(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0065735
(43) 공개일자 2025년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/1138 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7014623(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년03월14일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2023-7031671
원출원일자(국제) 2017년03월14일
심사청구일자 2023년10월16일
(85) 번역문제출일자 2025년05월02일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2017/055925
(87) 국제공개번호 WO 2017/157899
국제공개일자 2017년09월21일
(30) 우선권주장
16160149.7 2016년03월14일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
페데르센 뤼케
덴마크 2970 회르스홀름 프렘티스바이 3 로슈 이노베이션 센터 코펜하겐 에이/에스
자반바크트 하싼
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호프만-라 로슈 아게
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

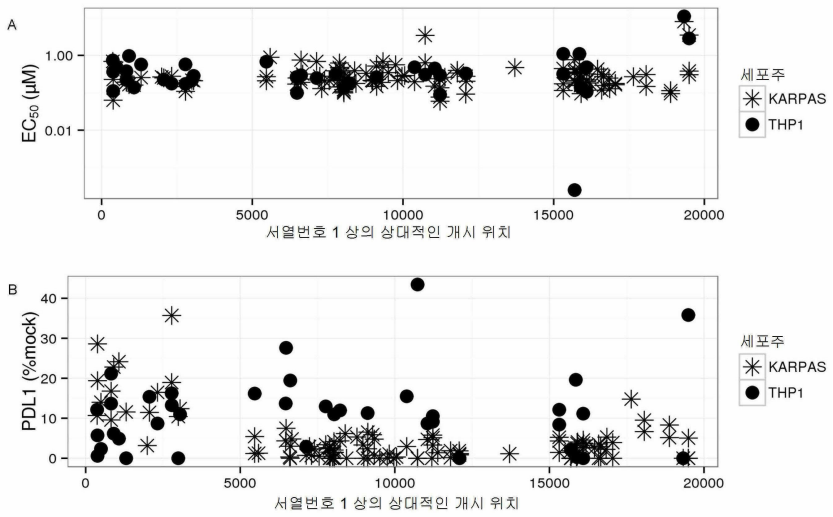
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 **PD-L1 발현의 감소를 위한 올리고뉴클레오티드**

(57) 요 약

본 발명은 표적 세포에서 PD-L1의 발현을 감소시킬 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 관한 것이다. 상기 올리고뉴클레오티드는 PD-L1 mRNA에 혼성화한다. 본 발명은 또한 올리고뉴클레오티드의 접합체, 및 약학 조성물, 및 상기 올리고뉴클레오티드를 사용하는, 바이러스성 간 감염, 예컨대 HBV, HCV 및 HDV; 기생충 감염, 예컨대 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 및 트리파노소마증, 또는 간암 또는 간에서의 전이의 치료 방법에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 31/20 (2018.01)
C07K 14/70503 (2013.01)
C12N 2310/11 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/3231 (2013.01)
C12N 2310/341 (2013.01)
(72) 발명자
야케로트 말레네
덴마크 2970 회르스홀름 프렘티스바이 3 로슈 이노베이션 센터 코펜하겐 에이/에스
오토센 쇠렌
덴마크 2970 회르스홀름 프렘티스바이 3 로슈 이노베이션 센터 코펜하겐 에이/에스
루앙세 수팔론
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호프만-라 로슈 아게

명 세 서

청구범위

청구항 1

PD-L1의 발현을 감소시킬 수 있고, 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드로서, 상기 인접한 뉴클레오티드 서열은 PD-L1 표적 핵산에 90% 이상 상보적이고, 상기 인접한 뉴클레오티드 서열은 상기 표적 핵산의 하위-서열에 상보적이며, 상기 하위-서열은 서열번호 1의 위치 5467 내지 12107, 15317 내지 15720, 15317 내지 18083, 15317 내지 19511, 9812 내지 9859, 15690 내지 15735, 371 내지 3068, 7300 내지 7333, 8028 내지 8072, 11787 내지 11873 및 18881 내지 19494로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안티센스 올리고뉴클레오티드.

청구항 2

10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하고, PD-L1 표적 핵산에 대해 90% 이상 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드로서, 서열번호 466, 640, 6, 8, 9, 13, 41, 42, 58, 77, 92, 111, 128, 151, 164, 166, 169, 171, 222, 233, 245, 246, 250, 251, 252, 256, 272, 273, 287, 292, 303, 314, 318, 320, 324, 336, 342, 343, 344, 345, 346, 349, 359, 360, 374, 408, 409, 415, 417, 424, 429, 430, 458, 464, 474, 490, 493, 512, 519, 529, 533, 534, 547, 566, 567, 578, 582, 601, 619, 620, 636, 637, 638, 645, 650, 651, 652, 653, 658, 659, 660, 665, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 687, 694, 706, 716, 728, 733, 734 및 735로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 대한 90% 이상의 동일성을 갖는, 안티센스 올리고뉴클레오티드.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 466, 640, 6, 8, 9, 13, 41, 42, 58, 77, 92, 111, 128, 151, 164, 166, 169, 171, 222, 233, 245, 246, 250, 251, 252, 256, 272, 273, 287, 292, 303, 314, 318, 320, 324, 336, 342, 343, 344, 345, 346, 349, 359, 360, 374, 408, 409, 415, 417, 424, 429, 430, 458, 464, 474, 490, 493, 512, 519, 529, 533, 534, 547, 566, 567, 578, 582, 601, 619, 620, 636, 637, 638, 645, 650, 651, 652, 653, 658, 659, 660, 665, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 687, 694, 706, 716, 728, 733, 734 및 735로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 대한 100% 동일성을 갖는, 안티센스 올리고뉴클레오티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드에 공유 결합으로 부착된 접합체 모이어티를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 5

제4항에 있어서,

연결기가 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드와 상기 접합체 모이어티 사이에 존재하는, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서,

상기 접합체 모이어티가, 아시알로당단백질 수용체 표적화 모이어티인, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 아시알로당단백질 수용체 표적화 모이어티가 3-가 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티인, 안티센스 올리

고뉴클레오티드 접합체.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 연결기가 생리학적으로 불안정한 연결기인, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 생리학적으로 불안정한 연결기가 뉴클레아제 민감성 연결기인, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서,

상기 생리학적으로 불안정한 연결기가 시티딘-아데노신 다이뉴클레오티드를 포함하는, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 11

제4항에 있어서,

연결기가 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드와 상기 접합체 모이어티 사이에 존재하고, 상기 접합체 모이어티가, 3-가 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티인 아시알로당단백질 수용체 표적화 모이어티를 포함하고, 상기 연결기가 생리학적으로 불안정한 연결기이고, 상기 생리학적으로 불안정한 연결기가 시티딘-아데노신 다이뉴클레오티드를 포함하는, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

청구항 12

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체, 및 약학적으로 허용되는 희석제, 용매, 담체, 염 및/또는 항원보강제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 약학적으로 허용되는 희석제가 멸균 포스페이트-완충된 염수인, 약학 조성물.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서,

상기 약학적으로 허용되는 염이 나트륨인 약학 조성물.

청구항 15

제12항 또는 제13항에 있어서,

상기 약학적으로 허용되는 염이 칼륨인 약학 조성물.

청구항 16

효과량의 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물을, PD-L1을 발현하는 표적 세포에 투여함을 포함하는, 상기 표적 세포에서 PD-L1 발현을 조절하기 위한 생체내 또는 시험관내 방법.

청구항 17

바이러스에 대한 면역 반응의 회복에 사용하기 위한, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고

뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 바이러스가 HBV인, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물.

청구항 19

기생충에 대한 면역 반응의 회복에 사용하기 위한, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물.

청구항 20

면역 반응의 회복이 대조군과 비교될 때 하나 이상의 HBV 항원에 특이적인 CD8+ T-세포의 간에서의 증가인, 제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물.

청구항 21

약제로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물.

청구항 22

HBV 감염 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물.

청구항 23

HBV 감염 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물의 용도.

청구항 24

치료적 또는 예방적 효과량의 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물을 질병을 앓거나 앓기 쉬운 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 질병의 치료 또는 예방 방법.

청구항 25

치료적 또는 예방적 효과량의 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드, 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물을 HBV 감염을 앓거나 앓기 쉬운 대상에게 투여하는 것을 포함하는, HBV 감염의 치료 또는 예방 방법.

청구항 26

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 27

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체의 약학적으로 허용되는 나트륨 염.

청구항 28

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체의 약학적으로 허용되는 칼륨 염.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 프로그래밍(programming)된 사멸 리간드-1(PD-L1)에 상보적이고 간에서 PD-L1의 감소를 야기하는 올리고뉴클레오티드(올리고머)에 관한 것이다. 본 발명은 또한 간의 감염 또는 간의 암에 의해 야기된 T-세포 배출을 완화시키는 방법에 관한 것이다. 관련된 감염은 만성 B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV) 및 D형 간염 바이러스(HDV), 및 기생충 감염, 예컨대 말라리아 및 톡소플라즈마증(예컨대, 플라스모듐(*Plasmodium*)의 원생동물, 특히 종 플라스모듐 비박스(*Plasmodium vivax*), 플라스모듐 말라리아에(*Plasmodium Malariae*) 및 플라스모듐 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*)에 의해 야기됨)이다.

배 경 기 술

[0002] 프로그래밍된 사멸-1(PD-1) 수용체 및 이의 리간드, PD-L1(또는 B7-H1 또는 CD274)로 이루어진 공자극성 경로는 간의 만성 감염 중에 바이러스 제어의 결핍을 야기하는 T-세포 배출에 직접 기여하는 것으로 공지되어 있다. PD-1 경로는 또한, 이러한 경로가 혼란한 마우스가 자가면역 질병을 발병하므로, 자가면역에서 중요한 역할을 한다.

[0003] PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용을 차단하는 항체가 T-세포 반응, 특히 CD8+ 세포독성 T-세포의 반응을 강화시킴이 밝혀졌다(문헌[Barber et al 2006 Nature Vol 439 p682] 및 문헌[Maier et al 2007 J. Immunol. Vol 178 p 2714] 참고).

[0004] 국제 공개공보 제2006/042237호는 종양에서 PD-L1(B7-H1) 발현을 평가함으로써 암을 진단하는 방법을 기술하고, PD-1/PD-L1 상호작용을 간섭하는 제제를 환자에게 전달함을 시사한다. 간섭제는 항체, 항체 단편, siRNA 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 이러한 간섭제에 대한 구체적인 예는 존재하지 않고, 만성 간 감염에 대한 어떠한 언급도 존재하지 않는다.

[0005] 이중 가닥 RNA(dsRNA, RNAi 또는 siRNA) 분자를 사용하는 PD-L1의 RNA 간섭 매개된 억제는 또한, 예를 들어 국제 공개공보 제2005/007855호, 국제 공개공보 제2007/084865호 및 미국 특허공보 제8,507,663호에 개시되어 있다. 이들 중 어느 것도 간으로의 표적화된 전달을 기술하지 않는다.

[0006] 문헌[Dolina et al. 2013 Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2 e72]은 MCMV 감염된 마우스에서 NK 및 CD8+ T-세포 청소(clearance)를 강화시키는 쿠퍼(Kupffer) 세포로의 PD-L1 표적화 siRNA 분자의 생체내 전달을 기술한다. 이러한 논문은 간세포로 전달된 PD-L1 표적화 siRNA 분자가 CD8+ T-세포 효과기 기능의 강화와 관련하여 효과적이지 않는 것으로 결론지어진다.

[0007] siRNA 접근은, 생체분포 및 작용 방식이 아주 상이하므로, 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드 접근과 상당히 상이하다. 문헌[Xu et al 2003 Biochem. Biophys. Res .Comm. Vol 306 page 712-717]에 기술된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 siRNA는 mRNA 내의 표적 부위에 대한 상이한 선호도를 갖는다.

[0008] 국제 공개공보 제2016/138278호는 5' 말단에서 연결된 2개 이상의 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하는, PD-L1을 비롯한 면역 체크포인트의 억제를 기술한다. 이러한 문헌은 HBV 또는 간으로의 표적화된 전달을 언급하지 않는다.

발명의 내용

[0009] 발명의 목적

[0010] 본 발명은 간 세포(실질 세포(예컨대, 간세포) 및 비-실질 세포, 예컨대 쿠퍼 세포 및 간 정현 내피 세포(LSEC) 둘 다)에서 PD-L1 mRNA를 매우 효율적으로 감소시키는 신규한 올리고뉴클레오티드 및 올리고뉴클레오티드 접합

체를 동정한다. PD-L1을 감소시키거나 침묵화시킴으로써, 올리고뉴클레오티드 및 올리고뉴클레오티드 접합체는 PD-1-매개된 억제를 감소시키고, 이에 의해 소실된 T-세포의 면역자극을 촉진한다. 간의 만성 병원성 감염에서 T-세포 배출의 완화는 간의 만성 병원성 감염 중에 혈액 내의 바이러스 항원의 감소된 수준 및 회복된 면역 조절을 야기할 것이다. 자연 살해(NK) 세포 및 자연 살해 T(NKT) 세포는 또한 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 올리고뉴클레오티드 접합체에 의해 활성될 수 있다.

[0011] 올리고뉴클레오티드 접합체는 간 세포 내의 PD-L1의 국소적인 감소를 보장하고, 이에 따라 자가면역 부작용, 예컨대 PD-L1의 전신 고갈과 연관된 대장염, 비-바이러스성 간염 및 폐렴의 위험을 감소시킨다.

[0012] 발명의 요약

[0013] 본 발명은 PD-L1의 발현을 조절할 수 있는 핵산을 표적화하는 올리고뉴클레오티드 또는 접합체, 및 PD-L1의 작용화와 관련된 질병의 치료 또는 예방에 관한 것이다. 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 특히 감염성 제제에 대한 면역 반응이 소실된 질병의 치료에 사용될 수 있다.

[0014] 따라서, 제1 양상에서, 본 발명은 PD-L1 표적 핵산에 90% 이상 상보적인, 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 올리고뉴클레오티드는, 바람직하게는 갭머(gapmer) 디자인을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 바람직하게는, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 절단에 의해 PD-L1의 발현을 억제할 수 있다. 상기 절단은 바람직하게는 뉴클레아제 모집에 의해 달성된다.

[0015] 추가 양상에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티, 예컨대 하나 이상의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티를 포함하는 접합체 모이어티에 접합된다. 접합 모이어티 및 올리고뉴클레오티드는 연결기, 특히 생체절단성 연결기에 의해 함께 연결될 수 있다.

[0016] 추가 양상에서, 본 발명은 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체, 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 및/또는 항원보강제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0017] 추가 양상에서, 본 발명은 PD-L1을 발현하는 표적 세포에 올리고뉴클레오티드 또는 본 발명의 조성물을 효과량으로 투여함으로써, 상기 표적 세포에서 PD-L1 발현의 감소를 위한 생체내 또는 시험관내 방법을 위한 방법을 제공한다.

[0018] 추가 양상에서, 본 발명은 바이러스 또는 기생충에 대한 면역성의 회복에 사용하기 위한 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물을 제공한다.

[0019] 추가 양상에서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물을 제공한다.

[0020] 추가 양상에서, 본 발명은 치료 또는 예방 효과량의 본 발명의 올리고뉴클레오티드를 질병, 질환 또는 기능장애, 특히 특히 바이러스성 간 감염 및 기생충 감염으로부터 선택되는 질병을 앓거나 이에 걸리기 쉬운 대상에게 투여함을 포함하는, 질병, 질환 또는 기능장애의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0021] 추가 양상에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 바이러스성 간 감염, 예컨대 HBV, HCV 및 HDV, 또는 기생충 감염, 예컨대 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 및 트리파노소마증, 또는 간암 또는 간에서의 전이의 치료 또는 예방에 사용된다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 올리고뉴클레오티드가 물결선(A 내지 D) 또는 "올리고뉴클레오티드"(E 내지 H) 또는 T_2(I)로 표시되고 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티가 3-가 N-아세틸갈락토사민 모이어티인, 예시적인 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체를 도시한다. 화합물 A 내지 D는 다이-리신 분지(brancher) 분자 PEG3 스페이서 및 3개의 말단 GalNAc 탄수화물 모이어티를 포함한다. 화합물 A 및 B에서, 올리고뉴클레오티드는 연결기 없이 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티에 직접 부착된다. 화합물 C 및 D에서, 올리고뉴클레오티드는 C6 연결기를 통해 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티에 직접 부착된다. 화합물 E 내지 I는 트레블러 분지 분자(trebler brancher molecule) 및 길이 및 구조가 변하는 스페이서 및 3개의 말단 GalNAc 탄수화물 모이어티를 포함한다.

도 2는 표적 핵산 상의 위치를 기준으로, 실시예 2에서 시험된 화합물에 대한 EC50(A) 및 PD-L1 녹다운(knock

down)(염수의 %)(B)을 나타내는 그래프이다. 화합물이 시험된 세포주는 THP1(●) 및 카르파스(Karpas)(■)이다.

도 3은 3-가 GalNAc 클러스터(GN2)의 화학식을 도시한다. GN2는 본 발명에서 접합 모이어티로서 유용하다. 물결선은, 예컨대 C6 아미노 연결기로의 또는 직접적으로 올리고뉴클레오티드로의 클러스터의 접합 부위를 나타낸다.

도 4는 화합물 번호 766_2의 화학식을 도시한다.

도 5는 화합물 번호 767_2의 화학식을 도시한다.

도 6은 화합물 번호 768_2의 화학식을 도시한다.

도 7은 화합물 번호 769_2의 화학식을 도시한다.

도 8은 화합물 번호 770_2의 화학식을 도시한다.

도 9는 염수 및 표시된 화합물 번호를 사용하는 처리 후, 폴리(IC) 유도된 동물로부터 간에서의 PD-L1 단백질 발현을 검출하는 웨스턴 블롯을 도시한다. 각각의 블롯은 네이키드 올리고뉴클레오티드 대 동일한 올리고뉴클레오티드의 GalNAc 접합된 버젼을 나타낸다: 블롯 A) 화합물 번호 744_1 및 755_2, B) 화합물 번호 747_1 및 758_2, C) 화합물 번호 748_1 및 759_2, D) 화합물 번호 752_1 및 763_2, 및 E) 화합물 번호 753_1 및 764_2. 상부 밴드는 빈쿨린 로딩 대조군이고, 하부 밴드는 PD-L1 단백질이다. 각각의 블롯의 첫 번째 선은 폴리(IC) 유도 없이 염수 처리된 마우스를 나타낸다. 이러한 마우스는 매우 적은 PD-L 단백질을 발현한다.

도 10은 ● 비히클(군 10 및 1), ◆ DNA 백신(군 11 및 2), ○ 항-PD-L1 항체(군 12), ▲ 네이키드 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 7) 또는 △ GalNAc 접합된 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 8)을 사용하는 처리 후, 간의 단핵 세포 집단을 도시한다(각각의 군을 위하여, 개별 동물이 표시되고, 평균은 각각의 군에 대한 수직선에 의해 표시됨)(표 18 참조). DNA 백신 군과 3개의 처리 군 사이의 통계학성 유의성이 평가되었고, 존재하는 경우 군 사이에 *로 표시된다(* = P < 0.05, *** = P < 0.001 및 **** = P < 0.0001). A는 처리 후 간에서의 T-세포의 수를 나타낸다. B는 CD4+ T-세포의 분율을 나타내고, C는 CD8+ T-세포의 분율을 나타낸다.

