



(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.

미국 92010 캘리포니아주 칼스바드 가젤 코트 2855

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 이소영

(54) 발명의 명칭 SMN2 조절을 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 뉴클레오타이드로 구성되고 서열 번호: 3의 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드이며, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오타이드는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오타이드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 링키지와 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 링키지에서 선택되는 것인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 3

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

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 나트륨 염 또는 칼륨 염인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 5

18개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되고 서열 번호: 1의 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드이며, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오타이드는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오타이드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 링키지와 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 링키지에서 선택되는 것인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함하는 것인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 7

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

청구항 8

청구항 5에 있어서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 나트륨 염 또는 칼륨 염인 변형된 올리고뉴클레오타이드.

청구항 9

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

청구항 10

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

청구항 11

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

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 지질 또는 친지성 그룹은

- a. 콜레스테롤, C_{10} - C_{26} 포화된 지방산, C_{10} - C_{26} 불포화된 지방산, C_{10} - C_{26} 알킬, 트리글리세리드, 토크페롤, 또는 콜린산에서 선택된 것;
 - b. 포화된 탄화수소 쇠 또는 불포화된 탄화수소 쇠인 것;
 - c. C_{16} 알킬인 것; 또는
 - d. 포화된 C_{16} 인 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 BIOL0304W0SEQ_ST25.txt 라는 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.

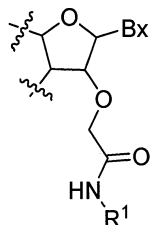
배경 기술

- [0005] **배경**
- [0006] 근위 척수 근위축증(SMA)은 척수 운동 뉴런 손상으로 특징지어지는 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 앉거나 걸을 수 없다. 유형 II SMA는 중간 형태이며, 환자는 앉을 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 SMNdelta7 단백질을 만든다. SMN 단백질은 스플라이스솜(spliceosome)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'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖고, SMN pre-mRNA에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하거나, 또는 이로 구성된 올리고머 화합물을 제공한다. 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 근육 조직에서 세포 흡수 및/또는 약리학적 활성을 증가시킨다. SMN2는 근육 조직에서 발현되기 때문에, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 근육 조직에서 개선된 활성을 가질 것이다.
- [0012] SMN2 pre-mRNA의 프로세싱을 조정하는데 유용한 화합물 및 방법이 본 명세서에서 제공된다. 상기 화합물은 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다. 특정 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 pre-mRNA의 스플라이싱을 조정한다. 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA 조정을 위한 강화된 약리학적 활성을 또한 포함한다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖고, SMN2 pre-mRNA를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티가 없는 변형된 올리고뉴클레오타이드와 비교하여, 엑손 7의 봉입을 증가시킨다.
- [0013] 콘쥬게이트 기와 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물의 치료 용도를 또한 제공한다. 세포 또는 조직에서 선택된 전구체(precursor) 전사체의

프로세싱을 조절하기 위한 약물의 제조용 화합물이 또한 제공된다.

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

[0015] 구체예 1: 14-25개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 상보적이며; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 최소한 하나의 뉴클레오타이드는 구조식 I의 구조를 갖는다:



I

[0016]

[0017] 여기서 Bx는 핵염기이며;

[0018] 그리고 구조식 I의 각 뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드의 최소한 2개의 뉴클레오타이드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.

- [0033] 구체예 16: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 18개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.
- [0034] 구체예 17: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 19개의 뉴클레오시드 각각은 구조식 I로부터 독립적으로 선택된 구조를 갖는다.
- [0035] 구체예 18: 구체예 1-3중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 R¹은 메틸이다.
- [0037] 구체예 20: 구체예 1-19중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 R¹은 구조식 I의 구조를 갖는 모든 뉴클레오시드에서 동일하다.
- [0038] 구체예 21: 14-25개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 상보적이며; 그리고 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 최소한 하나의 뉴클레오시드는 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0039] 구체예 22: 구체예 21의 올리고머 화합물, 여기서 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 각 뉴클레오시드의 당 모이어티는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 및 2'-O-(N-에틸 아세타미드)에서 선택된다.
- [0040] 구체예 23: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 7개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0041] 구체예 24: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 8개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0042] 구체예 25: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 9개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0043] 구체예 26: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 10개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0044] 구체예 27: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 11개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0045] 구체예 28: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 12개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0046] 구체예 29: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 13개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0047] 구체예 30: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 14개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0048] 구체예 31: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 15개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0049] 구체예 32: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 16개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0050] 구체예 33: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 17개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0051] 구체예 34: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 18개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0052] 구체예 35: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 19개 뉴클레

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

- [0053] 구체예 36: 구체예 21 또는 22의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 20개 뉴클레오시드 각각은 독립적으로 선택된 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0054] 구체예 37: 구체예 21-36중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함하는 상기 뉴클레오시드의 최소한 하나의 당 모이어티는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티이다.
- [0055] 구체예 38: 구체예 21-37중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 2'-O-(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'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티의 각각은 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 당 모이어티이다.
- [0057] 구체예 40: 구체예 21-39중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오시드의 각 당 모이어티는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티이다.
- [0058] 구체예 41: 구체예 1-40중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 16-23개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0059] 구체예 42: 구체예 1-40중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 18-20개의 연계된 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0060] 구체예 43: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 16개의 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0061] 구체예 44: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 17개의 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0062] 구체예 45: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 18개의 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0063] 구체예 46: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 19개의 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0064] 구체예 47: 구체예 1-41중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 뉴클레오시드로 구성된다.
- [0065] 구체예 48: 구체예 1-47중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다.
- [0066] 구체예 49: 구체예 1-48중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지를 포함한다.
- [0067] 구체예 50: 구체예 49의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오시드간 링키지는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 링키지이다.
- [0070] 구체예 53: 구체예 1-52중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 변형된 핵염기를 포함한다.
- [0071] 구체예 54: 구체예 1-53중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 최소한 하나의 5-메틸 시토신을 포함한다.
- [0072] 구체예 55: 구체예 1-54중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기는 티민, 5-메틸 시토신, 시토신, 아데닌, 우라실, 및 구아닌에서 선택된다.

- [0073] 구체예 56: 구체예 1-55중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 시토신은 5-메틸 시토신이다.
- [0074] 구체예 57: 구체예 1-56중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각 핵염기는 티민, 5-메틸 시토신, 아데닌, 및 구아닌에서 선택된다.
- [0075] 구체예 58: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 70% 상보적이다.
- [0076] 구체예 59: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 75% 상보적이다.
- [0077] 구체예 60: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 80% 상보적이다.
- [0078] 구체예 61: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 85% 상보적이다.
- [0079] 구체예 62: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 90% 상보적이다.
- [0080] 구체예 63: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 95% 상보적이다.
- [0081] 구체예 64: 구체예 1-57중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA에 최소한 100% 상보적이다.
- [0082] 구체예 65: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 7에 상보적이다.
- [0083] 구체예 66: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA의 ISS-N1에 상보적이다.
- [0084] 구체예 67: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드의 핵 염기 서열은 서열 식별 번호 12-239에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0086] 구체예 69: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7에 상보적이다.
- [0088] 구체예 71: 구체예 1-64의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 6에 상보적이다.
- [0089] 구체예 72: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7에서 엑손 스플라이싱 인헨서에 상보적이다.
- [0090] 구체예 73: 구체예 1-64중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 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 콘주게이트 기를 포함한다.
- [0092] 구체예 75: 구체예 74의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘주게이트 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, C_{10} - C_{26} 불포화된 지방산, C_{10} - C_{26} 알킬, 트리글리세리드, 토크페롤, 또는 콜린산에서 선택된다.

- [0094] 구체예 77: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 포화된 탄화수소 쇠 또는 불포화된 탄화수소 쇠이다.
- [0095] 구체예 78: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C_{16} 지질이다.
- [0096] 구체예 79: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C_{18} 지질이다.
- [0097] 구체예 80: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C_{16} 알킬이다.
- [0098] 구체예 81: 구체예 75-77중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 C_{18} 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 토크페롤이다.
- [0101] 구체예 84: 구체예 76의 올리고머 화합물, 여기서 상기 지질 또는 친지성 그룹은 포화된 C_{16} 이다.
- [0102] 구체예 85: 구체예 74-84중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘주게이트 기는 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 5'-단부에서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드에 부착된다.
- [0103] 구체예 86: 구체예 74-85중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘주게이트 기는 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부에서 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드에 부착된다.
- [0104] 구체예 87: 구체예 74-86중 임의의 하나의 올리고머 화합물, 여기서 상기 콘주게이트 기는 절단가능한 링커를 포함한다.
- [0105] 구체예 88: 구체예 87의 올리고머 화합물, 여기서 상기 절단가능한 링커는 하나 또는 그 이상의 링커 뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0106] 구체예 89: 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드로 구성된 구체예 1-73중 임의의 하나의 올리고머 화합물.
- [0107] 구체예 90: 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드와 콘주게이트 기로 구성된 구체예 74-88중 임의의 하나의 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 콘주게이트 기를 포함한다.
- [0112] 구체예 95: 구체예 1-94중 임의의 하나의 올리고머 화합물과 최소한 하나의 약학적으로 수용가능한 운반체 또는 희석제를 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(intrathecal)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 중추신경계와 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 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 제 2 올리고머 화합물이다.
- [0134] 구체예 117: 구체예 116의 방법, 여기서 상기 제 2 올리고머 화합물의 제 2 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다.
- [0136] 구체예 119: 구체예 118의 올리고머 화합물, 여기서 상기 제 2 올리고뉴클레오타이드의 변형된 당 모이어티는 2'-MOE 당 모이어티이다.
- [0137] 구체예 120: 구체예 111 또는 112의 방법, 여기서 상기 제 2 화합물은 폴리포리노 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드로 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 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드와 콘주게이트를 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 올리고뉴클레오타이드와 콘주게이트 기를 전신으로 투여하고, 그리고(ii) 2'-OMe 및 2'-MOE에서 선택된 변형된 당 모이어티가 포함된 최소한 하나의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 CNS로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0155] 구체예 138: 구체예 137의 방법에서, 여기서 상기 콘주게이트 기는 콜레스테롤, C10-C26 포화된 지방산, C10-C26 불포화된 지방산, C10-C26 알킬, 트리글리세리드, 토크페롤, 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, 특허 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 인코딩하는 DNA로부터 전사된, 모든 엑손, 인트론, 및 해독안된 영역들이 포함된 RNA 서열을 의미한다. 특정 구체예들에서, SMN2를 인코딩하는 DNA는 서열 번호: 240으로 본 명세서에서 참고자료에 편입된, 뉴클레오타이드 19939708_내지 19967777로부터 절두된, GENBANK 수탁 번호 NT_006713.14에서 제공되는 인간 SMN2 게놈 서열을 포함한다. 특정 구체예들에서, SMN2 pre-mRNA는 서열 번호: 10을 포함한다. 서열 번호: 10의 뉴클레오타이드 1-60는 인트론 6의 일부분을 나타내며, 서열 번호: 10의 뉴클레오타이드 61-114는 엑손 7을 나타내고, 그리고 서열 번호: 10의 뉴클레오타이드 115-174는 인트론 7의 일부분을 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 올리고뉴클레오타이드 및 임의로 하나 이상의 추가적인 특징, 가령, 콘주게이트 기 또는 말단 기를 포함하는 화합물을 의미한다.
- [0167] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "안티센스 올리고뉴클레오타이드"는 표적 핵산에 최소한 부분적으로 상보적인 핵염기 서열을 가지는 올리고뉴클레오타이드를 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 콘주게이트 링커 및/또는 절단가능 모이어티를 통해 올리고뉴클레오타이드에 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 콘주게이트 기 또는 콘주게이트 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, 올리고뉴클레오타이드의 언급에서 "상보적(complementary)"이란 이러한 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 최소한 70% 또는 이의 하나 또는 그 이상의 영역들과 또다른 핵산의 핵염기 또는 이의 하나 또는 그 이상의 영역들이 이들 올리고뉴클레오타이드의 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(^mC)과 구아닌(G)을 포함한다. 상보적 올리고뉴클레오타이드 및/또는 핵산은 각각의 뉴클레오타이드에 핵염기 상보성을 가질 필요가 없다. 오히려, 일부 미스매치(mismatches)가 용인된다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드와 관련하여 "완전히 상보적(fully complementary)" 또는 "100% 상보적"이란 이러한 올리고뉴클레오타이드는 또다른 올리고뉴클레오타이드에 상보적이거나, 또는 이 올리고뉴클레오타이드의 각 뉴클레오타이드에서 핵산에 상보적이다.
- [0174] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘주게이트 기(conjugate group)"란 올리고뉴클레오타이드에 직접 또는 간접적으로 부착된 원자 그룹을 의미한다. 콘주게이트 기는 콘주게이트 모이어티, 그리고 올리고뉴클레오타이드에 상기 콘주게이트 모이어티를 부착시키는 콘주게이트 링커를 포함한다.
- [0175] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘주게이트 링커(conjugate linker)"는 콘주게이트 모이어티를 올리고뉴클레오타이드에 연결시키는 최소한 하나의 결합을 포함하는 원자 그룹을 말한다.
- [0176] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "콘주게이트 모이어티(conjugate moiety)"는 콘주게이트 링커를 통하여 올리고뉴클레오타이드에 부착되는 원자 그룹을 말한다.
- [0177] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드와 관련하여 "연접한(contiguous)"은 서로의 바로 옆에 있는 뉴클레오타이드, 핵염기, 당 모이어티, 또는 뉴클레오타이드간 연결을 가리킨다. 예를 들면, "연접한 핵염기(contiguous nucleobases)"는 서열에서 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 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0179] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드와 관련하여 "전부 변형된(fully modified)"이란 각 당 모이어티가 변형된, 변형된 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 변형된 올리고뉴클레오타이드와 관련하여, "균일하게 변형된(Uniformly modified)"이란 각 당 모이어티가 완전히 동일하게 변형된 올리고뉴클레오타이드를 말한다. 예를 들면, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드는 각각 2'-MOE 변형이지만 상이한 핵염기 변형을 가질 수 있고, 뉴클레오타이드간 링키지는 상이할 수 있다.
- [0180] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "갭머(gapmer)"는 변형된 당 모이어티가 포함된 하나 또는 그 이상의 뉴클레오타이드를 갖는 외부 영역들 사이에 위치한 변형안된 당 모이어티를 포함하는 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 내부 영역을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 말하며, 여기서 각 내부 영역에 인접한 외부 영역들의 뉴클레오타이드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 내부 영역은 "갭(gap)"으로 지칭될 수 있고, 외부 영역은 "날개(wing)"로 지칭될 수 있다.
- [0181] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "혼성화(hybridization)"는 상보적 올리고뉴클레오타이드 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

틴형 수소 결합할 수 있다.

- [0182] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "발현 또는 활성의 저해(inhibiting the expression or activity)"란 미처리 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)"는 자연발생적인 포스페이트 뉴클레오시드간 링키지가 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 구체예들에서, 무염기성 뉴클레오시드는 올리고뉴클레오티드에서 하나 또는 2개의 뉴클레오시드에 인접한다.
- [0184] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "Isis 396443"는 다음 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드를 말한다:
- [0185] Tes ¹⁸Ces Aes ¹⁸Ces Tes Tes Tes ¹⁸Ces Aes Tes Aes Aes Tes Ges ¹⁸Ces Tes Ges Ge
- [0186] 여기서 "¹⁸C"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 콘주게이트 모이어티에 직접 또는 간접적으로 연계시키는 뉴클레오시드를 의미한다. 링커-뉴클레오시드는 올리고머 화합물의 콘주게이트 링커 안에 위치한다. 링커-뉴클레오시드는 이들이 비록 상기 올리고뉴클레오티드에 연결하더라도 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 연결 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, 콘주게이트 기 또는 말단 기로 구성된 화합물을 의미한다.

[0199] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)"는 뉴클레오시드간 링크지를 통하여 연계된 뉴클레오시드 가닥을 의미하며, 여기서 각 뉴클레오시드와 뉴클레오시드간 링크지는 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 링크지는 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. 특징의 이러한 담체는 약제 조성물이 예를 들어, 대상이 경구 섭취를 위한 테블릿, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 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 활성은 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 링크지(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 RNAs을 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 과정을 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 비-수소 치환기를 포함하는 퓨라노실 당 을 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 또다른 기, 가령, 뉴클레오시드간 링키지, 콘주게이트 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.

[0214] 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 조절을 위한 강화된 약리학적 활성을 갖는다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드는 엑손 7이 함유된 SMN2 전사체의 백분율을 증가시키는 것을 포함한, SMN2 pre-mRNA 조절을 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 활성은 치료요법적 이익을 제공한다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 근육 조직이 포함된 신체 조직에 강화된 세포 분포를 갖는다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 근육 조직이 포함된 신체 조직에 강화된 세포 분포를 갖는다.

[0217] 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 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'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드는 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 제시되어있다. 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있다. 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티로 변형될 수 있다.

