 사용하여 제조된다. 특정의 주사용 약학 조성물은 단위 투약형, 예를 들어, 앰플 또는 다중-투여용 용기로 제공된다. 주사용 특정 약학 조성물은 혼탁액, 용액 또는 유성 또는 수성 운반체내에 멸설될 수 있고, 그리고 제형화 물질 이를 테면, 혼탁, 안정화 및/또는 분산 물질들을 포함할 수 있다. 주사용 약학 조성물에 사용하기에 적합한 특정 용매는 친유성 용매 및 참기름과 같은 지방성 오일, 에틸 올레이트 또는 트리글리세리드와 같은 합성 지방산 에스테르 및 리포솜을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 수성 주사액 혼탁액이 들어 있을 수 있다.

비-제한적인 개시 및 참고로서의 포함

[0380] 특히, 특히 출원, 물품, 서적, 조약, 및 GenBank 및 NCBI 기준 서열 기록을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 본 명세서에 인용된 모든 문서는 그 전체가 참고로서 명시적으로 본 명세서에 포함된다.

[0381] 본 명세서에 기술된 특정 화합물, 조성물 및 방법이 특정 구체예와 함께 구체적으로 기술되었지만, 이하의 실시 예는 본 명세서에 기술된 화합물을 예시하는 목적을 수행할 뿐이며, 이에 제한하고자 하는 것으로 의도되지 않는다.

[0382] 비록 본 출원에 첨부된 서열 목록이 각각의 서열을 요망되는 바와 같이 실제로 "RNA" 또는 "DNA"로 식별하지만, 이들 서열은 화학적 변형의 임의의 조합으로 변형될 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 기술된 변형된 올리고뉴클레오티드에 대한 이러한 "RNA" 또는 "DNA" 같은 표시가 특정한 경우에 임의적일 수 있음을 금세 이해할 것이다. 예를 들면, 2'-OH 당 모이어티 및 티민 염기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 변형된 당을 가지는 DNA(DNA의 하나의 2'-H를 대신하여 2'-OH) 또는 변형된 염기를 가지는 RNA(RNA의 우라실을 대신하여 티민(메틸화된 우라실))로 기술될 수 있다. 따라서, 서열 목록의 것들을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 본 명세서에 제공된 핵산 서열은 변형된 핵염기를 가지는 이러한 핵산을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 자연적인 또는 변형된 RNA 및/또는 DNA의 임의의 조합을 함유하는 핵산을 포괄하는 것으로 의도된다. 제안적이지는 않지만, 추가적인 예시를 위해, 핵염기 서열 "ATCGATCG"을 가지는 올리고머 화합물은 변형되었든 변형되지 않았든 상관없이, RNA 염기를 포함하는 화합물, 가령, 서열 "AUCGAUCG"를 가지는 부류, 그리고 일부 DNA 염기와 일부 RNA 염기를 갖는 부류, 가령, "AUCGATCG" 그리고 다른 변형된 핵염기를 가진 올리고머 화합물, 가령, "AT^mCGAUCG"(이때 ^mC는 5-위치에 메틸 기를 포함하는 시토신 염기를 나타냄)를 가지는 부류를 포함하는 이러한 화합물을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 이러한 핵염기 서열을 가지는 임의의 올리고머 화합물을 포괄한다.

[0383] 본 명세서에서 설명된 특정한 화합물(가령, 변형된 올리고뉴클레오티드)은 하나 이상의 비대칭 중심을 가지며 따라서 절대 입체화학의 관점에서, (R) 또는(S)로서, 가령, 당 아노머(anomer)에 있어서 α 또는 β로서, 또는 가령, 아미노산에 있어서 (D) 또는(L)로서 등으로 규정될 수 있는 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 및 다른 입체이성질체 배위가 생기게 한다. 본 명세서에 제공된 화합물은 달리 명시되지 않은 한, 이들의 라세미 및 광학적으로 순수한 형태를 비롯한 모든 이러한 가능한 이성질체를 포함한다. 다른 언급이 없는 한, 유사하게, 모든 cis- 및 trans- 이성질체 및 호변이성질체 형태가 또한 포함된다. 본원에 기재된 올리고머 화합물은 키랄 순수 또는 농축 혼합물, 뿐만 아니라 라세미 혼합물을 포함한다. 예를 들면, 다수의 포스포로티오에이트 뉴클

레오시드간 링키지를 갖는 올리고머 화합물은 상기 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지의 키랄성이 조절되거나 또는 무작위인 화합물을 포함한다.

[0384] 다른 언급이 없는 한, 올리고머 화합물을 비롯한 임의의 화합물은 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0385] 본원에 기술된 화합물은 하나 이상의 원자가 표시된 원소의 비-방사성 동위 원소 또는 방사성 동위 원소로 대체된 변형을 포함한다. 예를 들면, 수소 원자를 포함하는 본원의 화합물은 각각의 ¹H 수소 원자에 대한 모든 가능한 중수소 치환을 포함한다. 본원의 화합물에 포함되는 동위 원소 치환은 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다 : ²H 또는 ³H는 ¹H를 대체하며, ¹³C 또는 ¹⁴C는 ¹²C를 대체하며, ¹⁵N는 ¹⁴N을 대체하며, ¹⁷O 또는 ¹⁸O는 ¹⁶O를 대체하며, 그리고 ³³S, ³⁴S, ³⁵S, 또는 ³⁶S는 ³²S를 대체함. 특정 구체예들에서, 비-방사성 동위 원소 치환은 치료 또는 연구 도구로서 사용하는데 유익한 올리고머 화합물에 새로운 특성을 부여할 수 있다. 특정 구체예들에서, 방사성 동위 원소 치환은 화합물을 이를 테면, 영상 진단과 같은 연구 또는 진단 목적에 적합하게 할 수 있다.

[0386] 실시예

[0387] 비-제한적인 개시 및 참고로서의 포함

[0388] 본 명세서에 기술된 특정 화합물, 조성물 및 방법이 특정 구체예와 함께 구체적으로 기술되었지만, 이하의 실시예는 본 명세서에 기술된 화합물을 예시하는 목적을 수행할 뿐이며 이를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본 출원에 나열된 각각의 문헌은 그 전체가 본 명세서에 참고로서 포함된다.

실시예 1: 시험관에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

[0389] 하기 표에 나타낸 2'-MOE 또는 2'-NMA 변형을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 시험관 내에서 SMN2에서 엑손 7의 스플라이싱에 대한 효과에 대해 시험하였다.

[0390] 척수 근위축증(SMA) 환자 섬유아세포 세포주(GM03813 : Cornell Institute)를 웨 당 25,000개 세포의 밀도로 도말하고, 하기 표에 기재된 변형된 올리고뉴클레오티드 농도에서 120V에서 전기 천공을 사용하여 형질감염시켰다. 약 24 시간의 처리 기간 후, 세포를 DPBS 완충액으로 세척하고, 용해시켰다. Qiagen RNeasy 정제를 사용하여 RNA를 추출하고, mRNA 수준을 qRT-PCR로 측정 하였다. 엑손 7을 갖는 SMN2의 수준은 프라이머/프로브 세트 hSMN2vd#4_LTS00216_MGB를 이용하여 측정하였고; 엑손 7이 없는 SMN2의 수준은 hSMN2va#4_LTS00215_MGB를 이용하여 측정하였고; 그리고 전체 SMN2 수준은 HTS4210을 이용하여 측정하였다. 엑손 7을 갖는 그리고 갖지 않는 SMN2의 양은 전체 SMN2로 표준화시켰다. 결과는 전체 SMN2에 대한 엑손 7(+ 엑손 7)을 갖는 SMN2의 수준과 전체 SMN2에 대한 엑손 7(-엑손 7)이 없는 SMN2의 수준의 결과를 하기 표에 나타내었다. 하기 표에 예시된 바와 같이, 2'-NMA 변형을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드로의 처리는 SMA 환자 섬유아세포에서 2'-MOE 변형을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드와 비교하여, 보다 큰 엑손 7 봉입(및 엑손 7 배제 감소)을 나타내었다.

표 1: 인간 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드

화합물 번호.	서열 (5'에서 3' 방향으로)	서열 번호.
396443	T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	1
443305	T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} T _{ns} T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} T _{ns} A _{ns} A _{ns} T _{ns} G _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} G _{ns} G _n	1

[0391] 상기 표에서 아래첨자: "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지를 나타내고, "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고, "n"은 2'-O-(N-메틸아세타미드) 변형된 뉴클레오시드를 나타낸다. 윗첨자: C앞에 붙은 "^m"은 5-메틸시토신을 나타낸다.

표 2: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	농도 (nM)	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN
396443	51	1.12	0.73
	128	1.16	0.59
	320	1.40	0.49
	800	1.34	0.41
	2000	1.48	0.37
	5000	1.57	0.37
443305	51	1.44	0.61
	128	1.42	0.45
	320	1.60	0.42
	800	1.60	0.38
	2000	1.63	0.36
	5000	1.63	0.42

[0394]

실시예 2: 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

대만의 SMA III 형 인간 유전자삽입 마우스(Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine)는 마우스 SMN이 없으며, 인간 SMN2에 대하여 동형 접합체이다. 이들 마우스는 Hsieh-Li et al., *Nature Genet.* 24, 66-70(2000)에서 기술된다. 각 마우스는 염수(PBS) 또는 화합물 396443 또는 화합물 443305(실시예 1 참고)을 뇌실내(ICV) 볼루스로 제공받았다. 각 치료 그룹은 3-4마리의 마우스로 구성된다. 7일 후, 즉 7일차에 마우스들은 희생되었다. 척수 및 뇌로부터의 총 RNA를 추출하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 RT-qPCR에 의해 분석하였다. 전체 SMN2에 대한 엑손 7을 갖는 SMN2와 전체 SMN2에 대한 엑손 7이 없는 SMN2에 대한 비율은 PBS 처리 대조군에 대해 1.0으로 설정되었다. 모든 치료 그룹에 대한 표준화 결과는 아래 표에 제시되어 있다. 하기 표에 예시된 바와 같이, 2'-NMA 변형을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내었다.

표 3: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	투여분량 (ug)	척수			뇌	
		+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	ED ₅₀ (ug)	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN
PBS	0	1.0	1.0	n/a	1.0	1.0
396443	10	2.1	0.8	15	1.6	0.9
	30	2.9	0.5		2.5	0.7
	100	3.5	0.4		3.3	0.5
443305	10	2.7	0.5	8	2.4	0.6
	30	3.6	0.3		3.3	0.5
	100	3.8	0.3		3.9	0.3

[0397]

실시예 3: 전신 투여 후, 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 염수(PBS), 화합물 번호. 396443, 또는 화합물 번호 443305(실시예 1 참고)를 매 48시간, 총 4회 복막내 주사를 맞았다. 각 치료 그룹은 3-4마리의 마우스로 구성된다. 최종 투여 후, 72 시간 후 마우스를 희생시켰다. 간, 횡격막, 대퇴사두근 및 심장을 포함한 다양한 조직을 채취하여 전체 RNA를 분리하였다. 이 실험에 이용된 프라이머/프로브 세트는 Tiziano, et al., *Eur J Humn Genet*, 2010을 이용한 것을 제외하고, 실시예 1 및 2에서 설명된 바와 같이 엑손 7을 갖는 그리고 갖지 않는 SMN2와 전체 SMN2 수준이 측정되었다. 결과는 하기 표에 제시된다. 상기 2'-NMA 변형이 포함된, 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내는 것으로 결과에 나타났다.

표 4: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	투여분량 (mg/kg)	간		횡격막		대퇴사근		심장	
		+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN
396443	8.3	1.7	0.7	1.5	0.7	1.0	0.8	1.3	0.9
	25	2.6	0.4	2.3	0.6	1.2	0.8	1.4	0.9
	75	3.2	0.3	2.5	0.4	1.4	0.7	1.8	0.8
443305	8.3	2.1	0.4	2.2	0.5	1.3	0.8	1.3	0.8
	25	2.7	0.3	2.8	0.3	1.6	0.7	1.7	0.8
	75	3.3	0.2	3.3	0.3	2.3	0.4	2.1	0.5

표 5: 표 4의 결과에서 산출된 ED₅₀ 값(mg/kg)

화합물 번호.	간	횡격막	대퇴사근	심장
396443	13	27	>75	32
443305	9	8	21	15

[0401] 실시예 4: 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

[0402] 타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 하기 표에 열거된 염수(PBS) 또는 변형된 올리고뉴클레오티드를 ICV 볼루스로 제공받았다. 각 치료 그룹은 3-4마리의 마우스로 구성된다. 최종 투여 후, 2 주후 마우스를 희생시켰다. 각 마우스의 뇌 및 척수를 수집하고, 각 조직으로부터 전체 RNA를 분리하였다. 실시예 1 및 2에서 설명된 바와 같이 엑손 7을 갖는 그리고 갖지 않는 SMN2와 전체 SMN2 수준이 측정되었고, 그 결과는 하기 표에 제시된다. 이 결과에서 상기 2'-NMA 변형이 포함된 변형 올리고뉴클레오티드는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형 올리고뉴클레오티드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내었다.