도 11은 ● 비히클(군 10 및 1), ◆ DNA 백신(군 11 및 2), ○ 항-PD-L1 항체(군 12), ▲ 네이키드 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 7) 또는 △ GalNAc 접합된 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 8)을 사용하는 처리 후, 간의 PD-L1 양성 세포의 조절을 도시한다(각각의 군을 위하여, 개별 동물이 표시되고, 평균은 각각의 군에 대한 수직선에 의해 표시됨)(표 19 참조). DNA 백신 군과 3개의 처리 군 사이의 통계학성 유의성이 평가되었고, 존재하는 경우 군 사이에 *로 표시된다(* = P < 0.05 및 **** = P < 0.0001). A는 치료 후 간에서 PD-L1을 발현하는 CD8+ T-세포의 %를 나타낸다. B는 처리 후 간에서 PD-L1을 발현하는 CD4+ T-세포를 나타내고, C는 처리 후 간에서 PD-L1을 발현하는 B 세포를 나타낸다.

도 12는 ● 비히클(군 10 및 1), ◆ DNA 백신(군 11 및 2), ○ 항-PD-L1 항체(군 12), ▲ 네이키드 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 7) 또는 △ GalNAc 접합된 PD-L1 ASO + DNA 백신(군 8)을 사용하는 처리 후, 간 내의 HBV 항원 특이적 CD8+ 사이토킨 분비 세포를 도시한다(각각의 군을 위하여, 개별 동물이 표시되고, 평균은 각각의 군에 대한 수직선에 의해 표시됨)(표 20 참조). DNA 백신 군과 3개의 처리 군 사이의 통계학성 유의성이 평가되었고, 존재하는 경우 군 사이에 *로 표시된다(* = P < 0.05). A는 치료 후 HBV PreS2+S 항원에 특이적인 간 내의 IFN-γ 분비 CD8+ T-세포의 %를 나타낸다. B는 치료 후 IHBV 코어 항원에 특이적인 간 내의 IFN-γ 분비 CD8+ T-세포의 %를 나타내고 C는 치료 후 HBV PreS2+S 항원에 특이적인 간 내의 IFN-γ 및 TNF-α 분비 CD8+ T-세포의 %를 나타낸다.

도 13은 비히클(■)과 비교되는, GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 화합물 번호 759_2(▼)에 의한 처리 후 AAV/HBV 마우스 내의 HBV-DNA, HBsAg 및 HBeAg를 도시한다. 수직선은 처리의 종료를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 정의

[0024] ***올리고뉴클레오티드***

[0025] 본원에 사용된 용어 "올리고뉴클레오티드"는 2개 이상의 공유 결합으로 연결된 뉴클레오시드를 포함하는 분자로서 당업자에게 일반적으로 이해되는 바와 같이 정의된다. 이러한 공유 결합된 뉴클레오시드는 또한 핵산 분자

또는 올리고머로서 지칭될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 고체-상 화학 합성 및 정제에 의해 실험실에서 통상적으로 제조된다. 올리고뉴클레오티드의 서열을 언급하는 경우, 공유 결합으로 연결된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드의 핵염기 모이어티 또는 이의 변형의 서열 또는 순서를 지칭한다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 인공적이고, 화학적으로 합성되고, 전형적으로 정제되거나 단리된다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0026] ***안티센스 올리고뉴클레오티드***

[0027] 본원에 사용된 용어 "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 표적 핵산, 특히 표적 핵산 상의 인접한 서열에 혼성화함으로써 표적 유전자의 발현을 조절할 수 있는 올리고뉴클레오티드로서 정의된다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 본질적으로 이중 가닥이 아니고, 이에 따라 siRNA가 아니다. 바람직하게는, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 단일 가닥이다.

[0028] ***인접한 뉴클레오티드 서열***

[0029] 용어 "인접한 뉴클레오티드 서열"은 표적 핵산에 상보적인 올리고뉴클레오티드의 영역을 지칭한다. 이러한 용어는 본원에서 용어 "인접한 핵염기 서열" 및 용어 "올리고뉴클레오티드 모티프 서열"과 상호교환적으로 사용된다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 모든 뉴클레오티드는 인접한 뉴클레오티드 서열을 구성한다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 추가의 뉴클레오티드, 예를 들어 작용기를 인접한 뉴클레오티드 서열에 부착하는데 사용될 수 있는 뉴클레오티드 연결기 영역을 임의적으로 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 연결기 영역은 표적 핵산에 상보적이거나 상보적이지 않을 수 있다.

[0030] ***뉴클레오티드***

[0031] 뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드 및 폴리뉴클레오티드의 빌딩 블록이고, 본 발명의 목적을 위하여 천연 발생 및 비-천연 발생 뉴클레오티드를 둘 다 포함한다. 천연적으로, 뉴클레오티드, 예컨대 DNA 및 RNA 뉴클레오티드는 리보스 당 모이어티, 핵염기 모이어티 및 하나 이상의 포스페이트 기(뉴클레오시드에는 부재함)를 포함한다. 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 또한 "단위" 또는 "단량체"와 상호교환적으로 지칭될 수 있다.

[0032] ***변형된 뉴클레오시드***

[0033] 본원에 사용된 용어 "변형된 뉴클레오시드" 또는 "뉴클레오시드 변형"은 당 모이어티 또는 (핵)염기 모이어티의 하나 이상의 변형을 도입함으로써, 균등한 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드와 비교하여 변형된 뉴클레오시드를 지칭한다. 바람직한 양태에서, 변형된 뉴클레오시드는 변형된 당 모이어티를 포함한다. 용어 "변형된 뉴클레오시드"는 또한 본원에서 용어 "뉴클레오시드 유사체" 또는 변형된 "단위" 또는 변형된 "단량체"와 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0034] ***변형된 뉴클레오시드간 연결기***

[0035] 용어 "변형된 뉴클레오시드간 연결기"는 2개의 뉴클레오시드를 함께 공유 결합으로 커플링시키는, 포스포다이에스터(PO) 이외의 연결기로서 당업자에게 일반적으로 이해되는 바와 같이 정의된다. 변형된 뉴클레오시드간 연결기를 갖는 뉴클레오티드는 또한 "변형된 뉴클레오티드"로 지칭된다. 일부 양태에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결기는 포스포다이에스터 연결기와 비교하여, 올리고뉴클레오티드의 뉴클레아제 내성을 증가시킨다. 천연 발생 올리고뉴클레오티드의 경우, 뉴클레오시드간 연결기는 인근 뉴클레오시드 사이에 포스포다이에스터 결합을 생산하는 포스페이트 기를 포함한다. 변형된 뉴클레오시드간 연결기는 생체내 사용을 위해 올리고뉴클레오티드를 안정화시키는데 특히 유용하고, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 중 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드의 영역에서, 예를 들어 변형된 뉴클레오시드의 영역뿐만 아니라 갭머 올리고뉴클레오티드의 갭 영역 내에서 뉴클레아제 절단에 대해 보호하는 역할을 할 수 있다.

[0036] 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 천연 포스포다이에스터로부터, 예를 들어 뉴클레아제 공격에 대해 더욱 내성인 연결기로 변형된 하나 이상의 뉴클레오시드간 연결기를 포함한다. 뉴클레아제 내성은 혈청 중 올리고뉴클레오티드를 항온처리함으로써 또는 뉴클레아제 내성 검정(예컨대, 뱀 독액 포스포다이에스터라제(SVPD))(둘 다 당해 분야에 널리 공지됨)을 사용함으로써 측정될 수 있다. 올리고뉴클레오티드의 뉴클레아제 내성을 강화시킬 수 있는 뉴클레오시드간 연결기는 뉴클레아제 내성 뉴클레오시드간 연결기로 지칭된다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열 중 뉴클레오시드간 연결기의 50% 이상은 변형되고, 예컨대 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열 중 뉴클레오시드간 연결기의 60% 이상, 예컨대 70% 이상, 예컨대 80% 이상, 또는, 예컨대 90% 이상은 변형된다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접

한 뉴클레오티드 서열의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 변형된다. 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드를 비-뉴클레오티드 작용기, 예컨대 접합체에 연결하는 뉴클레오시드가 포스포다이에스터일 수 있음이 인정될 것이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 뉴클레아제 내성 뉴클레오시드간 연결기이다.

[0037] 변형된 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트, 다이포스포로티오에이트 및 보라노포스페이트를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 양태에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결기는 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 포스포로티오에이트, 다이포스포로티오에이트 또는 보라노포스페이트의 RNase H 모집과 상용성이다.

[0038] 일부 양태에서, 뉴클레오시드간 연결기는 황(S)을 포함한다(예컨대, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기).

[0039] 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기는 뉴클레아제 내성, 이로운 약동학 및 제조 용이성에 기인하여 특히 유용하다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열 중 뉴클레오시드간 연결기의 50% 이상은 포스포로티오에이트이고, 예컨대 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열 중 뉴클레오시드간 연결기의 60% 이상, 예컨대 70% 이상, 예컨대 80% 이상 또는 90% 이상은 포스포로티오에이트이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트이다.

[0040] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 중성 뉴클레오시드간 연결기, 특히 포스포트라이에스터, 메틸포스폰에이트, MMI, 아미드-3, 폼아세탈 및 티오폼아세탈로부터 선택되는 뉴클레오시드간 연결기를 포함한다.

[0041] 추가의 뉴클레오시드간 연결기는 국제 공개공보 제2009/124238호(참고로서 본원에 혼입됨)에 개시되어 있다. 한 양태에서, 뉴클레오시드간 연결기는 국제 공개공보 제2007/031091호(참고로서 본원에 혼입됨)에 개시된 연결기로부터 선택된다. 특히, 뉴클레오시드간 연결기는 -O-P(O)$_2$-O-, -O-P(O,S)-O-, -O-P(S)$_2$-O-, -S-P(O)$_2$-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)$_2$-O-, -O-P(O)$_2$-S-, -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)$_2$-S-, -O-PO(R^H)-O-, O-PO(OCH_3)-O-, -O-PO(NR^H)-O-, -O-PO(OCH_2CH_2S-R)-O-, -O-PO(BH_3)-O-, -O-PO(NHR^H)-O-, -O-P(O)$_2$-NR^H-, -NR^H-P(O)$_2$-O-, -NR^H-CO-O-, -NR^H-CO-NR^H-로부터 선택될 수 있고/거나 뉴클레오시드간 연결기는 O-CO-O-, -O-CO-NR^H-, -NR^H-CO-CH_2-, -O-CH_2-CO-NR^H-, -O-CH_2-CH_2-NR^H-, -CO-NR^H-CH_2-, -CH_2-NR^HCO-, -O-CH_2-CH_2-S-, -S-CH_2-CH_2-O-, -S-CH_2-CH_2-S-, -CH_2-SO_2-CH_2-, -CH_2-CO-NR^H-, -O-CH_2-CH_2-NR^H-CO-, -CH_2-NCH_3-O-CH_2-(이때, R^H는 수소 및 C_{1-4}-알킬로부터 선택됨)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0042] 뉴클레아제 내성 연결기, 예컨대 포스포티오에이트 연결기는 표적 핵산, 예컨대 갭머에 대한 영역 G, 또는 헤드머(headmer) 및 테일머의 비-변형된 뉴클레오시드 영역과 함께 듀플렉스(duplex)를 형성할 때 뉴클레아제를 모집할 수 있는 올리고뉴클레오티드 영역에 특히 유용하다. 그러나, 포스포로티에이트 연결기는 또한 비-뉴클레아제 모집 영역 및/또는 친화성 강화 영역, 예컨대 갭머에 대한 영역 F 및 F', 또는 헤드머 및 테일머의 변형된 뉴클레오시드 영역에 유용할 수 있다.

[0043] 그러나, 각각의 디자인 영역은 특히 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA가 뉴클레아제 분해에 대해 연결기를 보호하는 영역에서 포스포로티오에이트 이외의 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 포스포다이에스터 연결기를 포함할 수 있다. 특히 변형된 뉴클레오시드 단위(전형적으로 비-뉴클레아제 모집 영역에서) 사이 또는 이의 인근의 포스포다이에스터 연결기, 예컨대 1 또는 2개의 연결기를 포함하는 것은 올리고뉴클레오티드의 생체이용 효능 및/또는 생체분포를 변형시킬 수 있다(참고로서 본원에 혼입된 국제 공개공보 제2008/113832호 참고).

[0044] 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 및/또는 보라노포스페이트 연결기이다. 바람직하게는, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 연결기이다.

[0045] ***핵염기***

[0046] 용어 "핵염기"는 핵산 혼성화에서 수소 결합을 형성하는 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드에 존재하는 퓨린(예컨대, 아데닌 및 구아닌) 및 피리미딘(예컨대, 우라실, 티민 및 사이토신) 모이어티를 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 용어 "핵염기"는 또한 천연 발생 핵염기와 상이할 수 있지만 핵산 혼성화 동안 작용성인 변형된

핵염기를 포함한다. 이러한 맥락에서, "핵염기"는 천연 발생 핵염기, 예컨대 아데닌, 구아닌, 사이토신, 티미딘, 우라실, 잔틴 및 하이포잔틴, 및 비-천연 발생 변이체를 둘 다 지칭한다. 이러한 변이체는, 예를 들어 문헌[Hirao et al (2012) Accounts of Chemical Research vol 45 page 2055] 및 문헌[Bergstrom (2009) Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl. 37 1.4.1]에 기술되어 있다.

[0047] 일부 양태에서, 핵염기 모이어티는 퓨린 또는 피리미딘을 변형된 퓨린 또는 피리미딘, 예컨대 치환된 퓨린 또는 치환된 피리미딘, 예컨대 이소사이토신, 슈도이소사이토신, 5-메틸-사이토신, 5-티오졸로-사이토신, 5-프로핀일-사이토신, 5-프로핀일-우라실, 5-브로모-우라실, 5-티아졸로-우라실, 2-티오-우라실, 2'-티오-티민, 이노신, 다이아미노퓨린, 6-아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 2,6-다이아미노퓨린 및 2-클로로-6-아미노퓨린으로부터 선택되는 핵염기로 바꿈으로써 변형된다.

[0048] 핵염기 모이어티는 각각의 상응하는 핵염기에 대한 문자 부호, 예컨대 A, T, G, C 또는 U로 표시될 수 있고, 이때 각각의 문자는 임의적으로 균등한 기능의 변형된 핵염기를 포함한다. 예를 들어, 예시적인 올리고뉴클레오티드에서, 핵염기 모이어티는 A, T, G, C 및 5-메틸-사이토신으로부터 선택된다. 임의적으로, LNA 갭머의 경우, 5-메틸-사이토신 LNA 뉴클레오시드가 사용될 수 있다.

[0049] ***변형된 올리고뉴클레오티드***

[0050] 용어 "변형된 올리고뉴클레오티드"는 하나 이상의 당-변형된 뉴클레오시드 및/또는 변형된 뉴클레오시드간 연결기를 포함하는 올리고뉴클레오티드를 기술한다. 용어 "키메라" 올리고뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오시드를 갖는 올리고뉴클레오티드를 기술하기 위해 문헌에서 사용되는 용어이다.

[0051] ***상보성***

[0052] 용어 "상보성"은 뉴클레오시드/뉴클레오티드의 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기-대합을 위한 자격을 기술한다. 왓슨-크릭 염기 쌍은 구아닌(G)-사이토신(C) 및 아데닌(A)-티민(T)/우라실(U)이다. 올리고뉴클레오티드가 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오시드를 포함할 수 있고, 예를 들어 5-메틸 사이토신이 종종 사이토신 대신에 사용되고, 상기 용어 "상보성"은 비-변형된 및 변형된 핵염기 사이의 왓슨-크릭 염기 대합을 포괄함이 이해될 것이다(예를 들어, 문헌[Hirao et al (2012) Accounts of Chemical Research vol 45 page 2055] 및 문헌[Bergstrom (2009) Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl. 37 1.4.1] 참고).

[0053] 본원에 사용된 용어 "% 상보성"은 소정 위치에서, 별개의 핵산 분자(예컨대, 표적 핵산)의 소정 위치의 인접한 뉴클레오티드 서열에 상보적인(즉, 왓슨-크릭 염기 쌍을 형성하는) 핵산 분자(예컨대, 올리고뉴클레오티드) 내의 인접한 뉴클레오티드 서열의 %인 뉴클레오티드의 수를 지칭한다. %는 2개의 서열 사이에 쌍을 형성하는 정렬된 염기의 수를 계수하고(표적 서열 5'-3' 및 올리고뉴클레오티드 서열 3'-5'로 정렬될 때), 올리고뉴클레오티드 내의 뉴클레오티드의 총 수로 나누고, 100을 곱함으로써 계산된다. 이러한 비교에서, 정렬(염기 쌍을 형성)되지 않는 핵염기/뉴클레오티드는 미스매치(mismatch)로 지칭된다.

[0054] 용어 "완전히 상보성"은 100% 상보성을 지칭한다.

[0055] 하기 서열은 표적 핵산(서열번호 772)에 완전히 상보성인 올리고뉴클레오티드(서열번호 5)의 예이다.

[0056] 5'gcagtagagccaatta3'(서열번호 772)

[0057] 3'cgtcatctcggttaat5'(서열번호 5)

[0058] ***동일성***

[0059] 본원에 사용된 용어 "동일성"은 소정 위치에서, 별개 핵산 분자(예컨대, 표적 핵산)의 소정 위치에서 인접한 뉴클레오티드 서열과 동일한(즉, 상보성 뉴클레오시드와 왓슨-크릭 염기 쌍을 형성하는 이들의 능력의 면에서) 핵산 분자(예컨대, 올리고뉴클레오티드) 내의 인접한 뉴클레오티드 서열의 %인 뉴클레오티드의 수를 지칭한다. %는 갭을 비롯하여 2개의 서열 사이에 동일한 정렬된 염기의 수를 계수하고, 올리고뉴클레오티드 내의 뉴클레오티드의 총 수로 나누고, 100을 곱함으로써 계산된다. % 동일성 = (매치 x 100)/정렬된 영역의 길이(갭을 포함함).

[0060] ***혼성화***

[0061] 본원에 사용된 용어 "혼성화하는" 또는 "혼성화하다"는 대향하는 가닥 상의 염기 쌍 사이에 수소 결합을 형성하고 이에 의해 듀플렉스를 형성하는 2개의 핵산 가닥(예컨대, 올리고뉴클레오티드 및 표적 핵산)으로 이해되어야

한다. 2개의 핵산 가닥 사이의 결합의 친화도는 혼성화의 강도이다. 이것은 종종 올리고뉴클레오티드의 절반이 표적 핵산과 듀플렉싱된 온도로서 정의되는 용융 온도(T_m)에 의하여 기술된다. 생리학적 조건 T_m은 친화도에 엄격히 비례하지는 않는다(문헌[Mergny and Lacroix, 2003, *Oligonucleotides* 13:515-537]). 표준 상태 깁스(Gibbs) 자유 에너지 ΔG°는 결합 친화도의 더욱 정확한 표현이고, $\Delta G^\circ = -RT\ln(K_d)$(이때, R은 기체 상수이고, T는 절대 온도임)에 의해 반응의 해리 상수(K_d)와 관련된다. 따라서, 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이의 반응의 매우 낮은 ΔG°는 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이의 강한 혼성화를 반영한다. ΔG°는 수성 농도가 1 M이고, pH가 7이고, 온도가 37℃인 반응과 연관된 에너지이다. 표적 핵산으로의 올리고뉴클레오티드의 혼성화는 자발적인 반응이고, 자발적인 반응의 경우, ΔG°는 0 미만이다. ΔG°는, 예를 들어, 문헌[Hansen et al., 1965, Chem. Comm. 36-38] 및 문헌[Holdgate et al., 2005, Drug Discov Today]에 기술된 등온 적정 열량계(ITC) 방법을 사용함으로써, 실험적으로 측정될 수 있다. 당업자는 시판 중인 장비가 ΔG° 측정에 이용가능함을 알 것이다. ΔG°는 또한 문헌[Sugimoto et al., 1995, Biochemistry 34:11211-11216] 및 문헌[McTigue et al., 2004, Biochemistry 43:5388-5405]에 기술된 대략적으로 유도된 열역학 파라미터를 사용하는 문헌[SantaLucia, 1998, Proc Natl Acad Sci USA. 95: 1460-1465]에 기술된 최근접 이웃 모델(nearest neighbor model)을 사용함으로써, 수치적으로 추정될 수 있다. 혼성화에 의해 의도된 핵산 표적을 조절할 가능성을 갖기 위하여, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이인 올리고뉴클레오티드에 대해 -10 kcal 미만의 추정된 ΔG° 값을 갖는 표적 핵산에 혼성화한다. 일부 양태에서, 혼성화의 정도 또는 강도는 표준 상태 깁스 자유 에너지 ΔG°에 의해 측정된다. 올리고뉴클레오티드는 8 내지 30개의 뉴클레오티드 길이인 올리고뉴클레오티드에 대해 -10 kcal 미만, 예컨대 -15 kcal 미만, 예컨대 -20 kcal 미만, 예컨대 -25 kcal 미만의 추정된 ΔG° 값을 갖는 표적 핵산에 혼성화할 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 -10 내지 -60 kcal, 예컨대 -12 내지 -40 kcal, 예컨대 -15 내지 -30 kcal 또는 -16 내지 -27 kcal, 예컨대 -18 내지 -25 kcal의 추정된 ΔG° 값을 갖는 표적 핵산에 혼성화한다.