[0220] 하기 표에 있는 임의의 핵염기 서열은 6개 또는 그 이상의 또는 그 이상의 2'-O-(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'-O-(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
CUUUCAUAAUGCUGG	15	13
UUUCAUAAUGCUGGC	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
TGGTGTCATTTAGTGCTGCT	20	30
CATATAATAGCCAGTATGATAGCC	24	31
TCACTTTCATCTGTTGAAACTTGG	24	32
CCUCUGUGGACACCAG	16	33
CUUUCAUAAUGCUGG	15	13
UUAAUUUAAGGAA	13	34
UUAAUUUAAGGAAUGUG	17	35
CACUUUCAUAAUGCUGG	17	36
UUUGAUUUUGUCUAAAACC	19	37
GAUUUUUGUCUAAAACCCUG	19	38
UUUGAUUUUGACUAAAACC	19	39
GAUUUUUGUCUAAAACCCUG	19	40
GCUAUACCAGCGUCGUCAU	19	41
UAGCUUUUAUUGGAUGUUA	19	42
UAAAACCCUGUAAGGAAAA	19	43
UCUAAAACCCUGUAAGGAA	19	44
CUUUCAUAAUGCUGGCAGA	19	45
UCACUUUCAUAAUGCUGGC	19	46
CUUUCUAACAUCUGAACUU	19	47
CAACUUUCUAACAUCUGAA	19	48
UAGCUUUUAUUGGAUGUUA	19	49
GUUUCACAACACAUUUUAC	19	50

[0221]

UUUUGUCUAAUACCCUGUA	19	51
AGGAAUGUGACCACCUUCC	19	52
CUUUCAUAAAAGCUGGCAGA	19	53
UCACUUUCAAAAUGCUGGC	19	54
CUUUCUAAACUUCUGAACUU	19	55
AUUCACUUUCAUAAUGCUGG	20	12
TTTTTGATTTTGTCT	15	56
ATTTAAGGAATGTGA	15	57
ATTCACTTTCATAATGCTG	19	58
ATTCACTTTCATAATGCTGG	20	59
TCCTTTAAAGTATTGTGACC	20	2
TTATATACTTTTAAACATATAGAAGATAG	29	60
AGATTCTCTTGATGATGCTGAATG	24	61
GTTTCAGACAAAATCAAAAAGAAGGA	26	62
TCTATAACGCTTCACATTCAGATCT	26	63
ATGCCAGCATTTCTCCTTAATTTAAGG	27	64
GTCAACCCACCGTGTCTT	20	65
TGGGAACTTTGTCTGCAACA	21	66
CTGGGCCGCGTCT	14	67
CCTCTTACCTCAGTTACAATTTATA	25	68
AAGTCTGCAGGTCTGCCTACTAGTG	25	69
AAGTCTGCAGGTCTGCCTACTAGTG	25	70
AAGTCTGCTGGTCTGCCTAC	20	71
GTTTTCCACAAACCAGCAGACTT	23	72
TTCAACTTTCTAACATCTGAACTTT	25	73
CTAGTAGGGATGTAGATTAACCTTT	25	74
CTAACATCTGCAAACCAGCAGACTT	25	75
CTCCACACAACCAACCAGTTAAGT	25	76
CTAGTAGGTCAAACCATGCAGACTT	25	77
GCGTGGTGGCTCAGGCTAGGCACAG	25	78
TAGCTATATAGACATAGATAGCTAT	25	79
ATAGACATAGATTTGGCTCAGGCTA	25	80
ATGTGAGCACCTTCCTTCTTTTGA	25	81
ATTTAAGGAATGTGA	15	57
TTTTTGATTTTGTCTAAAAC	20	82
AAGGAATGTGATTTTTTGATTTTGT	25	83
AAGGAATGTGATTGATTTTGTCTAA	25	84
CTTTCTAACATCTGAACTTTTTAAA	25	85
CCTTTCAACTTTCTAACATCTGAAC	25	86
ATTAACCTTTCAACTTTCTAACATC	25	87
CTATATATAGATAGTTATTCAACAAA	25	88
TAGATAGCTTTACATTTTACTTATT	25	89
TATGGATGTTAAAAAGCATTTTGT	25	90

[0222]

CTATATATAGATAGCTTTATATGGA	25	91
CATTTTACTTATTTTATTCAACAAA	25	92
GCTTTATATGGACATTTTACTTATT	25	93
GATGTTAAAAAGCGTTTCACAAGAC	25	94
TATATGGATGTTATTATTCAACAAA	25	95
GCATTTTGTTTCACAAGTTATTCAA	25	96
CTATATATAGATAGCGACATTTTAC	25	97
AGATAGCTTTATATGGATTTATTCAA	26	98
CTATATATAGTTATTCAACA	20	99
TTTATATGGATGAAGACATTTTAC	24	100
ATTCACCTTCATAATGCTGG	20	2
CACCTTCATAATGCTGG	17	101
TTTCATAATGCTGG	14	28
CTAGTATTTCTGCAAATGAG	21	102
CCAGCATTTCTGCAAATGAG	21	103
ATGCCAGCATTTCTGCAAATGAGA	25	104
GCTCTATGCCAGCATTTCTGCAAA	25	105
GCTGAGTGATTACTTA	16	106
ATGCTGAGTGATTACT	16	107
AGATGCTGAGTGATTA	16	108
AAAGATGCTGAGTGAT	16	109
GAAAAGATGCTGAGTG	16	110
AGGAAAAGATGCTGAG	16	111
TCAGGAAAAGATGCTG	16	112
TGTCAGGAAAAGATGC	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
CATAACTACAAAAAAA	16	122
CACATAACTACAAAAA	16	123
GTCACATAACTACAAA	16	124
AAGTCACATAACTACA	16	125
CACATAACTACA	12	126
CAAAGTCACATAACTA	16	127
GTCACATAACTA	12	128
AACAAAGTCACATAAC	16	129
AAGTCACATAAC	12	130
AAAACAAAGTCACATA	16	131

[0223]

CAAAGTCACATA	12	132
ACAAAACAAAGTCACA	16	133
AACAAAAGTCACA	12	134
TTACAAAAACAAAGTCA	16	135
ATTACAAAAACAAAGT	16	136
AAATTACAAAAACAAA	16	137
ATAAATTTACAAAACA	16	138
TATAAATTTACAAAAC	16	139
GACATTTTACTTATTT	16	140
AAGACATTTTACTTAT	16	141
ACAAGACATTTTACTT	16	142
TCACAAGACATTTTAC	16	143
TTTCACAAGACATTTT	16	144
GTTTCACAAGACATTT	16	145
TGTTTCACAAGACATT	16	146
TTGTTTCACAAGACAT	16	147
TTTGTTTCACAAGAC	16	148
CATTTTGTTTCACAAG	16	149
AGCATTTTGTTTCACA	16	150
AAAGCATTTTGTTTCA	16	151
TAAAAAGCATTTTGTT	16	152
GTTAAAAAGCATTTTG	16	153
ATGTTAAAAAGCATTT	16	154
TGGATGTTAAAAAGCA	16	155
TATGGATGTTAAAAAG	16	156
TTATATGGATGTTAAA	16	157
GCTTTATATGGATGTT	16	158
TAGCTTTATATGGATG	16	159
GATAGCTTTATATGGA	16	160
TAGATAGCTTTATATG	16	161
TATAGATAGCTTTATA	16	162
TATATAGATAGCTTTA	16	163
TATATATAGATAGCTT	16	164
AAAAACATTTGTTTTC	16	165
TCAAAAACATTTGTTT	16	166
GTTCAAAAACATTTGT	16	167
ATGTTCAAAAACATTT	16	168
AAATGTTCAAAAACAT	16	169
TTAAATGTTCAAAAAC	16	170
TTTTAAATGTTCAAAA	16	171
GTTTTTAAATGTTCAA	16	172
AAGTTTTTAAATGTTT	16	173
TGAAGTTTTTAAATGT	16	174

[0224]

CTGAAGTTTTTAAATG	16	175
TCTGAAGTTTTTAAAT	16	176
CATCTGAAGTTTTTAA	16	177
AACATCTGAAGTTTTT	16	178
CTAACATCTGAAGTTT	16	179
TTCTAACATCTGAAGT	16	180
CTTTCTAACATCTGAA	16	181
AACTTTCTAACATCTG	16	182
TCAACTTTCTAACATC	16	183
TTTCAACTTTCTAACA	16	184
CTTTCAACTTTCTAAC	16	185
CCTTTCAACTTTCTAA	16	186
TTAACCTTTCAACTTT	16	187
CATTAACCTTTCAACT	16	188
AUUCACUUUCAUAAUGCUGG	20	12
GUAAGAUUCACUUUCAUAAUGCUGG	25	189
GAUAGCUAUUAUAGAUAGCUUU	23	190
AUAGAUAGCUAUUAUAGAUAGCUUU	26	191
GAUAGCUAUUAUAGAUAGC	20	192
AUAGAUUAUAGAUAGCUAUU	20	193
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUU	23	194
AUUAACCUUUUAUCUAAUAGUUUUGG	26	195
AAUAGUUUUUGGCAUAAAAU	20	196
AAUAGUUUUUGGCAUAAAAUUCU	23	197
AAUAGUUUUUGGCAUAAAAUUCUUA	26	198
UCUAAUAGUUUUUGGCAUCAA	20	199
UCUAAUAGUUUUUGGCAUAAAAU	23	200
GAUCUGUCUGAUCGUUUCUU	20	201
AUCUUCUAUAACGCUUCACAUUCCA	25	202
UCUAUAACGCUUCACAUUCCAGAUC	25	203
CUUCUAUAACGCUUCACAUUCCAGA	25	204
UUUGUUUCACAAGACAUUUU	20	205
ACCUUCCUUCUUUUUGAUUUUGUCU	25	206
CUGGCAGACUUAUCCUUAAUUUAAGGAAU	30	207
UCCUUCUUUUUGAUUUUGUCU	21	208
CACCUUCCUUCUUUUUGAUU	20	209
ACAACUUUGGGAGGCGGAGG	20	210
AAUCCCAACAUCUUUGGGAGG	20	211
GCUCAUGCCUACAACCCAC	20	212
GCAGUGGCUCAUGCCUACAA	20	213
CAAUUAUUAGGCUGCAGUUA	20	214
TATCCCAAAGAAAACAATTA	20	215
UUUUAUUGUACUUUAAAAGU	20	216

[0225]

AUAGUCUUUAAUGUACUUU	20	217
UAUGAUCAGAAAUUAGUUG	20	218
UAUUCAACAAAUUAGAUCA	20	219
UUUUGGCAUCAAAAUUCUUUAAU	25	220
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUCUUU	25	221
UCUAAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUCUUU	28	222
CCUUUUUUAUCUAAUAGUUUUGGCAUCAAAAU	30	223
AUUAACCUUUUUAUCUAAUAGUUUUGGCAUC	30	224
AUUAACCUUUUUAUCUAAUAGUUUUG	25	225
AUUAACCUUUUUAUCUAAUAG	20	226
UAGAUAACCUUUUUAUCUAAUAG	23	227
AUGUAGAUAACCUUUUUAUCUAAUAG	26	228
GAAUUCUAGUAGGGAUGUAG	20	229
AAAAUGGCAUCAUAUCCUAA	20	230
GAUAUAAAAUGGCAUCAUAUCCUAA	25	231
UAUAAAAUGGCAUCAUAUCC	20	232
GAUAUAAAAUGGCAUCAUAU	20	233
AAUAGUUUUGGCUUCAAUUCU	23	234
AAUAGUUUUGGCAUCAAAAUUUU	23	235
UGGAGCUUGACACCACCCUG	20	236
ACUUGAGACCUUGGAGCUUGA	20	237
UAGGGGGAUCACUUGAGACC	20	238
GAGGCGGAGGUAGGGGGAUC	20	239

[0226]

SMN2 Pre-mRNA 를 표적화하는 올리고머 화합물을 함유하는 특정 NMA

화학적 표기	서열 번호:
$G_{ns}T_{nx}{}^mC_{nx}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	241
$T_{ns}{}^mC_{nx}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	242
$T_{ns}{}^mC_{nx}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	243
${}^mC_{ns}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}G_n$	244
${}^mC_{ns}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	245
${}^mC_{ns}T_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	246
$T_{ns}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	247
$T_{ns}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}G_n$	248
$T_{ns}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	249
$T_{ns}G_{nx}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	250
$G_{ns}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	251
$G_{ns}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	252
$G_{ns}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}G_n$	253
$G_{ns}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	254
$G_{ns}{}^mC_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	255
${}^mC_{ns}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	256
${}^mC_{ns}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	257
${}^mC_{ns}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}G_n$	258
${}^mC_{ns}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	259
${}^mC_{ns}{}^mC_{nx}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{ns}G_n$	260
${}^mC_{ns}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	261
${}^mC_{ns}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	262
${}^mC_{ns}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}A_n$	263
${}^mC_{ns}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_{ns}G_n$	264
${}^mC_{ns}A_{nx}G_{nx}{}^mC_{nx}A_{nx}T_{nx}T_{nx}A_{nx}T_{nx}G_{nx}A_{nx}A_{nx}A_{nx}G_{ns}T_n$	265

[0227]

[0228]

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

지에서 선택된 뉴클레오타이드간 링크지를 나타내며, "n" 은 2'-O-(N-메틸아세타미드) 변형된 뉴클레오타이드를 나타낸다. 윗첨자: C앞에 붙은 "m"은 5-메틸시스테인을 나타낸다.

[0229] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드의 최소한 1, 최소한 2, 최소한 3, 최소한 4, 최소한 5, 또는 최소한 6개의 뉴클레오타이드는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 포함한다.

[0232] 특정 구체예들에서, 본 명세서는 다음의 서열번호중에서 임의의 것으로 선택된 서열로 구성된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드의 최소한 1, 최소한 2, 최소한 3, 최소한 4, 최소한 5, 또는 최소한 6개의 뉴클레오타이드는 2'-O-(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'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드이다. 특정 구체예들에서, CSF로 투여된 안티센스 화합물은 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 콘쥬게이트화안된, 변형된 올리고뉴클레오타이드이다.

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

[0237] 투여는 임의의 순서 및 빈도로 실행할 수 있다. 예를 들면, 대상은 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 전신 투여분량을 제공받을 수 있다. 대안으로, 대상은 안티센스 화합물(가령, ISIS 396443)의 CSF 투여분량과 하나 또는 그 이상의 2'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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'-O-(N-알킬 아세타미드) 또는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 변형된 당 모이어티를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드

[0239] 특정 구체예들에서, 본 발명은 연계된 뉴클레오타이드로 구성된 올리고뉴클레오타이드를 제공한다. 올리고뉴클레오타이드는 변형안된 올리고뉴클레오타이드(변형안된 RNA 또는 DNA)이거나, 또는 변형된 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. 변형된 올리고뉴클레오타이드는 변형안된 RNA 또는 DNA에 비교하여 최소한 하나의 변형을 포함한다(가령, 최소한 하나의 변형된 뉴클레오타이드(변형된 당 모이어티 및/또는 변형된 핵염기를 포함하는) 및/또는 최소한 하나의 변형된 뉴클레오타이드간 링크지를 포함한다).

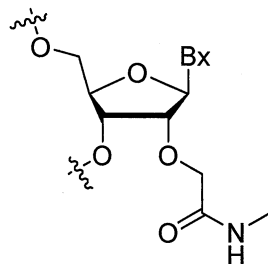
[0240] A. 특정 변형된 뉴클레오타이드

[0241] 변형된 뉴클레오타이드는 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 대응체이다. 이러한 당 대응체는 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 뉴클레오타이드는 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, 알킬, 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-알키닐, S-알키닐, N(R_m)-알키닐, O-알킬에닐-O-알킬, 알키닐, 알카릴, 아랄킬, O-알카릴, O-아랄킬, O(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, 페닐, 니트로(NO₂), 티올, 티오알콕시, 티오알킬, 할로젠, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알키닐 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 뉴클레오타이드를 포함한다).

[0247] 특정 구체예들에서, 2'-치환된 뉴클레오타이드 또는 2'-비-바이사이클릭 변형된 뉴클레오타이드는 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] n는 1, 2, 3, 또는 4임;

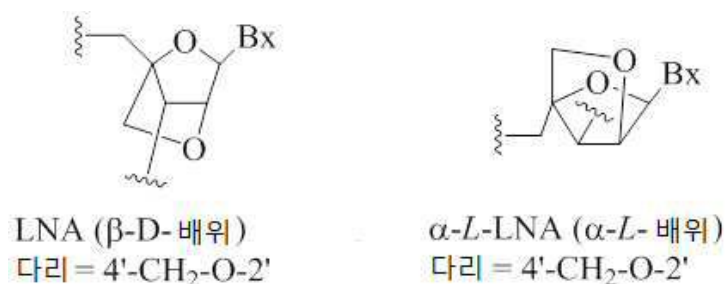
[0256] 각각의 R_a 및 R_b는 독립적으로, H, 보호기, 하이드록실, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 헤테로사이클 라디칼, 치환된 헤테로사이클 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, C₅-C₇ 지방족고리 라디칼, 치환된 C₅-C₇ 지방족고리 라디칼, 할로젠, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, CN, 설포닐(S(=O)₂-J₁), 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 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 아실(C(=O)-H), 치환된 아실, 헤테로사이클 라

디칼, 치환된 헤테로사이클 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.*, 20017, 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.