표 6: 인간 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드

화합물 번호.	서열	서열 번호.
387954	A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	2
443305	T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} T _{ns} A _{ns} A _{ns} T _{ns} G _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} G _{ns} G _n	1
819735	^m C _{ns} A _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} T _{ns} T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} T _{ns} A _{ns} A _{ns} T _{ns} G _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} G _{ns} G _n ^m C _n	3
819736	T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} ^m C _{no} T _{ns} T _{no} T _{ns} ^m C _{no} A _{ns} T _{no} A _{no} T _{ns} G _{no} ^m C _{ns} T _{ns} G _{ns} G _n	1

[0403] [0404] 상기 표에서 아래첨자: "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지를 나타내고, "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고, "n"은 2'-O-(N-메틸아세타미드) 변형된 뉴클레오시드를 나타낸다. 윗첨자: C앞에 붙은 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다.

표 7: 엑손 7 봉입 및 배체

화합물 번호.	투여분량 (ug)	척수		뇌		
		+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	ED ₅₀ (μg)
PBS	0	1.0	1.0	1.0	1.0	n/a
387954	10	3.2	0.6	1.5	0.8	40
	30	3.9	0.4	2.6	0.6	
	100	3.8	0.3	5.4	0.2	
443305	10	3.8	0.3	3.0	0.6	15
	30	4.1	0.2	4.3	0.4	
	100	4.2	0.1	5.4	0.2	
819735	10	3.5	0.4	3.3	0.6	13
	30	4.4	0.2	4.3	0.4	
	100	4.2	0.2	5.6	0.1	
819736	10	2.3	0.6	2.4	0.8	26
	30	3.3	0.4	3.7	0.6	
	100	4.3	0.2	4.9	0.3	

[0406]

실시예 5: 전신 투여 후, 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

[0408]

타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 실시예 4에서 열거된 염수(PBS) 또는 변형된 올리고뉴클레오티드를 매 48-72 시간마다, 총 3주간 10-150 mg/kg/주(week)로 피하 주사를 제공받았다. 각 치료 그룹은 4마리의 마우스로 구성된다. 최종 투여 후, 72 시간 후 마우스를 희생시켰다. 다양한 조직을 수집하고, 각 조직으로부터 전체 RNA를 분리하였다. 실시예 1 및 2에서 설명된 바와 같이 엑손 7을 갖는 그리고 갖지 않는 SMN2와 전체 SMN2 수준이 측정되었고, 그 결과는 하기 표에 제시된다. 이 결과에서 상기 2'-NMA 변형이 포함된 변형된 올리고뉴클레오티드의 전신 투여는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배체를 나타내었다.

표 8: 엑손 7 봉입 및 배체

화합물 번호.	투여 분량 (mg/kg/wk)	조직									
		대퇴사근		TA 근육		횡격막		간		폐	
		+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN	+ 엑손 7/총 SMN	- 엑손 7/총 SMN
PBS	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
387954	10	1.0	0.9	1.2	1.0	1.1	0.9	1.3	0.9	1.4	0.8
	30	1.2	0.8	1.5	0.9	1.4	0.8	1.8	0.6	1.4	0.6
	100	1.5	0.5	1.8	0.6	2.1	0.5	2.4	0.3	1.6	0.4
	150	1.6	0.4	2.3	0.5	2.3	0.4	2.7	0.2	1.8	0.4
443305	10	1.1	0.7	1.4	0.9	1.6	0.8	1.9	0.5	1.2	0.6
	30	1.4	0.5	1.7	0.7	2.1	0.5	2.6	0.3	1.6	0.5
	100	2	0.2	2.4	0.3	2.7	0.2	2.7	0.1	1.7	0.3
	150	2.1	0.2	2.8	0.2	2.9	0.2	2.9	0.1	1.7	0.3
819735	30	1.4	0.4	2	0.7	2.1	0.5	3.2	0.2	1.5	0.5
	100	2	0.2	2.8	0.3	3	0.2	3	0.1	1.8	0.4
819736	8.3	1.5	0.4	2	0.6	2	0.5	2.5	0.4	1.3	0.6

[0409]

표 9: 표 9의 결과에서 산출된 ED₅₀ 값(mg/kg)

화합물 번호.	조직				
	대퇴사근	TA 근육	횡격막	간	폐
387954	>150	142	105	57	31
443305	68	56	30	16	24
819735	58	37	31	<30	25

[0410] “n.d.”는 데이터가 없음을 나타내고, ED₅₀은 산출되지 않았다.

[0411] 실시예 6: 전신 투여 후 유전자삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 콘쥬게이트 기와 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물의 효과

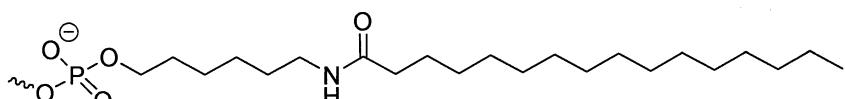
[0412] 타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 하기 표에 열거된 10-300 mg/kg/주(week)의 변형된 올리고뉴클레오티드 또는 염수(PBS) 만으로 3주 동안 피하 투여하여 처리하고, 최종 투여 후 48-72 시간에 희생시켰다. 그룹 당 3-4 마리의 마우스가 있다. 실시예 1 및 2에서 설명된 바와 같이, 다양한 조직으로부터 총 RNA를 추출하고, RT-qPCR에 의해 분석하였다. 하기 표에 나타낸 결과에서 C16 콘쥬게이트 및 2'-NMA 변형을 포함하는 올리고머화합물은 테스트된 다른 화합물보다 더 큰 액손 7 봉입과 더 적은 액손 7 배제를 나타내었다.

표 10: 인간 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드

화합물 번호.	서열 (5' 내지 3')	서열 번호.
387954	A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	2
881068	C16-HA-A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	2
881069	C16-HA -T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	1
881070	C16-HA -T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{eo} T _{es} T _{eo} T _{es} ^m C _{eo} A _{es} T _{eo} A _{es} A _{eo} T _{es} G _{eo} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	1
881071	C16-HA -T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} T _{ns} T _{ns} ^m C _{ns} A _{ns} T _{ns} A _{ns} A _{ns} T _{ns} G _{ns} ^m C _{ns} T _{ns} G _{ns} G _n	1

[0413] [0414] 상기 표에서 아래첨자: "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지를 나타내고, "o"는 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지를 나타내고, "d"는 2'-데옥시뉴클레오시드를 나타내고, "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고, "n"은 2'-O-(N-메틸아세타미드) 변형된 뉴클레오시드를 나타낸다. 윗첨자: C앞에 붙은 "^m"은 5-메틸시스테인을 나타낸다.

[0415] C16-HA의 구조는 다음과 같다:



[0416]

표 11: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	투여 분량 (mg/kg/wk)	TA 근육			비복근(Gastrocnemius)			횡격막		
		+ 엑손 7/ 총 SMN	- 엑손 7/ 총 SMN	ED ₅₀ (mg/kg)	+ 엑손 7/ 총 SMN	- 엑손 7/ 총 SMN	ED ₅₀ (mg/kg)	+ 엑손 7/ 총 SMN	- 엑손 7/ 총 SMN	ED ₅₀ (mg/kg)
PBS	-	1.0	1	n/a	1.0	1.0	n/a	1.0	1.0	n/a
387954	30	1.0	0.9	242	1.0	1.0	204	1.5	0.8	122
	100	1.4	0.6		1.7	0.7		1.9	0.6	
	300	2.1	0.4		2.3	0.3		2.6	0.4	
881068	10	1.0	1.0	74	0.9	1.0	69	1.1	0.9	46
	30	1.3	0.8		1.3	0.8		1.7	0.7	
	100	2.2	0.2		2.5	0.2		2.8	0.2	
881069	10	1.0	1.0	56	1.0	1.0	53	1.3	0.8	33
	30	1.4	0.7		1.6	0.8		2.0	0.6	
	100	2.5	0.2		2.6	0.2		2.9	0.1	
881070	10	1.1	0.9	59	0.9	0.9	60	1.3	1.0	26
	30	1.5	0.7		1.5	0.6		2.3	0.6	
	100	2.3	0.2		2.6	0.2		3.0	0.2	
881071	10	1.4	0.7	23	1.5	0.7	19	2.0	0.6	12
	30	2.2	0.2		2.5	0.2		2.7	0.2	
	100	2.6	0.1		2.8	0.1		3.0	0.2	

[0417] 실시예 7: 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 생체내 투여분량 반응 효과

[0418] 하기 표에 기재된 올리고머 화합물은 인간 및 마우스의 MALAT-1 전사체에 상보적이다. MALAT-1 발현에 미치는 영향을 생체 내에서 시험하였다 수컷 식이-유도에 의한 비만(DIO) 마우스는 각각 꼬리 정맥을 통해 아래 표에 열거된 올리고머 화합물 또는 염수 비히클을 주당 1회, 2주간 정맥 내 주사로 투여 받았다. 각 치료 그룹은 3 또는 4마리의 마우스로 구성된다. 최종 주입 3 일 후, 동물을 희생시켰다. RT-qPCR를 이용하여 심장에서의 MALAT-1 RNA 발현 분석하고, RiboGreen(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA로 표준화한 것은 아래와 같다. 각각의 그룹에 대한 평균 결과는 비히클 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 MALAT-1 RNA 수준으로 나타냈다. 하기 데이터는 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장에서보다 강력함을 나타낸다.

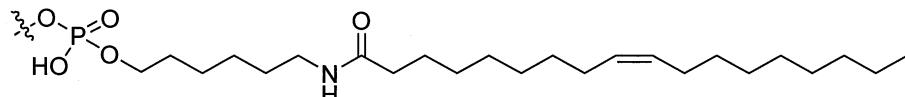
표 12: 생체내 MALAT-1 발현

Isis 번호.	서열(5' 내지 3')	투약형 ($\mu\text{mol/kg/주}$)	심장에서 MALAT-1 RNA 수준(비이클 %)	서열 번호.
556089	$\text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{k}$	0.2	105	4
		0.6	104	
		1.8	74	
812133	$\text{Ole-HA-T}_{\text{do}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{do}} \text{A}_{\text{do}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}}$ $\text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}$ $\text{mC}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{k}$	0.2	71	5
		0.6	61	
		1.8	42	
812134	$\text{C16-HA-T}_{\text{do}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{do}} \text{A}_{\text{do}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}}$ $\text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{mC}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}$ $\text{mC}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{mC}} \text{k}$	0.2	86	5
		0.6	65	
		1.8	31	

[0420]

[0421]

아래첨자 "k"는 cEt 변형된 바이사이클릭 당 모이어티를 나타낸다. 추가 위 첨자 및 위첨자는 표를 참조. "C16-HA-"의 구조는 실시예 2에 나타낸다. "Ole-HA-"의 구조는 다음과 같다:



[0422]

실시예 8: 상이한 투여 경로를 통한 투여 후 생체내 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 효과

[0423]

MALAT-1 발현에 대한 Isis 번호 556089 및 812134(실시예 9 참조)의 효과를 생체 내에서 시험하였다. 야생형 C57b1/6 수컷, 마우스는 각각 꼬리 정맥을 통한 정맥 주사(IV) 또는 피하(SC) 주사를 통하여, Isis 번호 556089, Isis 번호 812134, 또는 염수 비이클만을 투여받았다. 각 치료 그룹은 4마리의 마우스로 구성된다. 주입 3 일 후, 동물을 희생시켰다. RT-qPCR를 이용하여 심장에서의 MALAT-1 RNA 발현 분석하고, Ribogreen(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA로 표준화한 것은 아래와 같다. 각각의 그룹에 대한 평균 결과는 비히를 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 MALAT-1 RNA 수준으로 나타냈다. 하기 데이터는 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장에서보다 강력함을 나타낸다.

표 13: 생체내 MALAT-1 발현

Isis 번호.	투약형 ($\mu\text{mol/kg}$)	투여 경로	심장에서 MALAT-1 RNA 수준(비이클 %)	서열 번호.
556089	0.4	SC	85	4
	1.2	SC	79	
	3.6	SC	53	
		IV	56	
812134	0.4	SC	71	5
	1.2	SC	48	
	3.6	SC	29	
		IV	30	

[0425]

[0426]

실시예 9: 상이한 투여 경로를 통한 투여 후 생체내 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 효과

[0427]

하기 표에 열거된 화합물은 CD36에 상보적이며, 생체내에서 테스트되었다. 야생형 C57b1/6 암컷 마우스는 화합물 또는 염수 비이클 단독을 각각 정맥 내 주사 또는 복강 내 주사를 통하여 3 주 동안, 1 주일에 1 회 투여받았다. 각 치료 그룹은 4마리의 마우스로 구성된다. 최종 주입 3 일 후, 동물을 희생시켰다. 심장 및 대퇴사두

근에서 CD36 mRNA 발현은 RT-qPCR를 이용하여 분석하였고, RiboGreen(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA로 표준화한 것은 아래와 같다. 각각의 그룹에 대한 평균 결과는 비히클 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 CD36 RNA 수준으로 나타냈다. 하기 데이터는 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장 및 대퇴사두근에서보다 강력함을 나타낸다.