[0062] ***표적 핵산***

[0063] 본 발명에 따라서, 표적 핵산은 포유동물 PD-L1을 코딩하고, 예를 들어 유전자, RNA, mRNA 및 미성숙 mRNA(pre-mRNA), 성숙 mRNA 또는 cDNA 서열일 수 있는 핵산이다. 따라서, 표적은 PD-L1 표적 핵산으로서 지칭될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 포유동물 PD-L1의 표적 엑손 영역일 수 있거나, 예를 들어 PD-L1 미성숙 mRNA의 표적 인트론 영역일 수 있다(표 1 참고).

[0064] [표 1]

[0065] 인간 PD-L1 엑손 및 인트론

인간 PD-L1 pre-mRNA (서열번호 1)의 엑손 영역			인간 PD-L1 pre-mRNA (서열번호 1) 인트론 영역		
ID	개시	종결	ID	개시	종결
e1	1	94	i1	95	5597
e2	5598	5663	i2	5664	6576
e3	6577	6918	i3	6919	12331
e4	12332	12736	i4	12737	14996
e5	14997	15410	i5	15411	16267
e6	16268	16327	i6	16328	17337
e7	17338	20064			

[0066]

[0067] 적합하게는, 표적 핵산은 PD-L1 단백질, 특히 포유동물 PD-L1, 예컨대 인간 PD-L1을 코딩한다(예를 들어, 인간, 원숭이 및 마우스 PD-L1에 대한 RNA 및 미성숙 mRNA 서열에 대한 참고를 제공하는 표 2 및 3 참고). 본 발명의 맥락에서, 미성숙 mRNA는 또한 단백질을 코딩하는 핵산으로 간주된다.

[0068] 일부 양태에서, 표적 핵산은 서열번호 1, 2 및 3 또는 이의 천연 발생 변이체(예컨대, 포유동물 PD-L1 단백질을 코딩하는 서열)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0069] 연구 또는 진단에서 본 발명의 올리고뉴클레오티드를 사용하는 경우, 표적 핵산은 cDNA, 또는 DNA 또는 RNA로부터 유도된 합성 핵산일 수 있다.

[0070] 생체내 또는 시험관내 적용의 경우, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 전형적으로 PD-L1 표적 핵산을 발현하는 세포에서 PD-L1 표적 핵산의 발현을 억제할 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드의 핵염기의 인접한 서열은 전형적으로 1 또는 2개의 미스매치를 임의적으로 제외하고, 올리고뉴클레오티드를 임의적인 작용기, 예컨대 접합체, 또는 다른 비-상보성 종결 뉴클레오티드(예컨대, 영역 D' 또는 D")에 연결할 수 있는 뉴클레오티드 기반 연결기 영역을 임의적으로 제외하면서 올리고뉴클레오티드의 길이에 따라 측정된 바와 같이, PD-L1 표적 핵산에 상보성이다. 표적 핵산은, 일부 양태에서, RNA 또는 DNA, 예컨대 메신저 RNA, 예컨대 성숙 mRNA 또는 미성숙 mRNA일 수 있다. 일부 양태에서, 표적 핵산은 포유동물 PD-L1 단백질, 예컨대 인간 PD-L1, 예컨대 인간 PD-L1 미성숙 mRNA 서열, 예컨대 서열번호 1로 개시된 서열 또는 NCBI 참조 번호 NM_014143을 갖는 인간 mRNA 서열을 코딩하는 RNA 또는 DNA이다. 예시적인 표적 핵산에 대한 추가 정보는 표 2 및 3에 제공된다.

[0071] [표 2]

[0072] PD-L1 어크로스 종에 대한 게놈 및 어셈블리 정보

종	Chr.	가닥	게놈 좌표 개시	 종결	어셈블리	mRNA에 대한 NCBI 기준 서열* 수탁번호
인간	9	fwd	5450503	5470566	GRCh38:CM000671.2	NM_014143
사이노몰거스 원숭이	15		73560846	73581371	GCF_000364345.1	XM_005581779
마우스	19	fwd	29367455	29388095	GRCm38:CM001012.2	NM_021893

[0073]

[0074] Fwd = 전방 가닥. 게놈 좌표는 미성숙 mRNA 서열(게놈 서열)을 제공한다. NCBI 기준은 mRNA 서열(cDNA 서열)이다.

[0075] *미국 국립 생물정보센터(The National Center for Biotechnology Information) 기준 서열 데이터베이스는 게놈, 전사체 및 단백질을 비롯한 포괄적이고 통합되고 중복되지 않고 주석이 잘 달린 기준 서열의 집합이다. 이는 웹사이트[www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq]에서 호스팅된다.

[0076] [표 3]

[0077] PD-L1 어크로스 종에 대한 서열 세부사항

종	RNA 유형	길이 (nt)	서열번호
인간	prem-RNA	20064	1
사이노몰거스 원숭이	prem-RNA GCF 기준	20261	2
사이노몰거스 원숭이	prem-RNA 내부	20340	3
마우스	prem-RNA	20641	4

[0078]

[0079] ***표적 서열***

[0080] 본원에 사용된 용어 "표적 서열"은 본 발명의 올리고뉴클레오티드에 상보적인 핵염기 서열을 포함하는 표적 핵산에 존재하는 뉴클레오티드의 서열을 지칭한다. 일부 양태에서, 표적 서열은 본 발명의 올리고뉴클레오티드의 인접한 뉴클레오티드 서열에 상보적인 표적 핵산 상의 영역으로 이루어진다. 일부 양태에서, 표적 서열은 단일 올리고뉴클레오티드의 상보성 서열보다 길고, 예를 들어 다수의 본 발명의 올리고뉴클레오티드에 의해 표적화될 수 있는 표적 핵산의 바람직한 영역을 나타낼 수 있다.

[0081] 표적 서열은 표적 핵산의 하위-서열일 수 있다.

[0082] 일부 양태에서, 하위-서열은 a1 내지 a149로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열이다(표 4 참고). 일부 양태에서, 하위-서열은 인간 PD-L1 mRNA 엑손, 예컨대 e1, e2, e3, e4, e5, e6 및 e7로 이루어진 군으로부터 선택되는 PD-L1 인간 mRNA 엑손으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열이다(상기 표 1 참고).

[0083] 일부 양태에서, 하위-서열은 인간 PD-L1 mRNA 인트론, 예컨대 i1, i2, i3, i4, i5 및 i6으로 이루어진 군으로부

터 선택되는 PD-L1 인간 mRNA 인트론으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열이다(상기 표 1 참고).

[0084] 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산, 예컨대 표적 핵산의 하위-서열, 예컨대 본원에 기술된 표적 서열에 상보성이거나 이로 혼성화되는 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0085] 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산 분자에 존재하는 표적 서열에 상보적이거나 이로 혼성화되는 8개 이상의 뉴클레오티드의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 인접한 뉴클레오티드 서열(및, 이에 따라 표적 서열)은 8개 이상의 인접한 뉴클레오티드, 예컨대 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 인접한 뉴클레오티드, 예컨대 12 내지 25개, 예컨대 14 내지 18개의 인접한 뉴클레오티드를 포함한다.

[0086] ***표적 세포***

[0087] 본원에 사용된 용어 "표적 세포"는 표적 핵산을 발현하는 세포를 지칭한다. 일부 양태에서, 표적 세포는 생체내 또는 시험관내일 수 있다. 일부 양태에서, 표적 세포는 포유동물 세포, 예컨대 설치류 세포, 예컨대 마우스 세포 또는 래트 세포, 또는 영장류 세포, 예컨대 원숭이 세포 또는 인간 세포이다.

[0088] 바람직한 양태에서, 표적 세포는 PD-L1 mRNA, 예컨대 PD-L1 미성숙 mRNA 또는 PD-L1 성숙 mRNA를 발현한다. PD-L1 mRNA의 폴리 A 꼬리는 전형적으로 안티센스 올리고뉴클레오티드 표적화를 위해 분해된다.

[0089] ***천연 발생 변이체***

[0090] 용어 "천연 발생 변이체"는 표적 핵산과 동일한 유전자 자리로부터 유래하지만, 예를 들어, 동일한 아미노산을 코딩하는 코돈의 다양성을 야기하는 유전자 코드의 퇴화에 기인하여, 또는 미성숙 mRNA의 대체적인 스플라이싱(splicing), 또는 다형태, 예컨대 단일 뉴클레오티드 다형태, 및 대립형질 변이체의 존재에 기인하여 상이할 수 있는 PD-L1 유전자 또는 전사체의 변이체를 지칭한다. 따라서, 올리고뉴클레오티드에 대한 충분한 상보성 서열의 존재에 근거하여, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산 및 이의 천연 발생 변이체를 표적화할 수 있다.

[0091] 일부 양태에서, 천연 발생 변이체는 포유동물 PD-L1 표적 핵산, 예컨대 서열번호 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 표적 핵산에 대해 95% 이상, 예컨대 98% 이상 또는 99% 이상의 상동성을 갖는다.

[0092] 수많은 단일 뉴클레오티드 다형태는 PD-L1 유전자, 예를 들어 하기 표에 개시된 것들에서 공지되어 있다(인간 미성숙 mRNA 개시/기준 서열은 서열번호 2임).

[0093]

변이체 명칭	변이체 대립 유전자	소수 대립 유전자	소수 대립 유전자 빈도	서열번호 1 상의 개시
rs73397192	G/A	A	0.10	2591
rs12342381	A/G	G	0.12	308
rs16923173	G/A	A	0.13	14760
rs2890658	C/A	A	0.16	14628
rs2890657	G/C	C	0.21	2058
rs3780395	A/G	A	0.21	14050
rs147367592	AG/-	-	0.21	13425
rs7023227	T/C	T	0.22	6048
rs2297137	G/A	A	0.23	15230
rs1329946	G/A	A	0.23	2910
rs5896124	-/G	G	0.23	2420
rs61061063	T/C	C	0.23	11709
rs1411263	T/C	C	0.23	8601
rs59906468	A/G	G	0.23	15583
rs6476976	T/C	T	0.24	21012
rs35744625	C/A	A	0.24	3557
rs17804441	T/C	C	0.24	7231
rs148602745	C/T	T	0.25	22548
rs4742099	G/A	A	0.25	20311
rs10815228	T/C	C	0.25	21877
rs58817806	A/G	G	0.26	20769
rs822342	T/C	T	0.27	3471
rs10481593	G/A	A	0.27	7593
rs822339	A/G	A	0.28	2670
rs860290	A/C	A	0.28	2696
rs822340	A/G	A	0.28	2758
rs822341	T/C	T	0.28	2894
rs12002985	C/G	C	0.28	6085
rs822338	C/T	C	0.28	1055
rs866066	C/T	T	0.28	451
rs6651524	A/T	T	0.28	8073
rs6415794	A/T	A	0.28	8200
rs4143815	G/C	C	0.28	17755
rs111423622	G/A	A	0.28	24096
rs6651525	C/A	A	0.29	8345
rs4742098	A/G	G	0.29	19995
rs10975123	C/T	T	0.30	10877
rs2282055	T/G	G	0.30	5230
rs4742100	A/C	C	0.30	20452
rs60520638	-/TC	TC	0.30	9502
rs17742278	T/C	C	0.30	6021
rs7048841	T/C	T	0.30	10299

변이체 명칭	변이체 대립 유전자	소수 대립 유전자	소수 대립 유전자 빈도	서열번호 1 상의 개시
rs10815229	T/G	G	0.31	22143
rs10122089	C/T	C	0.32	13278
rs1970000	C/A	C	0.32	14534
rs112071324	AGAGAG/-	AGAGAG	0.33	16701
rs2297136	G/A	G	0.33	17453
rs10815226	A/T	T	0.33	9203
rs10123377	A/G	A	0.36	10892
rs10123444	A/G	A	0.36	11139
rs7042084	G/T	G	0.36	7533
rs10114060	G/A	A	0.36	11227
rs7028894	G/A	G	0.36	10408
rs4742097	C/T	C	0.37	5130
rs1536926	G/T	G	0.37	13486
rs1411262	C/T	T	0.39	8917
rs7041009	G/A	A	0.45	12741

[0094]

[0095] ***발현의 조절***

[0096] 본원에 사용된 용어 "발현의 조절"은 올리고뉴클레오티드의 투여 전의 PD-L1의 양과 비교될 때 PD-L1의 양을 변화시키는 올리고뉴클레오티드 능력에 대한 전반적인 용어로서 이해되어야 한다. 발현의 대안적인 조절은 대조군 실험을 참고하여 결정될 수 있다. 대조군이 염수 조성물로 처리된 개체 또는 표적 세포, 또는 비-표적화 올리고뉴클레오티드(모의군)로 처리된 개체 또는 표적 세포임이 일반적으로 이해된다. 그러나, 이는 또한 관리 기준으로 처리된 개체일 수 있다.

[0097] 조절의 하나의 유형은, 예컨대 mRNA의 분해 또는 전사의 봉쇄에 의해, PD-L1의 발현을 억제하거나, 하향조절하거나, 감소시키거나, 저해시키거나, 제거하거나, 중단시키거나, 차단시키거나, 예방하거나, 줄이거나, 저하시키거나, 회피하거나, 종결하는 올리고뉴클레오티드의 능력이다. 조절의 다른 유형은, 예컨대 슬라이스 부위의 수선 또는 슬라이싱의 방지, 또는 억제 기전의 제거 또는 봉쇄, 예컨대 마이크로RNA 억제에 의해, PD-L1의 발현을 회복하거나, 증가시키거나, 강화시키는 올리고뉴클레오티드의 능력이다.

[0098] ***고친화도 변형된 뉴클레오시드***

[0099] 고친화도 변형된 뉴클레오시드는, 예를 들어 용융 온도(T^m)에 의해 측정되는 바와 같이 올리고뉴클레오티드 내로 혼입될 때, 상보성 표적에 대한 올리고뉴클레오티드의 친화도를 강화시키는 변형된 뉴클레오티드이다. 본 발명의 고친화도 변형된 뉴클레오시드는 바람직하게는 변형된 뉴클레오시드 당 +0.5 내지 +12℃, 더욱 바람직하게는 +1.5 내지 +10℃, 가장 바람직하게는 +3 내지 +8℃의 용융 온도 증가를 야기한다. 수많은 고친화도 변형된 뉴클레오시드가 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 많은 2' 치환된 뉴클레오시드 및 잠금 핵산(LNA)을 포함한다(예컨대, 문헌[Freier & Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443] 및 문헌[Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213] 참고).

[0100] ***당 변형***

[0101] 본 발명의 올리고머는 변형된 당 모이어티, 즉 DNA 및 RNA에서 발견되는 리보스 당 모이어티와 비교되는 경우 당 모이어티의 변형을 갖는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함할 수 있다.

[0102] 리보스 당 모이어티의 변형을 갖는 수많은 뉴클레오시드는 주로 올리고뉴클레오티드의 특정 특성, 예컨대 친화도 및/또는 뉴클레아제 내성을 개선할 목적으로 제조되었다.

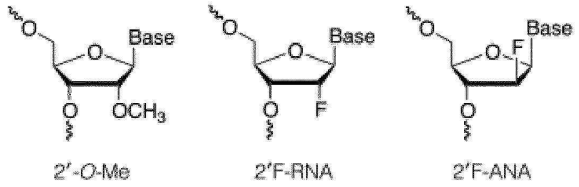
[0103] 이러한 변형은, 예컨대, 헥소스 고리(HNA), 리보스 고리 상의 C2와 C4 탄소 사이에 바이라디칼 가교를 전형적으로 갖는 이환형 고리(LNA), 또는 C2와 C3 탄소 사이에 결합이 전형적으로 결핍된 비연결된 리보스 고리(예컨대, UNA)에 의한 치환에 의해, 리보스 고리 구조가 변형된 것들을 포함한다. 다른 당 변형된 뉴클레오시드는, 예를 들어, 바이사이클로헥소스 핵산(국제 공개공보 제2011/017521호) 또는 삼환형 핵산(국제 공개공보 제2013/154798호)을 포함한다. 변형된 뉴클레오시드는 또한, 예를 들어 펩티드 핵산(PNA) 또는 모폴리노 핵산의 경우, 당 모이어티가 비-당 모이어티로 대체되는 뉴클레오시드를 포함한다.

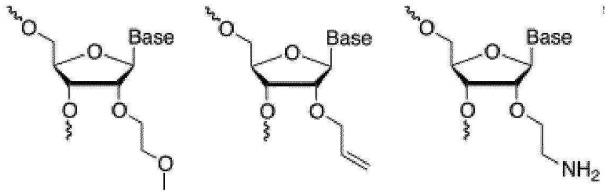
[0104] 당 변형은 또한 리보스 고리 상의 치환기를 수소 이외의 기, 또는 DNA 및 RNA 뉴클레오시드에서 천연 발견되는

2'-OH 기로 변경함으로써 제조된 변형을 포함한다. 치환기는, 예를 들어 2', 3', 4' 또는 5' 위치에서 도입될 수 있다. 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드는 또한 2' 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 치환된 뉴클레오시드를 포함한다. 실제로, 2' 치환된 뉴클레오시드를 개발하는데 많은 초점이 맞춰졌고, 올리고뉴클레오티드 내로 혼입될 때, 강화된 뉴클레오시드 내성 및 강화된 친화도를 갖는 수많은 2' 치환된 뉴클레오시드가 발견되었다.