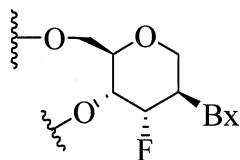
[0260]

[0261] α-L-메틸렌옥시(4'-CH₂-O-2') 또는 α-L-LNA 바이사이클릭 뉴클레오시드는 안티센스 활성을 보였던 안티센스 올리고뉴클레오타이드 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 배위이다.

[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 헥시톨 헥산("HNA"), 아니톨 헥산("ANA"), 만니톨 헥산("MNA")(가령, Leumann, C.J. *Bioorg. & Med. Chem.* 2002, 10, 841-854 참조), 플루오로 HNA:

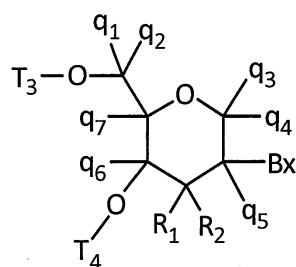


F-HNA

[0265]

[0266]

("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]

[0268] 여기서, 독립적으로, 각각의 상기 변형된 THP 뉴클레오시드에 있어서:

[0269]

Bx는 핵염기 모이어티이고;

[0270]

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 뉴클레오시드 간 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 알킬, 또는 치환된 C₂-C₆ 알킬이고;

[0271]

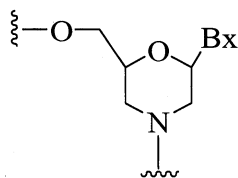
각각의 R₁ 및 R₂는 수소, 할로젠, 치환되거나 치환안된 알콕시, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂, 및 CN 중에서 독립적으로 선택되고, 여기서 X는 O, S 또는 NJ₁이고, 각각의 J₁, J₂, 및 J₃는 독립적으로, H 또는 C₁-C₆ 알킬이다.

[0272]

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 제공되는데, 여기서 R₁ 및 R₂중 하나는 F이다. 특정 구체예에서, R₁은 F이고 R₂는 H이고, 특정 구체예에서, R₁는 메톡시이고 R₂는 H이고, 특정 구체예에서, R₁는 메톡시에톡시이고 R₂는 H이다.

[0273]

특정 구체예에서, 당 대용체는 5개 초과와 원자 및 하나 초과와 헤테로원자를 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 올리고뉴클레오타이드의 예시는 펩티드 핵산("PNA"), 비고리형 부틸 핵산(예컨대, Kumar et al., *Org. Biomol. Chem.*, 2013, 11, 5853-5865을 참조), 및 Manoharan et al., W02011/133876호에 기술된 뉴클레오시드 및 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드는 변형되지 않은 핵염기를 포함하는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 변형된 핵염기를 포함하는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함한다.

[0280]

특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 다음 중에서 선택된다: 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘, 알킬 또는 알킬닐 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-티오티민 및 2-티오시토신, 5-프로피닐($-C\equiv C-CH_3$) 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-테아자구아닌, 7-테아자아데닌, 3-테아자구아닌, 3-테아자아데닌, 6-N-벤조일아데닌, 2-N-이소부틸릴구아닌, 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-테아자-아데닌, 7-테아자구아노신, 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.

B. 특정 변형된 뉴클레오타이드간 링키지

특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드는 임의의 뉴클레오타이드간 링키지를 이용하여 서로 연계될 수 있다. 뉴클레오타이드간 연계 기 중 주된 두 가지 종류는 인 원자의 존재 또는 부재에 의해 규정된다. 대표적인 인-함유 뉴클레오타이드간 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 뉴클레오타이드간 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 뉴클레오타이드간 링키지는 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레아제 저항성을 개선, 전형적으로는 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 키랄 원자를 가지는 뉴클레오타이드간 링키지는 라세미 혼합물, 또는 분리형 거울상이성질체로 제조될 수 있다. 대표적인 키랄 뉴클레오타이드간 링키지는 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 인-함유 및 비-인-함유 뉴클레오타이드간 링키지의 제작 방법은 당해 분야의 숙련가에게 널리 공지되어 있다.

중성 뉴클레오타이드간 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 뉴클레오타이드간 링키지는 실록산(디아킬실록산), 카르복실레이트 에스테르, 카르복사미드, 설파이드, 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 뉴클레오타이드간 링키지는 혼합된 N, O, S 및 CH₂ 성분 부분을 포함하는 비이온성 링키지를 포함한다.

C. 특정 모티프

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

1. 특정 당 모티프

특정 구체예에서, 올리고뉴클레오타이드는 소정의 패턴 또는 당 모티프에서 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 영역을 따라 배열된 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.

특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 두 개의 외부 영역 또는 "날개" 및 중앙 또는 내부 영역 또는 "갭"을 포함하는 갭 모티프를 가지는 영역을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 갭 모티프의 세 영역(5'-날개, 갭, 3'-날개)은 뉴클레오타이드의 연결한 서열을 형성하며 여기서 각각의 날개의 뉴클레오타이드의 당 모이어티의 적어도 일부는 갭의 뉴클레오타이드의 당 모이어티의 적어도 일부와 상이하다. 특정하게는 적어도 갭에서 가장 가까운 각각의 날개의 뉴클레오타이드의 당 모이어티(5'-날개의 3'-극단 뉴클레오타이드 및 3'-날개의 5'-극단 뉴클레오타이드)는 이웃하는 갭 뉴클레오타이드의 당 모이어티, 즉 변형되지 않은 당 모이어티와 상이하게 변형된 당 모이어티이며, 따라서 날개 및 갭 사이의 경계를 한정한다(즉, 날개/갭 연결부). 특정 구체예에서, 갭 내부의 당 모이어티는 서로 동일하다. 특정 구체예에서, 갭은 갭의 하나 이상의 다른 뉴클레오타이드의 당 모이어티와 상이한 당 모이어티를 가지는 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 두 날개의 당 모티프는 서로 동일하다(대칭 갭). 특정 구체예에서, 5'-날개의 당 모티프는 3'-날개의 당 모티프와 상이하다(비대칭 갭).

- [0290] 특정 구체예에서, 갭머의 날개는 1-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 날개는 2-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 날개는 3-5개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 뉴클레오시드는 전부 변형된 뉴클레오시드이다.
- [0291] 특정 구체예에서, 갭머의 갭은 7-12개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 갭은 7-10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 갭은 8-10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 갭은 10개의 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예에서, 갭머의 갭의 각각의 뉴클레오시드는 변형되지 않은 2'-데옥시 뉴클레오시드이다.
- [0292] 특정 구체예에서, 갭머는 데옥시 갭머이다. 이러한 구체예에서, 각각의 날개/갭 연결부의 갭쪽 뉴클레오시드는 변형되지 않은 2'-데옥시 뉴클레오시드이고 각각의 날개/갭 연결부의 날개쪽 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드이다. 이러한 특정 구체예에서, 갭의 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 본 명세서에서 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'-O-(N-알킬 아세타미드) 그룹을 포함한다. 특정 구체예들에서, 균일하게 변형된 올리고뉴클레오티드의 각각 뉴클레오시드는 2'-O-(N-메틸 아세타미드) 그룹을 포함한다.
- [0294] **2. 특정 핵염기 모티프**
- [0295] 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 소정의 패턴 또는 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역을 따라 배워진 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, 갭머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드는 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 특정 구체예에서, 변형된 핵염기를 포함하는 하나의 뉴클레오시드는 갭머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오티드의 중앙 갭에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 상기 뉴클레오시드의 당 모이어티는 2'-데옥시리보실 모이어티이다. 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 2-티오피리미딘 및 5-프로핀피리미딘 중에서 선택된다.
- [0298] **3. 특정 뉴클레오시드간 링키지 모티프**
- [0299] 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드는 소정의 패턴 또는 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 이의 영역을 따라 배워진 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 갭머이고 갭 내부의 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, 올리고뉴클레오타이드(변형된 올리고뉴클레오타이드 포함)는 임의의 다양한 범위의 길이를 가질 수 있다. 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오타이드는 X 내지 Y개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되며, 여기에서 X는 범위 내의 가장 작은 뉴클레오타이드 수를 나타내고, Y는 이 범위 내의 가장 큰 뉴클레오타이드 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, 올리고뉴클레오타이드는 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 27, 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 뉴클레오타이드로 구성된다.

[0302] E. 특정 변형된 올리고뉴클레오타이드

[0303] 특정 구체예들에서, 상기 변형(당, 핵염기, 뉴클레오타이드간 링키지)은 변형된 올리고뉴클레오타이드 안에 통합된다. 특정 구체예들에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 이들의 변형 모티프와 전체 크기에 의해 특징화된다. 특정 구체예에서, 이러한 척도는 각각 서로 독립적이다. 따라서, 달리 지정되지 않는 한, 갭머 당 모티프를 가지는 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 변형되거나 변형되지 않을 수 있고 당 변형의 갭머 변형 패턴을 따를 수 있거나 따르지 않을 수 있다. 예를 들면, 당 갭머의 날개 영역 내부의 뉴클레오타이드간 링키는 서로 동일하거나 상이할 수 있고, 당 모티프의 갭 영역의 뉴클레오타이드간 링키지와 동일하거나 상이할 수 있다. 유사하게, 이러한 당 갭머 올리고뉴클레오타이드는 당 변형의 갭머 패턴과 독립적인 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함할 수 있다. 더욱이, 특정 경우에서, 올리고뉴클레오타이드는 전체 길이 또는 범위 그리고 2 개 이상의 영역(예를 들어, 명시된 당 변형을 갖는 뉴클레오타이드의 영역)의 길이 또는 길이 범위에 의해 기술되며, 이러한 상황에서는 전체 길이가 특정 범위를 벗어나는 올리고뉴클레오타이드를 갖도록 각 범위의 수를 선택하는 것이 가능할 수 있다. 이러한 상황에서는 두 요소가 모두 충족되어야 한다. 예를 들면, 특정 구체예들에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 15-20개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되며, 3개 영역들, A, B, 및 C로 구성된 당 모티프를 갖고, 여기서 영역 A는 명시된 당 모티프를 갖는 2-6개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되며, 영역 B는 명시된 당 모티프를 갖는 6-10개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되며, 그리고 영역 C는 명시된 당 모티프를 갖는 2-6개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성된다. 이러한 구체예에서 A와 C는 각각 6개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성되고, B는 10개의 연계된 뉴클레오타이드로 구성된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 포함하지 않는데(비록 이들 수의 뉴클레오타이드가 A, B, 및 C에 대한 요건 범위 안에 허용되기는 하지만), 그 이유는 이러한 올리고뉴클레오타이드의 전체 길이는 22이며, 이것은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 전체 길이의 상한(20)을 초과하기 때문이다. 본 명세서에서, 하나 이상의 척도에 대한 올리고뉴클레오타이드의 설명이 없다면, 이러한 척도는 제한되지 않는다. 따라서, 추가의 설명 없이, 갭머 당 모티프를 가지는 것만 기술된 변형된 올리고뉴클레오타이드는

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

[0304] **F. 핵염기 서열**

[0305] 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.

[0306] **II. 특정 올리고머 화합물**

[0307] 특정 구체예들에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드(변형된 또는 변형안된) 그리고 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 콘주게이트 기 및/또는 말단 기로 구성된 올리고머 화합물을 제공한다. 콘주게이트 기는 하나 또는 그 이상의 콘주게이트 모이어티와, 상기 콘주게이트 모이어티를 올리고뉴클레오티드에 연계시키는 콘주게이트 링커로 구성된다. 콘주게이트 기는 올리고뉴클레오티드의 한쪽 또는 양쪽 말단 및/또는 임의의 내부 위치에 부착될 수 있다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기는 변형된 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드의 2'-위치에 부착된다. 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오티드의 한쪽 또는 양쪽 말단에 부착된 콘주게이트 기는 말단 기이다. 이러한 특정 구체예에서, 콘주게이트 기 또는 말단 기는 올리고뉴클레오티드의 3' 및/또는 5'-말단에 부착된다. 이러한 특정 구체예에서, 콘주게이트 기(또는 말단 기)는 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에 부착된다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기는 올리고뉴클레오티드의 3'-말단 근처에 부착된다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기(또는 말단 기)는 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 부착된다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기는 올리고뉴클레오티드의 5'-말단 근처에 부착된다.

[0308] 말단 기의 예시는 콘주게이트 기, 캡핑기, 포스페이트 모이어티, 보호기, 무염기성 뉴클레오시드, 변형되거나 변형되지 않은 뉴클레오시드, 및 독립적으로 변형되거나 변형되지 않은 둘 이상의 뉴클레오시드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0309] **A. 특정 콘주게이트 기**

[0310] 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 또는 그 이상의 콘주게이트 기에 공유적으로 부착된다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기는 부착된 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 특성, 가령, 이에 제한되지 않지만, 약리학, 약동학, 안정성, 결합, 흡수, 조직의 분포, 세포의 흡수, 전하 및 투명도를 변형시킨다. 특정 구체예에서, 콘주게이트 기는 부착된 올리고뉴클레오티드에 신규한 특성, 예컨대, 올리고뉴클레오티드의 검출을 가능하게 하는 형광단 또는 리포터 기를 부여한다. 특정 콘주게이트 기 및 콘주게이트 모이어티는 기존에, 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, 핵실-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-핵사데실-락-글리세롤 또는 트리에칠 - 암모늄 1,2-디-O-핵사데실-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 핵실아미노-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 GalNAc 클러스터(예컨대, WO2014/179620호)에 기술된 바 있다.

[0311] 특정 구체예들에서, 콘주게이트 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 알케닐중 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 알킬쇄는 하나 또는 그 이상의 불포화된 결합을 가질 수 있다.

[0313] 1. 콘쥬게이트 모이어티

[0314] 콘쥬게이트 모이어티는 제한없이, 삽입제(intercalator), 리포터 분자, 폴리아민, 폴리아미드, 펩티드, 탄수화물(가령, GalNAc), 비타민 모이어티, 폴리에틸렌 글리콜, 티오에테르, 폴리에테르, 콜레스테롤, 티오펜, 콜산 모이어티, 플레이트, 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, 펜-부펜, 케토프로펜, (S)-(+)-프라노프로펜, 카프로펜, 단실사르코신, 2,3,5-트리아이오도벤조산, 핑골리모드, 플루페남산, 폴린산, 벤조티아디아지드, 클로로티아지드, 디아제핀, 인도-메티신, 바비투레이트, 세팔로스포린, 설파제, 항당뇨제, 항균제 또는 항생제를 포함한다.

[0316] 2. 콘쥬게이트 링커

[0317] 콘쥬게이트 모이어티는 콘쥬게이트 링커를 통하여 올리고뉴클레오타이드에 부착된다. 특정 올리고머 화합물, 상기 콘쥬게이트 링커는 단일 화학적 결합이다(가령, 상기 콘쥬게이트 모이어티는 단일 결합을 통하여 올리고뉴클레오타이드에 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 올리고뉴클레오타이드에 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 아미드 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 올리고뉴클레오타이드에 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 예는 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 알킬닐 중에서 선택된 하나 이상의 기를 포함한다.

[0320] 콘쥬게이트 링커의 예는 피롤리딘, 8-아미노-3,6-디옥사옥탄산(ADO), 숙신이미드 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카르복실레이트(SMCC) 및 6-아미노헥산산(AHES 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 알킬닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 여기서 바람직한 치환 기의 비제한적인 목록은 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카르복시, 벤질, 페닐, 니트로, 티올, 티오알콕시, 할로젠, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알킬닐을 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-이소부틸릴구아닌 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 콘주게이트 링커를 포함하는 콘주게이트 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 콘주게이트 기를 포함할 수 있다. 이러한 올리고머 화합물에서 연속 연계된 뉴클레오시드의 총 수는 30 이상이다. 대안으로, 올리고머 화합물은 8-30개의 뉴클레오시드로 구성되며, 콘주게이트 기가 없는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 올리고머 화합물에서 연속 연계된 뉴클레오시드의 총 수는 단 30이다. 다른 언급이 없는 한, 콘주게이트 링커는 단지 10개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘주게이트 링커는 단지 5개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘주게이트 링커는 단지 3개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘주게이트 링커는 단지 2개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘주게이트 링커는 단지 1개의 링커-뉴클레오시드를 포함한다.