표 14: 생체내 CD36 발현

Isis 번호.	서열 (5'에서 3' 방향)	투여분량 ($\mu\text{mol/kg/wee k}$)	투여 경로	CD36 mRNA 수준 (비이클 %)		서열 번호.
				심장	Quad	
583363	$A_{ks} G_{ks} G_{ks} A_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} {}^mC_{ds} {}^mC_{ds} A_{ks} A_{ks} A_k$	1	IV	102	84	6
		3	IV	98	69	
		9	IV	81	30	
			IP	94	36	
847939	$C16-HA-T_{do} {}^mC_{do} A_{do} A_{ks} G_{ks} G_{ks} A_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} {}^mC_{ds} {}^mC_{ds} A_{ks} A_{ks} A_k$	1	IV	94	37	7
		3	IV	69	22	
		9	IV	28	9	
			IP	52	21	

[0428] 기호 설명은 상기 표를 참조한다.

실시예 10: 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 생체내 효과

[0430] 하기 표에 기재된 올리고머 화합물은 인간 및 마우스 근긴장성 영양(Dystrophia Myotonica)-단백질 키나제(DMPK) 전사체에 상보적이다. DMPK 발현에 미치는 영향을 생체 내에서 시험하였다. 야생형 Balb/c 마우스는 아래 표에 투약형에서 올리고머 화합물 또는 염수 비이클 단독을 정맥 내 주사로 투여 받았다. 각 동물은 1 주일에 한 번, 3 ½ 주 동안 총 4 회 투여받았다. 각 치료 그룹은 3 또는 4마리의 마우스로 구성된다. 최종 투여 2 일 후, 동물을 희생시켰다. 대퇴사두근에서 DMPK mRNA 발현은 RT-qPCR를 이용하여 분석하였고, RiboGreen(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA로 표준화한 것은 아래와 같다. 각각의 그룹에 대한 평균 결과는 비히클 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 DMPK RNA 수준으로 나타냈다. "nd" 항목은 데이터가 없음을 의미한다. 하기 데이터는 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 대퇴사두근에서보다 강력함을 나타낸다.

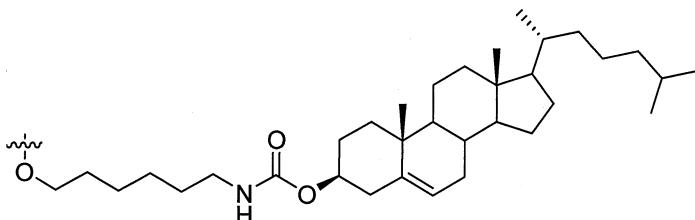
표 15: 생체내 DMPK 발현

Isis 번호.	서열 (5' 내지 3')	투여량 (mg/kg/주)	사두근에서 DMPK mRNA 수준(비이클 %)	서열 번호.
486178	$A_{ks} {}^mC_{ks} A_{ks} A_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} {}^mC_{ds} {}^mC_{ds} G_{ds} A_{ks} G_{ks} G_k$	12.5	50	8
		25	33	
		50	14	
819733	$Chol-TEG-T_{ds} {}^mC_{do} A_{do} A_{ks} {}^mC_{ks} A_{ks} A_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} {}^mC_{ds} {}^mC_{ds} G_{ds} A_{ks} G_{ks} G_k$	12.5	8	9
		25	nd	
		50	nd	
819734	$Toco-TEG-T_{ds} {}^mC_{do} A_{do} A_{ks} {}^mC_{ks} A_{ks} A_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} {}^mC_{ds} {}^mC_{ds} G_{ds} A_{ks} G_{ks} G_k$	12.5	15	9
		25	10	
		50	5	

[0432]

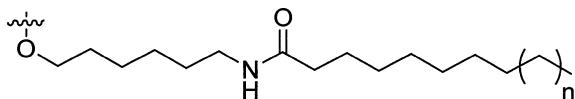
[0433] 기호 설명은 상기 표를 참조한다. "Chol-TEG-" 및 "Toco-TEG-"의 구조는 각각 실시예 1 및 2에 제시되어 있다.

[0434] "HA-Chol"은 아래와 같은 2'-변형이다:



[0435]

[0436] "HA-C10" 및 "HA-C16"은 아래와 같은 2'-변형이다:



[0437]

[0438] 여기서 아래첨자 "HA-C10"에서 n은 1이고, 아래첨자 "HA-C16"에서 n은 7이다.

실시예 11: 생체내 올리고머 화합물의 효과

[0440] 하기 표에 기재된 올리고머 화합물은 인간 및 마우스의 MALAT-1 전사체에 상보적이다. MALAT-1 발현에 미치는 영향을 생체 내에서 시험하였다. 야생형 C57bl/6 수컷 마우스는 아래 표에 제시된 투약량의 올리고머 화합물 또는 염수 비이를 단독을 치료 기간 0, 4, 및 10일 차에 피하 주사로 투여받았다. 각 치료 그룹은 3마리의 마우스로 구성된다. 최종 주사 4 일 후, 동물을 희생시켰다. RT-qPCR를 이용하여 심장에서의 MALAT-1 RNA 발현 분석하고, RiboGreen(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA)을 사용하여 전체 RNA로 표준화한 것은 아래와 같다. 각각의 그룹에 대한 평균 결과는 비히를 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 MALAT-1 RNA 수준으로 나타냈다. 하기 데이터는 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하는 화합물이 친지성 콘쥬게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장에서보다 강력함을 나타낸다.

표 16: 생체내 MALAT-1 발현

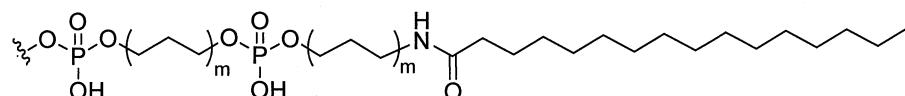
Isis 번호.	서열 (5' 내지 3')	투여량 ($\mu\text{mol/kg}$)	심장에서 MALAT-1 RNA 수준 (비이클 %)	서열 번호.
556089	$\text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	83	4
		1.2	81	
		3.6	57	
		10.8	27	
812134	$\text{C16-HA-T}_{\text{do}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{do}} \text{A}_{\text{do}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}$ $\text{m} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	88	5
		1.2	69	
		3.6	17	
859299	$\text{C16-HA-G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	80	4
		1.2	42	
		3.6	14	
861242	$\text{C16-2x-C6-G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	78	4
		1.2	45	
		3.6	13	
861244	$\text{C16-C6-G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	76	4
		1.2	67	
		3.6	18	
863406	$\text{C16-2x-C3-G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	97	4
		1.2	63	
		3.6	26	
863407	$\text{C16-C3-Ab-G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ks}} \text{A}_{\text{ks}} \text{T}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}} \text{T}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ds}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}} \text{A}_{\text{ks}} \text{G}_{\text{ks}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{k}}$	0.4	109	4
		1.2	67	
		3.6	32	

[0441]

기호 설명은 상기 표를 참조한다. "C16-HA-"의 구조는 실시예 2에 나타낸다.

[0442]

"C16-2x-C6-" 및 "C16-2x-C3-"의 구조는 다음과 같다:

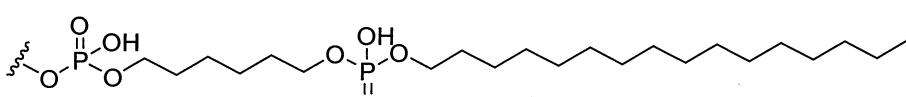


[0443]

여기서 "C16-2x-C6-"에서 $m = 2$ 이며; 그리고 "C16-2x-C3-"에서 $m = 1$ 이고;

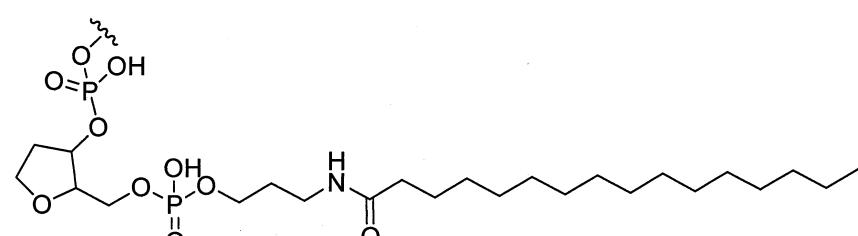
[0444]

"C16-C6-"의 구조는 다음과 같고:



[0445]

"C16-C3-Ab-"의 구조는 다음과 같다:



[0446]

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Ionis Pharmaceuticals, Inc.

<120> COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATION OF SMN2

<130> BIOL0304WO

<150> 62/363,195

<151> 2016-07-15

<160> 265

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 1

tcacttcat aatgctgg

18

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 2

attcacttca ataatgctgg

20

<210> 3

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 3

cactttata atgctggc

18

<210> 4

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 4	
gcattctaat agcagc	16
<210> 5	
<211> 19	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 5	
t c a g c a t t c t a a t a g c a g c	19
<210> 6	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 6	
a g g a t a t g g a a c c a a a	16
<210> 7	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 7	
t c a a g g a t a t g g a a c c a a a	19
<210> 8	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 8	
a c a a t a a a t a a c c g a g g	16
<210> 9	

<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	9	
tcaacaataa ataccgagg		19
<210>	10	
<211>	174	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	10	
atatatagct atctatatact atatagctat ttttttaac ttcccttatt ttcccttacag		60
ggtttagac aaaatcaaaa agaaggaagg tgctcacatt ccttaaatta aggagtaagt		120
ctgccagcat tatgaaagtgt aatcttactt ttgtaaaact ttatggtttg tgga		174
<210>	11	
<211>	8	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	11	
ccagcauu		8
<210>	12	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	12	
auucacuuuc auuaugcugg		20
<210>	13	
<211>	15	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 13	
cuuucauaau gcugg	15
<210> 14	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 14	
uuucauaaug cuggc	15
<210> 15	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 15	
uucauaaugc uggca	15
<210> 16	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 16	
ucauaaugcu ggcag	15
<210> 17	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 17	
acuuucauaa ugcug	15
<210> 18	
<211> 15	
<212> RNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 18	
cacuuucaua augcu	15
<210> 19	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 19	
ucacuuucau aaugc	15
<210> 20	
<211> 14	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 20	
uuucauaua aug cugg	14
<210> 21	
<211> 14	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 21	
cuuucauaaau gcug	14
<210> 22	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 22	
uucauaua augc ugg	13
<210> 23	

<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	23	
cuuucauaaau gcu		13
<210>	24	
<211>	13	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	24	
uuucauaaug cug		13
<210>	25	
<211>	12	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	25	
ucauaaugcu gg		12
<210>	26	
<211>	12	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	26	
uucauaaugc ug		12
<210>	27	
<211>	12	
<212>	RNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	27	

uuucauaaug cu 12

<210> 28

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 28

tttcataatg ctgg

14

<210> 29

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 29

ctttcataat gctg

14

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 30

tggtgtcatt tagtgctgct

20

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 31

catataatag ccagtagatgat agcc

24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 32	
tcacttcat ctgttgaac ttgg	24
<210> 33	
<211> 16	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 33	
ccucugugga caccag	16
<210> 34	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 34	
uuaauuuuaag gaa	13
<210> 35	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 35	
uuaauuuuaag gaaugug	17
<210> 36	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 36	
cacuuucaua augcugg	17
<210> 37	
<211> 19	

<212> RNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 37		
uuugauuuug ucuaaaacc		19
<210> 38		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 38		
gauuuuguguca aaaacccug		19
<210> 39		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 39		
uuugauuuug acuaaaacc		19
<210> 40		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 40		
gauuuuguguca aaaacccug		19
<210> 41		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> Artificial sequence		
<220><223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 41		
gcuaauaccag cgucguau		19
<210> 42		

<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 42	
uagcuuuuaa uggauguua	19
<210> 43	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 43	
aaaaaccug uaaggaaaa	19
<210> 44	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 44	
ucuaaaaccc uguaggaa	19
<210> 45	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 45	
cuuucauaaau gcuggcaga	19
<210> 46	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 46	

ucacuuucau aaugcuggc	19
<210> 47	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 47	
cuuucuaaca ucugaacuu	19
<210> 48	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 48	
caacuuucua acaucugaa	19
<210> 49	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 49	
uagcuuuauu uggauguua	19
<210> 50	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 50	
guuucacaac acauuuuac	19
<210> 51	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	