[0105] ***2' 변형된 뉴클레오시드***

[0106] 2' 당 변형된 뉴클레오시드는 2' 위치에서 H 또는 -OH 이외의 치환기를 갖거나(2' 치환된 뉴클레오시드) 2' 연결된 바이라디칼을 포함하는 뉴클레오시드이고, 2' 치환된 뉴클레오시드 및 LNA(2'-4' 바이라디칼 가교된) 뉴클레오시드를 포함한다. 예를 들어, 2' 변형된 당은 강화된 결합 친화도 및/또는 증가된 뉴클레아제 내성을 올리고뉴클레오티드에 제공할 수 있다. 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드의 예는 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA(MOE), 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-RNA 및 2'-F-ANA 뉴클레오시드이다. 추가 예의 경우, 문헌[Freier & Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443], 문헌[Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213], 및 문헌[Deleavey and Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937]을 참고한다. 일부 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드가 하기 제시된다:





[0107]

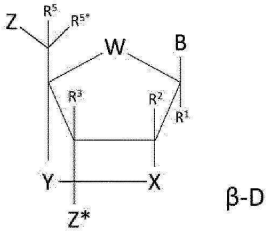
[0108] ***잠금 핵산(LNA) 뉴클레오시드***

[0109] LNA 뉴클레오시드는 뉴클레오티드의 리보스 당 고리의 C2'와 C4' 사이에 연결기(바이라디칼 또는 가료로서 지칭됨)를 포함하는 변형된 뉴클레오시드이다. 이러한 뉴클레오시드는 또한 문헌에서 가교된 핵산 또는 이환형 핵산(BNA)으로 지칭된다.

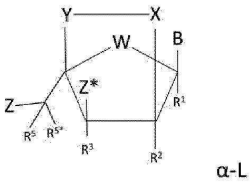
[0110] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고머의 변형된 뉴클레오시드 또는 LNA 뉴클레오시드는 하기 화학식 I 또는 II의 일반적인 구조를 갖는다:

[0111] [화학식 I]

[0112]



[0113] [화학식 II]

[0114] 

α-L

[0115] 상기 식에서,

[0116] W는 -O-, -S-, -N(R^a)-, -C(R^aR^b)-로부터 선택되고, 예컨대, 일부 양태에서 -O-이고;

[0117] B는 핵염기 또는 변형된 핵염기 모이어티이고;

[0118] Z는 인근 뉴클레오시드, 또는 5'-말단 기로의 뉴클레오시드간 연결기이고;

[0119] Z^*는 인근 뉴클레오시드 또는 3'-말단 기로의 뉴클레오시드간 연결기이고;

[0120] X는 -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)$_2$-, -S-, -SO_2-, -N(R^a)- 및 >C=Z로 이루어진 군으로부터 선택되는 기이고(일부 양태에서, X는 -O-, -S-, NH-, NR^aR^b, -CH_2-, CR^aR^b, -C(=CH_2)- 및 -C(=CR^aR^b)-로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, X는 -O-이다),

[0121] Y는 -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)$_2$-, -S-, -SO_2-, -N(R^a)- 및 >C=Z로 이루어진 군으로부터 선택되는 기이거나(일부 양태에서, Y는 -CH_2-, -C(R^aR^b)-, -CH_2CH_2-, -C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-, -$CH_2CH_2CH_2$-, -C(R^aR^b)C(R^aR^b)C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)- 및 -C(R^a)=N-으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, Y는 -CH_2-, -CHR^a-, -$CHCH_3$- 및 CR^aR^b-로 이루어진 군으로부터 선택된다),

[0122] -X-Y-는 함께 2가 연결기(또한 라디칼로 지칭됨)이거나, -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)$_2$-, -S-, -SO_2-, -N(R^a)- 및 >C=Z로 이루어진 군으로부터 선택되는 1, 2, 3 또는 4개의 기/원자로 이루어진 2가 연결기이고(일부 양태에서, -X-Y-는 -X-CH_2-, -X-CR^aR^b-, -X-CHR^a-, -X-C(HCH_3)$^-$, -O-Y-, -O-CH_2-, -S-CH_2-, -NH-CH_2-, -O-$CHCH_3$-, -CH_2-O-CH_2, -O-CH(CH_3CH_3)-, -O-CH_2-CH_2-, OCH_2-CH_2-CH_2-, -O-CH_2OCH_2-, -O-NCH_2-, -C(=CH_2)-CH_2-, -NR^a-CH_2-, N-O-CH_2, -S-CR^aR^b- 및 -S-CHR^a-로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이라디칼이다. 일부 양태에서, -X-Y-는 -O-CH_2- 또는 -O-CH(CH_3)-이다. 이때 Z는 -O-, -S- 및 -N(R^a)-로부터 선택된다);

[0123] R^a, 및 존재하는 경우 R^b는 각각 수소, 임의적으로 치환된 C_{1-6}-알킬, 임의적으로 치환된 C_{2-6}-알켄일, 임의적으로 치환된 C_{2-6}-알킨일, 하이드록시, 임의적으로 치환된 C_{1-6}-알콕시, C_{2-6}-알콕시알킬, C_{2-6}-알켄일옥시, 카복시, C_{1-6}-알콕시카보닐, C_{1-6}-알킬카보닐, 폼일, 아릴, 아릴옥시-카보닐, 아릴옥시, 아릴카보닐, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시-카보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카보닐, 아미노, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)아미노, 카바모일, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)-아미노카보닐, 아미노-C_{1-6}-알킬-아미노카보닐, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)아미노-C_{1-6}-알킬-아미노카보닐, C_{1-6}-알킬-카보닐아미노, 카브아미도, C_{1-6}-알카노일옥시, 설포노, C_{1-6}-알킬설포닐옥시, 니트로, 아지도, 설파닐, C_{1-6}-알킬티오, 할로겐으로부터 독립적으로 선택되고, 이때 아릴 및 헤테로아릴은 임의적으로 치환될 수 있고, 2개의 같은자리 치환기 R^a 및 R^b는 함께 임의적으로 치환된 메틸렌(=CH_2)을 나타낼 수 있고, 모든 키랄 중심에 대하여, 비대칭 기는 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있고;

[0124] R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 수소, 임의적으로 치환된 C_{1-6}-알킬, 임의적으로 치환된 C_{2-6}-알켄일, 임의적으로 치환된

C_{2-6}-알킨일, 하이드록시, C_{1-6}-알콕시, C_{2-6}-알콕시알킬, C_{2-6}-알켄일옥시, 카복시, C_{1-6}-알콕시카보닐, C_{1-6}-알킬카보닐, 폼일, 아릴, 아릴옥시-카보닐, 아릴옥시, 아릴카보닐, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시-카보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카보닐, 아미노, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)아미노, 카바모일, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)-아미노카보닐, 아미노-C_{1-6}-알킬-아미노카보닐, 모노- 및 다이(C_{1-6}-알킬)아미노-C_{1-6}-알킬-아미노카보닐, C_{1-6}-알킬-카보닐아미노, 카브아미도, C_{1-6}-알카노일옥시, 설포노, C_{1-6}-알킬설포닐옥시, 니트로, 아지도, 설파닐, C_{1-6}-알킬티오 및 할로겐으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 이때 아릴 및 헤테로아릴은 임의적으로 치환될 수 있고, 2개의 같은자리 치환기는 함께 옥소, 티오옥소, 이미노 또는 임의적으로 치환된 메틸렌을 나타낼 수 있다.

[0125] 일부 양태에서, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸 및 수소로부터 독립적으로 선택된다.

[0126] 일부 양태에서, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다.

[0127] 일부 양태에서 R^1, R^2 및 R^3은 모두 수소이고, R^5 또는 R^{5*}는 또한 수소이고, R^5 및 R^{5*} 중 나머지 하나는 수소가 아니 것, 예컨대 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다.

[0128] 일부 양태에서, R^a는 수소 또는 메틸이다. 일부 양태에서, 존재하는 경우, R^b는 수소 또는 메틸이다.

[0129] 일부 양태에서, R^a 및 R^b 중 하나 또는 둘 다는 수소이다.

[0130] 일부 양태에서, R^a 및 R^b 중 하나는 수소이고, 다른 하나는 수소가 아니다.

[0131] 일부 양태에서, R^a 및 R^b 중 하나는 메틸이고, 다른 하나는 수소이다.

[0132] 일부 양태에서, R^a 및 R^b는 둘 다 메틸이다.

[0133] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제99/014226호, 국제 공개공보 제00/66604호, 국제 공개공보 제98/039352호 및 국제 공개공보 제2004/046160호(모두 본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있고, 베타-D-옥시 LNA 및 알파-1-옥시 LNA 뉴클레오시드로서 공지된 것들을 포함한다.

[0134] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -S-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 티오 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제99/014226호 및 국제 공개공보 제2004/046160호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0135] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -NH-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 아미노 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제99/014226호 및 국제 공개공보 제2004/046160호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0136] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH_2-CH_2- 또는 -O-CH_2-CH_2-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제00/047599호 및 문헌[Morita et al, Bioorganic & Med.Chem. Lett. 12 73-76](본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있고, 2'-O-4'C-에틸렌 가교 핵산(ENA)으로 통상적으로 공지된 것들을 포함한다.

[0137] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2 및 R^3 모두 및 R^5 및 R^{5*} 중 하나는 수소이고, R^5 및 R^{5*} 중 다른 하나는 수소가 아닌 것, 예컨대 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 5' 치환된 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제2007/134181호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0138] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CR^aR^b-이고, 이때 R^a 및 R^b 중 하나 또는 둘 다는 수소가 아닌 것, 예컨대 메틸이고, W는 O이고, R^1, R^2 및 R^3 모두 및 R^5 및 R^{5*} 중 하나는 수소이고, R^5 및 R^{5*} 중 다른 하나는 수소가 아닌 것, 예컨대 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 비스 변형된 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제

2010/077578호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0139] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 2가 연결기 -O-CH(CH_2OCH_3)-(2' O-메톡시에틸 이환형 핵산, 문헌[Seth at al., 2010, J. Org. Chem. Vol 75(5) pp. 1569-81])을 나타낸다. 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 2가 연결기 -O-CH(CH_2CH_3)-(2'O-에틸 이환형 핵산, 문헌[Seth at al., 2010, J. Org. Chem. Vol 75(5) pp. 1569-81])을 나타낸다. 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CHR^a-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 6' 치환된 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제10/036698호 및 국제 공개공보 제07/090071호(둘 다 본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0140] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH(CH_2OCH_3)-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 또한 당해 분야에서 환형 MOE(cMOE)로 공지되어 있고, 국제 공개공보 제07/090071호에 개시되어 있다.

[0141] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 2가 연결기 -O-CH(CH_3)-을 나타낸다(R- 또는 S-배열). 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 함께 2가 연결기 -O-CH_2-O-CH_2-를 나타낸다(문헌[Seth at al., 2010, J. Org. Chem]). 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH(CH_3)-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 6' 메틸 LNA 뉴클레오시드는 당해 분야에서 cET 뉴클레오시드로 공지되어 있고, 국제 공개공보 제07/090071호(베타-D) 및 국제 공개공보 제2010/036698호(알파-L)(둘 다 본원에 참고로서 혼입됨)에 개시된 바와 같이, (S)cET 또는 (R)cET 입체 이성질체일 수 있다.

[0142] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CR^aR^b-이고, 이때 R^a 및 R^b는 모두 수소가 아니고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 일부 양태에서, R^a 및 R^b는 둘 다 메틸이다. 이러한 6' 다이-치환된 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제2009/006478호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0143] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -S-CHR^a-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 이러한 6' 치환된 티오 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제11/156202호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다. 일부 6' 치환된 티오 LNA 양태에서, R^a는 메틸이다.

[0144] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -C(=CH2)-C(R^aR^b)-, 예컨대 -C(=CH_2)-CH_2- 또는 -C(=CH_2)-CH(CH_3)-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 비닐 카보 LNA 뉴클레오시드는 국제 공개공보 제08/154401호 및 국제 공개공보 제09/067647호(둘 다 본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0145] 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -N(-OR^a)-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 일부 양태에서, R^a는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 또한 N 치환된 LNA로 공지되어 있고, 국제 공개공보 제2008/150729호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다. 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 함께 2가 연결기 -O-NR^a-CH_3-을 나타낸다(문헌[Seth at al., 2010, J. Org. Chem]). 일부 양태에서, 바이라디칼 -X-Y-는 -N(R^a)-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 일부 양태에서, R^a는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다.

[0146] 일부 양태에서, R^5 및 R^{5*} 중 하나 또는 둘 다는 수소이고, 치환되는 경우, R^5 및 R^{5*} 중 다른 하나는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 양태에서, R^1, R^2 및 R^3은 모두 수소일 수 있고, 바이라디칼 -X-Y-는 -O-CH_2- 및 -O-C(HCR^a)-, 예컨대 -O-C(HCH_3)-으로부터 선택될 수 있다.

[0147] 일부 양태에서, 바이라디칼은 -CR^aR^b-O-CR^aR^b-, 예컨대 CH_2-O-CH_2-이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 일부 양태에서, R^a는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 또한 형태적으로 제한

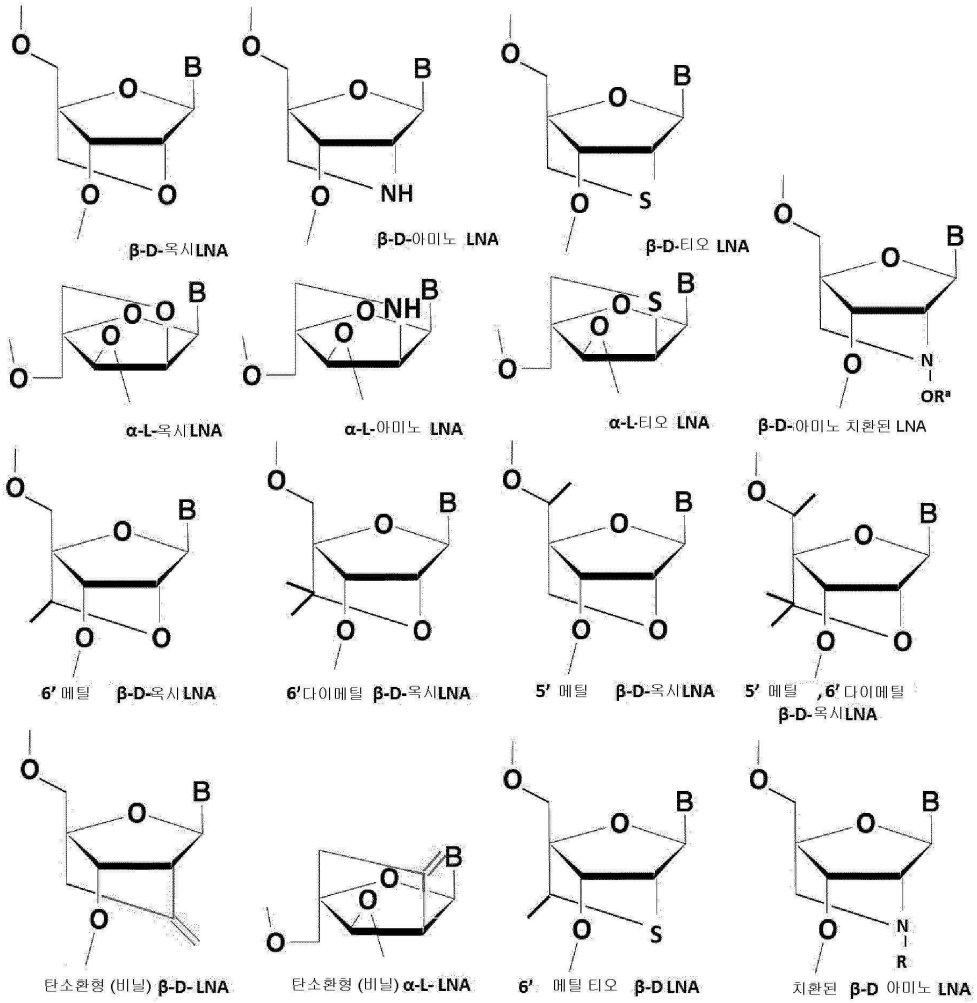
된 뉴클레오티드(CRN)로 공지되어 있고, 국제 공개공보 제2013/036868호(본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0148] 일부 양태에서, 바이라디칼은 $-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, 예컨대 $O-CH_2-O-CH_2-$이고, W는 O이고, R^1, R^2, R^3, R^5 및 R^{5*}는 모두 수소이다. 일부 양태에서, R^a는 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸이다. 이러한 LNA 뉴클레오시드는 또한 COC 뉴클레오티드로 공지되어 있고, 문헌[Mitsuoka et al., Nucleic Acids Research 2009 37(4), 1225-1238](본원에 참고로서 혼입됨)에 개시되어 있다.

[0149] 달리 지시되지 않는 한, LNA 뉴클레오시드가 베타-D 또는 알파-L 입체 이성질형일 수 있음이 인정될 것이다.

[0150] LNA 뉴클레오시드의 특정 예는 하기 도식 1에 지시된다.

[0151] [도식 1]



[0152]

[0153] 상기 예에 예시된 바와 같이, 본 발명의 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 중 LNA 뉴클레오시드는 베타-D-옥시-LNA 뉴클레오시드이다.

[0154] ***뉴클레아제 매개된 분해***

[0155] 뉴클레아제 매개된 분해는 상보성 뉴클레오티드 서열과 듀플렉스를 형성할 때, 상보성 뉴클레오티드 서열의 분해를 매개할 수 있는 올리고뉴클레오티드를 지칭한다.

[0156] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 뉴클레아제 매개된 분해를 통해 작용할 수 있고, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 뉴클레아제, 특히 엔도뉴클레아제, 바람직하게는 엔도리보뉴클레아제(RNase), 예컨대 RNase H를 모집할 수 있다. 뉴클레아제 매개된 기전을 통해 작동하는 올리고뉴클레오티드 디자인의 예는 전형적으로 5 또는 6개 이상의 DNA 뉴클레오시드의 영역을 포함하고 친화성 강화 뉴클레오시드, 예를 들어 갭머, 헤

드머 및 테일머에 의해 한 측면 또는 양 측면 상에 접하는 올리고뉴클레오티드이다.

[0157] ***RNase H 활성 및 모집***

[0158] 안티센스 올리고뉴클레오티드의 RNase H 활성은 상보성 RNA 분자와의 듀플렉스에서 RNase H를 모집하는 이의 능력을 지칭한다. 국제 공개공보 제01/23613호는 RNase H를 모집하는 능력을 측정하는데 사용될 수 있는 RNase H 활성을 측정하기 위한 시험관내 방법을 제공한다. 전형적으로, 상보성 표적 핵산 서열과 함께 제공될 때, 시험되는 변형된 올리고뉴클레오티드와 동일한 염기 서열을 갖지만, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 단량체 사이에 포스포로티오에이트 연결기를 갖는 DNA 단량체만을 함유하는 올리고뉴클레오티드를 사용하고, 국제 공개공보 제01/23613호(본원에 참고에 의해 혼입됨)의 실시예 91 내지 95에 제공된 방법을 사용하여 측정된 초기 속도의 5% 이상, 예컨대 10% 이상 또는 20% 초과의 초기 속도(pmol/L/분으로 측정됨)를 갖는다면, 올리고뉴클레오티드는 RNase H를 모집할 수 있는 것으로 간주된다.

[0159] ***갭머***

[0160] 본원에 사용된 용어 "갭머"는 하나 이상의 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 영역에 의해 5' 및 3' 측면(플랭크 또는 윙)에 위치하는 RNase H 모집 올리고뉴클레오티드의 영역(갭)을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 다양한 갭머 디자인이 본원에 기술되어 있고, RNase H를 모집하는 이들의 능력에 의해 특징지어진다. 헤드머 및 테일머는 하나의 플랭크가 소실되는, 즉 올리고뉴클레오티드의 단부 중 1개만이 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 RNase H를 모집할 수 있는 올리고뉴클레오티드이다. 헤드머의 경우, 3' 플랭크가 소실되고(즉, 5' 플랭크는 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드를 포함함), 테일머의 경우, 5' 플랭크가 소실된다(즉, 3' 플랭크는 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드를 포함함).