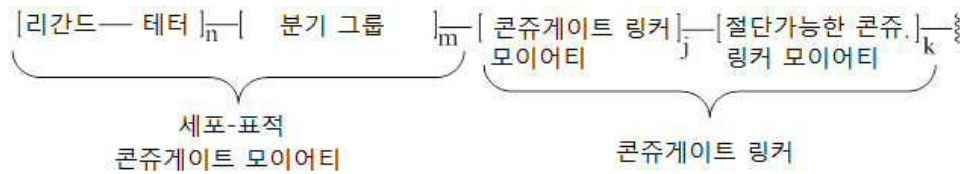
[0323] 특정 구체예들에서, 올리고뉴클레오티드로부터 콘주게이트 기를 잘라내는 것이 바람직할 것이다. 예를 들면, 특정 환경에서, 특정 콘주게이트 모이어티를 포함하는 올리고머 화합물은 특정 세포 유형에서 더 잘 취입되지만, 일단 상기 올리고머 화합물이 취입된 후, 상기 콘주게이트 기가 절단되어, 콘주게이트화한 또는 모계(parent) 올리고뉴클레오티드를 방출하는 것이 바람직하다. 따라서, 특정 콘주게이트 링커는 하나 또는 그 이상의 절단가능한 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 절단가능한 모이어티는 절단가능한 결합이다. 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 아마이드, 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 콘주게이트 모이어티 또는 콘주게이트 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 절단가능한 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 콘주게이트 링커 또는 콘주게이트 모이어티의 나머지에 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 링키지에 의해 공유적으로 부착된 2'-데옥시 뉴클레오시드이다. 이러한 특정 구체예에서, 절단가능한 모이어티는 2'-데옥시아데노신이다.

[0326] **3. 특정 세포-표적화 콘주게이트 모이어티**

[0327] 특정 구체예들에서, 콘주게이트 기는 세포-표적화 콘주게이트 모이어티를 포함한다. 특정 구체예들에서, 콘주게이트 기는 일반 구조식을 갖는다:



[0328]

[0329]

여기서 n는 1 내지 약 3이고, m는 n이 1일 때 0이고, m는 n이 2 또는 그 이상일 때 1이고, j는 1 또는 0이고, k는 1 또는 0이다.

[0330]

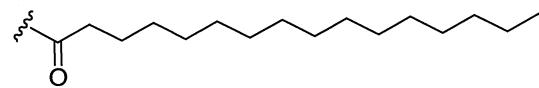
특정 구체예에서, n는 1이고, j는 1이고, k는 0이다. 특정 구체예에서, n는 1이고, j는 0이고, k는 1이다. 특정 구체예에서, n는 1이고, j는 1이고, k는 1이다. 특정 구체예에서, n는 2이고, j는 1이고, k는 0이다. 특정 구체예에서, n는 2이고, j는 0이고, k는 1이다. 특정 구체예에서, n는 2이고, j는 1이고, k는 1이다. 특정 구체예에서, n는 3이고, j는 1이고, k는 0이다. 특정 구체예에서, n는 3이고, j는 0이고, k는 1이다. 특정 구체예에서, n는 3이고, j는 1이고, k는 1이다.

[0331]

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

[0332]

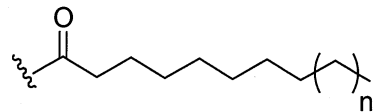
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0333]

[0334]

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



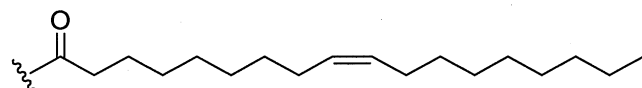
[0335]

[0336]

여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7에서 선택된 정수다. 특정 구체예들에서, n은 1이다. 특정 구체예들에서, n은 2이다. 특정 구체예들에서, n은 3이다. 특정 구체예들에서, n은 4이다. 특정 구체예들에서, n은 5이다.

[0337]

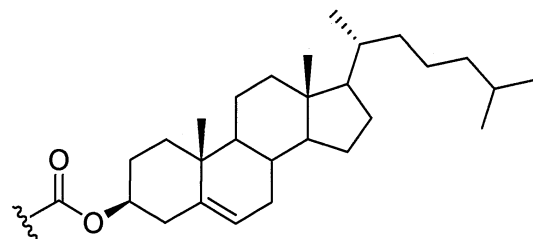
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0338]

[0339]

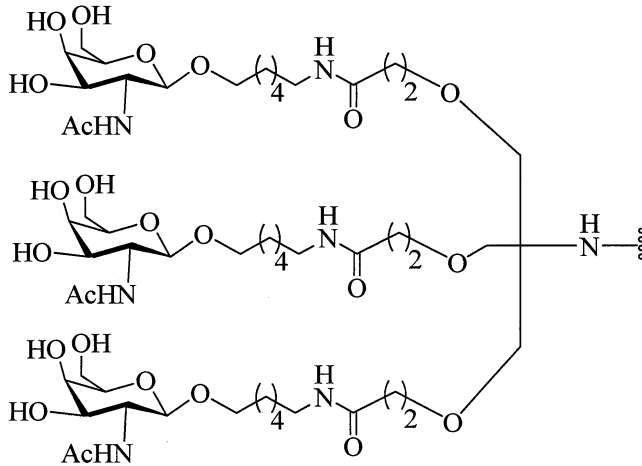
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0340]

[0341]

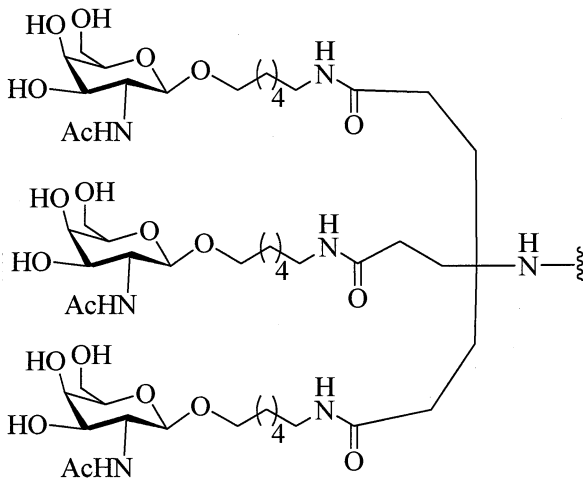
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0342]

[0343]

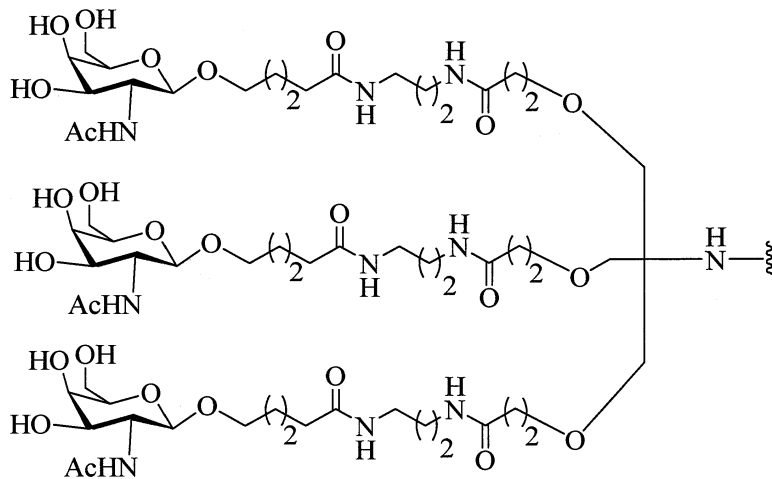
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0344]

[0345]

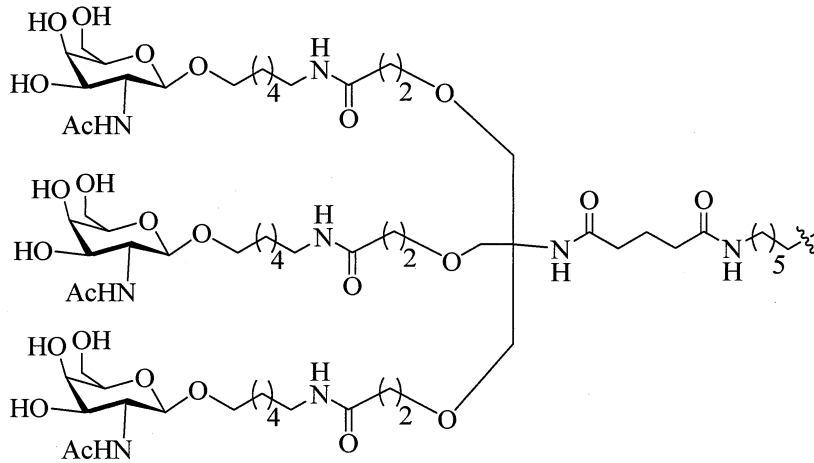
특정 구체예에서, 콘쥬게이트 기는 다음 식을 가지는 세포-표적화 모이어티를 포함한다:



[0346]

[0347]

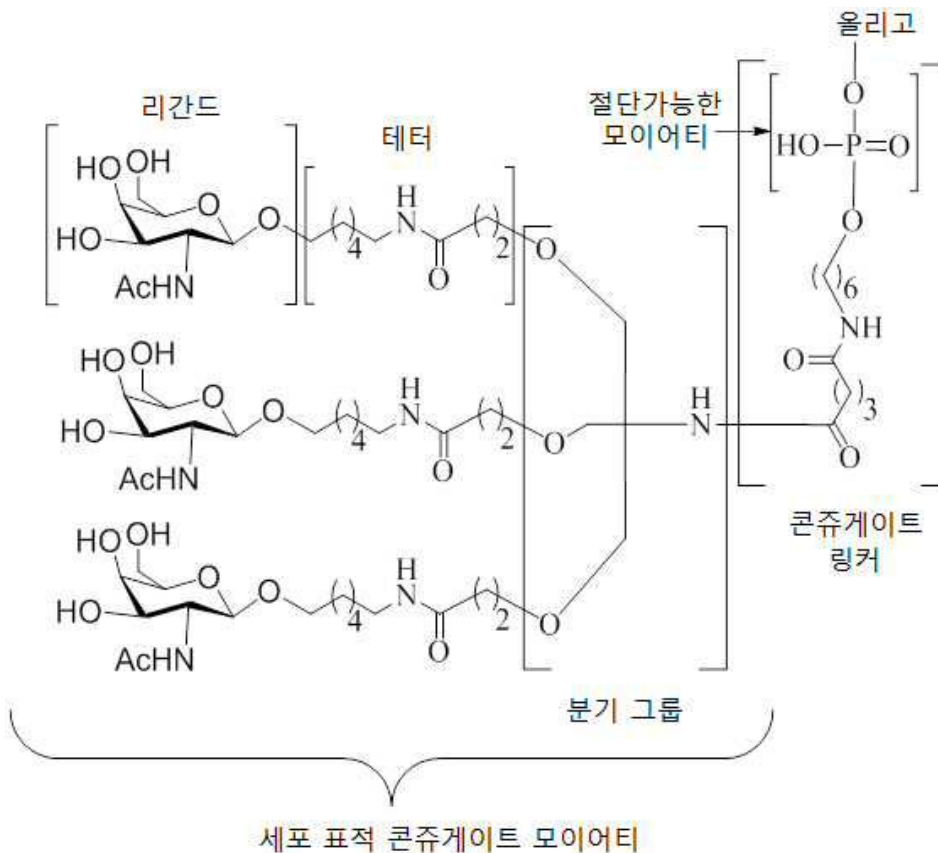
특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 본 명세서에서 "LICA-1"로 기술된 콘쥬게이트 기를 포함한다. LICA-1은 다음 구조식을 갖는다:



[0348]

[0349]

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



[0350]

[0351]

여기서 올리고는 올리고뉴클레오타이드이다.

[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, Sliedregt et al., *J. Med. Chem.* 1999, 42, 609-618, 그리고 Valentin et al., *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770를 포함한다.

[0353]

특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 전부 변형된 당 모티프 및 적어도 하나, 둘, 또는 세 개의 GalNAc 리간드를 포함하는 콘쥬게이트 기를 포함하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서 안티센스 화합물 및 올리고머 화합물은 다음 문헌 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; Sliedregt 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 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고머 화합물과 쌍을 이루어, 이중-가닥의 듀플렉스를 형성한다.

[0355] III. 특정 안티센스 화합물

[0356] 특정 구체예들에서, 본 발명은 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드와 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 올리고뉴클레오타이드와 임의선택적으로 콘쥬게이트 기를 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 이러한 이중-가닥 안티센스 화합물의 제 2 올리고머 화합물의 올리고뉴클레오타이드는 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) 뉴클레오타이드를 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 활성은 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.

[0360] IV. 특정 표적 핵산

[0361] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 표적 핵산에 상보적인 영역을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 포함하거나 이것으로 이루어진다. 특정 구체예들에서, 표적 핵산은 SMN2를 인코딩하는 DNA로써, 서열 번호: 240으로 본 명세서에서 참고자료에 편입된, 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드 1-60는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 6의 일부분을 나타내며, 서열 번호: 10의 뉴클레오타이드 61-114는 SMN2 pre-mRNA의 엑손 7을 나타내고, 그리고 서열 번호: 10의 뉴클레오타이드 115-174는 SMN2 pre-mRNA의 인트론 7의 일부를 나타낸다. 특정 구체예들에서, 표적 핵산은 서열 번호: 11의 핵염기 서열을 포함하는 ISS-N1을 포함한다.

[0362] A. 표적 핵산에 대한 상보성/미스매치

[0363] 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물 및/또는 올리고머 화합물은 올리고뉴클레오타이드의 전장에 걸쳐 표적 핵산에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 99% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 95% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 90% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 85% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산에 80% 상보적이다. 특정 구체예들에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드의 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 활성은 이러한 미스매치에 의해 감소되지만, 비-표적에 대한 활성은 더 큰 양으로 감소된다. 따라서, 이러한 특정 구체예에서 안티센스 화합물의 선택성이 향상된다. 특정 구체예에서, 미스매치는 갭머 모티프를 가지는 올리고뉴클레오타이드 내부에 특이적으로 위치한다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 갭 영역의 5'-말단으로부터 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8에 있다. 이러한 특정 구체예에서, 미스매치는 갭 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.

[0365] B. 특정 표적 핵산의 가공 조정

[0366] 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물은 표적 전구체 전사체에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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 mRNA로부터 배제된다. 특정 구체예들에서, 엑손은 표적 mRNA에 포함된다. 특정 구체예들에서, 엑손의 배제 또는 봉입으로 표적 mRNA의 넌센스 증개된 봉피가 유도되거나 또는 방지되고, 표적 mRNA로부터 미숙 종료 코돈이 제거 또는 추가되거나, 및/또는 표적 mRNA로부터 환

독 틀이 변경된다.

[0367] **C. 특정 표적 핵산과 연합된 특정 질환 및 상태**

[0368] 특정 구체예들에서, 표적 전구체 전사체는 질환 또는 상태와 연합된다. 이러한 특정 구체예에서, 표적 전구체 전사체에 상보적인 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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.

[0369] **V. 특정 약학 조성물**

[0370] 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.

[0371] 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.

[0372] 특정 구체예들에서, 안티센스 화합물은 약학 조성물 또는 제제(formulations)를 만들기 위한 약학적으로 수용가능한 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.

[0373] 특정 구체예들에서, 올리고머 화합물 및/또는 안티센스 화합물이 포함된 약학 조성물은 안티센스 화합물의 임의의 약학적으로 수용가능한염, 안티센스 화합물의 에스테르 또는 이러한 에스테르의 염을 포괄한다. 특정 구체예들에서, 하나 또는 그 이상의 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 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 올리고뉴클레오타이드에 부착된 하나 또는 그 이상의 콘쥬게이트 기를 포함하며, 여기서 상기 콘쥬게이트 기는 체내에서 내인성 뉴클레아제에 의해 절단된다.

[0374] 지질 모이어티는 다양한 방법에서 핵산 요법에 이용되었다. 이러한 특정 방법에서, 핵산, 이를 테면, 안티센스 화합물은 리포솜 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.

[0375] 특정 구체예들에서, 약학 조성물은 전달 시스템을 포함한다. 전달 시스템의 예로는 리포솜 및 에멀전이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 전달 시스템은 소수성 화합물을 포함하는 특정 약학 조성물을 제조하는데 유용하다. 특정 구체예들에서, 디메틸 설펍시드와 같은 특정 유기 용매가 사용된다.

[0376] 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-혼화성 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 80™ 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 80™ 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 양립가능한 완충액, 예를 들어, 헵크스 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 현탁액은 적절한 액체 담체, 현탁제 및 이와 유사한 것들을 사용하여 제조된다. 특징의 주사용 약학 조성물은 단위 투약형, 예를 들어, 앰플 또는 다중-투여용 용기로 제공된다. 주사용 특정 약학 조성물은 현탁액, 용액 또는 유성 또는 수성 운반체내 에멀션일 수 있고, 그리고 제형화 물질 이를 테면, 현탁, 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 현탁액이 들어 있을 수 있다.
- [0379] 비-제한적인 개시 및 참고로서의 포함
- [0380] 특허, 특허 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 실시예는 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 올리고뉴클레오타이드에 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 올리고뉴클레오타이드는 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, "AT¹³CGAUCG"(이때 ¹³C는 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 올리고뉴클레오타이드)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.