<400> 51

uuuugucuaa uacccugua

19

<210> 52

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 52

aggaauguga ccaccuucc

19

<210> 53

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 53

cuuucauaaa gcuggcaga

19

<210> 54

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 54

ucacuuucaa aaugcuggc

19

<210> 55

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 55

cuuucuaacu ucugaacuu

19

<210> 56

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 56	
ttttgattt tgtct	15
<210> 57	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 57	
attnaaggaa tgtga	15
<210> 58	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 58	
attcacttcaataatgctg	19
<210> 59	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 59	
tccttaaagtatttgacc	20
<210> 60	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 60	
ttatatactt ttaaacatat agaagatag	29
<210> 61	

<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 61	
agattctttt gatgtatgtg aatgg	24
<210> 62	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 62	
gtttcagaca aaatcaaaaa gaaggaa	26
<210> 63	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 63	
tctataacgc ttcacattcc agatct	26
<210> 64	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 64	
atgccagcat ttctccttaa tttaagg	27
<210> 65	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 65	
gtcaacccca ccgtgttctt	20

<210> 66	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 66	
ttgaaactt gtctgcaaac a	21
<210> 67	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 67	
cttggccgc gtct	14
<210> 68	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 68	
cctttacct cagttacaat ttata	25
<210> 69	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 69	
aagtctgcag gtctgcctac tagtg	25
<210> 70	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	

<400> 70	
aagtctgcag gtcaggctac tagtg	25
<210> 71	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 71	
aagtctgctg gtctgcctac	20
<210> 72	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 72	
gttttccaca aaccaggaga ctt	23
<210> 73	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 73	
ttcaacttta taacatctga acttt	25
<210> 74	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 74	
ctagtaggaa tgtagattaa ccttt	25
<210> 75	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 75

ctaacatctg caaacaggca gactt

25

<210> 76

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 76

tttccacaca accaaccagt taagt

25

<210> 77

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 77

ctagtaggtc aaaccatgca gactt

25

<210> 78

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 78

gcgtggggc tcaggctagg cacag

25

<210> 79

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 79

tagtatata gacatagata gctat

25

<210> 80

<211> 25

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 80	
atagacatag attggctca ggcta	25
<210> 81	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 81	
atgtgagcac ctcccttctt tttga	25
<210> 82	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 82	
tttttgattt tgtctaaaac	20
<210> 83	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 83	
aaggaaatgtg atttttgat ttgtt	25
<210> 84	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 84	
aaggaaatgtg attgattttg tctaa	25

<210> 85	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 85	
ctttctaaca tctgaacttt ttaaa	25
<210> 86	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 86	
ccttcaact ttctaacatc tgaac	25
<210> 87	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 87	
attaaccttt caactttcta acatc	25
<210> 88	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 88	
ctatatatacg atagttattc aacaaa	26
<210> 89	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 89	

tagatagctt tacatttac ttatt	25
<210> 90	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 90	
 tatggatgtt aaaaaggcatt ttgtt	 25
<210> 91	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 91	
 ctatatatag atagctttat atgga	 25
<210> 92	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 92	
 cattttactt attttattca acaaa	 25
<210> 93	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 93	
 gccttatatg gacatttac ttatt	 25
<210> 94	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 94	
gatgttaaaa agcgttcac aagac	25
<210> 95	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 95	
tatattggat ttattttca acaaa	25
<210> 96	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 96	
gcatttgg tcacaaggta ttcaa	25
<210> 97	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 97	
ctatatata atagcgacat ttac	25
<210> 98	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 98	
agatagctt atatggattt attcaa	26
<210> 99	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 99	
ctataatatag ttattcaaca	20
<210> 100	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 100	
tttatatgga tgaagacatt ttac	24
<210> 101	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 101	
cactttcata atgctgg	17
<210> 102	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 102	
ctagtatttc ctgcaaatga g	21
<210> 103	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 103	
ccagcatttc ctgcaaatga g	21
<210> 104	

<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 104	
atgc cagcat ttcc tgcaaa tgaga	25
<210> 105	
<211> 25	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 105	
gct ctat gcc agcattt cct gcaaa	25
<210> 106	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 106	
gct gagtgat tactta	16
<210> 107	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 107	
atgct gagtg attact	16
<210> 108	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 108	

agatgctgag tgatta	16
<210> 109	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 109	
 aaagatgctg agtgat	 16
<210> 110	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 110	
 gaaaagatgc tgagt	 16
<210> 111	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 111	
 aggaaaagat gctgag	 16
<210> 112	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 112	
 tcaggaaaag atgctg	 16
<210> 113	
<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 113	
tgtcaggaaa agatgc	16
<210> 114	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 114	
attgtcagga aaagat	16
<210> 115	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 115	
aaattgtcag gaaaag	16
<210> 116	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 116	
aaaaattgtc aggaaa	16
<210> 117	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 117	
aaaaaaaaattg tcagga	16
<210> 118	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 118

acaaaaaaaaat tgtcag 16

<210> 119
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 119

ctacaaaaaaaa attgtc 16

<210> 120
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 120

aactacaaaa aaattg 16

<210> 121
<211> 16
<212> DNA
<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 121

ataactacaa aaaaat 16

<210> 122
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 122

cataactaca aaaaaa 16

<210> 123

<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 123	
cacataacta caaaaa	16
<210> 124	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 124	
gtcacataaac tacaaa	16
<210> 125	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 125	
aagtcacata actaca	16
<210> 126	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 126	
cacataacta ca	12
<210> 127	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 127	

caaagt caca taacta	16
<210> 128	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 128	
gtcacataac ta	12
<210> 129	
<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 129	
aacaaagtca cataac	16
<210> 130	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 130	
aagtcacata ac	12
<210> 131	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 131	
aaaacacaaagt cacata	16
<210> 132	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 132

caaagt caca ta

12

<210> 133

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 133

acaaaacaaa gtcaca

16

<210> 134

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 134

aacaaagt ca ca

12

<210> 135

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 135

ttacaaaaca aagt ca

16

<210> 136

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 136

atttacaaaa caaagt

16

<210> 137

<211> 16

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 137

aaatttacaa aacaaa

16

<210> 138

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 138

ataaatttac aaaaca

16

<210> 139

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 139

tataaattta caaaac

16

<210> 140

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 140

gacatttac ttat

16

<210> 141

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 141

aagacattt acttat

16

<210> 142

<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 142

acaagacatt ttactt 16

<210> 143
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 143

tcacaagaca tttac 16

<210> 144
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 144

tttcacaaga cattt 16

<210> 145
<211> 16
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 145

gtttcacaag acattt 16

<210> 146
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 146

tgtttcacaa gacatt	16
<210> 147	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 147	
 ttgttcaca agacat	 16
<210> 148	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 148	
 tttgttca caagac	 16
<210> 149	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 149	
 cattttttt cacaag	 16
<210> 150	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 150	
 agcattttt ttacata	 16
<210> 151	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 151
aaagcattt gtttca 16
<210> 152
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 152
taaaaagcat ttgtt 16
<210> 153
<211> 16
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 153
gttaaaaagc atttg 16
<210> 154
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 154
atgttaaaa gcattt 16
<210> 155
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 155
tggatgttaa aaagca 16
<210> 156
<211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 156	
tatggatgtt aaaaag	16
<210> 157	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 157	
ttatatggat gttaaa	16
<210> 158	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 158	
 gctttatatg gatgtt	 16
<210> 159	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 159	
tagcttata tggatg	16
<210> 160	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 160	
gatagctta tatgga	16
<210> 161	

<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 161	
tagatagctt tatatg	16
<210> 162	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 162	
tatagatagc ttata	16
<210> 163	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 163	
tatatagata gctta	16
<210> 164	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 164	
tatatataga tagtt	16
<210> 165	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 165	

aaaaacattt gtttc	16
<210> 166	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 166	
tcaaaaacat ttgtt	16
<210> 167	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 167	
gttcaaaaac atttgt	16
<210> 168	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 168	
atgttcaaaa acattt	16
<210> 169	
<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 169	
aaatgttcaa aaacat	16
<210> 170	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 170

ttaaatgttc aaaaac

16

<210> 171

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 171

ttttaaatgt tcaaaa

16

<210> 172

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 172

gttttaat gttcaa

16

<210> 173

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 173

aagttttaa atgttc

16

<210> 174

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 174

tgaagtttt aaatgt

16

<210> 175

<211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 175	
ctgaagttt taaatg	16
<210> 176	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 176	
tctgaagttt ttaaat	16
<210> 177	
<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 177	
catctgaagt tttaa	16
<210> 178	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 178	
aacatctgaa gtttt	16
<210> 179	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 179	
ctaacatctg aagttt	16

<210> 180	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 180	
ttctaacatc tgaagt	16
<210> 181	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 181	
ctttctaaca tctgaa	16
<210> 182	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 182	
 aacttctaa catctg	 16
<210> 183	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 183	
tcaacttct aacatc	16
<210> 184	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 184	

tttcaactt ctaaca	16
<210> 185	
<211> 16	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 185	
 ctttcaactt tctaac	 16
<210> 186	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 186	
 ccttcaact ttctaa	 16
<210> 187	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 187	
 ttaacctt aacttt	 16
<210> 188	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 188	
 cattaaacctt tcaact	 16
<210> 189	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 189	
guaagauuca cuuucauaau gcugg	25
<210> 190	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 190	
 gauagcuaua uauagauagc uuu	23
<210> 191	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 191	
auagauagcu auauauagau agcuuu	26
<210> 192	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 192	
gauagcuaua uauagauagc	20
<210> 193	
<211> 20	
<212> RNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 193	
auagauauag auagcuauau	20
<210> 194	
<211> 23	

<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 194	
auuaaccuuu uaucuaauag uuu	23
<210> 195	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 195	
auuaaccuuu uaucuaauag uuuugg	26
<210> 196	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 196	
aauaguuuug gcaucaaaau	20
<210> 197	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 197	
aauaguuuug gcaucaaaau ucu	23
<210> 198	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 198	
aauaguuuug gcaucaaaau ucuuua	26

<210> 199
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 199
ucuaauaguu uuggcaucaa 20
<210> 200
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 200
ucuaauaguu uuggcaucaa aa 23
<210> 201
<211> 20
<212> RNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 201
gaucugucug aucguuucuu 20
<210> 202
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 202
aucuucuaua acgcuucaca uucca 25
<210> 203
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 203

ucuaauaacgc uucacauucc agauc

25

<210> 204

<211> 25

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 204

cuucuauaac gcuucacauu ccaga

25

<210> 205

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 205

uuuguuuucac aagcacauuuu

20

<210> 206

<211> 25

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 206

accuuuccuuc uuuuugauuu ugucu

25

<210> 207

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 207

cuggcagacu uacuccuuaa uuuaaggaaau

30

<210> 208

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 208

uccuuucuuu ugauuuuguc u 21

<210> 209

<211> 20

<212> RNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 209

caccuuccuu cuuuuugauu 20

<210> 210

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 210

acaacuuugg gaggcggagg 20

<210> 211

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 211

aaucccacaa cuuugggagg 20

<210> 212

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 212

gcucaugccu acaaccccac 20

<210> 213

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 213

gcaguggcuc augccuacaa

20

<210> 214

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 214

caauuauuag gcugcaguua

20

<210> 215

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 215

tatccaaag aaaacaattt

20

<210> 216

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 216

uuuuuaugua cuuuaaaagu

20

<210> 217

<211> 20

<212> RNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 217

auagucuuuu aauguacuuu

20

<210> 218
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 218
uaugaucaga aaauaaguug 20
<210> 219
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 219
uauucaacaa aaauaugauca 20

<210> 220
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 220
uuuuggcauc aaaaucuuu aaauau 25
<210> 221
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 221
aaauguuuug gcaucaaaau ucuuu 25
<210> 222
<211> 28
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 222

ucuaauaguu uuggcaucaa aauucuuu	28
<210> 223	
<211> 30	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 223	
ccuuuuaucu aaauaguuuug gcaucaaaau	30
<210> 224	
<211> 30	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 224	
auuaaccuuu uaucuaauag uuuuggcauc	30
<210> 225	
<211> 25	
<212> RNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 225	
auuaaccuuu uaucuaauag uuuug	25
<210> 226	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 226	
auuaaccuuu uaucuaauag	20
<210> 227	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 227	
uagauuaacc uuuuaucuaa uag	23
<210> 228	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 228	
auguagauua accuuuuuauc uaaauag	26
<210> 229	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 229	
gaauucuagu agggauguag	20
<210> 230	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 230	
aaaauggcau cauauccuaa	20
<210> 231	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 231	
gauauaaaaa ggcaucauau ccuaa	25
<210> 232	