[0161] ***LNA 갭머***

[0162] 용어 "LNA 갭머"는 하나 이상의 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드가 LNA 뉴클레오시드인 갭머 올리고뉴클레오티드이다.

[0163] **혼합된 윙 갭머**

[0164] 용어 "혼합된 윙 갭머" 또는 "혼합된 플랭크 갭머"는 하나 이상의 플랭크 영역이 하나 이상의 LNA 뉴클레오시드 및 하나 이상의 비-LNA 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 하나 이상의 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드, 예컨대, 예를 들어, 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA(MOE), 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-RNA 및 2'-F-ANA 뉴클레오시드를 포함하는 LNA 갭머를 지칭한다. 일부 양태에서, 혼합된 윙 갭머는 LNA 뉴클레오시드만을 포함하는 하나의 플랭크(예컨대, 5' 또는 3')를 갖고, 다른 플랭크(각각 3' 또는 5')는 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드 및 임의적으로 LNA 뉴클레오시드를 포함한다.

[0165] ***갭브레이커(Gapbreaker)***

[0166] 용어 "갭브레이커 올리고뉴클레오티드"는 갭 영역이 5개 미만의 연속적인 DNA 뉴클레오시드를 포함하도록, 갭 영역 비-RNase H 모집 뉴클레오시드(갭브레이커 뉴클레오시드, E)에 의해 파괴되더라고 RNAse H 모집을 유지할 수 있는 갭머에 관하여 사용된다. 비-RNase H 모집 뉴클레오시드는, 예를 들어 뉴클레오시드의 리보스 당 고리의 C2'와 C4' 사이의 가교가 베타 형태인 3' 엔도 형태, 예컨대 LNA의 3' 엔도 형태의 뉴클레오시드, 예컨대 베타-D-옥시 LNA 또는 ScET 뉴클레오시드이다. RNase H를 모집하는 갭브레이커 올리고뉴클레오티드의 능력은 전형적으로 서열이거나 심지어 화합물 특이적이다(일부 경우에, 표적 RNA의 더욱 특이적인 절단을 제공하는 RNase H를 모집하는 "갭브레이커" 올리고뉴클레오티드를 개시하는 문헌[Rukov et al. 2015 Nucl. Acids Res. Vol. 43 pp. 8476-8487] 참고).

[0167] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 갭브레이커 올리고뉴클레오티드이다. 일부 양태에서, 갭브레이커 올리고뉴클레오티드는 5'-플랭크(F), 갭(G) 및 3'-플랭크(F')를 포함하고, 이때 갭은 갭이 3 또는 4개의 연속적인 DNA 뉴클레오시드를 함유하도록 비-RNase H 모집 뉴클레오시드(갭브레이커 뉴클레오시드, E)에 의해 분열된다. 일부 양태에서, 갭브레이커 뉴클레오시드(E)는 뉴클레오시드의 리보스 당 고리의 C2'와 C4' 사이의 가교가 베타 형태이고, 갭브레이커 LNA 뉴클레오시드가 적어도 3(5') 및 3(3') 또는 적어도 3(5') 및 4(3') 또는 적어도 4(5') 및 3(3') DNA 뉴클레오시드만큼 5' 및 3' 플랭크에 위치하도록 갭 영역 내에 위치하고, 올리고뉴클레오티드가 RNase H를 모집할 수 있는 LNA 뉴클레오시드이다.

[0168] 갭브레이커 올리고뉴클레오티드는 하기 구조식으로 표시될 수 있다:

[0169] F-G-E-G-F', 특히 F_{1-7}-G_{3-4}-E_1-G_{3-4}-F'_{1-7}

[0170] D'-F-G-F', 특히 D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{3-4}-E_1-G_{3-4}-F'_{1-7}

[0171] F-G-F'-D", 특히 F_{1-7}- G_{3-4}-E_1-G_{3-4}-F'_{1-7}-$D"_{1-3}$

[0172] D'-F-G-F'-D", 특히 D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{3-4}-E_1-G_{3-4}-F'_{1-7}-$D"_{1-3}$

[0173] 이때, 영역 D' 및 D"는 섹션 "갭머 디자인"에 기술된 바와 같다.

[0174] 일부 양태에서, 갭브레이커 뉴클레오시드(E)는 베타-D-옥시 LNA 또는 ScET이거나 도식 1에 제시된 다른 베타-LNA 뉴클레오시드이다.

[0175] ***접합체***

[0176] 본원에 사용된 용어 "접합체"는 비-뉴클레오티드 모이어티(접합체 모이어티 또는 영역 C 또는 제3 영역)에 공유 결합으로 연결되는 올리고뉴클레오티드를 지칭하고, 올리고뉴클레오티드 접합체로도 지칭된다.

[0177] 하나 이상의 비-뉴클레오티드 모이어티로의 본 발명의 올리고뉴클레오티드의 접합은, 예컨대, 올리고뉴클레오티드의 활성, 세포 분포, 세포 흡수 또는 안정성에 영향을 줌으로써, 올리고뉴클레오티드의 약리학을 개선할 수 있다. 일부 양태에서, 접합체 모이어티는 올리고뉴클레오티드를 간으로 표적화시킨다. 동시에, 접합체는 비-표적-세포 유형, 조직 또는 기관의 올리고뉴클레오티드의 활성, 예컨대 비-표적-세포 유형, 조직 또는 기관의 오프 표적(off target) 활성 또는 활성을 감소시키는 역할을 한다. 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 비접합된 올리고뉴클레오티드와 비교하여, 표적 세포에서 PD-L1의 개선된 억제를 나타낸다. 다른 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 비접합된 올리고뉴클레오티드와 비교될 때, 간과 다른 기관, 예컨대 비장 또는 신장 사이의 세포 분포를 개선하였다(즉, 더욱 접합된 올리고뉴클레오티드는 비장 또는 신장보다 간을 향함). 다른 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 비접합된 올리고뉴클레오티드와 비교될 때, 접합체 올리고뉴클레오티드의 간으로의 개선된 세포 흡수를 나타낸다.

[0178] 국제 공개공보 제93/07883호 및 국제 공개공보 제2013/033230호(본원에 참고로서 혼입됨)는 적합한 접합체 모이어티를 제공한다. 더욱 적합한 접합체 모이어티는 아시알로당단백질 수용체(ASGPr)로 결합할 수 있는 것이다. 특히, 3-가 N-아세틸갈락토사민 접합체 모이어티는 ASGPr로의 결합에 적합하다(예를 들어, 국제 공개공보 제2014/076196호, 국제 공개공보 제2014/207232호 및 국제 공개공보 제2014/179620호(본원에 참고에 의해 혼입됨) 참고). 접합체 모이어티는 본질적으로 핵산으로 구성되지 않는 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체의 부분이다.

[0179] 올리고뉴클레오티드 접합체 및 합성은 또한 문헌[Manoharan in Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications, S.T. Crooke, ed., Ch. 16, Marcel Dekker, Inc., 2001] 및 문헌[Manoharan, Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 2002, 12, 103](이들은 각각 이의 전체 내용이 참고로서 본원에 혼입됨)에 의해 포괄적인 검토로서 보고되었다.

[0180] 한 양태에서, 비-뉴클레오티드 모이어티(접합체 모이어티)는 탄수화물, 세포 표면 수용체 리간드, 약물 물질, 호르몬, 친유성 물질, 중합체, 단백질, 펩티드, 독소(예컨대, 세균성 독소), 비타민, 바이러스성 단백질(예컨대, 캡시드) 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0181] ***연결기***

[0182] 연결기 또는 연결자는 하나의 해당 화학적 기 또는 분절을 하나 이상의 공유 결합을 통해 다른 해당 화학적 기 또는 분절로 연결하는 2개의 원자 사이의 결합이다. 접합체 모이어티는 직접적으로 또는 연결 모이어티(예컨대, 연결기 또는 테더)를 통해 올리고뉴클레오티드에 부착될 수 있다. 연결기는 제3 영역, 예컨대 접합체 모이어티(영역 C)를 제1 영역, 예컨대 올리고뉴클레오티드 또는 표적 핵산에 상보적인 인접한 뉴클레오티드 서열(영역 A)에 공유 결합으로 결합시키는 역할을 한다.

[0183] 본 발명의 일부 양태에서, 본 발명의 접합체 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 올리고뉴클레오티드 또는 표적 핵산에 상보적인 인접한 뉴클레오티드 서열(영역 A 또는 제1 영역)과 접합체 모이어티(영역 C 또는 제3 영역) 사이에 위치하는 연결기 영역(제2 영역 또는 영역 B 및/또는 영역 Y)을 임의적으로 포함할 수 있다.

[0184] 영역 B는 포유동물 신체 내에서 통상적으로 만나거나 통상적으로 만나는 것과 유사한 조건 하에 절단성 생리학

적으로 불안정한 결합을 포함하거나 이로 이루어진 생체절단성 연결기를 지칭한다. 생리학적으로 불안정한 연결기가 화학적 변형(예컨대, 절단)을 겪는 조건은 포유동물 세포에서 발견되거나 포유동물 세포에서 만나는 바와 유사한 pH, 온도, 산화 또는 환원 조건 또는 약품, 및 염 농도와 같은 화학적 조건을 포함한다. 포유동물 세포내 조건은 또한 포유동물 세포에 통상적으로 존재하는 효소적 활성, 예컨대 단백질 분해 효소 또는 가수분해 효소 또는 뉴클레아제로부터의 효소적 활성의 존재를 포함한다. 한 양태에서, 생체절단성 연결기는 S1 뉴클레아제 절단에 민감하다. 바람직한 양태에서, 뉴클레아제 민감성 연결기는 2개 이상의 연속적인 포스포다이에스터 연결기, 예컨대 3개 이상 또는 4 또는 5개의 연속적인 포스포다이에스터 연결기를 포함하는 1 내지 10개의 뉴클레오시드, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오시드, 더욱 바람직하게는 2 내지 6개의 뉴클레오시드, 가장 바람직하게는 2 내지 4개의 연결된 뉴클레오시드를 포함한다. 바람직하게는, 뉴클레오시드는 DNA 또는 RNA이다. 생체절단성 연결기를 함유하는 포스포다이에스터는 국제 공개공보 제2014/076195호(본원에 참고에 의해 혼입됨)에 더욱 상세히 기술되어 있다.

[0185] 영역 Y는 필수적으로 생체절단성이지는 않지만, 주로 접합체 모이어티(영역 C 또는 제3 영역)를, 표적 핵산에 상보적인 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열(영역 A 또는 제1 영역)에 공유 결합으로 연결하는 역할을 한다. 영역 Y 연결기는 쇄 구조, 또는 에틸렌 글리콜, 아미노산 단위 또는 아미노 알킬 기와 같은 반복 단위의 올리고머를 포함할 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 하기 영역 요소로 구성될 수 있다: A-C, A-B-C, A-B-Y-C, A-Y-B-C 또는 A-Y-C. 일부 양태에서, 연결기(영역 Y)는 아미노 알킬, 예컨대 C_2-C_{36} 아미노 알킬 기, 예를 들어 C_6-C_{12} 아미노 알킬 기를 포함한다. 바람직한 양태에서, 연결기(영역 Y)는 C_6 아미노 알킬 기이다.

[0186] ***치료***

[0187] 본원에 사용된 용어 "치료"는 존재하는 질병(예컨대, 본원에서 질병 또는 질환으로 지칭됨)의 치료, 및 질병의 방지, 즉 예방 둘 다를 지칭한다. 따라서, 본원에 언급된 치료는, 일부 양태에서, 예방적일 수 있다.

[0188] ***병원균에 대한 면역 반응의 회복***

[0189] 면역 반응은 내재 및 적응 면역 반응으로 분류된다. 내재 면역계는 즉각적이지만 비-특이적인 반응을 제공한다. 적응 면역 반응은 내재 면역 반응에 의해 활성화되고, 특정 병원균에 고도로 특이적이다. 항원-제시 세포의 표면 상의 병원균-유래 항원의 제시 시, 적응 면역 반응의 면역 세포(즉, T 및 B 림프구)는 이들의 항원-특이적 수용체를 통해 활성화되어 병원성-특이적 면역 반응 및 면역 기억의 발생을 야기한다. 만성 바이러스성 감염, 예컨대 HBV 및 HCV는 바이러스성-특이적 T-세포의 비반응성에 의해 특징지어지는 T-세포 배출과 연관된다. T-세포 배출은 잘 연구되었고, 검토를 위해, 예를 들어 문헌[Yi et al 2010 Immunology129, 474-481]을 참고한다. 만성 바이러스성 감염은 또한 내재 면역 세포인 NK 세포의 감소된 기능과 연관된다. 바이러스성 면역 반응의 강화는 만성 감염의 제거를 위해 중요하다. T-세포 및 NK 세포에 의해 매개된 병원균에 대한 면역 반응의 회복은 증식, 사이토킨 분비 및 세포용해 기능의 측정에 의해 평가될 수 있다(문헌[Dolina et al. 2013 Molecular Therapy-Nuclecic Acids, 2 e72] 및 본원의 실시예 6).

[0190] 발명의 상세한 설명

[0191] 본 발명은 동물, 특히 인간을 감염시킨 병원균에 대한 면역 반응을 회복하기 위한, 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 이의 접합체 및 이들을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 간을 감염시킨 병원균, 특히 만성 간 감염, 예컨대 HBV에 대해 특히 유용하다. 접합체는 올리고뉴클레오티드의 표적화된 분포를 가능하게 하고 표적 핵산의 시스템 녹다운(systemic knockdown)을 방지한다.

[0192] ***본 발명의 올리고뉴클레오티드***

[0193] 본 발명은 PD-L1의 발현을 조절할 수 있는 올리고뉴클레오티드에 관한 것이다. 조절은 PD-L1을 코딩하거나 PD-L1의 조절과 관련된 표적 핵산으로 혼성화시킴으로써 달성될 수 있다. 표적 핵산은 포유동물 PD-L1 서열, 예컨대 서열번호 1, 서열번호 2 및/또는 서열번호 3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열일 수 있다. 표적 핵산은 PD-L1의 발현 또는 조절을 지지하는 포유동물 세포로부터 발현된 미성숙 mRNA, mRNA 또는 임의의 RNA 서열일 수 있다.

[0194] 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 PD-L1을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오티드이다.

[0195] 본 발명의 한 양상에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 접합체 모이어티, 특히 아시알로당단백질 수용체 표적

화 접합체 모이어티에 접합된다.

[0196] 일부 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 표적의 발현을 억제하거나 하향-조절함으로써 이를 조절할 수 있다. 바람직하게는, 이러한 조절은 표적의 정상 발현 수준과 비교하여 20% 이상의 발현의 억제, 더욱 바람직하게는 표적의 정상 발현 수준과 비교하여 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 이상의 억제를 제공한다. 바람직하게는, 이러한 조절은 세포 또는 유기체가 감염성 제제에 의해 공격받거나 감염성 제제에 의한 공격을 자극하는 제제(예컨대, 폴리 I:C 또는 LPS)로 처리될 때의 발현 수준과 비교하여 20% 이상의 발현의 억제, 더욱 바람직하게는 세포 또는 유기체가 감염성 제제에 의해 공격받거나 감염성 제제에 의한 공격을 자극하는 제제(예컨대, 폴리 I:C 또는 LPS)로 처리될 때의 발현 수준과 비교하여 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 이상의 억제를 제공한다. 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 카르파스-299 또는 THP1 세포를 시험관내 사용하여 60 또는 70% 이상만큼 PD-L1 mRNA의 발현 수준을 억제할 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 화합물은 카르파스-299 또는 THP1 세포를 시험관내 사용하여 50% 이상만큼 PD-L1 단백질의 발현 수준을 억제할 수 있다. 적합하게는, 실시예는 PD-L1 RNA를 측정하는데 사용될 수 있는 검정을 제공한다(예컨대, 실시예 1). 표적 조절은 올리고뉴클레오티드 및 표적 핵산의 인접한 뉴클레오티드 서열 사이의 혼성화에 의해 유발될 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이의 미스매치를 포함한다. 미스매치에도 불구하고, 표적 핵산에 대한 혼성화는 PD-L1 발현의 목적 조절을 나타내기에 여전히 충분할 수 있다. 미스매치로부터 야기되는 감소된 결합 친화도는 올리고뉴클레오티드 내의 뉴클레오티드의 증가된 수 및/또는 표적에 대한 결합 친화도를 증가시킬 수 있는 변형된 뉴클레오시드(예컨대, 올리고뉴클레오티드 서열 내에 존재하는 2' 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA)의 증가된 수에 의해 유리하게 보충될 수 있다.

[0197] 일부 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 병원균-특이적 T-세포를 회복할 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 비처리된 대조군 또는 치료 기준으로 처리된 대조군과 비교될 때 40%, 50%, 60% 또는 70% 이상만큼 병원균-특이적 T-세포를 증가시킬 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 접합체는 비처리된 대조군 또는 치료 기준으로 처리된 대조군과 비교될 때 HBV-특이적 T-세포를 증가시킬 수 있다. 적합하게는, 실시예는 HBV-특이적 T-세포를 측정하는데 사용할 수 있는 검정을 제공한다(예컨대, T-세포 증식, 사이토킨 분비 및 세포용해 활성). 다른 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 접합체는 비처리된 대조군 또는 치료 기준으로 처리된 대조군과 비교될 때 HCV-특이적 T-세포를 증가시킬 수 있다. 다른 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 접합체는 비처리된 대조군 또는 치료 기준으로 처리된 대조군과 비교될 때 HDV-특이적 T-세포를 증가시킬 수 있다.

[0198] 일부 양태에서, 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드는 동물 또는 인간에서 HBsAg 수준을 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 치료 전의 수준과 비교할 때 40%, 50%, 60% 또는 70% 이상, 더욱 바람직하게는 80%, 90% 또는 95% 이상만큼 HBsAg 수준을 감소시킬 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 HBV에 의해 감염된 동물 또는 인간에서 HBsAg의 혈청전환을 달성할 수 있다.

[0199] 본 발명의 한 양상은 PD-L1 표적 핵산에 90% 이상 상보적인, 0 내지 30개의 뉴클레오티드 길이인 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 관한 것이다.

[0200] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산의 영역과 90% 이상, 예컨대 91% 이상, 예컨대 92% 이상, 예컨대 93% 이상, 예컨대 94% 이상, 예컨대 95% 이상, 예컨대 96% 이상, 예컨대 97% 이상, 예컨대 98% 이상 또는 100% 상보적인 인접한 서열을 포함한다.

[0201] 바람직한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 이의 인접한 뉴클레오티드 서열은 표적 핵산의 영역에 완전히 상보적이거나(100% 상보성), 일부 양태에서 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이에 1 또는 2개의 미스매치를 포함할 수 있다.

[0202] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 서열번호 1 또는 서열번호 2에 존재하는 표적 핵산 영역에 대해 90% 이상의 상보성, 예컨대 완전한(또는 100%) 상보성을 갖는, 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 서열은 서열번호 1 및 서열번호 2에 존재하는 상응하는 표적 핵산 영역에 대해 100% 상보적이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 서열은 서열번호 1 및 서열번호 2에 존재하는 상응하는 표적 핵산 영역에 대해 100% 상보적이다.