[0389] 실시예 1: 시험관에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드의 효과

[0390] 하기 표에 나타난 2'-MOE 또는 2'-NMA 변형을 포함하는 변형된 올리고뉴클레오티드를 시험관 내에서 SMN2에서 엑손 7의 스플라이싱에 대한 효과에 대해 시험하였다.

[0391] 척수 근위축증(SMA) 환자 섬유아세포 세포주(GM03813 : Cornell Institute)를 웰 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 SMN2 를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오티드

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

[0392]

[0393] 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]

[0395]

[0396]

실시예 2: 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드보다 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]

[0398]

[0399]

실시예 3: 전신 투여 후, 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 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 올리고뉴클레오타이드의 전신 투여는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내는 것으로 결과에 나타났다.

표 4: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	투여분 량 (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

실시예 4: 유전자 삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드의 효과

타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 하기 표에 열거된 염수(PBS) 또는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형 올리고뉴클레오타이드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내었다.

표 6: 인간 SMN2 를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

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

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 배제

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]

[0407]

[0408]

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

타이완 유형 III 인간 유전자삽입 마우스는 실시예 4에서 열거된 염수(PBS) 또는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 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 올리고뉴클레오타이드의 전신 투여는 생체내에서 2'-MOE 변형을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 7 배제를 나타내었다.

표 8: 엑손 7 봉입 및 배제

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

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

실시예 6: 전신 투여 후 유전자삽입 마우스에서 SMN2를 표적으로 하는 콘주게이트 기와 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물의 효과

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. 그룹당 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 콘주게이트 및 2'-NMA 변형을 포함하는 올리고머 화합물은 테스트된 다른 화합물보다 더 큰 엑손 7 봉입과 더 적은 엑손 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} 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} 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

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-메틸 시스테인을 나타낸다.

C16-HA의 구조는 다음과 같다:

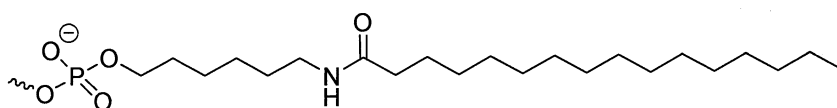


표 11: 엑손 7 봉입 및 배제

화합물 번호.	투여 분량 (mg/ kg/w k)	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]

[0418]

[0419]

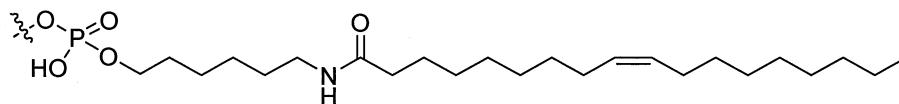
실시예 7: 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 생체내 투여분량 반응 효과

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 나타났다. 하기 데이터는 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘주게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장에서도 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	$G_{ks}^m C_{ks} A_{ks} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds}$ $T_{ds} A_{ds} G_{ds}^m C_{ds} A_{ks} G_{ks}^m C_k$	0.2	105	4
		0.6	104	
		1.8	74	
812133	$Ole-HA-T_{do}^m C_{do} A_{do} G_{ks}^m C_{ks} A_{ks}$ $T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} G_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ks} G_{ks}^m C_k$	0.2	71	5
		0.6	61	
		1.8	42	
812134	$C16-HA-T_{do}^m C_{do} A_{do} G_{ks}^m C_{ks} A_{ks}$ $T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} G_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ks} G_{ks}^m C_k$	0.2	86	5
		0.6	65	
		1.8	31	

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:



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

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 비이클 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 MALAT-1 RNA 수준으로 나타났다. 하기 데이터는 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘주게이트 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	

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

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 나타났다. 하기 데이터는 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘주게이트 기를 포함하지 않는 모계 화합물과 비교하여 심장 및 대퇴사두근에서보다 강력함을 나타낸다.

표 14: 생체내 CD36 발현

Isis 번호.	서열 (5' 에서 3' 방향)	투여분량 (μ mol/kg/week)	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	

기호 설명은 상기 표를 참조한다.

실시예 10: 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물의 생체내 효과

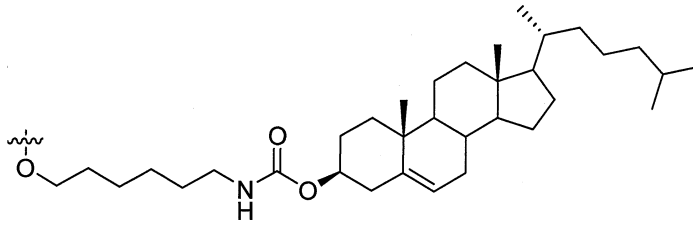
하기 표에 기재된 올리고머 화합물은 인간 및 마우스 근긴장성 영양(Dystrophia Myotonica)-단백질 키나제(DMPK) 전사체에 상보적이다. DMPK 발현에 미치는 영향을 생체 내에서 시험하였다. 야생형 Balb/c 마우스는 아래 표에 투약형에서 올리고머 화합물 또는 염수 비이클 단독을 정맥 내 주사로 투여 받았다. 각 동물은 1 주일에 한 번, 3 ½ 주 동안 총 4 회 투여받았다. 각 치료 그룹은 3 또는 4마리의 마우스로 구성된다. 최종 투여 2 일 후, 동물을 희생시켰다. 대퇴사두근에서 DMPK mRNA 발현은 RT-qPCR를 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 나타났다. "nd" 항목은 데이터가 없음을 의미한다. 하기 데이터는 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 올리고머 화합물이 친지성 콘주게이트 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} 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} 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	

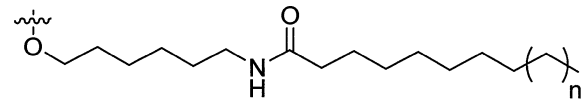
[0433] 기호 설명은 상기 표를 참조한다. "Chol-TEG-" 및 "Toco-TEG-"의 구조는 각각 실시예 1 및 2에 제시되어 있다.

[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.

[0439] **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 C57b1/6 수컷 마우스는 아래 표에 제시된 투약량의 올리고머 화합물 또는 염수 비이클 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 비이클 처리 동물에 대한 평균 결과와 관련하여 표준화된 MALAT-1 RNA 수준으로 나타냈다. 하기 데이터는 친지성 콘주게이트 기를 포함하는 화합물이 친지성 콘주게이트 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	$G_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	83	4
		1.2	81	
		3.6	57	
		10.8	27	
812134	$C16\text{-HA-T}_{do}^{m}C_{do}A_{do}G_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	88	5
		1.2	69	
		3.6	17	
859299	$C16\text{-HA-G}_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	80	4
		1.2	42	
		3.6	14	
861242	$C16\text{-2x-C6-G}_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	78	4
		1.2	45	
		3.6	13	
861244	$C16\text{-C6-G}_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	76	4
		1.2	67	
		3.6	18	
863406	$C16\text{-2x-C3-G}_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	97	4
		1.2	63	
		3.6	26	
863407	$C16\text{-C3-Ab-G}_{ks}^{m}C_{ks}A_{ks}T_{ds}T_{ds}^{m}C_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}^{m}C_{ds}A_{ks}G_{ks}^{m}C_k$	0.4	109	4
		1.2	67	
		3.6	32	

[0441]

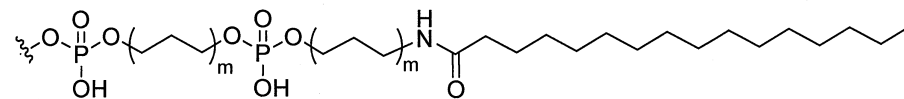
[0442]

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

[0443]

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

[0444]



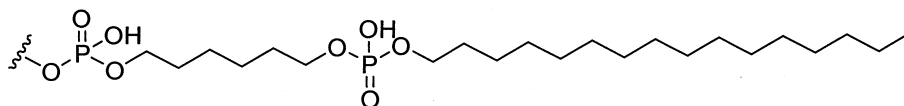
[0445]

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

[0446]

"C16-C6-"의 구조는 다음과 같고:

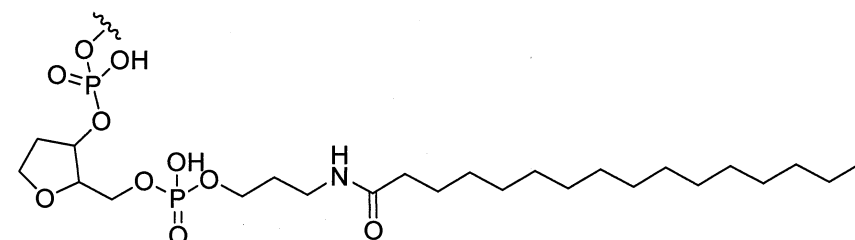
[0447]



[0448]

"C16-C3-Ab-"의 구조는 다음과 같다:

[0449]



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Ionis Pharmaceuticals, Inc.

<120> COMPOUNDS AND METHODS FOR MODULATION OF SMN2

<130> BIOL0304W0

<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

tcactttcat aatgctgg 18

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 2

attcactttc ataatgctgg 20

<210> 3

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 3

cactttcata atgctggc 18

<210> 4

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 4

gcatttctaat agcagc 16

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 5

tcagcattct aatagcagc 19

<210> 6

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 6

aggatatgga accaaa 16

<210> 7

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 7

tcaaggatat ggaaccaa 19

<210> 8

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 8

acaataaata ccgagg 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 atctatatct atatatagctat tttttttaac ttcctttatt ttccttacag 60
 ggtttttagac aaaatcaaaa agaaggaagg tgctcacatt ccttaaatta aggagtaagt 120
 ctgccagcat tatgaaagtg aatcttactt ttgtaaaact ttatgggttg 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 auaaugcugg 20
 <210> 13
 <211> 15
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 13
 cuuucuaau gcugg 15
 <210> 14
 <211> 15
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 14
 uucauaaug 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	
uuucauaaug cugg	14
<210> 21	
<211> 14	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 21	
cuuucauaau gcug	14
<210> 22	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 22	
uucuaaagc ugg	13
<210> 23	

<211> 13
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 23
 cuuucuaauu gu 13
 <210> 24
 <211> 13
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 24
 uuucuaauu gu 13
 <210> 25
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 25
 ucauaauu gu 12
 <210> 26
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 26
 uucauaauu gu 12
 <210> 27
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 27

uuucauaaag 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 ccagtatgat agcc	24
<210> 32	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 32	
tcactttcat ctgttgaaac 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	
uuaauuaag gaa	13
<210> 35	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 35	
uuaauuaag gaugug	17
<210> 36	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 36	
cacuucaua 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
 gauuuugucu aaaaccug 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
 gauuuuguca aaaaccug 19
 <210> 41
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 41
 gcuaauaccag cgucgucau 19
 <210> 42

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 42
 uagcuuuaua uggauguua 19

<210> 43
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 43
 uaaaaccug uaaggaaaa 19

<210> 44
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 44
 ucuaaaacc uguaaggaa 19

<210> 45
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 45
 cuuucuaau 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	
uagcuuuuuu 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 uaccugua	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	
cuuucuaaaa gcuggcaga	19
<210> 54	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 54	
ucacuuucaa aaucgugc	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
 tttttgattt tgtct 15
 <210> 57
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 57
 atttaaggaa tgtga 15

 <210> 58
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 58
 attcactttc ataatgctg 19
 <210> 59
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 59
 tcctttaaag tattgtgacc 20
 <210> 60
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 60
 ttatatactt ttaaacadat agaagatag 29

 <210> 61

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 61
 agattctctt gatgatgctg aatg 24
 <210> 62
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 62
 gtttcagaca aaatcaaaaa gaagga 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 ttaagg 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
 ttggaacttt gtctgcaaac a 21

<210> 67
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 67
 cttgggccgc gtct 14

<210> 68
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 68
 cctcttacct 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 gtcagcctac 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 aaccagcaga ctt 23
<210> 73
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 73
ttcaactttc taacatctga acttt 25
<210> 74
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 74
ctagtaggga ttagattaa ccttt 25
<210> 75
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 75

ctaacatctg caaaccagca gactt

25

<210> 76

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 76

cttcacaca 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

gcgtggtggc tcaggctagg cacag

25

<210> 79

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 79

tagctatata gacatagata gctat

25

<210> 80

<211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 80
 atagacatag atttggtca ggcta 25
 <210> 81
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 81
 atgtgagcac cttccttctt ttgta 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
 aaggaatgtg attttttgat ttgt 25
 <210> 84
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 84
 aaggaatgtg 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
 cctttcaact 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
 ctatatatag atagttattc aacaaa 26
 <210> 89
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 89

tagatagctt tacatTTTtac ttatt 25

<210> 90

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 90

tatggatggt aaaaagcatt 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

gctttatatg gacatTTTtac ttatt 25

<210> 94

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 94
 gatgttaaaa agcgtttcac aagac 25
 <210> 95
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 95
 tatatggatg ttattattca acaaa 25
 <210> 96
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 96
 gcattttgtt tcacaagtta ttcaa 25
 <210> 97
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 97
 ctatatatag atagcgacat ttac 25
 <210> 98
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 98
 agatagcttt atatggattt attcaa 26
 <210> 99
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 99	
ctatatatag 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
 atgccagcat ttctgcaaa tgaga 25
 <210> 105
 <211> 25
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 105
 gctctatgcc agcatttcct gcaaa 25
 <210> 106
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 106
 gctgagtgat tactta 16
 <210> 107
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 107
 atgctgagtg 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 tgagtg	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
 aaaaaaattg tcagga 16
 <210> 118
 <211> 16
 <212> DNA

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

acaaaaaat tgtcag 16

<210> 119

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 119

ctacaaaaa 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
 gtcacataac 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

caaagtcaca 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	
aaaacaaagt cacata	16
<210> 132	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 132
 caaagtcaca 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

 aacaaagtca ca 12
 <210> 135
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 135
 ttacaaaaca aagtca 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
aaatttaca 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 caaac 16
<210> 140
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 140
gacattttac ttattt 16
<210> 141
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 141
aagacatttt 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 ttttac 16

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

tttcacaaga catttt 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	
ttgtttcaca agacat	16
<210> 148	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 148	
ttttgtttca caagac	16
<210> 149	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 149	
cattttgttt cacaag	16
<210> 150	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 150	
agcattttgt ttcaca	16
<210> 151	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 151
 aaagcatttt gtttca 16
 <210> 152
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 152
 taaaaagcat ttgttt 16
 <210> 153
 <211> 16
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 153
 gttaaaaagc attttg 16
 <210> 154
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 154
 atgttaaaaa 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
 tatggatggtt 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

 gcttttatatg gatggtt 16
 <210> 159
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 159
 tagctttata tggatg 16
 <210> 160
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 160
 gatagcttta 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 gcttta 16

 <210> 164
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 164
 tatatataga tagctt 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 ttgttt	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
 gtttttaaat gttcaa 16
 <210> 173
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 173
 aagtttttaa atgttc 16
 <210> 174
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 174
 tgaagttttt aaatgt 16
 <210> 175
 <211> 16

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 175
 ctgaagtttt taaatg 16
 <210> 176
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 176
 tctgaagttt ttaaatt 16
 <210> 177
 <211> 16
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 177
 catctgaagt ttttaa 16
 <210> 178
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 178
 aacatctgaa gttttt 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

 aactttctaa catctg 16
 <210> 183
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 183
 tcaactttct aacatc 16
 <210> 184
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 184

tttcaacttt 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	
cctttcaact ttctaa	16
<210> 187	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 187	
ttaacctttc aacttt	16
<210> 188	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 188	
cattaacctt tcaact	16
<210> 189	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 189
 gaaagauca cuuucuuau gcugg 25
 <210> 190
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 190

 gauagcuaua uauagauagc uu 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	
aauguuuug gcauaaaau	20
<210> 197	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 197	
aauguuuug gcauaaaau ucu	23
<210> 198	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 198	
aauguuuug gcauaaaau ucuuua	26