<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 232
uauaaaaugg caucauaucc 20
<210> 233
<211> 20
<212> RNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 233
gauauaaaaau ggcauauau 20
<210> 234
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 234
aauaguuuug gcuucaaaau ucu 23
<210> 235
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 235
aauaguuuug gcaucaaaau uuu 23
<210> 236
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 236

uggagcuuga caccacccug	20
<210> 237	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 237	
 acuugagacc uggagcuuga	 20
<210> 238	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 238	
 uagggggaua acuugagacc	 20
<210> 239	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 239	
 gaggcggagg uagggggaua	 20
<210> 240	
<211> 28070	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 240	
ccacaaatgt gggagggcga taaccactcg tagaaagcgt gagaagtta tacaagcggt	60
cctccggcc accgtactgt tccgctccca gaagccccgg gcggcggaaag tcgtcactct	120
taagaaggga cggggcccca cgctgcgcac ccgcgggttt gctatggcga tgagcagcgg	180
 cggcagtggt ggcggcggtcc cggagcagga ggattccgtg ctgttccggc gcggcacagg	 240
ccaggtgagg tcgcagccag tgcagtctcc ctattagcgc tctcagcacc cttctccgg	300
cccaactctc cttecgcagc ctcggacag catcaagtcg atccgctcac tggagtttg	360

gtccgcgtt ttctacgtct ttcccactc cgttccctgc gaaccacatc cgcaagctcc	420
ttcctcgagc agttgggct ctttgatagc gttgagtggaa ggcctgccg cgacttggca	480
gtagttatt ttgttcactc ctctctggct ggtgtgggg aggtggggc attaggccag	540
ggtaaggcag gggaaacctt taggagtctg ttaagatgtat ctgaacttca gaacaagatg	600
ttataaacatc agtggaaagta ttggattct gggtatattt taaaatcgga ggcaacaggt	660
ttttcagata gattcgataa cggaggatc cctgaatagt taaaagata aagtgcctt	720
ttgctgaggt gggaaagaga agattgccag tagacgggt ttctcaggag ttcagtcgg	780
ggcatagcat ggtgggtg aatttggctg gagtgagttg gagatggaa gaagagaaat	840
ccaaggcaac atttgaccag cctggcaac atatgtcac tcggatctg caaaaattag	900
acgggttgtg tggtgcgctg ctgtggctc agtacctgg aaggttcagg ctttggagg	960
ctcaggagg tggaggctgc agtgatctgt gattggcct ctgcacttca gcctggcga	1020
cagagccaga ccctgtctta aaacaaaata aacggccggg cgccgtggct caaggctgt	1080
atcccagcac ttgggaggc cgaggccgc ggttacaag gtctggatcg cgagaccatc	1140
ctggctaaca cggtaaaccc cctgtctac tacaataca aaaaatttgc cggcgtgg	1200
gacggccgc ttagtccca gctactcggtt aggctgaggc aggaaatgt catgaagccg	1260
ggaggccggag ctgcgttgcgatcg cgccactgca ctccagctg ggcgtatagag	1320
caagactccg tctcaataaa ataaataat aaataaataa ataataaaaa catcggttgg	1380
catatcaa ggaattctat taaaaaaaaa ttttttttaga gacaagttcg ctctctgtgg	1440
ccaggctgg agtacagtgg catgtccta gcccattggca gcgttgcattt ctggcctca	1500
agcgaccctc ctggagtc gctggccta aaggagtggcc ccaccacgaa atttttttat	1560
aatggaggg tagagaaattt gggcaataaa tggaggggg agtgatggaa gagaaatttt	1620
aattatgtgt gtgtggttt aaaagagggg ggttgcgtc ttttgcctgg gctgtgggg	1680
tgccagtggc gcaatcatga atcactacag cttggactc ctggcctaa gctatctcc	1740
cacctctgcc tccaaagta ctggattac tagtgatgc cactgacta agataggagc	1800
aacatgttca agcatgtttt tgggttgata ggaaagatga gaatggaaa gttgtatcg	1860
gaaagaagac aatggctaga gcaatgtctt agatggatg agaaggatg gattggcct	1920
ttgttgaaa cattagcggt tctttgggtt acagctatat agttaacaca tctatgatac	1980
gtgaatgggc agataggatg gcaggagatt ttgaaatgtc tcttgcattt tactgttctc	2040
ttagtggaaag aagcaagggtt atcagctaga agctggatg ggagggaaa gagaatgg	2100
gaagtagata gttttttaga agatggcagc aggttggac tagggaaatg tagtggaaat	2160
attgttaggc aacataaaga gcctacttga gattcgttgtt catgatgtga aggagaccag	2220

acagcaagat tgtgtatgag ggcacccaca gagtaaatgg agagttgaaa ttaatgcagt	2280
tgtgattta ccacgtggat atgaagaagt gagggggaga agtacaaagg agttcttta	2340
atgattgacc atggaattta agctggctaa gaaaggaagt gagaggccgg gcgccgtggc	2400
tcacgcctgt aatcccagca ctttggaga ctgaggtgg tggattacct gaggtcagga	2460
gtttgagacc aacctggccg atatggcga accccatctc taataaaaat acagaaaaat	2520
tagccggaa tggtgtgcagg tgcctgtat cccagctact caagaggctg tggcaggagt	2580
atcccttggaa cccaggaggt ggaggttgca gtgagccgag atcacccac tgtactccag	2640
cctggacgat atagtgagac ttcacctcaa aaaaaaaaaa aaagaaagga agtgaggatt	2700
ttaagaccct gagagacagt taaaaaagtggaggatcgccggcgctgtggctgacac	2760
ctgtaatccc agcactttgg gaggccgagt tggcgacatc acaaggtcag gagttcgaga	2820
ccagcctggc caatatggtg aaaccttgc tctactaaaa atacaaaaat tagccggca	2880
tgggtcactg tgtctataat cccagctact cgggaggctg aggcaaaaa attgcttga	2940
cctgggaggc agaggttgca gacagcttag atcactccat tgcactccag cctggcaac	3000
aagagcaaaa ctttgtcttt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaaag aatacaaaaa ttagccggc	3060
gtggtggcgc gtgcctataa tccagctac ttgggaggct gaggcaggag aatcagtta	3120
acacgggagg cgagggttgc agtgagccga gattgcgcctgcactcca gcctggcga	3180
cagagcagga ctccctttgg aaaaaaaaaa ttagctggc atggtggcag gtgcctgttag	3240
tctcagctac tagggaggct gaggcaggaa aatcacttgc acccggatg tggagttgc	3300
agtgaccgcgatcgccatcgactcca tcctggcga caaatgaga ctctgcctca	3360
aaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaag tgggaggatc aatgtactgc cagtcctaat gaagtggaa	3420
gattgtcccc atcaaatac tagtaggat aagttgcaga gcctagaagg tgatggtaa	3480
gagagtggaa ttcttgaac tgcattatg gagaggttgt gtttatgg tataataat	3540
aaatacagtt gaagtgagtg agtagcttagtattggat gtatcagttc attcttacac	3600
tgctacaaag acataacctga gaccaggat ttataaagat aagaggtttta atcagctcac	3660
agttctgctgcctgtacagg cttctttgttggaggctaa ggaaacttac agtcatggtg	3720
gaaggtgaag gggaaacaag cacagtcttc acatggccag caggagagag agagaagggg	3780
gaagtgcataatttaaa acaaccagat cttgtgagaa cgcttatcag gaaacagcac	3840
ttgggatgg tgctaaatca ttagaaatca ccccatgat ccagtcgcct cctaccatgc	3900
ccacccctcaa cactgggat cacaattcag catgagattt ggtaggaac acagagctgc	3960

accacatcg aggatgtaca agattgtggt ggagaggagt ttagagacct gcaaata tag	4020
gttaattgaa gggatcatct acatggatat ttAAATCACC AAAAATTATG ACAGGAGTAG	4080
tgttgagag agaactgcga tgtaaacatt aaggaatgag gaagagtgac tcggtagct	4140
gttaggigact gcaataggaa acgataata gactgtgagtc tggtgacaag atttccitc	4200
tttctttt tccccccc cgagacaggg cctctttt tgcccaggt gggagtgcag	4260
tggcgcgatc acggctact acaacctct cccaagctca agggattctc ccactcagc	4320
ctctcaagta gctggaacta caggtgctga ccaccatgcc tggctacttt ttgtcaggat	4380
tttcaaggct gggaaatttt agagggaaat ggaggagaat aatctgaaag tgcaagta ag	4440
gagcaggaa gattctttt ttctttttt tttttttttt tgagtccggag tctggctcag	4500
tgcggccaggc tggagtgcag tggcgagatc tccgctact gcaagctccg cctcccggt	4560
tcacgeccatt ctctcccttc agcctccga gtagctggta ctacaggcgc ccgcaccac	4620
gcccagctaa ttgtttttt gtatTTTt tagagacggg gtttaccgt gttagccagg	4680
atggctcaa tctctgtact ttgtgatccg cccacccgg cctcccaaag cgcttggat	4740
tacaggcgtg agccaccgcg ccagccagag caggaaagat ttctccca catctccagt	4800
aggtacagtg atatgaagtg tgtggaggag aaaagaggaa acatctatca tttgagatgg	4860
ctgcgaaagg aaaaggcatc ctcaggagc tagatTTAC tttagagcaag aaatgaagg	4920
atgattcaga ggtaaaaga gtggattttt tgaattactc aaggagcac agtggaaagt	4980
tcaggaagtg gtggagaag gtggaaatg gcagggtttt gggataatt tgagaaatct	5040
gagctactgg aaatgactga gaatcagata taaaggcagt cctggggcgc cggtctggct	5100
gccgttgctg tggaaacat ctgccaaac ttgtggctt gaaacaacaa agaacatTTT	5160
attatctctc attgtttctg tgggttagga atttgtgaga gccgtgctgg gcagtTTTcg	5220
tgcggctgtc tcgtgggtgc acctacatag ttgttagagc tacagttagct gggactgag	5280
cagcttaggaa ttggcaggct atctttttt ttcatgttagt ctcatgaaga ttctttatg	5340
tggtttcaat gtgtggctg gttggattt cttatagca tggggcctc agttggattt	5400
ctgtttgtt atcctttca tccctccttgc ttctgtcccc agacaaccac tgatctactt	5460
tctgtcacca tagattagcc tgcatttttta agaattttta taaacgtgga atgatagagt	5520
accttttttgc tcaatTTCT ttatTTATC atagctatTT tgatTTCTT ccattttatt	5580
gctgagtagt atccattgc atgtatatac tatactgtat tcattcgctt gcttgtgaac	5640
atttgggctt ttccagttt gggactgtta acaagtagag ccactatgaa tattagtgtat	5700
taagacttca tatagccaa gctggcagat cgcttgagcc caggagttt agaccagct	5760
gggaaacatg gtgaaacctc tattttattt ttaaaatcaa aaattaaaaa ttttctataa	5820

aaaatttaa agaagactt gtatagacat acgcttcat tttcttgag tgaatactta	5880
ggtctcagg tagatgtatt ttaagtctt aaggagctgt caaactcttc ctcaaagtgg	5940
tggtgttacc atgttacttt ttaatataac agagattaat tgagcaaaga aaaattcaaa	6000
agttggacag cccccacaac taaatagtt cagaacagct ccccatttt gcattitgac	6060
cagcaatgta tgaaggttcc atttgcttag tgcctcgca aacacctggg atggcagtc	6120
tttttaattt taggcattat aatagatata gtggcttctt gtgattttaa ttgcatttc	6180
ctaattgacca gtgctgctgt tgcattttc atgagtgtat ttgcattccg tatactttt	6240
ttggtaagt gctattcaa atcatttggg tttttttt tttgtttt ttttttggaa	6300
gacagtgct cactctgtca cccaggctgt tgcagttgg tgcattcaca cagctactg	6360
cagcctccac ctccctgcgt cagtcttctt gtctcagcct tctgagtagc tgaattacg	6420
agcacacgccc acaatgcctg gctaattttt taaaattttt tagaaacaag gtctcattat	6480
gttgcctggg ctgtcgtga actcctggc tcaagcaatc ttccgcctc agcctccaa	6540
agattggat tcaagatgt agccactgca cccggccaac ttaccatct ttatggaa	6600
ttttttgtt gtgagggtt gagagtttt catgtttgtt gggtaataata tctttatcag	6660
ataggtaact tgcattgtt ttctccggc ttacactttt gttttcatt ttgttaacaa	6720
cgttttttta agaacagaaa atcttaattt tgctgaaatc taattttca gtttttctt	6780
tgtatggttt gagagaggag gtaaaaaaaag actaggtaag ccgatagttt gacagagtcc	6840
tcggtagaac ttcccttcta acaaaaagca gcccagaaaa tcacttctt tctaacaagg	6900
agcagcctgg aagatcgggc tgtaaacatg tataaggaag cagctctggc acagaggggg	6960
agctcctgg gtaatcagca agcttcacat acgttacat acgttacat ggtatgtgaa gtaaacacag	7020
tatgtgaagt aaacacagt gaccttagta catactcaga taaggaagct ggaagcttgc	7080
atgttgtgag ttgtgggt tgcctgcage tgcacggaga gaaagggtt cctggggcca	7140
ggcatgtcca ccatggtgcc tccacccccc cttatggc acatgcacaa tagggaaagag	7200
ataagcaatg tggatgtact caggccaagg acctgcctgc ataataaaag gttgggggtgg	7260
gggatgccag agattcacgc tctgtgcaga tggcaacacc tggcctaact gggtttttt	7320
ctccctatgt gtagataagc tacccttc ccattagctc atttataaaa atgcttgcat	7380
ttcactgtgg aatggaaact ctttcagga cctctctgt caggagagag ctgtctttt	7440
tctttgcct attaaacttc tgctctagcc tcacaccctt ggtgtgtcag cgtccctgat	7500
ttcctcagcg tgagaccaag aacctcggtt gccacccag gcaacaaggc catttcgtt	7560
tgttctttt ttagggcaatccatgtact cagattttc tctttttt ttttttacac	7620
agtttagagt tttagtttta cacttagtgc tgtaatccat tttgttattaa ttcttatatg	7680