[0203] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 상응하는 표적 핵산 영역에 대한 90% 이상의 상보성, 예컨대 100%의 상보성을 갖는, 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 이때 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 1의 위치 371 내지 3068, 5467 내지 12107 및 15317 내지

19511로 이루어진 군으로부터 선택되는 표적 핵산의 하위-서열에 상보적이다. 추가 양태에서, 표적 핵산의 하위-서열은 서열번호 1의 위치 371 내지 510, 822 내지 1090, 1992 내지 3068, 5467 내지 5606, 6470 내지 12107, 15317 내지 15720, 15317 내지 18083, 18881 내지 19494 및 1881 내지 19494로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, 표적 핵산의 하위-서열은 서열번호 1의 위치 7300 내지 7333, 8028 내지 8072, 9812 내지 9859, 11787 내지 11873 및 15690 내지 15735로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0204] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 서열번호 1에 존재하는 상응하는 표적 핵산 영역에 대한 90% 이상의 상보성, 예컨대 100% 상보성을 갖는, 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 표적 핵산 영역은 표 4의 영역 a1 내지 a449로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0205] [표 4]

[0206] 본 발명의 올리고뉴클레오티드를 사용하여 표적화될 수 있는 서열번호 1의 영역

영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이
	개시	종결			개시	종결			개시	종결	
a1	51	82	32	a151	6994	7020	27	a301	13092	13115	24
a2	87	116	30	a152	7033	7048	16	a302	13117	13134	18
a3	118	133	16	a153	7050	7066	17	a303	13136	13169	34
a4	173	206	34	a154	7078	7094	17	a304	13229	13249	21
a5	221	287	67	a155	7106	7122	17	a305	13295	13328	34
a6	304	350	47	a156	7123	7144	22	a306	13330	13372	43
a7	354	387	34	a157	7146	7166	21	a307	13388	13406	19
a8	389	423	35	a158	7173	7193	21	a308	13408	13426	19
a9	425	440	16	a159	7233	7291	59	a309	13437	13453	17
a10	452	468	17	a160	7300	7333	34	a310	13455	13471	17
a11	470	484	15	a161	7336	7351	16	a311	13518	13547	30
a12	486	500	15	a162	7353	7373	21	a312	13565	13597	33
a13	503	529	27	a163	7375	7412	38	a313	13603	13620	18
a14	540	574	35	a164	7414	7429	16	a314	13630	13663	34
a15	576	649	74	a165	7431	7451	21	a315	13665	13679	15
a16	652	698	47	a166	7453	7472	20	a316	13706	13725	20
a17	700	750	51	a167	7474	7497	24	a317	13727	13774	48
a18	744	758	15	a168	7517	7532	16	a318	13784	13821	38
a19	774	801	28	a169	7547	7601	55	a319	13831	13878	48
a20	805	820	16	a170	7603	7617	15	a320	13881	13940	60
a21	827	891	65	a171	7632	7647	16	a321	13959	14013	55
a22	915	943	29	a172	7649	7666	18	a322	14015	14031	17
a23	950	982	33	a173	7668	7729	62	a323	14034	14049	16
a24	984	1000	17	a174	7731	7764	34	a324	14064	14114	51
a25	1002	1054	53	a175	7767	7817	51	a325	14116	14226	111
a26	1060	1118	59	a176	7838	7860	23	a326	14229	14276	48
a27	1124	1205	82	a177	7862	7876	15	a327	14292	14306	15
a28	1207	1255	49	a178	7880	7944	65	a328	14313	14384	72
a29	1334	1349	16	a179	7964	8012	49	a329	14386	14408	23
a30	1399	1425	27	a180	8028	8072	45	a330	14462	14481	20
a31	1437	1458	22	a181	8086	8100	15	a331	14494	14519	26
a32	1460	1504	45	a182	8102	8123	22	a332	14557	14577	21
a33	1548	1567	20	a183	8125	8149	25	a333	14608	14628	21
a34	1569	1586	18	a184	8151	8199	49	a334	14646	14668	23
a35	1608	1662	55	a185	8218	8235	18	a335	14680	14767	88

[0207]

영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이
	개시	종결			개시	종결			개시	종결	
a36	1677	1700	24	a186	8237	8276	40	a336	14765	14779	15
a37	1702	1721	20	a187	8299	8344	46	a337	14815	14844	30
a38	1723	1745	23	a188	8346	8436	91	a338	14848	14925	78
a39	1768	1794	27	a189	8438	8470	33	a339	14934	14976	43
a40	1820	1835	16	a190	8472	8499	28	a340	14978	15009	32
a41	1842	1874	33	a191	8505	8529	25	a341	15013	15057	45
a42	1889	1979	91	a192	8538	8559	22	a342	15064	15091	28
a43	1991	2011	21	a193	8562	8579	18	a343	15094	15140	47
a44	2013	2038	26	a194	8581	8685	105	a344	15149	15165	17
a45	2044	2073	30	a195	8688	8729	42	a345	15162	15182	21
a46	2075	2155	81	a196	8730	8751	22	a346	15184	15198	15
a47	2205	2228	24	a197	8777	8800	24	a347	15200	15221	22
a48	2253	2273	21	a198	8825	8865	41	a348	15232	15247	16
a49	2275	2303	29	a199	8862	8894	33	a349	15250	15271	22
a50	2302	2333	32	a200	8896	8911	16	a350	15290	15334	45
a51	2335	2366	32	a201	8938	8982	45	a351	15336	15369	34
a52	2368	2392	25	a202	8996	9045	50	a352	15394	15416	23
a53	2394	2431	38	a203	9048	9070	23	a353	15433	15451	19
a54	2441	2455	15	a204	9072	9139	68	a354	15453	15491	39
a55	2457	2494	38	a205	9150	9168	19	a355	15496	15511	16
a56	2531	2579	49	a206	9170	9186	17	a356	15520	15553	34
a57	2711	2732	22	a207	9188	9202	15	a357	15555	15626	72
a58	2734	2757	24	a208	9204	9236	33	a358	15634	15652	19
a59	2772	2786	15	a209	9252	9283	32	a359	15655	15688	34
a60	2788	2819	32	a210	9300	9331	32	a360	15690	15735	46
a61	2835	2851	17	a211	9339	9354	16	a361	15734	15764	31
a62	2851	2879	29	a212	9370	9398	29	a362	15766	15787	22
a63	2896	2912	17	a213	9400	9488	89	a363	15803	15819	17
a64	2915	2940	26	a214	9490	9537	48	a364	15846	15899	54
a65	2944	2973	30	a215	9611	9695	85	a365	15901	15934	34
a66	2973	2992	20	a216	9706	9721	16	a366	15936	15962	27
a67	2998	3016	19	a217	9723	9746	24	a367	15964	15985	22
a68	3018	3033	16	a218	9748	9765	18	a368	15987	16023	37
a69	3036	3051	16	a219	9767	9788	22	a369	16025	16061	37
a70	3114	3139	26	a220	9794	9808	15	a370	16102	16122	21
a71	3152	3173	22	a221	9812	9859	48	a371	16134	16183	50
a72	3181	3203	23	a222	9880	9913	34	a372	16185	16281	97

[0208]

영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이
	개시	종결			개시	종결			개시	종결	
a73	3250	3271	22	a223	9923	9955	33	a373	16283	16298	16
a74	3305	3335	31	a224	9966	10007	42	a374	16305	16323	19
a75	3346	3363	18	a225	10009	10051	43	a375	16325	16356	32
a76	3391	3446	56	a226	10053	10088	36	a376	16362	16404	43
a77	3448	3470	23	a227	10098	10119	22	a377	16406	16456	51
a78	3479	3497	19	a228	10133	10163	31	a378	16494	16523	30
a79	3538	3554	17	a229	10214	10240	27	a379	16536	16562	27
a80	3576	3597	22	a230	10257	10272	16	a380	16564	16580	17
a81	3603	3639	37	a231	10281	10298	18	a381	16582	16637	56
a82	3663	3679	17	a232	10300	10318	19	a382	16631	16649	19
a83	3727	3812	86	a233	10339	10363	25	a383	16655	16701	47
a84	3843	3869	27	a234	10409	10426	18	a384	16737	16781	45
a85	3874	3904	31	a235	10447	10497	51	a385	16783	16804	22
a86	3926	3955	30	a236	10499	10529	31	a386	16832	16907	76
a87	3974	3993	20	a237	10531	10546	16	a387	16934	16965	32
a88	3995	4042	48	a238	10560	10580	21	a388	16972	17035	64
a89	4053	4073	21	a239	10582	10596	15	a389	17039	17069	31
a90	4075	4123	49	a240	10600	10621	22	a390	17072	17109	38
a91	4133	4157	25	a241	10623	10664	42	a391	17135	17150	16
a92	4158	4188	31	a242	10666	10685	20	a392	17167	17209	43
a93	4218	4250	33	a243	10717	10773	57	a393	17211	17242	32
a94	4277	4336	60	a244	10775	10792	18	a394	17244	17299	56
a95	4353	4375	23	a245	10794	10858	65	a395	17304	17344	41
a96	4383	4398	16	a246	10874	10888	15	a396	17346	17400	55
a97	4405	4446	42	a247	10893	10972	80	a397	17447	17466	20
a98	4448	4464	17	a248	10974	10994	21	a398	17474	17539	66
a99	4466	4493	28	a249	10996	11012	17	a399	17561	17604	44
a100	4495	4558	64	a250	11075	11097	23	a400	17610	17663	54
a101	4571	4613	43	a251	11099	11124	26	a401	17681	17763	83
a102	4624	4683	60	a252	11140	11157	18	a402	17793	17810	18
a103	4743	4759	17	a253	11159	11192	34	a403	17812	17852	41
a104	4761	4785	25	a254	11195	11226	32	a404	17854	17928	75
a105	4811	4858	48	a255	11235	11261	27	a405	17941	18005	65
a106	4873	4932	60	a256	11279	11337	59	a406	18007	18035	29
a107	4934	4948	15	a257	11344	11381	38	a407	18041	18077	37
a108	4955	4974	20	a258	11387	11411	25	a408	18085	18146	62
a109	4979	5010	32	a259	11427	11494	68	a409	18163	18177	15

[0209]

[0210]

영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이
	개시	종결			개시	종결			개시	종결	
a110	5012	5052	41	a260	11496	11510	15	a410	18179	18207	29
a111	5055	5115	61	a261	11512	11526	15	a411	18209	18228	20
a112	5138	5166	29	a262	11528	11551	24	a412	18230	18266	37
a113	5168	5198	31	a263	11570	11592	23	a413	18268	18285	18
a114	5200	5222	23	a264	11594	11634	41	a414	18287	18351	65
a115	5224	5284	61	a265	11664	11684	21	a415	18365	18395	31
a116	5286	5302	17	a266	11699	11719	21	a416	18402	18432	31
a117	5317	5332	16	a267	11721	11746	26	a417	18434	18456	23
a118	5349	5436	88	a268	11753	11771	19	a418	18502	18530	29
a119	5460	5512	53	a269	11787	11873	87	a419	18545	18590	46
a120	5514	5534	21	a270	11873	11905	33	a420	18603	18621	19
a121	5548	5563	16	a271	11927	11942	16	a421	18623	18645	23
a122	5565	5579	15	a272	11946	11973	28	a422	18651	18708	58
a123	5581	5597	17	a273	11975	11993	19	a423	18710	18729	20
a124	5600	5639	40	a274	12019	12114	96	a424	18731	18758	28
a125	5644	5661	18	a275	12116	12135	20	a425	18760	18788	29
a126	5663	5735	73	a276	12137	12158	22	a426	18799	18859	61
a127	5737	5770	34	a277	12165	12192	28	a427	18861	18926	66
a128	5778	5801	24	a278	12194	12216	23	a428	18928	18980	53
a129	5852	5958	107	a279	12218	12246	29	a429	19001	19018	18
a130	6007	6041	35	a280	12262	12277	16	a430	19034	19054	21
a131	6049	6063	15	a281	12283	12319	37	a431	19070	19092	23
a132	6065	6084	20	a282	12334	12368	35	a432	19111	19154	44
a133	6086	6101	16	a283	12370	12395	26	a433	19191	19213	23
a134	6119	6186	68	a284	12397	12434	38	a434	19215	19240	26
a135	6189	6234	46	a285	12436	12509	74	a435	19255	19356	102
a136	6236	6278	43	a286	12511	12543	33	a436	19358	19446	89
a137	6291	6312	22	a287	12545	12565	21	a437	19450	19468	19
a138	6314	6373	60	a288	12567	12675	109	a438	19470	19512	43
a139	6404	6447	44	a289	12677	12706	30	a439	19514	19541	28
a140	6449	6482	34	a290	12708	12724	17	a440	19543	19568	26
a141	6533	6555	23	a291	12753	12768	16	a441	19570	19586	17
a142	6562	6622	61	a292	12785	12809	25	a442	19588	19619	32
a143	6624	6674	51	a293	12830	12859	30	a443	19683	19739	57
a144	6679	6762	84	a294	12864	12885	22	a444	19741	19777	37
a145	6764	6780	17	a295	12886	12916	31	a445	19779	19820	42
a146	6782	6822	41	a296	12922	12946	25	a446	19822	19836	15

[0211]

영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이	영역 a	서열번호 1 에서의 위치		길이
	개시	종결			개시	종결			개시	종결	
a147	6824	6856	33	a297	12948	12970	23	a447	19838	19911	74
a148	6858	6898	41	a298	12983	13003	21	a448	19913	19966	54
a149	6906	6954	49	a299	13018	13051	34	a449	19968	20026	59
a150	6969	6992	24	a300	13070	13090	21				

[0212] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 표적 핵산의 영역에 상보적이고, 이때 표적 핵산 영역은 a7, a26, a43, a119, a142, a159, a160, a163, a169, a178, a179, a180, a189, a201, a202, a204, a214, a221, a224, a226, a243, a254, a258, 269, a274, a350, a360, a364, a365, a370, a372, a381, a383, a386, a389, a400, a427, a435 및 a438로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0213] 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 표적 핵산의 영역에 상보적이고, 이때 표적 핵산 영역은 a160, a180, a221, a269 및 a360으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0214] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 8 내지 35개의 뉴클레오티드 길이, 예컨대 9 내지 30개, 예컨대 10 내지 22개, 예컨대 11 내지 20개, 예컨대 12 내지 18개, 예컨대 13 내지 17개 또는 14 내지 16개 길이의 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이들로 이루어진다. 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 16 내지 20개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다. 본원에 제공된 임의의 범위는 범위 종말점을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 올리고뉴클레오티드가 10 내지 30개의 뉴클레오티드를 포함하는 것으로 언급되면, 10개 및 30개의 뉴클레오티드가 둘 다 포함된다.

[0215] 일부 양태에서, 인접한 뉴클레오티드 서열은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개 길이의 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다. 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 16, 17, 18, 19 또는 20개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0216] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 표 5에 열거된 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0217] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 5 내지 743으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다(표 5에 열거된 모티프 서열).

[0218] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 5 내지 743 및 771로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0219] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 6, 8, 9, 13, 41, 42, 58, 77, 92, 111, 128, 151, 164, 166, 169, 171, 222, 233, 245, 246, 250, 251, 252, 256, 272, 273, 287, 292, 303, 314, 318, 320, 324, 336, 342, 343, 344, 345, 346, 349, 359, 360, 374, 408, 409, 415, 417, 424, 429, 430, 458, 464, 466, 474, 490, 493, 512, 519, 519, 529, 533, 534, 547, 566, 567, 578, 582, 601, 619, 620, 636, 637, 638, 640, 645, 650, 651, 652, 653, 658, 659, 660, 665, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 687, 694, 706, 716, 728, 733, 734 및 735로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0220] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 287에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0221] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 342에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0222] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 640에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0223] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 466에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0224] 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 566에 대한 90% 이상의 동일성, 바람직하게는 100% 동일성을 갖는 10 내지 30개 길이의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진다.

[0225] 올리고뉴클레오티드가 인접한 뉴클레오티드 서열(표적 핵산에 상보적임)보다 긴 양태에서, 표 5의 모티프 서열은 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드의 인접한 뉴클레오티드 서열 부분을 형성한다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 서열은 인접한 뉴클레오티드 서열과 동등하다(예컨대, 어떠한 생체절단성 연결기도 첨가되

지 않은 경우).

[0226] 인접한 핵염기 서열(모티프 서열)이 변형되어, 예를 들어 뉴클레아제 내성 및/또는 표적 핵산에 대한 친화도를 증가시킬 수 있음이 이해된다. 변형은 정의 및 "올리고뉴클레오티드 디자인" 섹션에 기술되어 있다. 표 5는 각각의 모티프 서열의 바람직한 디자인을 열거한다.

[0227] ***올리고뉴클레오티드 디자인***

[0228] 올리고뉴클레오티드 디자인은 올리고뉴클레오티드 서열에서 뉴클레오시드 당 변형의 패턴을 지칭한다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 당-변형된 뉴클레오시드를 포함하고, DNA 또는 RNA 뉴클레오시드를 또한 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 당-변형된 뉴클레오시드 및 DNA 뉴클레오시드를 포함한다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드로의 변형된 뉴클레오시드의 혼입은 표적 핵산에 대한 올리고뉴클레오티드의 친화도를 강화시킬 수 있다. 이러한 경우, 변형된 뉴클레오시드는 친화성 강화 변형된 뉴클레오티드로 언급될 수 있고, 변형된 뉴클레오시드는 또한 단위로 지칭될 수 있다.

[0229] 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1개 이상의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상 또는 16개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 1 내지 10개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 8개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 3 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 4 내지 6개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 3, 4, 5, 6 또는 7개의 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0230] 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 당 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 당 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA, 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-DNA, 아라비노 핵산(ANA), 2'-플루오로-ANA 및 LNA 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 2' 당 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 더욱 더 바람직하게는, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드는 잠금 핵산(LNA)이다.

[0231] 추가 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결기를 포함한다. 바람직한 양태에서, 인접한 뉴클레오티드 서열 내의 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 또는 보라노포스페이트 뉴클레오시드간 연결기이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 인접한 서열 내의 모든 뉴클레오티드간 연결기는 포스포로티오에이트 연결기이다.

[0232] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 LNA 뉴클레오시드, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 LNA 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 6개의 LNA 뉴클레오시드, 예컨대 3 내지 7개의 LNA 뉴클레오시드, 4 내지 6개의 LNA 뉴클레오시드, 또는 3, 4, 5, 6 또는 7개의 LNA 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 내의 75% 이상의 변형된 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이고, 예컨대 80%, 예컨대 85%, 예컨대 90%의 변형된 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 또 다른 양태에서, 올리고뉴클레오티드 내의 모든 변형된 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 추가 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 베타-D-옥시-LNA, 및 하기 LNA 뉴클레오시드 중 하나 이상을 모두 포함할 수 있다: 티오-LNA, 아미노-LNA, 옥시-LNA, 및/또는 베타-D 또는 알파-L 배열 또는 이들의 조합인 ENA. 추가 양태에서, 모든 LNA 사이토신 단위는 5-메틸-사이토신이다. 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 뉴클레오티드 서열의 5' 말단의 1개 이상의 LNA 뉴클레오시드 및 3' 말단의 2개 이상의 LNA 뉴클레오시드를 갖는다.

[0233] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 2'-MOE-RNA 뉴클레오시드인 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 2'-MOE-RNA 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2'-플루오로 DNA, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 2'-플루오로-DNA 뉴클레오시드이다.

[0234] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 LNA 뉴클레오시드 및 하나 이상의 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드를 포함한다.