<210> 199
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 199
 ucuaauaguu uuggcauca 20
 <210> 200
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 200
 ucuaauaguu uuggcauca aau 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

ucuauaacgc 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	
uuuguuucac aagacauuuu	20
<210> 206	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 206	
accuuccuuc uuuuugauuu ugucu	25
<210> 207	
<211> 30	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 207	
cuggcagacu uacuccuuaa uuuaaggaau	30
<210> 208	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

```

<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 208
uccuucuuuu 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
aaucccacia cuuugggagg
20
<210> 212
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 212
gcucaugccu acaacccac
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

 caauuuauag gcugcaguua 20
 <210> 215
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 215
 tatcccaaag aaaacaatta 20
 <210> 216
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 216
 uuuuaaugua 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 aaaauucuuu aaauau 25
 <210> 221
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 221
 aaauaguuuug gcaucaaaaau ucuuu 25
 <210> 222
 <211> 28
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 222	
ucuaauaguu uuggcaucaa aaucuuu	28
<210> 223	
<211> 30	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 223	
ccuuuuaucau aauguuuug gcaucuuuu	30
<210> 224	
<211> 30	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 224	
auuaaccuuu uaucuuuag uuugcauc	30
<210> 225	
<211> 25	
<212> RNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 225	
auuaaccuuu uaucuuuag uuug	25
<210> 226	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 226	
auuaaccuuu uaucuuuag	20
<210> 227	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 227	
uagauuaacc uuuuaucaaa uag	23
<210> 228	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 228	
auguagauua accuuuuuau uauuag	26
<210> 229	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 229	
gaauucuagu agggauuag	20
<210> 230	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 230	
aaaauaggcau cauauccuaa	20
<210> 231	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 231	
gauauaaaau 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
 gauauaaaau ggcaucauau 20
 <210> 234
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 234
 aauguuuug gcucaaaaau ucu 23
 <210> 235
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 235
 aauguuuug gcaucaaaaau uu 23

 <210> 236
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 236

uggagcuuga caccaccug	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	
uagggggauc acuugagacc	20
<210> 239	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 239	
gaggcggagg uagggggauc	20
<210> 240	
<211> 28070	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 240	
ccacaaatgt gggaggcgca taaccactcg tagaaagcgt gagaagttac tacaagcgt	60
cctcccgcc accgtactgt tccgtccca gaagccccgg gcggcggaag tcgtcactct	120
taagaaggga cggggcccca cgctgcgcac ccgcgggttt gctatggcga tgagcagcgg	180
cggcagtggg ggcggcgctc cggagcagga ggattccgtg ctgttcggc gcggcacagg	240
ccaggtgagg tcgcagccag tgcagtctcc ctattagcgc tctcagcacc cttcttcgg	300
cccaactctc cttccgcagc ctcgggacag catcaagtcg atccgctcac tggagtgtg	360

gtccgcgttt ttctacgtct ttccaccctc cgttccctgc gaaccacatc cgcaagctcc 420
 ttctctgagc agtttgggct ccttgatagc gttgagtga gccctgccg cgacttggca 480
 gtagcttatt ttgttaccct ctctctggct ggtgtggggg aggtgggggc attaggccag 540
 ggtgaagcag gggaaccact taggagtctg ttaagatgat ctgaacttca gaacaagatg 600

ttattaacag agtgaaagta ttggattctt gggtatatatt tgaaatcgga ggcaacaggt 660
 ttttcagata gattcgataa cggagggttat cctgaatagt tgaaaagata aagttgcctt 720
 ttgctgaggt gggaaagaga agattgccag tagagcaggt ttctcaggag ttcagtcttg 780
 ggcatagcat ggtagggttg aatttggctg gagtgagttg gagagtagga gaagagaaat 840
 ccaaggcaac atttgaccag cctgggcaac atagtgtgac tccgagtctg caaaaattag 900
 acgggtgttg tgggtgcgct ctgtggtctc agctacctgg aaggttcagg ccttgggaagg 960
 ctgaggagg tggaggctgc agtgatctgt gattgacct ctgcactcca gcctgggcga 1020

cagagccaga ccctgtctta aaacaaaata aacggccggg cgcggtggct caagcctgta 1080
 atcccagcac tttgggaggc cgaggcggcc ggatcacaaag gtcaggagat cgagaccatc 1140
 ctggctaaca cggtgaaacc ccgtctctac tacaaataca aaaaattagc cgggcgtggt 1200
 gacgggcgcc tgiagtccca gctactcggg aggctgaggc aggagaatgt catgaagccg 1260
 ggaggcggag cttgcagtga gccgagatcg cgccactgca ctccagcctg ggcgatagag 1320
 caagactccg tctcaaataa ataaataaat aaataataa ataataaaaa catcggtagg 1380
 catatttcaa ggaattctat ttaaaaaaaa tttttttaga gacaagttcg ctctctgtgg 1440

cccagctgg agtacagtgg catgatccta gcccatggca gcgttgatct ctggcctca 1500
 agcgaccctc ctttggagtc gctgggccta aaggagttag ccaccacgaa attttattat 1560
 aaatggagg tagagaaatt gggcaataaa tggaggggga agtgagttaa gaggaatatt 1620
 aattatgtgt gtgtggtttt aaaagagggg ggtcttgctc tgttccccag gctgctgggg 1680
 tgccagtggc gcaatcatga atcactacag ccttggactc ctggcctcaa gctatcctcc 1740
 cacctctgcc tcccaaagta ctgggattac tagtgtgagc cactgcacta agataggagc 1800
 aacatgttcc agcatgtttg tgggttgata ggaaagatga gaatgggaaa gttgatgtcg 1860

gaaagaagac aatggctaga gcaatgtcct agagtaggta agaagggatg gatttggcct 1920
 ttgttggaaa cattagcgtt tcttttgggt acagctatat agttaacaca tctatgatac 1980
 gtgaatgggc agataggatg gcaggagatt ttgaaagttc tcttgattct tactgttctc 2040
 ttagtgaaag aagcaaggtt atcagctaga agctgggatg ggagaggaaa gagaagatgg 2100
 gaagtagata gttctttaga agagtgggca aggggttgac tagggaagtt tagtggaat 2160
 attgctaggc aacataaaga gcctacttga gattcgtggt catgagttga aggagaccag 2220

acagcaagat tgtgtatgag ggcacccaca gagtaaatgg agagttgaaa ttaatgcagt	2280
tgtgatttta ccacgtggat atgaagaagt gagggggaga agtacaaagg agttctctta	2340
atgattgacc atggaattta agctggctaa gaaaggaagt gagaggccgg gcgcggtggc	2400
tcacgcctgt aatcccagca ctttgggaga ctgaggtggg tggattacct gaggtcagga	2460
gtttgagacc aacctggccg atatggcgaa accccatctc taataaaaat acagaaaaat	2520
tagccgggaa tgggtggcagg tgcctgtaat cccagctact caagaggctg tggcaggagt	2580
atcccttgga cccaggaggt ggaggttgca gtgagccgag atcacgccac tgtactccag	2640
cctggacgat atagtgagac ttcacctcaa aaaaaaaaaa aaagaaagga agtgaggatt	2700
ttaagaccct gagagacagt ttaaaaagtg ggaggatcgg ccgggcgctg tggctgacac	2760
ctgtaatccc agcactttgg gaggccgagt tgggcagatc acaaggctcag gagttcgaga	2820
ccagcctggc caatatggtg aaaccttgtc tctactaaaa atacaaaaat tagccgggca	2880
tgggtgtcacg tgctataat cccagctact cgggaggctg aggcagaaaa attgcttgaa	2940
cctgggaggc agaggttgca gacagctgag atcactccat tgcactccag cctgggcaac	3000
aagagcaaaa ctttgtcttt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaag aatacaaaaa ttagccgggc	3060
gtggtggcgc gtgcctataa tccagctac ttgggaggct gaggcaggag aatcagttga	3120
acacgggagg cgaggtttgc agtgagccga gattgcgcca ctgcactcca gcctgggcga	3180
cagagcagga ctctcttgg aaaaaaaaaa ttagctgggc atggtggcag gtgcctgtag	3240
tctcagctac tagggaggct gaggcaggaa aatcacttga acccgggatg tggagtttgc	3300
agtgaccga gatcgtgcca ctgtactcca tcttgggcga caaaatgaga ctctgcctca	3360
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa tgggaggatc aatgtactgc cagtcctaata gaagtggaat	3420
gatttgcccc atcaaatcac tagtaggagt aagttgcaga gcctagaagg tgatggttaa	3480
gagagtggga ttcttgaac tgcatttatg gagaggttgt ggttatttgt tataataaat	3540
aaatacagtt gaagtgagt agtagctgag atttggggat gtatcagttc attcttacac	3600
tgctacaaag acatactga gaccaggtat ttataaagat aagaggttta atcagctcac	3660
agttctgctg ccgtacagg cttctcttgt ggaggcctaa ggaaacttac agtcatggtg	3720
gaagtgtaag gggaaacaag cacagtcttc acatggccag caggagagag agagaagggg	3780
gaagtgtcac atactttaaa acaaccagat ctgtgagaa cgcttatcag gaaacagcac	3840
ttggggatgg tgctaaatca ttagaaatca ccccatgat ccagtcgcct cctacatgc	3900
ccacctcaa cactggggat cacaattcag catgagattt gggtaggaac acagagctgc	3960

accacatcag aggatgtaca agattgtggt ggagaggagt ttagagacct gcaaatatag 4020
 ggtaattgaa gggatcatct acatggatat ttaaatcacc aaaaattatg acaggagtag 4080
 tgttgagag agaactgcga tgtaaacatt aaggaatgag gaagagtgc tcggtaggct 4140
 gtaggtgact gcaataggaa acgataatag actgtgagtc tggtgacaag attttccttc 4200
 tttctttttt tcccccccc cgagacaggg cctctttttg ttgccaggt gggagtgcag 4260
 tggcgcgac acggctcact acaacctcct cccaagctca agggattctc ccacttcagc 4320
 ctctcaagta gctggaacta cagggtgctga ccacatgcc tggctacttt ttgtcaggat 4380

tttcaaggct gggaattttg agaggggaat ggaggagaat aatctgaaag tgcaagtaag 4440
 gagcaggga gatttctttt ttcttttttt ttttttttt tgagtcggag tctggctcag 4500
 tcgccaggc tggagtgcag tggcgcgac tccgtcact gcaagctccg cctccgtgt 4560
 tcacgccatt ctctctctc agcctcccga gtactggga ctacagcgc cgcaccac 4620
 gccagctaa ttgtttttt gtatttttag tagagacggg gtttcaccgt gttagccagg 4680
 atggtctcaa tctctgact ttgtgatccg ccaccccg cctcccaaag cgcttgggat 4740
 tacaggcgtg agccaccgc ccagccagag cagggaagat ttcttccca catctccagt 4800

aggtacagtg atatgaagtg tgtggaggag aaaagaggaa acatctatca tttagatgg 4860
 ctgcgaaagg aaaaggcatc ctcaggagc tagattttac ttagagcaag aaatgaagg 4920
 atgattcaga ggttaaaaga gtggatttta tgaattactc aaggagcac agtgaagtt 4980
 tcaggaagt gtaggagaag gtagaatg gcagggtgtt gggaataatt tgagaaatct 5040
 gagctactgg aaatgactga gaatcagata taaaggcagt cctggtggtc cgttctggct 5100
 gccgttgctg tgtaacgaat ctgcaaaac ttagtggtt gaaacaaca agaacatttt 5160
 attatctctc attgtttctg tgggttagga atttgtgaga gccgtgctgg gcagttttcg 5220

tgcggtgtc tcgtggtgc acctacatag ttgctagagc tacagtagct ggggactgag 5280
 cagctaggga ttggcaggct atctcttttt ttcatttagt ctcattgaaga tttctttatg 5340
 tggtttcaat gtgtgggctg gtttggattt ccttatagca tgggtggcctc agttggattg 5400
 ctgttttgtg atccttttca tccctccttg tctgtccce agacaaccac tgatctactt 5460
 tctgtacca tagattagcc tgcattttta agaattttta taaacgtgga atgatagagt 5520
 acctttttg tcacgtttct tttatttata atagctattt tgattttcat ccattttatt 5580
 gctgagtagt atccattgc atgtatatac tatactgtat tcattcgctt gcttgtgaac 5640

atttgggctt tttccagttt gggactgtta acaagtagag ccactatgaa tattagtga 5700
 taagacttca tatagccaag gctggcagat cgttgagcc caggagtttg agaccagcct 5760
 gggaacatg gtgaaacctc tatttttatt ttaaaatcaa aaattaaaaa ttttctataa 5820

aaaattttaa agaagacttt gtatagacat acgctttcat ttttcttgag tgaatactta 5880
 ggtctcaggg tagatgtatt ttaagtcttt aaggagctgt caaactcttc ctcaaagtgg 5940
 tggttgtacc atgttacttt ttaatataac agagattaat tgagcaaaga aaaattcaaa 6000
 agttggacag cccccacaac taaatagggt cagaacagct ccccatcttt gcattttgac 6060

 cagcaatgta tgaaagtcc atttgcctcag tgcctcgca aacacctggg atggtcagtc 6120
 tttttaattt taggcattat aatagatata gtggcttctt gtgattttaa ttagcatttc 6180
 ctaatgacca gtgctgctgt tgatcatttc atgagtgtat ttgccatccg tatatctttt 6240
 ttggtgaagt gtctattcaa atcatttggg tttttttttt ttttgttttt tttttttgga 6300
 gacagtgtct cactctgtca cccaggctgt tgtgcagtgg tgcaatcaca cagcctactg 6360
 cagcctccac ctctgcgt cagtcttctt gtctcagcct tctgagtagc tgaaattacg 6420
 agcacagcc acaatgcctg gctaattttt taaaattttg tagaacaag gtctcattat 6480

 gttgcctggg ctgtctgta actcctgggc tcaagcaatc ttctgcctc agcctccaa 6540
 agattgggat tgcaagtatg agccactgca cccggccaac ttacctatct ttaattgaa 6600
 tttttttgtt gttgaggttt gagagtctt catgtttgct gggtaacaata tctttatcag 6660
 ataggtaact tgcattgtatt ttctcccggt ttacactttg gtttttcatt ttgttaacaa 6720
 cgtcttttta agaacagaaa atcttaattt tgcgtgaaatc taatttttca gtttttctt 6780
 tgatggtttt gagagaggag gtaaaaaaag actaggttaag ccgatagtta gacagagtc 6840
 tcggtagaac ttcccttcta acaaaaagca gcccaagaaa tcacttctct tctaacaagg 6900

 agcagcctgg aagatcgggc tgtaaacatg tataaggaag cagctctggc acagaggggg 6960
 agcttctctg gtaatcagca agcttcacat acgtaagggt ggatgtgaa gtaaacacag 7020
 tatgtgaagt aaacacagt gaccttagta catactcaga taaggaagct ggaagcttgc 7080
 atgtttgtgag ttgttgggtg tgcctgcagc tgcacggaga gaaaggggta cctggggcca 7140
 ggcatgtcca ccatgggtgc tccacctccc ctattttagc acatgcacaa taggaaagag 7200
 ataagcaatg tggagtagct caggccaagg acctgcctgc ataataaaag gttggggtgg 7260
 gggatgccag agattcacgc tctgtgcaga tggcaacacc tggtcctaac tggttttttg 7320

 ctccctatgt gtagataagc taccctcttc ccattagctc atttataaaa atgcttgcatt 7380
 ttactgtgg aatgggaact cttttcagga cctctctctg caggagagag ctagtctctt 7440
 tcttttgctt attaaacttc tgctctagcc tcacacctt ggtgtgtcag cgtccttgat 7500
 ttctcagcg tgagaccaag aacctcgggt gccacccag gcaacaaggc catttcagtt 7560