tggctcagtg taggtggaaa ttgggttgtt tttgcataa ggatttccaa tagtttacc	7740
accatttcctt gaaactacta tgctttctct attaaaccac atttctaact ttagttaaaa	7800
tcagtcacat atatcacagg gctatttcg actctcaatt ctgttacatt gtctattagt	7860
gtatattgtt gtcagacta cactttaat tactattgct tcagggatg tcttggaaac	7920
caaaaataaaa attataggcc ccccccgcctt ctgcacaacc aactgaatgg acccatcctc	7980
tcagccaagg gcattccaaa attaacctga aaaactagtt caagccatga tgggaagggg	8040
gagttggaca tgtctcatca caccctacta cctttggaa ttactgatag aacagactct	8100
taaagtctga aaagaaacat ttacaaccta ccctctctga agcctgctac ctggagctt	8160
catctgcattg ataaaacctt ggtctccaca accccttatg gtaacccaaa cattccttc	8220
tgttgataat aactcttca actagttgcc aatttagaaaa tctttaaatc ttcctatgac	8280
ctagaaacctt ccctcccccc actttgagtt gtcctgcctt tcctgacaga actcatgtac	8340
atcttacata tattgattga tgcctcatgt ctccctaaaa tgtataaaaac aaagctgtac	8400
ccaccaccc tggggacatg tcatcaggac ctccctgtggc tgcgtcatag gagcgtctt	8460
aacttggca aaataaaactt tctaaattga ttgaaacctg tcttagctac ttctgggta	8520
cagtcattaa gttagataat gtaaattgtc cagcttggt ttattttgtt ccttagtagt	8580
tccatataaa tttagaatc agctttcaa ttaatacacac tactttctc ttagatccac	8640
aattaaatat atttgatgct aacaattctg ttttatgttt ttcgtttttt tttttigaga	8700
caagagtttc gctcttggc cccaggctgg agtgcagtg cgcgatctg gtcaccaca	8760
acctccaccc cccaggttca agcaattttt ctgcctcagc ctcccgagta gctgggatta	8820
caggcatgctg ccaccacgccc cggcttaattt tgtatttta gtagagacgg ggtttcacca	8880
tgttgatcag gctggcttg aactcctgac ctcaggtgat ccaccaccc tggcctccca	8940
aagtgttggg attacaggcg tgaaccacca tgcctggcca gttctgttat tttaaaacc	9000
caagtttccc tggtcataatc ttgggtggat gaagcgtatt ttcaatagat taccctggaa	9060
aggcttagtga gtacggattt cttctacatt ttagactttt ctttagtctg ctacttcaag	9120
gacagctagg ctgcatataa aattcttggc tcatactttt tccccataaa tttctatgag	9180
aaagtctaat gataactgat ttctttttt ttgtactta gtcctttgc ttagaggctc	9240
tctgaggatg ggagggggtt cttccctcca tccctaggaa tttttctttt ttttaaaattc	9300
ctaatcacta gaccaccagg aagattgtttt gtttttattt gtttttattt ttcagggacc	9360
ccatttatac atacgttaaa taaatactgt ttgccaatgt atcaaccattt ttgcttta	9420

tttattttg ttcccttggt tcttttcat ggcttgctt tggtgctcct tagatttca	9480
gtcagatgtta ttgtccttg ggtaccttg aatcagtatt acctttctt ctgtcgctt	9540
gtttctgtt cgaaaaaa ttacttgtt cctggctgg caataacagt tgagatatga	9600
ggagtttagt ctgccatctg tctatgtatc ttgccttaag actgcactct tctatigata	9660
tcactggcct tgatttgtt atttcttat ttcttcagga ccaccctca ttttctactg	9720
tttgcttcct tttttttga gatggagtct cactctgtca ctcaaggctgg agtgcagtga	9780
tcttggctca ttgcaacctc tgcctccgg gttccagcaa ttctcctgcc tcagccccc	9840
aagtagatctgg gactacaggt gtgcaccacc atgcccggct aagttttgtta ttttaatag	9900
agacggggtt ttgccacatt ggcaggctgg tctcaaactc ctgatgtcaa gtgatccacc	9960
caccccccc accctctgcat cccaaagtgc tgggattaca ggaatgagct gccgtgccca	10020
gcctcccccc taccccctt ttttcttc gagacagaga ttataggtgt gagccactgg	10080
acccagcctg ttttattcc ttttacaaa tctccaagga atatctccc ttccaagtgc	10140
aatgttaacc ttaagtcaagt taacctttt gtgattactt ttcttatctg caaagtgact	10200
taatgatctt aagtactttt tttttttag acagggtctc actgtcaccc tggctggagt	10260
gcagtggcac gatctctgat ctccactcac tgcaatctcc tttccctgg ttcaagcggc	10320
cctcccacct tagcctctg ggtagctggg actacagatg tgaaccacca cgcccgacta	10380
attttgcac tttttgtaga gatgggttt tgccatgtt cccaggctgg gattattaag	10440
tacttttat catacagcaa gattgacatt ttatattgga atacatttgt ctctatataa	10500
cggagattaa cagggaaatg acaagcctgg gtgcggtgcc tcatgcctgt aatcccagca	10560
ctttgggagg ctgaggtggg aggtactt gaggtcagga gttcgagacc agtttgcca	10620
agatgatgaa agcccatgtc tactaaaaat acaaaaatata gcccagcttg atggtggcgc	10680
cctataatcc cagctatttg agagactgag gcaggagaat cacttgaacc tggcagcag	10740
aggttgcagt gagccgagat catgccactg cactccagcc tgggtggcat agcgagactc	10800
ttgtctcaag agaaaaacaaa acaaaaacaaa aaaaaaacag gaaaatgaca aaaagtaata	10860
ttacaactca gtgaattttta taacaaactt ttttggatt cattgactaa tactatacca	10920
aatccaaat actctctagt ataccaaatac caactctacc ctatagtata aattggattc	10980
tatttggact tgtctacta atccctata cagtggtttt tattttttat tgaagtaaaa	11040
aaatttgcata tttaaccat tttaagtat atagttcaagt aatattaagt atgttcatgt	11100
tgttgcgcaa tagatcttcg gaagttttc gtctgcaac ctgaaactct acccattagc	11160
aaattccat ttctccttac acttagccct tggtaatcat cattttttt tttttttttt	11220
tgagatggag ttttactctt gttgccagg ctggagtgc atggtgcaat ctgcactcac	11280

cacaacctcc gcctcccagg ttcaagcaat tctacctcag cctcccgagt agctgggatt	11340
acagtcatgc accaccacgc ccggctaatt ttgtatTTT agtagagaag gggttctcc	11400
atgttgaggc tggctcgaa ctcctgacct caggtgatct gcccacctcg gcctccaaa	11460
tgctggat tacaggcgtg agccactcg cctggccat tctttcaat tctataaatt	11520
tgactactta gttacccctac ataaataaaat tcttatAGTT agtGTTATTT ttGCTTCCAT	11580
gcctttttg ttGTTGTTCA tgctcttact tggaatgcgt tctatTTGT ctacctatgc	11640
acatccctgtt gggTTTTTT TTTTTGGG ggTTTTTTT GTTTTTTTT GTTTTTTT	11700
cccagacaag gtctcaattt gttacccagg ctggagtgca gggcgccat ctccactcac	11760
tgcattctca acttcctggg cccaggtat cctctcgct cagccccgtc aggttagctgg	11820
gactataggc atgtgccacc atgcccagct aaatttggtt tttttttttt tttttttt	11880
agacagagtc tcactctgtc acccaggtgt gagtgcagtgc gcacaatctc agctcactgc	11940
aatctctgcc gcccgggTTC aagtgattct cctgcctcag cctcccaagc agctgggatt	12000
acaggtgact gccaccacgc cagctaagtt ttgtatTTT agtagagatg gggttccacc	12060
ttgttggcca tgctggctc gaactcctga cctcgatc tgctgcttc tgccctccaa	12120
agtgtggaa ttacaggcat gagccaccac gcccggccag aattttgtt ttttttagtag	12180
acacaaggTTT cttaaccctgt tgccttaggt ggtctggaaag tcctggactc aagcaattca	12240
cctgccttgg cctcccaaaa tgctggatt acaagccacc atgcccggcc taaatcctgt	12300
tgtttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt acagagtctc	12360
gctatgtctc tcaggctgta gtgcagtggc gcgatcttgg ctcaactgcca cctctgcctc	12420
ccaggttcaa gtgattctcc tgccctcagcc tcccaagtag ctgggattac aggcatgtgc	12480
tactatgtcc ggctaatTTT ttttttttta gtagagacag ggTTTcacca tgTTTggccag	12540
gctggctcg aactcctgac ctcgtatcc acccacctcg gccaccAAAGA gtgtggat	12600
tacaggcgtg agttttttttt attttttttt ccggTTTCTT ccatatgtatc ttgcagtata	12660
cattaatttc ttccctttt aattttttttt aattttttttt aattttttttt aattttttttt	12720
aagattttttt ttatattttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	12780
gataataact ggagagtacc atgtttctat atatctctca gtgacttgca cagtgcgtac	12840
agatagtgtc aaaaaattat ttattttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	12900
agacagggtc ttccctctgtc acccaggcttta gaggcataatg ggatgtatc agcttactgc	12960
agcctccaaac aactgggctc atgttaattct cctgcctcag cttcccaagt agctgggatt	13020
acaggcatgtc gccaccatgtt ctggacaaaa atattccag gtgcagtggc tcatgcctgt	13080
aattcccaaca ctggggaggc cgagcgaggc tggaggatca ctggggcata ggagtcaag	13140

accagcttgg ctaagatggc gagaccccg tccataaaaa aattttaaaa actagccagg	13200
catggtgca tgcacctata ttccaaacta ctcaagtggc tgaggtggga gggtcatttg	13260
aacacaggaa tttaggggaa gaaaaaaaaa agagagaaaag agaagtgaag gaaggaagaa	13320
aggaaggagg gagggagaga agaaagaaac gaaagaaagg aaaagaaaag gaaggaaaga	13380
aaatgttac caggaagca ggaaaggaa atggaagtaa aaaataata ataataataa	13440
aatgaaaatt gtttagtcac tattaacaat ttgtatcctt ataatctgga aacattataa	13500
tttcaaaaaga aaaaatattc ttggatcat aggttctgag gtcagaacag cattccgt	13560
gtcttagatga agtcaagttt tatctgatct taattgaaat aaatatagct ggccttgaac	13620
aaatctactc atggtatgtg gataggaatt aaattgtagg ggcattcact tgcgttgcatt	13680
cattcttgc acatttacct atgtcttagct tttaggatgaa agtcacataa cctctaacc	13740
ggtaagtttc ctgtggcttt atttaggatt ttaaatactc atttcagtg taattttgtt	13800
atgtgtggat taagatgact ctggacta acatacattt tctgataaa cctatctgaa	13860
catgagttgt ttttatttct tacccttcc agagcgatga ttctgacatt tggatgata	13920
cagcactgat aaaagcatat gataaagctg tggcttcatt taaggtatga aatgcttgct	13980
tagtcgtttt ctatatttct cgttattcat ttggaaagga attgataaca tacgataaag	14040
tgttaaagta catgttattc agtttcatt ttgaagatata gatggtagta tgagtttgtt	14100
aaatcagggt atatccctt ttagaaggta atagctata ttagtcatcc tttgtggagg	14160
caatttaat aaaatttaaa acatttattc ctggctgggt atggtggtc actccgtaa	14220
tcccagcaact tttagaggct gaggcggtt gatcacatg ggtcaggagt ttgagaccag	14280
cctggccaac atggtaaac cccgttttta ctaaaaatac aaaaatttagc caagcatggt	14340
ggcacgtgcc ttagatccc gctgcttggg acactgaggc aggagaattt cttgaacctg	14400
ggggcagag gttgcaatga ttgcaccact gcactccagc ctggcgata gagtgagact	14460
ccatctcaga aaacgaacaa acaatgtatt ctttttagta ttttacatt gtatcaaact	14520
atggaaagtcc tctaattttagg attaataaga aaaagacaat ctgaattata atttaaaca	14580
tttaacaagc atgttagtaaa ataatgtga agataaatag cattgtaca gcaattaata	14640
ttttagcat gctgacagtgc tctgtgtgc gtttcatata ttaaattact ctaatcatcc	14700
caaatccgtt aagttggta tcaattcaag tggcttattt gggtaggaat atacagtct	14760
tttagggaaat gtatgtatgtt tctgtgtc aaacaggaca cttacacagt tggccaacat	14820
catcaccttc tccattcttctt gagatgttta gtcttactga gcactaaata tgggtcatca	14880