[0235] 본 발명의 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 2' 당 변형된 뉴클레오시드 및 DNA 단위를 둘 다 포함한다. 바람직하게는, 올리고뉴클레오티드는 LNA 및 DNA 뉴클레오시드(단위)를 둘 다 포함한다. 바람직하게는, LNA 및 DNA 단위의 합한 총계는 8 내지 30, 예컨대 10 내지 25, 바람직하게는 12 내지 22, 예컨대 12 내지 18, 더욱 더 바람직하게는 11 내지 16이다. 본 발명의 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열, 예컨대 인접한 뉴클레오티드 서열은 1 또는 2개 이상의 LNA 뉴클레오시드로 이루어지고, 나머지 뉴클레오시드는 DNA 단위

이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 단지 LNA 뉴클레오시드 및 천연 발생 뉴클레오시드(예컨대, RNA 또는 DNA, 가장 바람직하게는 DNA 뉴클레오시드)를, 임의적으로 변형된 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 포스포로티오에이트와 함께 포함한다.

[0236] 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 RNase H를 모집할 수 있다.

[0237] 본 발명의 올리고뉴클레오티드의 구조 디자인은 갭머, 갭브레이커, 헤드머 및 테일머로부터 선택될 수 있다.

[0238] ***갭머 디자인***

[0239] 바람직한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 본원에서 단지 "갭머"로도 지칭되는 갭머 디자인 또는 구조를 갖는다. 갭머 구조에서, 올리고뉴클레오티드는 3개 이상의 별개의 구조 영역 5'-플랭크, 갭 및 3'-플랭크, F-G-F'를 '5 -> 3' 방향으로 포함한다. 이러한 디자인에서, 플랭킹 영역 F 및 F'(또한 윙 영역으로 지칭됨)는 PD-L1 표적 핵산에 상보적인 변형된 뉴클레오시드의 인접한 스트레치를 포함하는 한편, 갭 영역(G)은 뉴클레아제, 바람직하게는 엔도뉴클레아제, 예컨대 RNase, 예를 들어 RNase H를 모집할 수 있는 뉴클레오티드의 인접한 스트레치를 포함하고, 이때 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산과 듀플렉스로 존재한다. 뉴클레아제, 특히 RNase H를 모집할 수 있는 뉴클레오시드는 DNA, 알파-1-옥시-LNA, 2'-플루오로-ANA 및 UNA로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 영역 G의 5' 및 3' 말단을 플랭킹하는 영역 F 및 F'는, 바람직하게는 비-뉴클레아제 모집 뉴클레오시드(3' 엔도 구조를 갖는 뉴클레오시드), 더욱 바람직하게는 하나 이상의 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 3' 플랭크는 하나 이상의 LNA 뉴클레오시드, 바람직하게는 2개 이상의 LNA 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 5' 플랭크는 하나 이상의 LNA 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 5' 및 3' 플랭킹 영역 둘 다는 LNA 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 양태에서, 플랭킹 영역 내의 모든 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 다른 양태에서, 플랭킹 영역은 LNA 뉴클레오시드 및 다른 뉴클레오시드를 둘 다(예컨대, DNA 뉴클레오시드 및/또는 비-LNA 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 치환된 뉴클레오시드) 포함할 수 있다(혼합된 플랭크). 이러한 경우, 갭은 친화성 강화 변형된 뉴클레오시드, 바람직하게는 LNA, 예컨대 베타-D-옥시-LNA에 의해 5' 및 3' 말단에서 플랭킹된 5개 이상의 RNase H 모집 뉴클레오시드(2' 엔도 구조를 갖는 뉴클레오시드, 바람직하게는 DNA)의 인접한 서열로 정의된다. 결과적으로, 갭 영역의 인근에 존재하는 5' 플랭킹 영역 및 3' 플랭킹 영역의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드, 바람직하게는 비-뉴클레아제 모집 뉴클레오시드이다.

[0240] *영역 F*

[0241] 영역 G의 5' 말단에 부착된 영역 F(5' 플랭크 또는 5' 윙)는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함하거나 함유하거나 이로 이루어진다. 한 양태에서, 영역 F는 1 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 6개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 5개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 3개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 1, 2, 3 또는 4개의 변형된 뉴클레오시드를 포함하거나 이로 이루어진다. F 영역은 영역의 5' 말단 및 3' 말단에 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드를 가짐으로써 정의된다.

[0242] 일부 양태에서, 영역 F의 변형된 뉴클레오시드는 3' 엔도 구조를 갖는다.

[0243] 한 양태에서, 영역 F의 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다. 한 양태에서, 영역 F의 모든 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다.

[0244] 다른 양태에서, 영역 F는 2' 변형된 뉴클레오시드 이외에 DNA 및/또는 RNA를 포함한다. DNA 및/또는 RNA를 포함하는 플랭크는 F 영역의 5' 말단 및 3' 말단(G 영역의 인근임)에 2' 변형된 뉴클레오시드를 갖는 것으로 특징지어진다. 한 양태에서, 영역 F는 DNA 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 3개의 인접한 DNA 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 3개 또는 1 또는 2개의 인접한 DNA 뉴클레오시드를 포함한다. 플랭크의 DNA 뉴클레오시드는 바람직하게는 RNase H를 모집할 수 없어야 한다. 일부 양태에서, F 영역의 2' 변형된 뉴클레오시드 및 DNA 및/또는 RNA 뉴클레오시드는 1 내지 3개의 2' 변형된 뉴클레오시드 및 1 내지 3개의 DNA 및/또는 RNA 뉴클레오시드와 교호한다. 이러한 플랭크는 또한 교호하는 플랭크로 지칭될 수 있다. 교호하는 플랭크를 갖는 올리고뉴클레오티드 내의 5' 플랭크(영역 F)의 길이는 4 내지 10개의 뉴클레오시드, 예컨대 4 내지 8개, 예컨대 4 내지 6개 뉴클레오시드, 예컨대 4, 5, 6 또는 7개의 변형된 뉴클레오시드일 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 5' 플랭크만이 교호한다. 교호하는 뉴클레오시드를 갖는 영역 F의 특정 예는 다음과 같다:

[0245] $2'_{1-3}$-N'_{1-4}-$2'_{1-3}$

[0246] $2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$

[0247] 이때, 2'는 변형된 뉴클레오시드를 나타내고, N'는 RNA 또는 DNA이다. 일부 양태에서, 교호하는 플랭크 내의 모든 변형된 뉴클레오시드는 LNA이고, N'는 DNA이다. 추가 양태에서, 영역 F 내의 하나 이상의 2' 변형된 뉴클레오시드는 2'-O-알킬-RNA 단위, 2'-O-메틸-RNA, 2'-아미노-DNA 단위, 2'-플루오로-DNA 단위, 2'-알콕시-RNA, MOE 단위, LNA 단위, 아라비노 핵산(ANA) 단위 및 2'-플루오로-ANA 단위로부터 선택된다.

[0248] 일부 양태에서, F 영역은 LNA 및 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드를 둘 다 포함한다. 이들은 종종 혼합된 윙 또는 혼합된 플랭크 올리고뉴클레오티드로 지칭된다.

[0249] 본 발명의 한 양태에서, 영역 F 내의 모든 변형된 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 추가 양태에서, 영역 F 내의 모든 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 추가 양태에서, 영역 F 내의 LNA 뉴클레오시드는 독립적으로 옥시-LNA, 티오-LNA, 아미노-LNA, cET 및/또는 ENA(베타-D 또는 알파-L 배열 또는 이들의 조합임)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, 영역 F는 인접한 서열의 5' 말단에서 1개 이상의 베타-D-옥시 LNA 단위를 포함한다.

[0250] *영역 G*

[0251] 영역 G(갭 영역)는 바람직하게는 상기 뉴클레아제, 특히 RNase H를 모집할 수 있는 4개 이상, 예컨대 5개 이상, 예컨대 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상 또는 16개 이상의 연속적인 뉴클레오시드를 포함하거나 모집하거나 이로 이루어진다. 추가 양태에서, 영역 G는 상기 뉴클레아제를 모집할 수 있는 5 내지 12개, 또는 6 내지 10개 또는 7 내지 9개, 예컨대 8개의 연속적인 뉴클레오티드 단위를 포함하거나 모집하거나 이로 이루어진다.

[0252] 뉴클레아제를 모집할 수 있는 영역 G의 뉴클레오시드 단위는 한 양태에서 DNA, 알파-1-LNA, C4' 알킬화된 DNA(국제 특허출원 제PCT/EP2009/050349호 및 문헌[Vester et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 2296 - 2300], 둘 다 참고로서 본원에 혼입됨), 아라비노스 유래 뉴클레오시드, 예컨대 ANA 및 2'F-ANA(문헌[Mangos et al. 2003 J. AM. CHEM. SOC. 125, 654-661]), UNA(비잠금 핵산)(문헌[Fluiter et al., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039]에 기술됨, 참고로서 본원에 혼입됨)로 이루어진 군으로부터 선택된다. UNA는, 전형적으로 리보스의 C2와 C3 사이의 결합이 제거되어 비잠금 "당" 잔사를 형성하는 비잠금 핵산이다.

[0253] 또 다른 양태에서, 영역 G 내의 하나 이상의 뉴클레오시드 단위는 DNA 뉴클레오시드 단위, 예컨대 1 내지 18개의 DNA 단위, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개의 DNA 단위, 바람직하게는 2 내지 17개의 DNA 단위, 예컨대 3 내지 16개의 DNA 단위, 예컨대 4 내지 15개의 DNA 단위, 예컨대 5 내지 14개의 DNA 단위, 예컨대 6 내지 13개의 DNA 단위, 예컨대 7 내지 12개의 DNA 단위, 예컨대 8 내지 11개의 DNA 단위, 더욱 바람직하게는 8 내지 17개의 DNA 단위, 또는 9 내지 16개의 DNA 단위, 10 내지 15개의 DNA 단위 또는 11 내지 13개의 DNA 단위, 예컨대 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17개의 DNA 단위이다. 일부 양태에서, 영역 G는 100% DNA 단위로 이루어진다.

[0254] 추가 양태에서, 영역 G는 DNA, 및 RNase H 절단을 매개할 수 있는 다른 뉴클레오시드의 혼합물로 이루어질 수 있다. 영역 G는 50% 이상의 DNA, 더욱 바람직하게는 60%, 70% 또는 80%의 DNA, 더욱 더 바람직하게는 90% 또는 95%의 DNA로 이루어질 수 있다.

[0255] 또 다른 양태에서, 영역 G 내의 하나 이상의 뉴클레오시드 단위는 알파-1-LNA 뉴클레오시드 단위, 예컨대 하나 이상의 알파-1-LNA, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 알파-1-LNA이다. 추가 양태에서, 영역 G는 하나 이상의 알파-1-LNA 또는 알파-1-옥시-LNA를 포함한다. 추가 양태에서, 영역 G는 DNA 및 알파-1-LNA 뉴클레오시드 단위의 조합을 포함한다.

[0256] 일부 양태에서, 영역 G 내의 뉴클레오시드는 2' 엔도 구조를 갖는다.

[0257] 일부 양태에서, 영역 G는 갭브레이커 뉴클레오시드를 포함하여, RNase H를 모집할 수 있는 갭브레이커 올리고뉴클레오티드를 야기할 수 있다.

[0258] *영역 F'*

[0259] 영역 G의 3' 말단에 부착된 영역 F'(3' 플랭크 또는 3' 윙)는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함하거나 함유하거나 이로 이루어진다. 한 양태에서, 영역 F'는 1 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2 내지 6개의 변형된 뉴클레

오시드, 예컨대 2 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 3개의 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 1, 2, 3 또는 4개의 변형된 뉴클레오시드를 포함하거나 이로 이루어진다. F' 영역은 영역의 5' 말단 및 3' 말단에 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 것에 의해 정의된다.

[0260] 일부 양태에서, 영역 F' 내의 변형된 뉴클레오시드는 3' 엔도 구조를 갖는다.

[0261] 한 양태에서, 영역 F' 내의 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다. 한 양태에서, 영역 F' 내의 모든 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다.

[0262] 한 양태에서, 영역 F' 내의 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다.

[0263] 한 양태에서, 영역 F' 내의 모든 뉴클레오시드는 2' 변형된 뉴클레오시드이다. 다른 양태에서, 영역 F'는 2' 변형된 뉴클레오시드 이외에 DNA 또는 RNA를 포함한다. DNA 또는 RNA를 포함하는 플랭크는 F' 영역의 5' 말단(G 영역의 인근) 및 3' 말단 내의 2' 변형된 뉴클레오시드를 갖는 것에 의해 특징지어질 수 있다. 한 양태에서, 영역 F'는 DNA 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 4개의 인접한 DNA 뉴클레오시드, 예컨대 1 내지 3개 또는 1 또는 2개의 인접한 DNA 뉴클레오시드를 포함한다. 플랭크 내의 DNA 뉴클레오시드는 바람직하게는 RNase H를 모집할 수 없어야 한다. 일부 양태에서, F' 영역 내의 2' 변형된 뉴클레오시드 및 DNA 및/또는 RNA 뉴클레오시드는 1 내지 3개의 2' 변형된 뉴클레오시드 및 1 내지 3개의 DNA 및/또는 RNA 뉴클레오시드와 교호하고, 이러한 플랭크는 또한 교호하는 플랭크로 지칭될 수 있다. 교호하는 플랭크를 갖는 올리고뉴클레오티드 내의 3' 플랭크(영역 F')의 길이는 4 내지 10개의 뉴클레오시드, 예컨대 4 내지 8개, 예컨대 4 내지 6개 뉴클레오시드, 예컨대 4, 5, 6 또는 7개의 변형된 뉴클레오시드일 수 있다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드의 3' 플랭크만이 교호한다. 교호하는 뉴클레오시드를 갖는 영역 F'의 특정 예는 다음과 같다:

[0264] $2'_{1-2}$-N'_{1-4}-$2'_{1-4}$

[0265] $2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$

[0266] 이때, 2'는 변형된 뉴클레오시드를 나타내고, N'는 RNA 또는 DNA이다. 일부 양태에서, 교호하는 플랭크 내의 모든 변형된 뉴클레오시드는 LNA이고, N'는 DNA이다. 추가 양태에서, 영역 F' 내의 변형된 뉴클레오시드는 2'-O-알킬-RNA 단위, 2'-O-메틸-RNA, 2'-아미노-DNA 단위, 2'-플루오로-DNA 단위, 2'-알콕시-RNA, MOE 단위, LNA 단위, 아라비노 핵산(ANA) 단위 및 2'-플루오로-ANA 단위로부터 선택된다.

[0267] 일부 양태에서, F' 영역은 LNA 및 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드를 둘 다 포함한다. 이들은 종종 혼합된 윙 또는 혼합된 플랭크 올리고뉴클레오티드로 지칭된다.

[0268] 본 발명의 한 양태에서, 영역 F' 내의 모든 변형된 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 추가 양태에서, 영역 F' 내의 모든 뉴클레오시드는 LNA 뉴클레오시드이다. 추가 양태에서, 영역 F' 내의 LNA 뉴클레오시드는 독립적으로 옥시-LNA, 티오-LNA, 아미노-LNA, cET 및/또는 ENA(베타-D 또는 알파-L 배열 또는 이들의 조합)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, 영역 F'는 인접한 서열의 3' 말단에서 2개 이상의 베타-D-옥시 LNA 단위를 갖는다.

[0269] *영역 D' 및 D"*

[0270] 영역 D' 및 D"는 각각 영역 F의 5' 말단 또는 영역 F'의 3' 말단에 부착될 수 있다. 영역 D' 또는 D"는 임의적이다.

[0271] 영역 D' 또는 D"는 독립적으로 표적 핵산에 상보적이거나 비-상보적일 수 있는 0 내지 5개, 예컨대 1 내지 5개, 예컨대 2 내지 4개, 예컨대 0, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 추가적인 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 관점에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 일부 양태에서 추가적인 뉴클레오티드에 의해 5' 및/또는 3' 말단에서 플랭킹된 표적을 조절할 수 있는 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 이러한 추가적인 뉴클레오티드는 생체절단성 연결기에 민감한 뉴클레아제로서 역할을 할 수 있다(연결기의 정의 참고). 일부 양태에서, 추가적인 5' 및/또는 3' 말단 뉴클레오시드는 포스포다이에스터 연결기와 연결되고, DNA 또는 RNA일 수 있다. 다른 양태에서, 추가적인 5' 및/또는 3' 말단 뉴클레오시드는, 예를 들어 뉴클레아제 안정성을 강화시키기 위해 또는 합성의 용이함을 위해 포함될 수 있는 변형된 뉴클레오시드이다. 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 인접한 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단에서 영역 D' 및/또는 D"를 포함한다. 추가 양태에서, D' 및/또는 D" 영역은 표적 핵산에 상보적이지 않은 1 내지 5개의 포스포다이에스터 연결된 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드로 구성된다.

[0272] 본 발명의 갭머 올리고뉴클레오티드는 하기 구조식으로 표시될 수 있다:

[0273] 5'-F-G-F'-3', 특히 F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}

[0274] 5'-D'-F-G-F'-3', 특히 D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}

[0275] 5'-F-G-F'-D"-3', 특히 F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}-$D"_{1-3}$

[0276] 5'-D'-F-G-F'-D'-3", 특히 D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}-$D"_{1-3}$

[0277] 영역 F, G 및 F', D' 및 D" 내의 바람직한 수 및 유형은 상기 기술되어 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 올리고뉴클레오티드, 특히 상기 제시된 갭머 올리고뉴클레오티드의 5' 또는 3' 말단에 공유 결합으로 부착된 영역 C를 갖는다.

[0278] 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 구조식 5'-D'-F-G-F'-3' 또는 5'-F-G-F'-D"-3'(이때, 영역 F 및 F'는 독립적으로 1 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드를 포함하고, G는 RNase H를 모집할 수 있는 6 내지 16개의 뉴클레오시드의 영역이고, 영역 D' 또는 D"는 1 내지 5개의 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드를 포함함)의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 바람직하게는, 영역 D' 또는 D"는 접합체 모이어티로의 접합이 고려되는 올리고뉴클레오티드의 말단에 존재한다.

[0279] 교호하는 플랭크를 갖는 올리고뉴클레오티드의 예는 하기 구조식에 의해 표시될 수 있다:

[0280] $2'_{1-3}$-N'_{1-4}-$2'_{1-3}$-G_{6-12}-$2'_{1-2}$-N'_{1-4}-$2'_{1-4}$

[0281] $2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-G_{6-12}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$

[0282] F-G_{6-12}-$2'_{1-2}$-N'_{1-4}-$2'_{1-4}$

[0283] F-G_{6-12}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$

[0284] $2'_{1-3}$-N'_{1-4}-$2'_{1-3}$-G_{6-12}-F'

[0285] $2'_{1-2}$-N'_{1-2}-$2'_{1-2}$-N_{1-2}-$2'_{1-2}$-G_{6-12}-F'

[0286] 이때, 플랭크는 F 또는 F'에 의해 표시되고, 단지 2' 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 LNA 뉴클레오시드를 함유한다. 교호하는 영역, 및 영역 F, G 및 F', D' 및 D" 내의 뉴클레오시드의 바람직한 수 및 유형은 상기 기술되어 있다.

[0287] 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22개 길이의 뉴클레오티드로 이루어진 갭머이고, 이때 각각의 영역 F 및 F'는 독립적으로 PD-L1 표적 핵산에 상보적인 1, 2, 3 또는 4개의 변형된 뉴클레오시드 단위로 이루어지고, 영역 G는 PD-L1 표적 핵산과의 듀플렉스일 때 뉴클레아제를 모집할 수 있는 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17개의 뉴클레오시드 단위로 이루어지고, 영역 D'는 2개의 포스포다이에스터 연결된 DNA로 이루어진다.