 tgttcttttg ttataggcaa tccatgatca cagatttttc tctctttttt ttttttacac 7620
 agtttagagt ttagtttta cacttaggtc tgtaatccat tttgtattaa ttcttatatg 7680

tggtcagtg taggtggaaa ttggtttgt tttgcataa ggatttcaa tagttttacc	7740
accatttctt gaaactacta tgctttctct attaaaccac atttgtaact ttagttaaaa	7800
tcagtcacat atatacagg gctatttctg actctcaatt ctgttacatt gtctattagt	7860
gtatatgat gtcagtacta cacttttaat tactattgct tcagggtatg tcttgtaaac	7920
caaaaataaa attatagccc cccccgccc ctgcacaacc aactgaatgg acccatcctc	7980
tcagccaagg gcattccaaa attaacctga aaaactagtt caagccatga tgggaagggg	8040
gagttggaca tgctcatca caccctacta ccttttgga ttactgatag aacagactct	8100
taaagtctga aaagaaacat ttacaaccta cctctctga agcctgtac ctgggagctt	8160
catctgatg ataaaacctt ggtctccaca accccttatg gtaacccaaa cattcctttc	8220
tgttgataat aactctttca actagttgcc aattagaaaa tctttaaatc ttcctatgac	8280
ctagaaacct cctaccccc actttgagtt gtctgcctt tctgacaga actcatgtac	8340
atcttacata tattgattga tgcctcatgt ctccctaaaa tgtataaac aaagctgtac	8400
cccaccacct tggggacatg tcatcaggac ctctgtggc tgtgtcatag gagcgtcttt	8460
aactttggca aaataaactt tctaaattga ttgaaacctg tcttagctac ttctggttta	8520
cagtcttaaa gttagataat gtaaattgtc cagctttggg ttatttttgt ccttagtagt	8580
tccatataaa ttttagaatc agcttttcaa ttaatacac tactttctc ttagatccac	8640
aattaaatat attgatgct aacaattctg ttttatgttt ttcgtttttt tttttgaga	8700
caagagtttc gctcttgtg cccaggctgg agtgcagtgg cgcatcttg gctcaccaca	8760
acctccacct cccaggttca agcaattctt ctgcctcagc ctcccgagta gctgggatta	8820
caggcatgcg ccaccacgcc cggctaattt tgtattttta gtagagacgg ggtttcacca	8880
tgttgatcag gctggctctg aactctgac ctcaggatg ccaccacct cggcctccca	8940
aagtgttggg attacaggcg tgaaccacca tgcctggcca gttctgttat ttttaaaacc	9000
caagtttccc tggatcatc ttggttggat gaagcgtatt ttcaatagat taccctggaa	9060
aggctagtga gtacgttatt ctctacatt ttagactttt cttagtcttg ctacttcaag	9120
gacagctagg ctgcatataa aattcttggc tcatactttt tccccataaa tttctatgag	9180
aaagtctaata gataactgat tttctttatt ttgtaactta gtccttttgc ttagaggctc	9240
tctgaggatg ggagggggtt ctctctccca tcctaggaa tttttctttt ttttaaatc	9300
ctaataacta gaccaccagg aagattgttt gttttgtttt gtttttattc ttcagggacc	9360
ccatttatac atacgttaaa taaatactgt ttgccaatgt atcaaccatt ttgcttctta	9420

tttatttttg ttcctttggt tctttttcat ggctttgctt tggctgctct tagattttca	9480
gtcagatgta ttgtccttg ggtacctgt aatcagtatt accttttctt ctgtcgcttt	9540
gttttctgtt cgttttgaaa ttacttggtt cctggctctgg caataacagt tgagatatga	9600
ggagtttgag ctgccatctg tctatgtatc ttgctttaag actgcactct tctattgata	9660
tactggcct tgatttttg atttctttat ttcttcagga ccaccttca ttttctactg	9720
tttgcttctt tttttttga gatggagtct cactctgtca ctcaggctgg agtgcagtga	9780
tcttggtca ttgcaacctc tgcctcccgg gtccagcaa ttctctgcc tcagcctccc	9840
aagtatctgg gactacaggt gtgcaccacc atgcccggct aagttttgta tttttaatag	9900
agacggggtt ttgccacatt ggcaggctgg tctcaaacct ctgatgtcaa gtgatccacc	9960
cacccaccc acctctgcat cccaaagtgc tgggattaca ggaatgagct gccgtgccca	10020
gcctcccccc tacccttctt tttttcttc gagacagaga ttataggtgt gagccactgg	10080
accagcctg tttttattcc ttttaccaaa tctccaagga atatcttccc ttccaagtgc	10140
gaatgtaacc ttaagtcagt taacctctt gtgattactt ttcttatctg caaagtact	10200
taatgatctt aagtactttt ttttttgag acagggtctc actgtcaccc tggctggagt	10260
gcagtggcac gatctctgat ctccactcac tgcaatctcc tcttcctgg ttcaagcggc	10320
cctcccacct tagccttctg ggtagctggg actacagatg tgaaccacca cgcccagcta	10380
atttttgtac tttttgtaga gatgggggtt tgccatgttg ccaggtgg gattattaag	10440
tactttttat catcacagca gattgacatt ttatattgga atacattgt ctctatataa	10500
cggagattaa caggaaaatg acaagcctgg gtgcggtggc tcatgcctgt aatcccagca	10560
ctttgggagg ctgaggtggg aggatcacit gaggtcagga gttcgagacc agttttgcca	10620
agatgatgaa agcccatgtc tactaaaaat acaaaaatta gccagcttg atggtgggcg	10680
cctataatcc cagctatttg agagactgag gcaggagaat cacttgaacc tgggcagcag	10740
aggttgacgt gagccgagat catgccactg cactccagcc tgggtggcat agcgagactc	10800
ttgtctcaag agaaaacaaa acaaaaacaa aaaaaaacag gaaaatgaca aaaagtaata	10860
ttacaactca gtgaatttta taacaaactt ttttggatt cattgactaa tactatacca	10920
aatccaaaat actctctagt atacaaatc caactctacc ctatagtata aattggattc	10980
tatttggact tgtctcacta atccctcata cagtgtgttt tattttttat tgaagtaaaa	11040
aaatttgtca ttttaacct ttttaagtat atagttcagt aatattaagt atgttcatgt	11100
tgttgcgcaa tagatcttcg gaagtttttc gtcttgcaac ctgaaactct acccattagc	11160
aaattcccat ttctccttac acttagccct tggtaatcat cattcttttt ttttttttt	11220
tgagatggag ttttactctt gttgccagg ctggagtga atggtgcaat ctcgactcac	11280

cacaacctcc gcctcccagg ttcaagcaat tctacctcag cctcccagat agctgggatt	11340
acagtcacgc accaccacgc ccggctaatt ttgtattttt agtagagaag gggttttctc	11400
atgttgaggc tggctctcga ctcctgacct caggtgatct gcccacctcg gcctcccaaa	11460
gtgctgggat tacaggcgtg agccactgcg cctggcccat tctttctaata tctataaatt	11520
tgactactta gttaccttac ataaataaat tcttatagtt agtgttatit ttgcttccat	11580
gccttttttg ttgttgttca tgctcttact tggaaatgcgt tctatittgt ctacctatgc	11640
acatcctgtt gggttttttt tttttttggg ggtttttttt gttttttttt gttttttttt	11700
cccagacaag gtctcaattt gttaccacag ctggagtgcg gcggcgccat ctccactcac	11760
tgcatcctca acttccctggg cccaggatgat cctctcgctt cagccctgc aggtagctgg	11820
gactataggc atgtgccacc atgcccagct aaatttggtt tttttgtttg tttgtttttg	11880
agacagagtc tcaactctgt acccaggctg gaggcagtg gcacaatctc agctcactgc	11940
aatctctgcc gcccggttc aagtgattct cctgcctcag cctcccaagc agctgggatt	12000
acaggtgact gccaccacgc cagctaagtt ttgtagtitt agtagagatg gggtttcacc	12060
ttgttgccca tgcctgtctc gaactcctga cctcgtgatc tgcctgttc tgcctccaa	12120
agtgtcggaa ttacaggcat gagccaccac gcccgccag aatttttgta ttttttagtag	12180
acacaagggt cttacctgt tgcctaggct ggtctggaag tctggactc aagcaattca	12240
cctgccttgg cctcccaaaa tgctgggatt acaagccacc atgcccggcc taaatcctgt	12300
tgttttgttt tgttttatit tgttttgttt tgttttgttt gttttttgag acagagtctc	12360
gctatgtctc tcaggctgta gtgcagtggc gcgactcttg ctcactgcca cctctgcctc	12420
ccaggttcaa gtgattctcc tgcctcagcc tcccaagtag ctgggattac aggcatgtgc	12480
tactatgtcc ggctaatttt tgtattttta gtagagacag ggtttcacca tgttgccag	12540
gctggctctg aactcctgac ctcgtgatcc acccacctcg gccacccaaa gtgctgggat	12600
tacaggcgtg agtggttttt atttcttagg ccggtttcct ccatatgatc ttgcagtaga	12660
cattaatttc tttccttttt aattaaaata ctgtttgtat ttacatttt gatgtttgtt	12720
aagatttggt ttatattgtt ttttgttttg tcttgtgtga tagtcttaaa tccctagtta	12780
gataataact ggagagtacc atgtttctat atatctctca gtgacttgca cagtgtctagc	12840
agatagtgtc aaaaaattat ttattattat tattattttg ttattgttgt tgttgttgtt	12900
agacagggtc ttctctgtc acccaggctc gagggcaatg ggatgatcat agcttactgc	12960
agcctccaac aactgggtc atgtaattct cctgcctcag cttcccaagt agctgggatt	13020
acaggcatga gccaccatgt ctggacaaaa atatttccag gtgcagtggc tcatgcctgt	13080
aattcccaca ctggggaggc cgagcgaggc tggaggatca cttgagccta ggagtccaag	13140

accagcttgg ctaagatggc gagaccccg	13200
catggtggca tgcacctata ttcccaacta	13260
aacacaggaa tttgagggga gaaaaaaga	13320
aggaaggagg gagggagaga agaaagaaac	13380
aaattggtac caggaaagca ggaaagggaa	13440
aatgaaaatt ggttagtcac tattaacaat	13500
tttcaaaaga aaaaatatc tttggatcat	13560
gtctagatga agtcaagttt tatctgatct	13620
aaatctactc atggtatgtg gataggaatt	13680
cattcttaga acatttacct atgtctagct	13740
ggtaagtttc ctgtggcttt atttaggatt	13800
atgtgtggat taagatgact ctgtgtacta	13860
catgagtgtt ttttatttct taccctttcc	13920
cagcactgat aaaagcatat gataaagctg	13980
tagtcgtttt cttattttct cgttattcat	14040
tgttaaagta catgttattc agttttcatt	14100
aatcagggtg atacctctct ttagaagttg	14160
caattttaat aaaaatttaa acatttattc	14220
tcccagcact ttgagaggct gaggcgggtg	14280
cctggccaac atggtgaaac cccgtcttta	14340
ggcacgtgcc tgtaatccca gctgcttggg	14400
gggggcagag gttgcaatga ttgcaccact	14460
ccatctcaga aaacgaacaa acaatgtatt	14520
atggaagtcc tctaattgag attaataaga	14580
tttaacaagc atgtagtaaa ataatgatga	14640
ttttagcat gctgacagtg ctctgtgtgc	14700
caaatcctgt aagttaggta tcaattcaag	14760
tttaggaaat gtagtatggt tctgtgtctc	14820
catcaccttc tccattctct gagatgttta	14880

atagtcaga ctaccttgag caaacaatag tccagactac cttgagcaaa cagagcatat	14940
actcatacag tgtataaaga gcaccaagca tacagatttc atgtctttct catagttact	15000
cttgtaacat gagctaaaga tcagacctct atgtcacctt tgtaactgat ttctagattt	15060
ttttttttt ttgagatggg gtcttgccct gtcacccagg ctggagtgtg gtggcgtgat	15120
catgcctcat tggagccttc aactcatgag ctcaaacaat cctcctacct cagcttcctg	15180
agtagtggg accacaggtg tgtgccacca caccagctc atttttgtat tctttgtaga	15240
gatgcagtct caccctgttg cccacgctgg cctggaactc ctgagctcaa aagatccctc	15300
cgcttgacc ttccaaagtg ctgggattac aagcatgaac cactgcaccc ggcctagatt	15360
tttaaatgtg ctttcagta tacactgaaa ctagaagtcg actaaagaat taccaagaga	15420
attctataaa atagagattg aaatggggct cgatgtggga tgggttggtg atattgcagg	15480
gagaagtaat ctgagtaaag gaggaaga actgatttgg gaaaacgata gttttagtag	15540
tgagtttgag taigaattaa gttgagattg aatttgaatt aagttgaggt tgaatatgaa	15600
ttaagttgag gttgagttg aggtatgaat taagatgtga aattgatcat tggaaatgtt	15660
agattgagaa aagtcacagc tggattaata gcttcagaag tgtgtttgca gacagttgca	15720
actaaagtaa taagaataga tggccttggc cgggcgcggt ggctcacgcc tgtaatccca	15780
gtactttggg aggctgaggc gagcaaatca cgaggtcagg agttcaagac cagcctggcc	15840
cacatggtga aaccccgctt ttattaaaaa tacaaaaatt agctgtgcac agtgggtgcac	15900
gcctgtaate ccagctactc gggaggctga gacaggagaa tcgcttgaac ctgggaggtg	15960
gaggttgacg tgagctgaga tcagtgtgac tgcactccag cccggtgaca gagttagact	16020
ctgtgtaaaa aaataaaata aataaaataa tggccgtaag caagttaaaga aggatggcca	16080
gctcttattg ggaatgccta aatctaaggc ttgatcagaa gtaatgaaac cgttggggcc	16140
ctacattgct atgacatcca aaggcccatg aatcagga agaaagataa ttaacagggt	16200
ctaattgtac agagaggttg agagcaagga gatttgatta aaagggtctt tagagctgat	16260
gtcaggtgta tgatgccttt aagagcagtt ttatagtgc agggggtggt caaaagagaa	16320
aataggtgct ttctgaggtg acggagcctt gagactagct tatagtagta actgggttat	16380
gtcgtgactt ttattctgtg caccacctg taacatgtac atttttatc ctatttctgt	16440
agcatgctct aaagaatggt gacatttgtg aaacttcggg taaacccaaa accacaccta	16500
aaagaaaacc tgctaagaag aataaaagcc aaaagaagaa tactgcagct tccttacaac	16560
aggttatttt aaaatgttga gatttaactt caaaggatgt ctcattagtc cttatttaat	16620
agtgtaaaa gtctttaact taagtgatta gtacagtgtt tctattgaca tatacttata	16680
caacttcaaa aacaactatt aaattttctg ttatttagga acatgcatat tagtcatgaa	16740

agtataaaga attagatggg aatgataaat gctaaaatca ggacatgtgt tccatttgtg	16800
aatggaaggc agggagaagg tgccgttttg aaggagtacc caagagccgt aagctgaatt	16860
ggcagtgttt tacatcttaa gctgagagat agatTTTTTT tccccctttt tctttaaaaa	16920
ctctaaaact gttaattcca aggaacccag aagtctaggt agattatttc tgctagttaa	16980
aagcagtagt cctgaaagct gaatatTTTt gtgtctTTTt agccaacttt agtttcatca	17040
ttaccaaggg ggaagagagc taacagttga tgagcacttg ctctaggcca gtccagagtg	17100
ctgggcacca tacgcatttt atctccctcc cgctattcac acaaatatg ggaggtagtt	17160
tatatatat ccatctaata agatggggaa actaagactc aaagagattc agaaacttgt	17220
ccatgattat aaatgtaaga gagtTggaat tcagatttat gtatttagac cccaagcctt	17280
tctcattaca tcatTTTgcc ttccaaatct ctaccctcta tcttcacct cccactgat	17340
caaacgaga tgatagTTTg cctctttcaa aagaaatgtg tgcatgtata tatctttgat	17400
ttctTTTgta gtggaaagtt ggggacaaat gtTctgcat ttggTcagaa gacggtTgca	17460
tttaccagc taccattgct tcaattgatt ttaagagaga aacctgtgtt gtggTTTaca	17520
ctggatatgg aaatagagag gagcaaaatc tgtccgatct actttcccca atctgtgaag	17580
tagctaataa tatagaacaa aatgtcaag aggtTaaggat acaaaaaaaaa aaaaattcaa	17640
ttTctggaag cagagactag atgagaaact gttaaacagt atacacagtt gtcagTTTga	17700
tccaccgagg cattaatttt ttcttaatca cacccttata acaaaaacct gcataTTTT	17760
tctTTTTaaa gaatgaaaat gaaagccaag ttTcaacaga tgaaagtgag aactccaggt	17820
ctctTgaaa taaatcagat aacatcaagc ccaaatctgc tccatggaac tcttttctcc	17880
ctccaccacc ccccatgcca gggccaagac tgggaccagg aaaggTaaac ctTctatgaa	17940
agttttccag aaaaatagtt atgtcgggac attTaaactc tctgtTaaact aattTtagc	18000
tctccatga aactTTTgta gctTaaatac acaagaattt tttgaaaagg aaataagata	18060
atgatgcaaa atagtTaatT ttttaaaaa atgttagaca ctgcagtTga tgcaacaaaa	18120
tactttatat gaaagattta tccagtTaaC tttgtggag tattaggtat tagactaata	18180
attagcacac ttactTaaGT tagaaagtat aataatgcgc cggacgcggt agctcacgcc	18240
tgtaatccca gcactTTTggg aggccaaggt gggcggatca caagTcagg agatcgagac	18300
catctTggt aacacggtga aaccccatct ctactgaaaa tacaaaaaaaa tttgccgggc	18360
gtgatggcgg gcacctgtag tcccagctac tcgggaggct gaggcaggag gatggTgtga	18420