atagtcaga ctacccgag caaacatag tccagactac cttgagcaaa cagagcatat	14940
actcatacag tgtataaaga gcaccaagca tacagattc atgtcttct catagttact	15000
cttgcatacat gagctaaaga tcagacctct atgtcacctt tgtaactgtat ttcttagattt	15060
ttttttttt ttgagatggg gtcgtgcctt gtcaccagg ctggagtgtat gtggcgat	15120
catgcctcat tggacccttc aactcatgtat ctcaaaacaat ctcctaccc cagttcctg	15180
atgttgttggg accacaggtg tggccacca cacccagctc attttgtat tcttgtaga	15240
gatgcgtct caccctgttg cccacgctgg cctggaaactc ctgagctaa aagatccctc	15300
cgccttgacc ttccaaagtgtt cttggattac aagcatgaac cactgcaccc ggccttagatt	15360
ttaaatgtt ctgtccagta tacactgaaa ctagaagtcg actaaagaat tccaagaga	15420
attctataaa atagagattt aatggggctt cgatgtggat tgggttggat atattgcagg	15480
gagaagtaat ctgagtaaag gaggaaaaga actgattttgg gaaaacgata gtttttagtag	15540
ttagttttagt tatgaattaa gttgagattt aatttgaattt aagttgaggt tgaatatgaa	15600
ttaagtttagt gttgagttt aggtatgaat taagatgtat aattgtatcat tggaaatgtt	15660
agatttgagaa aagtccacgc tggattaata gcttcagaag tgggttgca gacagttgca	15720
actaaagtaa taagaataga tggccttggc cgggcgcgggt ggctcacgcc tgtaatccca	15780
gtactttggg aggtcgaggc gagcaatca cgaggtcagg agttcaagac cagcctggcc	15840
cacatggtaa aaccccgctt ttattaaaaa tacaaaaattt agctgtgcac agtggtgac	15900
gcctgtataat ccagctactc gggaggctga gacaggagaa tcgcttgcac ctggaggtg	15960
gagggttgcag ttagctgaga tcagttgtac tgcactccag cccgggtaca gagttagact	16020
ctgtgtaaaa aaataaaaata aataaaaataa tggccgtaaag caagtaaaga aggatggcca	16080
gctcttattt ggaatgccta aatctaaggc ttgtatcaga gtaatgaaac cgttggggcc	16140
ctacattgtt atgacatcca aaggccatg aatatcagga agaaagataa ttaacagggt	16200
ctaattttac agagagggtt agagcaagga gatttgcattt aaagggtctt tagagctgtat	16260
gtcagggtgtt ttagtgcctt aagaggatttt ttatgtgc aggggttggt caaaagagaa	16320
aatagggtgtt ttctgagggtt acggaggcattt gagactagttt tataatgtat actgggttat	16380
gtcgtgtactt ttattctgtt caccaccctt taacatgtac attttattt ctatcccgt	16440
agcatgctt aaagaatggt gacatttgcgaa aacttcggg taaacccaaa accacaccta	16500
aaagaaaaacc tgtaagaag aataaaaagcc aaaagaagaa tactgcagct tccttacaac	16560
aggtttattttt aaaaatgttga gatgttactt caaaggatgtt ctcattttgtt cttttttttt	16620
agtgtaaaat gtctttactt taagtgtttaat gtacagtgtt tctattgtaca tataacttata	16680
caacttcaaa aacaactattt aaatttctgtt ttatgttgcatacatgtat tagtcatgaa	16740

agtataaaga attagatggg aatgataaat gctaaatca ggacatgtgt tccatttg	16800
aatggaaggc agggagaagg tgccgttgg aaggagtacc caagagccgt aagctgaatt	16860
ggcagtgtt tacatctta gctgagagat agatttttt ttccccttt tcttaaaaa	16920
ctctaaaact gttaattcca aggaacccag aagtcttaggt agattatttc tgctagttaa	16980
aagcagtagt cctgaaagct gaatatttg gtgtctttg agccaaacctt agttcatca	17040
ttaccaaggg ggaagagagc taacagttga tgagcacttg ctctaggcca gtccagagt	17100
ctggcacca tacgcattt atctccctcc cgctattcac aacaaatatg ggaggtatt	17160
tatattatag ccataataa agatgggaa actaagactc aaagagattc agaaacttgt	17220
ccatgattt aatgttaaga gagttgaat tcagattt gtattnagac cccaaaggctt	17280
tctcattaca tcatttgcc ttccaaatct ctaccctcta tccttcaccc cccactgat	17340
caaaacgaga ttagattttgc ccctttcaa aagaaatgtg tgcattgtata tatctttgat	17400
ttctttgtt gtggaaagtt ggggacaaat gttctgccat ttggtcagaa gacggttgca	17460
tttaccgc taccattgtc tcaattgatt ttaagagaga aacctgtttt gtggtttaca	17520
ctggatatgg aaatagagag gagcaaaatc tgccgatct actttccccca atctgtgaag	17580
tagctaataa tatagaacaa aatgtcaag aggtttaggt aaaaaaaaaaaa aaaaattcaa	17640
tttctggaaag cagagactag atgagaaact gttaaacagt atacacagt gtcagttga	17700
tccaccgagg cattaatttt ttcttaatca cacccttata aaaaaaacct gcataaaaa	17760
tcttttaaa gaatgaaaat gaaagccaaat tttcaacaga tgaaagttagt gactccagg	17820
ctcctggaaa taaatcagat aacatcaagc ccaaattcgc tccatggaaat tctttctcc	17880
c当地ccaccacc ccccatgca gggccaaagac tgggaccagg aaaggtaaac ctcttatgaa	17940
agttttccag aaaatagttt atgtcggttccatc attaacctc tctgttaact aattttagc	18000
tctccatgtt aactttgtt gcttaataac acaagaattt ttgaaaagg aaataagata	18060
atgatgcaaa atagtttattt tttttttttt atgttagaca ctgcagtgaa tgcaacaaaa	18120
tactttatataa gaaagattttt tccagtttac tttgtggag tatttaggtat tagactata	18180
attagcacac ttacttaagt tagaaagtat aataatgcgc cggacgcgtt agctcacgc	18240
tgtatccca gcactttggg aggccaaagggt gggccggatca caaggtcagg agatcgagac	18300
catcctggct aacacgggtt aacccatct ctactgaaaa taaaaaaa tttggccggc	18360
gtgtatggccgg gcacccgttag tcccaatctc tcgggaggct gaggcaggag gatgggtgtt	18420
accccccgggg cagagcttgc agttagtcaa gatctgttca ctgcacttca acctggcga	18480
cagaatgaga ctccatctca aaaaaaaa caaaacaaaa caaaaaaaag tgtaataata	18540
atttatcatt agctggatga tatgtgttgc ttccatgtt cacctgtata agatatgtaa	18600

aataagaaca cattatttac atctaataata gataaaatcc tgaggcgctc tcagattgtt	18660
ttgttagagtt caaatgtaaa tattgtttc atttatggc ctttggtta taagtaacag	18720
aaatcaactc taaaaagatt ttattatag gtttagattat gtcatggaac cttaggcct	18780
gtccctttct agttctttg tgtaaagcgg tgattcttc catggaggga atggattta	18840
ggcaattttt ttttttttt cgagatggag tcttgcttg tcgctcaggc tggagtgcag	18900
tggcaccatt tcagctcaact gcaacttcca ctcctgggt tcaagtgatt ctccctgttc	18960
agcctccaa gtagctgaga ttacaggcac ccggccaccac accggctta ttttgttattt	19020
tttagtagaga tgggtttca ccatgttgc caggctggc ttgaactctt gacctcaagt	19080
gatctccccca cttggcctt ccaaagtgtc aggattacag gcgcctagcc taggcagtca	19140
ttttcaaaaa acaagcatga ctcacaaaaa gtttaagat ttctgtgtat aatgttctta	19200
ttgaggctta cattatatta cagttcttg aatctaaaat gatgtaccct cttagaatat	19260
atacatcatg ctccattggc ctcagggggc tgattttat aaggagagat ttgctagtt	19320
tcacaatatg tcctctaagt tggcatgtat agctaaacag gcttcataa aaatatacaa	19380
tttagttaat gaaatttggg atatagtctt ttatgattga aataattttg ctaaatagac	19440
tgtctctgat ttatttagtta atcaccactc ttatttgtt ttacttcctt aatgtctaca	19500
tagaaaggaa atgagaaaaa tccagagggtt gtcatttgac ttatgagtct gtttacttc	19560
aggatitggc acatgaaatt tcacttaatc ttttgatat gtataaaaca aatattctgg	19620
gtaattatattt ttatcctttt ggtttgagt ctttttattt cctatcatat tgaatttgg	19680
aagttatattt tccttgaaa tattccttat agccaggctc aaaattcaat gcccaccac	19740
cgccaccggcc accaccacca ccccaacttac tatcatgctg gctgcctcca ttccctctg	19800
gaccaccagt aagtaaaaaa gagttataggt tagatttgc ttccacatac aatttgataa	19860
tttagcagaat agaggattgtt aaaaatgtcat tgtagaacat cccttggcc agattctaat	19920
gggttagaaat ttgaactaaa cctctgggtt ttgtttgttt ttaatgcctt tctgttaccc	19980
agatgeagtg ctcttgtagt cccaaagtcta agctctaggt tgccttctt cctggcagaa	20040
gttgggtgtct atgcataag gaggttagttc ctgttagaaag ggatttaattt atacctata	20100
taaggaattt gtgttgccc ttcttaggtat agttggatgt tagttctga tgtaactgg	20160
atttctttttt ctttctctt ctttttttt ttttgggtt gaggcagagt tttggccctt	20220
taccccaaggc tggagtgcag tgggtgtgatc tcagctcaca gcaacccctcg ctcctgggt	20280
tcaagcaattt ctgcctcgcc ctcccaagta gctgggattt caggcgactg ccaccacacc	20340

cggctaattt ttgtttatt agtagagatg gggttcacc atgttgccca gactgatctt	20400
gaactcctga cctcaggta tccaccgc ttggcctccc aaagcgctgg gattacaggc	20460
gtgagctgcc gcacccagct gtaaactgga tttctaattgg tagatttttta ggtattaaca	20520
atagataaaa agatactttt tggcatactg tgtatggaa tgggtttaga acagggttc	20580
tacccaagac atttacttaa aatcgccctc gaaatgctat gtgagctgtg tgtgtgtgt	20640
tgtgtgtgtg tgtattaagg aaaagcatga aagtatttat gcttgattttt tttttttac	20700
tcatagcttc atagtgAAC agatacatag tctaaatcaa aatgtttaaa cttttatgt	20760
cacttgtgt ctttcgtcc tcgttaaatt taattttgtt ggtctttgt tggtattgg	20820
tggtttctc caaatgctag ctatgttaag aaatttaagg ccaggtacag tggctcatgc	20880
ctgttaatccc ggcattttag aaggctgagg caggaggatc acttgagctc aggagttga	20940
gaccagtctg gccaacatag caagacctcg tctttgtta gggaaaaaaa aagaattta	21000
agtaggagat tatataagca aaaatacaat taatttccag cattcaactat ataataaaaa	21060
tctccagact ttactttttt gtttactgga tataaacaat atcttttct gtctccagat	21120
aattccccca ccacctccca tatgtccaga ttctcttgat gatgctgatg ctggaaag	21180
tatgttaatt tcatggtaca tgagtggcta tcatactggc tattatatgg taagtaatca	21240
ctcagcatct ttccctgaca attttttgt agttatgtgta ctttgtttg taaattata	21300
aaatactact tgttctctc ttatattac taaaaataa aaataaaaaaa atacaactgt	21360
ctgaggctta aattactctt gcattgtccc taagtataat tttagttat tttaaaaagc	21420
tttcatgcta ttgttagatt attttgatta tacacttttga aattgaaatt atacttttc	21480
taaataatgt tttaatctct gatttgaat tgattgttagg gaatggaaaa gatggataa	21540
tttttcataaa atgaaaaatg aaattctttt tttttttt ttttttttga gacggagtct	21600
tgctctgttg cccaggctgg agtgcaatgg cgtgatctg gtcacagca agctctgcct	21660
cctggattca cgccattctc ctgcctcagc ctcagaggtt gctggacta cagggtgcctg	21720
ccaccacgcc tgcataattt ttgttattttt ttgttaaaga cagggttca ctgtgttagc	21780
caggatggtc tcaatctctt gacccgtga tccaccgc tcggccttcc aagagaaatg	21840
aaattttttt aatgcacaaa gatctgggtt aatgtgtacc acattgaacc ttggggagta	21900
tggcttcaaa ctgtcactt tatacgtag tctcctacgg acatgttcta ttgtattttt	21960
gtcagaacat taaaattat ttatttttt ttatttttt tttttttt gagacggagt	22020
ctcgctctgt cacccaggct ggagtacagt ggcgcagct cggctcaactg caagctccgc	22080
ctcccggtt cacgcatttc tcctgcctca gcctctccga gtagctggaa ctacaggcgc	22140
ccgcccacac gccggctaa ttttttttta tttagtag agacgggtt tcaccgtggt	22200