accccgagg cagagctTgc agtgagtcaa gatcgtgcca ctgcactcca acctgggcga	18480
cagaatgaga ctccatctca acaaaaaaaaa caaaacaaaa caaaaaaaag tgtaataata	18540
atttatcatt agctggatga tatgtgtTtG tttcccatgt cacctgtata agatatgtaa	18600

aataagaaca cattatttac atctaataata gataaaatcc tgaggcgctc tcagattgtt	18660
ttgtagagtt caaatgtaaa tattgttttc atttatggtc cttttggtta taagtaacag	18720
aaatcaactc taaaaagatt tttattatag gttagattat gtcattggaac ctttaaggctt	18780
gtccctttct agttcttttg tgtaaagcgg tgattttctc catggaggga atggtattta	18840
ggcaattttt tttttttttt cgagatggag tcttgctctg tcgctcaggc tggagtgcag	18900
tggcaccatt tcagctcact gcaactteca cctcctgggt tcaagtgatt ctcctgcttc	18960
agcctcccaa gtagctgaga ttacaggcac ccgccaccac acccggtta ttttgtattt	19020
ttagtagaga tggggtttca ccatgttggc caggctggtc ttgaactcct gacctcaagt	19080
gatctcccca ccttggcctt ccaaagtgtc aggattacag gcgcctagcc taggcagtca	19140
ttttcaaaaa acaagcatga ctcacaaaaa gttttaagat tttctgtgat aatgttctta	19200
ttgaggctta cattatatta cagtttcttg aatctaaaat gatgtaccct cttagaatat	19260
atacatcatg cticatttgt ctcagggggc tgatttttat aaggagagat ttgctagttt	19320
tcacaatatg tcctctaagt tggcatgtat agctaaacag gctttcataa aaatatataa	19380
tttagttaat gaaatttggg atatagtctt ttatgattga aataattttg ctaaataagac	19440
tgtctctgat ttattaggta atcaccactc ttattttgtt ttacttcctt aatgtctaca	19500
tagaaaggaa atgagaaaaa tccagaggtt gtcatttgac ttatgagtct gtttgacttc	19560
aggatttggg acatgaaatt tcacttaatc tttttgatat gtataaaaca aatattctgg	19620
gtaattattt ttatcctttt ggttttgagt cctttttatt cctatcatat tgaaattggg	19680
aagttaattt tcctttgaaa tattccttat agccaggtct aaaattcaat ggccccaccac	19740
cgccaccgcc accaccacca cccacttac tatcatgctg gctgcctcca tttccttctg	19800
gaccaccagt aagtaaaaaa gagtataggt tagattttgc tttcacatac aatttgataa	19860
ttagcagaat agaggattgt aaaatgtcat ttagaacaat cccttgggcc agattctaat	19920
gggtagaaat ttgaactaaa cctctgggtt ttgtttgttt ttaatgcctt tctgttacct	19980
agatgcagtg ctctttagt cccaagtcta agctctaggt tgccttcttt cctggcagaa	20040
gttgggtgtc atgccataag gaggiagtgc ctgttagaag ggatttaatt ataccttata	20100
taaggaatta gtgtttgccc ttctaggtat agttggatgt tagcttctga tgtaaaactgg	20160
atttcttttt ctttctctct cttttttttt ttttgttttg gaggcagagt tttgcccttg	20220
tacccaggc tggagtgcag tgggtgtgac tcagctcaca gcaacctccg cctcctgggt	20280
tcaagcaatt ctgcctcggc ctccaagta gctgggatta caggcgactg ccaccacacc	20340

cggctaattt ttgttttatt agtagagatg gggtttcacc atgttggcca gactgatctt	20400
gaactcctga cctcaggltga tccacccgcc ttggcctccc aaagcgtgg gattacaggc	20460
gtgagctgcc gcaccagct gtaaacgtga tttctaattg tagattttta ggtattaaca	20520
atagataaaa agatactttt tggcatactg tgtattggga tggggttaga acagggttc	20580
taccaagac atttacttaa aatcgccctc gaaatgctat gtgagctgtg tgtgtgtgtg	20640
tgtgtgtgtg tgtattaagg aaaagcatga aagtatttat gcttgatttt ttttttttac	20700
tcatagcttc atagtgaac agatacatag tctaaatcaa aatgtttaaa ctttttatgt	20760
cacttgctgt ctttcgtcc tcgttaaatt taattttgtt ggtcttttgt tgttattggt	20820
tggttttctc caaatgctag ctatgttaag aaatttaagg ccaggtaacag tggctcatgc	20880
ctgtaatccc ggcattttag aaggctgagg caggaggatc acttgagctc aggagtttga	20940
gaccagtctg ggcaacatag caagacctcg tctttgttta ggggaaaaaa aagaaattta	21000
agtaggagat tatataagca aaaatacaat taatttcag cttcactat ataataaaa	21060
tctccagact ttactttttt gtttactgga tataaacaat atcttttct gtctccagat	21120
aattcccca ccacctcca tatgtccaga ttctcttgat gatgctgatg ctttggaag	21180
tatgttaatt tcatggtaca tgagtggcta tcatactggc tattatatgg taagtaatca	21240
ctcagcatct tttcctgaca atttttttgt agttatgtga ctttgtttg taaatttata	21300
aaatactact tgcttctctc tttatattac taaaaataa aaataaaaaa atacaactgt	21360
ctgaggctta aattactctt gcattgtccc taagtataat tttagttaat tttaaaaagc	21420
tttcatgcta ttgttagatt attttgatta tacacttttg aattgaaatt atacttttc	21480
taaataatgt ttaaatctct gatttgaaat tgattgtagg gaatggaaaa gatgggataa	21540
tttttcataa atgaaaaatg aaattctttt tttttttttt ttttttttga gacggagtct	21600
tgctctgttg ccaggetgg agtgcaatgg cgtgatcttg gctcacagca agctctgcct	21660
cctggattca cgccattctc ctgcctcagc ctcagaggta gctgggacta cagggtcctg	21720
ccaccagcc tgtctaattt ttgtattttt ttgttaaaga cagggtttca ctgtgttagc	21780
caggatggte tcaatctcct gaccccgta tccacccgcc tcggccttc aagagaaatg	21840
aaattttttt aatgcacaaa gatctggggt aatgtgtacc acattgaacc ttggggagta	21900
tggcttcaaa cttgtcactt tatacgttag tctctacgg acatgttcta ttgtatttta	21960
gtcagaacat ttaaaattat tttattttat tttatttttt ttttttttt gagacggagt	22020
ctcgtctgt caccagget ggagtacagt ggcgcagtct cggctcactg caagctccgc	22080
ctccgggtt cagccattc tctgcctca gcctctccga gtagctggga ctacaggcgc	22140
ccgccaccac gcccggttaa ttttttttta ttttttagtag agacggggtt tcaccgtggt	22200

ctcgatctcc tgacctcgtg atccacccgc ctccggcctcc caaagtgcgtg ggattacaag	22260
cgtgagccac cgcgccccgc ctaaaattat ttttaaaagt aagctcttgt gccctgctaa	22320
aattatgatg tgatattgta ggcaacttga tttttagtaa attaatatag aagaaacaac	22380
tgacttaaag gtgtatgttt ttaaattgat catctgtgtg tgccccatt aatattctta	22440
tttaaaagtt aaggccagac atgggtggctt acaactgtaa tcccaacagt ttgtgaggcc	22500
gaggcaggca gatcacttga ggctcaggagt ttgagaccag cctggccaac atgatgaaac	22560
cttgtctcta ctaaaaatac caaaaaaat tttagccaggc atgggtggcac atgcctgtaa	22620
tccgagctac ttgggaggct gtggcaggaa aattgcttta atctgggagg cagaggttgc	22680
agtgagttag gatttgtcca ctgcactcca cctttggtga cagagtgaga ttccatctca	22740
aaaaaagaaa aaggcctggc acggtggctc acacctataa tcccagtact ttgggaggta	22800
gaggcagggtg gatcacttga ggctaggagt tcaggaccag cctggccaac atggtgacta	22860
ctccatttct actaaataca caaaacttag ccagtgggcg ggcaagtgtg atcccagcta	22920
cttgagaggt tgaggcagga gaatcacttg aacctgggag gcagaggttg cagttagccg	22980
agatcacacc gctgcactct agcctggcca acagagttag aatttgcgga gggaaaaaaa	23040
agtcacgctt cagtttgtgt agtataacct tggatatattg tatgtatcat gaattcctca	23100
ttttaatgac caaaaagtaa taaatcaaca gcttgtaatt tgttttgaga tcagttatct	23160
gactgtaaac ctgtaggctt ttgtgttttt taaattatga aatatttgaa aaaaatacat	23220
aatgtatata taaagtattg gtataattta tgttctaat aactttcttg agaaataatt	23280
cacatgggtg gcagtttacc ttgaaagta tacaagttag ctgggcacaa tggctcacgc	23340
ctgtaatccc agcactttgg gaggccaggg cagggtggatc acgaggtcag gagatcgaga	23400
ccatcctggc taacatgggtg aaaccccgct tctactaaaa gtacaaaaac aaattagccg	23460
ggcatgttgg cgggcacctt ttgtcccagc tgcctgggag gctgaggcag gagagtggcg	23520
tgaaccagg aggtggagct tgcagttagc cgagattgtg ccagtgact ccagcctggg	23580
cgacagagcg agactctgtc tcaaaaaata aaataaaaaa gaaagtatac aagtcagtgg	23640
ttttggtttt cagttatgca accatcacta caatttaaga acattttcat caccccaaaa	23700
agaaaccctg ttaccttcat tttccccagc cctaggcagt cagtacactt tctgtctcta	23760
tgaatttgtc tattttagat attatatata aacgaatta tacgatatgt ggtcttttgt	23820
gtctggcttc tticacttag catgtatatt tcaagattca tccatgctgt agaatgcacc	23880
agtactgcat tccttcttat tgctgaatat tctgttgttt gggtatatca cattttatcc	23940
attcatcagt tcatggacat ttaggttgtt tttatttttg ggctataatg aataatgttg	24000
ctatgaacat tcgttttgtt tctttttgtt tttttggttt tttgggtttt tttgttttg	24060

tttttgtttt tgagacagtc ttgctctgtc tcctaagctg gaggcagtg gcatgatctt	24120
ggcttactgc aagctctgcc tcccgggttc acaccattct cctgcctcag cccgacaagt	24180
agctgggact acaggcgtgt gccaccatgc acggctaatt ttttgtattt ttagtagaga	24240
tggggtttca ccgtgttagc caggatggtc tcgatctcct gacctcgtga tctgcctgcc	24300
taggcctccc aaagtgtcgg gattacaggc gtgagccact gcacctggcc ttaagtgttt	24360
ttaatacgtc attgccttaa gctaacaatt cttaaccttt gttctactga agccacgtgg	24420
ttgagatagg ctctgagctc agcttttaac ctctatcttt ttgtcttaga aatctaagca	24480
gaatgcaaat gactaagaat aatgttgttg aaataacata aaataggtta taactttgat	24540
actcattagt aacaaatctt tcaatacatc ttacggctctg ttaggtgtag attagtaatg	24600
aagtgggaag cacttgcaag ctagtataca ttagggaaa gatagaaagc attgaagcca	24660
gaagagagac agaggacatt tgggctagat ctgacaagaa aaacaatgt ttagtatta	24720
atttttgact ttaaattttt tttttattta gtgaatactg gtgtttaatg gtctcatttt	24780
aataagtatg acacaggtag tttaaggtca tatattttat ttgatgaaaa taaggtatag	24840
gccgggcacg gtggctcaca cctgtaatcc cagcactttg ggaggccgag gcaggcggat	24900
cacctgaggt cgggagttag agactagcct caacatggag aaaccccgtc tctactaaaa	24960
aaaatacaaa attaggcggg cgtggtggtg catgcctgta atcccagcta ctcaggaggc	25020
tgaggcagga gaattgcttg aacctgggag gtggaggttg cggtagccg agatcacctc	25080
attgcactcc agcctgggca acaagagcaa aactccatct caaaaaaaaa aaaataaggt	25140
ataagcgggc tcaggaacat cattggacat actgaaagaa gaaaaatcag ctgggcgcag	25200
tggctcacgc cggtaatccc aacacttttg gaggccaagg caggcgaatc acctgaagtc	25260
gggagttcca gatcagcctg accaacaatg agaaaccctg tctctactaa aaatacaaaa	25320
ctagccgggc atggtggcgc atgcctgtaa tcccagctac ttgggaggtt gaggcaggag	25380
aattgcttga accgagaagg cggaggttgc ggtgagccaa gattgcacca ttgcactcca	25440
gcctgggcaa caagagcgaa actccgtctc aaaaaaaaaa ggaagaaaaa tattttttta	25500
aattaattag tttattttatt ttttaagatg gagttttgcc ctgtcaccca ggctggggtg	25560
caatggtgca atctcggctc actgcaacct ccgcctcctg ggttcaagt attctcctgc	25620
ctcagcttcc cgagtagctg tgattacagc catatgccac cagccccagc cagttttgtg	25680
ttttgttttg tttttgttt ttttttttg agagggtgtc ttgctctgtc ccccaagctg	25740
gagtgacgcg gcgcgatctt ggctcactgc aagctctgcc tcccaggttc acaccattct	25800

cttgctcag cctccccagt agctgggact acaggtgccc gccaccacac cgggctaatt	25860
ttttgtgtt ttagtagag atggggtttc actgtgttag ccaggatggt ctcatctcc	25920
tgacctttg atccaccgc ctcagcctcc ccaagtgtg ggattatagg cgtgagccac	25980
tgtgccccgc ctagtcttgt attttagta ggtcgggat ttctccatgt tggtcaggct	26040
gttctccaaa tccgacctca ggtgatccgc ccgcttggc ctccaaaagt gcaaggcaag	26100
gcattacagg catgagccac tgtgaccgc aatgtttta aatttttac atttaaattt	26160
tatttttag agaccaggtc tcactctatt gtcaggctg ggtgcaagg gcacattcac	26220
agctcactgc agccttgacc tccagggtc aagcagtcct ctcacctcag ttccccagt	26280
agctgggact acagtataa tgccactgca cctggctaatt tttattttt atttattat	26340
tttttttga gacagagtct tgctctgtca ccaggctgg agtgcatgg tgtaaatctc	26400
agctcactgc agcctccgc tctgggttc aagtattct cctgcctcaa cctcccaagt	26460
agctgggatt agaggtcccc accaccatgc ctggctaatt tttgtactt tcagtagaaa	26520
cggggttttg ccatgttggc caggctgttc tcgaactcct gagtcaggt gatccaactg	26580
tctcgccctc ccaaagtgt gggattacag gcgtgagcca ctgtgcctag cctgagccac	26640
cacgccggcc taatttttaa attttttga gagacagggt ctcatatgt tgcccagggt	26700
ggtgtcaagc tccaggtctc aagtgatecc cctacctccg cctcccaaag ttgtgggatt	26760
gtaggcatga gccactgcaa gaaaacctta actgcagcct aataattgtt ttctttggga	26820
taactttta agtacattaa aagactatca acttaatttc tgatcatatt ttgttgaata	26880
aaataagtaa aatgtcttgt gaaacaaaat gctttttaac atccatataa agctatctat	26940
atatagctat ctatatctat atagctatit tttttaactt cctttatttt ccttacaggg	27000
ttttagacaa aatcaaaaag aaggaagggt ctcacattcc ttaaattaag gagtaagtct	27060
gccagcatta tgaaagtga tcttactttt gtaaaacttt atggtttgtg gaaaacaaat	27120
gtttttgaac atttaaaaag ttcagatgtt agaaagtga aaggtaatg taaaacaatc	27180
aatattaaag aattttgatg ccaaaaactat tagataaaag gtaaatctac atccctacta	27240
gaattctcat acttaactgg ttggttgtgt ggaagaaaca tactttcaca ataaagagct	27300
ttaggatatg atgccatttt atactactag taggcagacc agcagacttt tttttattgt	27360
gatatgggat aacctaggca tactgcactg tacactctga catatgaagt gctctagtca	27420
agtttaactg gtgtccacag aggacatggt ttaactggaa ttctgcaagc ctctggttct	27480
aatttctcat ttgcaggaaa tgctggcata gagcagcact aaatgacacc actaaagaaa	27540
cgatcagaca gatctggaat gtgaagcgtt atagaagata actggcctca tttcttcaaa	27600
atatcaagtg ttgggaaaga aaaaaggaag tggaatgggt aactcttctt gattaaaagt	27660

tatgtaataa ccaaatgcaa tgtgaaatat ttactggac tctattttga aaaaccatct	27720
gtaaaagact gaggtggggg tgggaggcca gcacggtggt gaggcagttg agaaaatttg	27780
aatgtggatt agattttgaa tgatattgga taattattgg taattttatg agctgtgaga	27840
agggtgttgt agtttataaa agactgtctt aatttgcata ctttaagcatt taggaatgaa	27900
gtgttagagt gtcttaaaat gtttcaaag gtttaacaaa atgtatgtga ggcgtatgtg	27960
gcaaaatgtt acagaatcta actggtggac atggctgttc attgtactgt ttttttctat	28020
cttctatatg tttaaaagta tataataaaa atatttaatt tttttttaa	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 ttatgaaag	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 atgaaagtga 20

<210> 248
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic oligonucleotide
<400> 248
tgccagcatt atgaaagtg 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 tgaaagtga 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 aaagtg	16
<210> 265	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 265	
cagcattatg aaagt	15