ctcgatctcc tgacctcgta atccacccgc ctgcgcctcc caaagtgtgg ggattacaag	22260
cgtgagccac cgcccccggc ctaaaattat tttttaaaagt aagctttgtt gcccgttcaa	22320
aattatgtatg ttagatttgta ggcacttgta ttttttagtaa attaatatag aagaaaacaac	22380
tgacttaaag gtgtatgttt ttaaatgtat catctgtgtg tgccccatt aataticttt	22440
ttaaaaaggta aaggccagac atggggcgtt acaactgtaa tcccaacagt ttgtgaggcc	22500
gaggcaggca gatcacttga ggtcaggagt ttgagaccag cctggccaac atgatgaaac	22560
cttgtctcta ctaaaaatac caaaaaaaat ttagccagcc atggggcac atgcctgtaa	22620
tccgagctac ttggggaggct gtggcaggaa aattgtttta atctggggagg cagagggtgc	22680
agttagttga gatgtgtcca ctgcactcca cccttgtga cagagtggaa ttccatctca	22740
aaaaaaaaaaa aaggcctggc acggggcgtc acacctataa tcccaacttggaggtt	22800
gaggcagggtt gatcacttga ggttaggagt tcaggaccag cctggccaac atgggtacta	22860
ctccatttct actaaataca caaaaacttag cccagtggcg ggcagtgtt atcccaacta	22920
ctttagggatgtt tgaggcagga gaatcaacttgg aacctgggg gcagagggtt cagtggccg	22980
agatcacacc gctgcactt accctggca acagagtgg aatttgcggg gggaaaaaaa	23040
agtcacgctt cagttgtgtt agtataacctt tggatatttgcgtt tatgtatcat gaattcctca	23100
ttttatgac caaaaaggtaa taaatcaaca gcttgttattt tggtttggaa tcagtttatct	23160
gactgttaca ctgttggcgtt ttgtttttt taaattatgtt aatatttggaa aaaaatacat	23220
aatgtatata taaatgtttt gttttttttt tttttttttt aactttttttt agaaaataattt	23280
cacatgggtt gcaatggtttacc ttggaaaggta tacaagggtt ctgggcacaa tggctcacgc	23340
ctgttaatccc agcactttgg gaggccaggc caggtggatc acgagggtcag gagatcgaga	23400
ccatcctggc taacatgggtt aaaccccggtt tctactaaaa gtacaaaaac aaatttgcgg	23460
ggcatgttgg cgggcacccctt ttgtcccagc tgctggggag gctgaggccag gagagtggcg	23520
tgaacccagg aggtggagct tgcgtgttgc cggatgttgc ccagtgcact ccagccgttgg	23580
cgacagagcg agactctgttca caaaaaataa aaataaaaaa gaaagtatac aagtcgttgg	23640
ttttggttttt cagttatgttca accatcacta caatttttaa acattttcat cacccaaaaa	23700
agaaaaccctg ttacccat tttcccccagg cctaggcagt cagtagtactt tctgtctcta	23760
tgaatttgttca tatttttagat attatataa aacggaaattt tacgatattgtt ggtttttgtt	23820
gtctggcttc ttccatgttgc catgttattt tcaaggatca tccatgtgtt agaatgcacc	23880
agtactgttca tccttcttgc tgctgttgc tctgtttttt ggtttatca cattttatcc	23940
attcatgttca tcatggacat ttaggtttttt tttttttttt ggctataatg aataatgttgc	24000
ctatgaacat tcgtttgtt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	24060

tttttgttt tgagacagtc ttgctctgtc tcctaagctg gagtgcagt gcatgatctt	24120
ggcttactgc aagctctgcc tcccgggttc acaccattct cctgccttag cccgacaagt	24180
agctggact acaggcgtgt gccaccatgc acggctaatt tttgtattt ttagtagaga	24240
tgggtttca ccgtgttagc caggatggtc tcgatctcct gacctcgta tctgcctgcc	24300
taggcctccc aaagtgcgtt gattacaggc gtgaggccact gcacctggcc ttaagtgttt	24360
ttaatacgtc attgcctaa gctaacaatt cttAACCTT gttctactga agccacgtgg	24420
ttgagatagg ctctgagtct agcttttaac ctctatctt ttgtcttaga aatctaagca	24480
gaatgcaaata gactaagaat aatgttgaaataaacata aaataggta taactttgat	24540
actcattagt aacaatctt tcaatacata ttacggctcg ttaggtgttag attagtaatg	24600
aagtggaaag ccactgcaag ctagtataca tggatggaaa gatagaaagc attgaagcca	24660
gaagagagac agaggacatt tggcttagat ctgacaagaa aaacaaatgt ttttagtatta	24720
attttgact taaaattttt ttttattta gtgaatactg gtgttaatg gtctcatttt	24780
aataagtatg acacaggttag tttaaggta tatattttat ttgtatggaaa taaggtag	24840
gccgggcacg gtggctcaca cctgtaatcc cagcacccggc ggaggccgag gcaggcggat	24900
cacctgaggt cgggagtttag agactagect caacatggag aaacccgtc tctactaaaa	24960
aaaataaaaa attaggcggg cgtggtggtg catgcgtta atcccagcta ctcaggaggc	25020
tgaggcagga gaattgcttg aacctggag gtggagggtg cggtgagccg agatcaccc	25080
attgcactcc agcctggca acaagagcaa aactccatct caaaaaaaaaaaa aaaataaggt	25140
ataaggcccc tcaggaacat cattggacat actgaaagaa gaaaaatcag ctggcgcag	25200
tggctacgc cgtaatccc aacactttgg gaggcaagg caggcgaatc acctgaagtc	25260
gggagttcca gatcagcctg accaacatgg agaaacccctg tctctactaa aaataaaaa	25320
ctagccgggc atggcgcgc atgcctgtaa tcccagctac ttgggaggct gaggcaggag	25380
aattgcttga accgagaagg cggagggtgc ggtgagccaa gattgcacca ttgcactcca	25440
gcctggcaaa caagagcgaa aetccgtctc aaaaaaaaaaaa ggaagaaaaa tattttttta	25500
aattaattag tttatattt ttttaagatg gagtttgcc ctgtcacccca ggctgggtg	25560
caatggtgca atctcggtctc actgcaaccc cccgcctctg ggtcaagtg attctctgc	25620
ctcagcttcc cgatgtctg tgattacagc catatgccac cacgcccagc cagttttgt	25680
ttttttttt tttttttt tttttttt agaggggtgc ttgctctgtc ccccaagctg	25740
gagtgcagcg gcgcgatctt ggctcaactgc aagctctgcc tcccaggttc acaccattct	25800

cttgcctcag cctcccgagt agctgggact acaggtgccccc gccaccacac ccggctaatt	25860
tttttgtt ttttagtagag atggggtttc actgtgttag ccaggatgggt ctgcgtctcc	25920
tgacctttg atccacccgc ctcagcctcc ccaagtgcgtg ggattatagg cgtgagccac	25980
tgtccccgc ctatgtttgt attttttagta gagtcggat ttctccatgt tggtcaggct	26040
gttctccaaa tccgaccta ggtgatccgc ccgccttggc ctccaaaagt gcaaggcaag	26100
gcattacagg catgagccac tgtgaccggc aatgtttta aatttttac atttaaattt	26160
tatTTTTAG agaccaggc tcactctatt gctcaggctg gagtgcaagg gcacattcac	26220
agctcactgc agccttgacc tccagggctc aagcagtccct ctcacccatgtttcccgagt	26280
agctgggact acagtgataa tgccactigca cctggtaat ttttattttt atttatttat	26340
tttttttga gacagagtct tgctctgtca cccaggctgg agtgcagtgg tgtaaatctc	26400
agctcactgc agcctccgc tcctgggttc aagtgattct cctgcctcaa cctccaaagt	26460
agctgggatt agaggtcccc accaccatgc ctggctaatt tttgtactt tcagtagaaaa	26520
cggggttttgc ccatgttggc caggctgttc tcgaactcct gagctcagggt gatccaactg	26580
tctcggcctc ccaaagtgc gggattacag gcgtgagcca ctgtgcctag cctgagccac	26640
cacGCCGCC taatTTTAA atTTTTGTA gagacagggt ctcattatgt tgccagggt	26700
gggtgtcaagc tccaggcttc aagtgatecc cctacccctcg cctccaaag ttgtgggatt	26760
gtaggcatga gccactgcaa gaaaaccta actgcagcct aataatgtt ttcttggga	26820
taactttaa agtacattaa aagactatca acttaatttc tgatcatatt ttgttgaata	26880
aaataagtaa aatgtcttgt gaaacaaaat gcttttaac atccatataa agctatctat	26940
atatacgatctat atatatctat atagcttattt ttTTtaactt cctttatTTT cttacagg	27000
tttttagacaa aatcaaaaag aaggaagggt ctcacattcc ttaaatTAAG gagtaagtct	27060
gccagcatta tggaaagtgaa tcttactttt gtAAAactttt atggTTGTG gaaaacaat	27120
gtttttGAAC attaaaaaag ttcaGATGTT agaaAGTTGA aaggTTAATG taaaacaatc	27180
aatattaaag aatTTGATG cccaaactat tagataaaag gttaatctac atccctacta	27240
gaattctcat acttaactgg ttggTTGTG ggaagaaaca tacTTcaca ataaagagct	27300
ttaggatatg atGCCATTtTt atatcactag taggcagacc agcagacttt tttttattgt	27360
gatATGGGAT AACCTAGGCA tactgcactg tacactctga catatgaagt gctctagtc	27420
agtTTAactg gtGTCcacAG aggacatggT ttaactggaa ttCGTcaAGC ctctggTTCT	27480
aatttctcat ttgcaggaaa tgctggcata gagcagcact aaatgacacc actaaagaaa	27540
cgatcagaca gatctgaaat gtGAAGCGTT atagaagata actggcctca tttttcaaa	27600
atatacaagtg ttggaaaga aaaaaggaag tggaatgggt aactcttctt gattaaagt	27660

tatgtataaa ccaaatgcaa tgtgaaatat ttactggac tctatttga aaaaccatct	27720
gtaaaagact gaggtgggg tgggaggcca gcacgggtgt gaggcagttt agaaaatttg	27780
aatgtggatt agatttgaa tgatatttga taattattgg taattttatg agctgtgaga	27840
agggtgttgt agtttataaa agactgtctt aatttgata cttaaacatt taggaatgaa	27900
gtgttagagt gtcttaaaat gttcaaatg gtttaacaaa atgtatgtga ggcgtatgt	27960
gcacaaatgtt acagaatcta actgggtggac atggctgttc attgtactgt ttttttat	28020
cttctatatg tttaaaagta tataataaaa atattaatt ttttttaaa	28070
<210> 241	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 241	
gtctgccagc attatgaaag	20
<210> 242	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 242	
tctgccagca ttatgaaagt	20
<210> 243	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 243	
tctgccagca ttatgaaag	19
<210> 244	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	

<400> 244	
ctgccagcat tatgaaagtg	20
<210> 245	
<211> 19	
<212>	
> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 245	
ctgccagcat tatgaaagt	19
<210> 246	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 246	
ctgccagcat tatgaaag	18
<210> 247	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 247	
tgccagcatt atgaaaagtga	20
<210> 248	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 248	
tgccagcatt atgaaaagtg	19
<210> 249	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 249	
tgccagcatt atgaaagt	18
<210> 250	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 250	
tgccagcatt atgaaag	17
<210> 251	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 251	
gccagcatta tgaaagtgaa	20
<210> 252	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 252	
gccagcatta tgaaagtga	19
<210> 253	
<211> 18	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 253	
gccagcatta tgaaagtg	18
<210> 254	

<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 254	
gccagcatta tgaaagt	17
<210> 255	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 255	
gccagcatta tgaaag	16
<210> 256	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 256	
ccagcattat gaaagtgaat	20
<210> 257	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 257	
ccagcattat gaaagtga	18
<210> 258	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 258	

ccagcattat gaaagtg	17
<210> 259	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 259	
ccagcattat gaaagt	16
<210> 260	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 260	
ccagcattat gaaag	15
<210> 261	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 261	
cagcattatg aaagtgaatc	20
<210> 262	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 262	
cagcattatg aaagtgaat	19
<210> 263	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	

<400> 263

cagcattatg aaagtga

17

<210> 264

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 264

cagcattatg aaagtga

16

<210> 265

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 265

cagcattatg aaagt

15