[0288] 추가 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 각각의 영역 F 및 F'가 독립적으로 3, 4, 5 또는 6개의 변형된 뉴클레오시드 단위, 예컨대 2'-O-메톡시에틸-리보스 당을 함유하는 뉴클레오시드 단위(2'-MOE) 또는 2'-플루오로-데옥시리보스 당 및/또는 LNA 단위를 함유하는 뉴클레오시드 단위로 이루어지고, 영역 G가 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개의 뉴클레오시드 단위, 예컨대 DNA 단위 또는 다른 뉴클레아제 모집 뉴클레오시드, 예컨대 알파-1-LNA 또는 DNA 및 뉴클레아제 모집 뉴클레오시드의 혼합물로 이루어진 갭머이다.

[0289] 추가의 특이적 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 각각의 영역 F 및 F' 영역이 각각 2개의 LNA 단위로 이루어지고, 영역 G가 12, 13, 14개의 뉴클레오시드 단위, 바람직하게는 DNA 단위로 이루어진 갭머이다. 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 2-12-2, 2-13-2 및 2-14-2를 포함한다.

[0290] 추가의 특이적 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 각각의 영역 F 및 F'가 독립적으로 3개의 LNA 단위로 이루어지고, 영역 G가 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14개의 뉴클레오시드 단위, 바람직하게는 DNA 단위로 이루어진 갭머이다. 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 3-8-3, 3-9-3, 3-10-3, 3-11-3, 3-12-3, 3-13-3 및 3-14-3을 포함한다.

[0291] 추가의 특이적 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 각각의 영역 F 및 F'가 각각 4개의 LNA 단위로 이루어지고, 영역 G가 8, 9, 10, 11 또는 12개의 뉴클레오시드 단위, 바람직하게는 DNA 단위로 이루어진 갭머이다. 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 4-8-4, 4-9-4, 4-10-4, 4-11-4 및 4-12-4를 포함한다.

[0292] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 윙 내에서 6개의 뉴클레오시드 및 독립적으로 1 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-6-1, 1-6-2, 2-6-1, 1-6-3, 3-6-1, 1-6-4, 4-6-1, 2-6-2, 2-6-3, 3-6-2, 2-6-4, 4-6-2, 3-6-3, 3-6-4 및 4-6-3 갭머를 포함한다.

[0293] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 윙 내에서 7개의 뉴클레오시드 및 독립적으로 1 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-7-1, 2-7-1, 1-7-2, 1-7-3, 3-7-1, 1-7-4, 4-7-1, 2-7-2, 2-7-3, 3-7-2, 2-7-4, 4-7-2, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3 및 4-7-4 갭머를 포함한다.

[0294] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 윙 내에서 8개의 뉴클레오시드 및 독립적으로 1 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-8-1, 1-8-2, 1-8-3, 3-8-1, 1-8-4, 4-8-1, 2-8-1, 2-8-2, 2-8-3, 3-8-2, 2-8-4, 4-8-2, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3 및 4-8-4 갭머를 포함한다.

[0295] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 윙 내에서 9개의 뉴클레오시드 및 독립적으로 1 내지 4개의 변형된 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-9-1, 2-9-1, 1-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 1-9-4, 4-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 2-9-4, 4-9-2, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3 및 4-9-4 갭머를 포함한다.

[0296] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 10개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-10-1, 2-10-1, 1-10-2, 1-10-3, 3-10-1, 1-10-4, 4-10-1, 2-10-2, 2-10-3, 3-10-2, 2-10-4, 4-10-2, 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3 및 4-10-4 갭머를 포함한다.

[0297] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 11개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-11-1, 2-11-1, 1-11-2, 1-11-3, 3-11-1, 1-11-4, 4-11-1, 2-11-2, 2-11-3, 3-11-2, 2-11-4, 4-11-2, 3-11-3, 3-11-4, 4-11-3 및 4-11-4 갭머를 포함한다.

[0298] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 12개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-12-1, 2-12-1, 1-12-2, 1-12-3, 3-12-1, 1-12-4, 4-12-1, 2-12-2, 2-12-3, 3-12-2, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 3-12-4, 4-12-3 및 4-12-4 갭머를 포함한다.

[0299] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 13개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-13-1, 2-13-1, 1-13-2, 1-13-3, 3-13-1, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-2, 2-13-3, 3-13-2, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 3-13-4, 4-13-3 및 4-13-4 갭머를 포함한다.

[0300] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 14개의 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-14-1, 2-14-1, 1-14-2, 1-14-3, 3-14-1, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-2, 2-14-3, 3-14-2, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 3-14-4, 4-14-3 및 4-14-4 갭머를 포함한다.

[0301] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 15개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-15-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-15-3, 3-15-1, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-2, 2-15-3, 3-15-2, 2-15-4, 4-15-2 및 3-15-3 갭머를 포함한다.

[0302] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 16개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-16-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-16-3, 3-16-1, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-2, 2-16-3, 3-16-2, 2-16-4, 4-16-2 및 3-16-3 갭머를 포함한다.

[0303] 이러한 성질의 특이적 갭머 디자인은 17개의 뉴클레오시드를 갖는 갭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 F-G-F' 디자인, 예컨대 1-17-1, 2-17-1, 1-17-2, 1-17-3, 3-17-1, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-2, 2-17-3 및 3-17-2 갭머를 포함한다.

[0304] 모든 경우에, F-G-F' 디자인은 1, 2 또는 3개의 뉴클레오시드 단위, 예컨대 DNA 단위, 예컨대 2 포스포다이에스터 연결된 DNA 단위를 가질 수 있는 영역 D' 및/또는 D"를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 영역 F 및 F' 내의 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드인 반면, 영역 G 내의 뉴클레오티드는 바람직하게는 비변형된 뉴클레오시드이다.

[0305] 각각의 디자인에서, 바람직한 변형된 뉴클레오시드는 LNA이다.

[0306] 다른 양태에서, 갭머 내의 갭 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 및/또는 보라노포스페이트 연결기이다. 다른 양태에서, 갭머 내의 플랭크(F 및 F' 영역) 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 및/또는 보라노포스페이트 연결기이다. 다른 바람직한 양태에서, 갭머 내의 D' 및 D" 영역 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포다이에스터 연결기이다.

[0307] 본원에 개시된 특정 갭머의 경우, 사이토신(C) 잔사가 5-메틸-사이토신으로 주석이 달릴 때, 다양한 양태에서, 올리고뉴클레오티드에 존재하는 하나 이상의 Cs는 비변형된 C 잔사일 수 있다.

[0308] 특정 양태에서, 갭머는 소위 국제 공개공보 제2008/113832호(참고로서 본원에 혼입됨)에 기술된 소위 쇼트머(shortmer)이다.

[0309] 추가 갭머 디자인은 국제 공개공보 제2004/046160호, 국제 공개공보 제2007/146511호에 개시되어 있고 참고로서 혼입된다.

[0310] 본 발명의 특정 양태의 경우, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 5_1 내지 743_1 및 771_1을 갖는 올리고뉴클레오티드 화합물의 군으로부터 선택된다.

[0311] 본 발명의 특정 양태의 경우, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 6_1, 8_1, 9_1, 13_1, 41_1, 42_1, 58_1, 77_1, 92_1, 111_1, 128_1, 151_1, 164_1, 166_1, 169_1, 171_1, 222_1, 233_1, 245_1, 246_1, 250_1, 251_1, 252_1, 256_1, 272_1, 273_1, 287_1, 292_1, 303_1, 314_1, 318_1, 320_1, 324_1, 336_1, 342_1, 343_1, 344_1, 345_1, 346_1, 349_1, 359_1, 360_1, 374_1, 408_1, 409_1, 415_1, 417_1, 424_1, 429_1, 430_1, 458_1, 464_1, 466_1, 474_1, 490_1, 493_1, 512_1, 519_1, 519_1, 529_1, 533_1, 534_1, 547_1, 566_1, 567_1, 578_1, 582_1, 601_1, 619_1, 620_1, 636_1, 637_1, 638_1, 640_1, 645_1, 650_1, 651_1, 652_1, 653_1, 658_1, 659_1, 660_1, 665_1, 678_1, 679_1, 680_1, 682_1, 683_1, 684_1, 687_1, 694_1, 706_1, 716_1, 728_1, 733_1, 734_1 및 735_1을 갖는 올리고뉴클레오티드 화합물의 군으로부터 선택된다.

[0312] 본 발명의 한 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 287_1이다.

[0313] 본 발명의 다른 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 342_1이다.

[0314] 본 발명의 다른 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 640_1이다.

[0315] 본 발명의 다른 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 466_1이다.

[0316] 본 발명의 다른 바람직한 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 566_1이다.

[0317] 본 발명의 추가 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 모티프 및 올리고뉴클레오티드 화합물의 인접한 뉴클레오티드 서열은 인접한 뉴클레오티드 서열(예컨대, 영역 D')의 5' 말단에 2 내지 4개의 추가적인 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드를 포함한다. 한 양태에서, 뉴클레오시드는 생체절단성 연결기로서 역할을 한다(생체절단성 연결기에 대한 섹션 참고). 바람직한 양태에서, ca(시티딘-아데노신) 다이뉴클레오티드는 포스포다이에스터 연결기를 통해 인접한 뉴클레오티드 서열(즉, 표 5에 열거된 어느 한 모티프 서열 또는 올리고뉴클레오티드 화합물)의 5' 말단에 연결된다. 바람직한 양태에서, ca 다이뉴클레오티드는 인접한 뉴클레오티드의 나머지가 상보적인 위치에서 표적 서열에 상보적이지 않다.

[0318] 본 발명의 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 서열번호 766, 767, 768, 769 및 770을 갖는 뉴클레오티드 모티프 서열로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0319] 본 발명의 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 화합물 번호 766_1, 767_1, 768_1, 769_1 및 770_1을 갖는 올리고뉴클레오티드 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0320] **탄수화물 접합체 모이어티**

[0321] 탄수화물 접합체 모이어티는 비제한적으로 갈락토스, 락토스, n-아세틸갈락토사민, 만노스 및 만노스-6-포스페이트를 포함한다. 탄수화물 접합체는 조직, 예컨대 간 및/또는 근육의 범위 내의 전달 또는 활성을 강화시키는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 유럽 특허공보 제1495769호, 국제 공개공보 제99/65925호, 문헌[Yang et al., Bioconjug Chem (2009) 20(2): 213-21] 및 문헌[Zatsepin & Oretskaya Chem Biodivers. (2004) 1(10): 1401-17] 참고).

[0322] 일부 양태에서, 탄수화물 접합체 모이어티는 다가이고, 예컨대, 예를 들어 2, 3 또는 4개의 동일한 또는 비-동일한 탄수화물 모이어티는, 임의적으로 연결기를 통해 올리고뉴클레오티드에 공유 결합으로 결합될 수 있다.

일부 양태에서, 본 발명은 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 탄수화물 접합체 모이어티를 포함하는 접합체를 제공한다.

[0323] 일부 양태에서, 접합체 모이어티는 만노스 또는 만노스-6-포스페이트이거나 이를 포함할 수 있다. 이는 표적화 근육 세포를 표적화하는데 특히 유용하다(예를 들어, 미국 출원공개공보 제2012/122801호 참고).

[0324] 아시알로당단백질 수용체(ASGPr)에 결합할 수 있는 접합체 모이어티는 간 내의 간세포를 표적화하는데 특히 유용하다. 일부 양태에서, 본 발명은 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오티드 접합체를 제공한다. 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 갈락토스의 친화도 이상의 친화도를 갖고 아시알로당단백질 수용체에 결합할 수 있는 하나 이상의 탄수화물 모이어티(ASPGr 결합 탄수화물 모이어티)를 포함한다. 아시알로당단백질 수용체에 대한 수많은 갈락토스 유도체의 친화도는 연구되어 있거나(예를 들어, 문헌[Jobst, S.T. and Drickamer, K. JB.C. 1996, 271, 6686] 참고), 당해 분야에 전형적인 방법을 사용하여 즉시 측정된다.

[0325] 본 발명의 한 양상은 PD-L1 표적 핵산에 대해 90% 이상의 상보성을 갖고 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드(영역 A); 및 b) a)의 올리고뉴클레오티드에 공유 결합으로 부착된 하나 이상의 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티(영역 C)를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체이다. 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열은 섹션 "본 발명의 올리고뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드 디자인" 및 "갭머 디자인" 중 어느 하나에 기술될 수 있다.

[0326] 일부 양태에서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 갈락토스, 갈락토사민, N-폼일-갈락토사민, N-아세틸갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일-갈락토사민 및 N-이소부타노일갈락토사민으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 ASPGr 결합 탄수화물 모이어티를 포함한다. 일부 양태에서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 1-가, 2-가, 3-가 또는 4-가이다(즉, 아시알로당단백질 수용체에 결합할 수 있는 1, 2, 3 또는 4개의 말단 탄수화물 모이어티를 함유한다). 바람직하게는, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 2-가이고, 더욱 더 바람직하게는 3-가이다. 바람직한 양태에서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 1 내지 3개의 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티(또한 GalNAc 접합체로 지칭됨)를 포함한다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드 접합체는 3-가 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티인 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티를 포함한다. GalNAc 접합체는 포스포다이에스터, 메틸포스폰에이트 및 PNA 안티센스 올리고뉴클레오티드(예컨대, 미국 특허공보 제5,994,517호 및 문헌[Hangeland et al., Bioconjug Chem. 1995 Nov-Dec;6(6):695-701], 문헌[Biessen et al 1999 Biochem J. 340, 783-792] 및 문헌[Maier et al 2003 Bioconjug Chem 14, 18-29]) 및 siRNAs(예컨대, 국제 공개공보 제2009/126933호, 국제 공개공보 제2012/089352호 및 국제 공개공보 제2012/083046호) 및 LNA 및 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드(국제 공개공보 제2014/076196호, 국제 공개공보 제2014/207232호 및 국제 공개공보 제2014/179620호, 본원에 참고에 의해 혼입됨)와 함께 사용되었다.

[0327] 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티를 생산하기 위하여, ASPGr 결합 탄수화물 모이어티(바람직하게는 GalNAc)는 당류의 C-1 탄소를 통해 분지 분자에 부착된다. ASPGr 결합 탄수화물 모이어티는 바람직하게는 스페이서를 통해 분지 분자에 연결된다. 바람직한 스페이서는 가요성 친수성 스페이서이다(미국 특허공보 제5,885,968호; 문헌[Biessen et al. J. Med. Chern. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546]). 바람직한 가요성 친수성 스페이서는 PEG 스페이서이다. 바람직한 PEG 스페이서는 PEG3 스페이서(3개의 에틸렌 단위)이다. 분지 분자는 2 또는 3개의 말단 ASPGr 결합 탄수화물 모이어티의 부착을 가능하게 하고 또한 올리고뉴클레오티드로의 분지점의 부착을 가능하게 하는 임의의 작은 분자일 수 있다. 예시적인 분지 분자는 다이-리신이다. 다이-리신 분자는 3개의 ASPGr 결합 탄수화물 모이어티를 부착할 수 있는 3개의 아민 기 및 다이-리신을 올리고뉴클레오티드에 부착할 수 있는 카복실 반응기를 함유한다. 대안적인 분지 분자는 글렌 리서치(Glen Research)에 의해 공급되는 더블러(doubler) 또는 트레블러(trebler)일 수 있다. 일부 양태에서, 분지는 1,3-비스-[5-(4,4'-다이메톡시트라이틸옥시)펜틸아미도]프로필-2-[(2-시아노에틸)-(N,N-다이이소프로필)] 포스포라미다이트(글렌 리서치 카탈로그 번호 10-1920-xx), 트리스-2,2,2-[3-(4,4'-다이메톡시트라이틸옥시)프로필옥시메틸]에틸-[(2-시아노에틸)-(N,N-다이이소프로필)]-포스포라미다이트(글렌 리서치 카탈로그 번호 10-1922-xx), 트리스-2,2,2-[3-(4,4'-다이메톡시트라이틸옥시)프로필옥시메틸]메틸렌옥시프로필-[(2-시아노에틸)-(N,N-다이이소프로필)]-포스포라미다이트 및 1-[5-(4,4'-다이메톡시-트라이틸옥시)펜틸아미도]-3-[5-플루오레노메톡시-카보닐-옥시-펜틸아미도]-프로필-2-[(2-시아노에틸)-(N,N-다이이소프로필)]-포스포라미다이트(글렌 리서치 카탈로그 번호 10-1925-xx)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 국제 공개공보 제2014/179620호 및 국제 출원번호 제PCT/EP2015/073331호는 다양한 GalNAc 접합체 모이어티의 생산을 기술한다(본원에 참고에 의해 혼입됨). 하나 이상의 연결기는 분지

분자와 올리고뉴클레오티드 사이에 삽입될 수 있다. 바람직한 양태에서, 연결기는 생체절단성 연결기이다. 연결기는 섹션 "연결기" 및 이의 하위섹션에 기술된 연결기로부터 선택될 수 있다.

[0328] 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티, 특히 GalNAc 접합체 모이어티는 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 올리고뉴클레오티드의 3'- 또는 5'-말단에 부착될 수 있다. 바람직한 양태에서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 연결된다.

[0329] siRNA 전달에 관한 약동학 조절자는 국제 공개공보 제2012/083046호에 기술되어 있다(본원에 참고에 의해 혼입됨). 일부 양태에서, 탄수화물 접합체 모이어티는 16개의 이상의 탄소 원자를 갖는 소수성 기, 16 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 소수성 기, 팔미토일, 헥사데크-8-에노일, 올레일, (9E,12E)-옥타데카-9,12-다이에노일, 다이옥타노일 및 C_{16}-C_{20} 아실 및 콜레스테롤로 이루어진 군으로부터 선택되는 약동학 조절자를 포함한다. 바람직한 양태에서, 탄수화물 접합체 모이어티를 함유하는 약동학 조절자는 GalNAc 접합체이다.

[0330] 바람직한 탄수화물 접합체 모이어티는 1 내지 3개의 말단 ASPGr 결합 탄수화물 모이어티, 바람직하게는 N-아세틸갈락토사민 모이어티를 포함한다. 일부 양태에서, 탄수화물 접합체 모이어티는 스페이서를 통해 분지 분자에 연결된 3개의 ASPGr 결합 탄수화물 모이어티, 바람직하게는 N-아세틸갈락토사민 모이어티를 포함한다. 스페이서 분자는 8 내지 30개 원자의 길이일 수 있다. 바람직한 탄수화물 접합체 모이어티는 PEG 스페이서를 통해 다이-리신 분지 분자에 연결된 3개의 말단 GalNAc 모이어티를 포함한다. 바람직하게는, PEG 스페이서는 3PEG 스페이서이다. 적합한 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 도 1에 제시된다. 바람직한 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티는 도 3에 제시된다.

[0331] 다른 GalNAc 접합체 모이어티는, 예를 들어, 부착된 GalNAc 모이어티를 갖는 작은 펩티드, 예컨대 Tyr-Glu-Glu-(아미노헥실 GalNAc)3(YEE(ahGalNAc)3; 간세포 상의 아시알로당단백질 수용체에 결합하는 글리코트라이펩티드, 예컨대, 문헌[Duff, et al., Methods Enzymol, 2000, 313, 297] 참고); 리신-기반 갈락토스 클러스터(예컨대, L3G4; 문헌[Biessen, et al., Cardovasc. Med., 1999, 214]); 및 콜란-기반 갈락토스 클러스터(예컨대, 아시알로당단백질 수용체에 대한 탄수화물 인식 모티프)를 포함할 수 있다.

[0332] 본 발명의 일부 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 화합물 번호 766_2, 767_2, 768_2, 769_2 및 770_2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0333] 바람직한 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 도 4에 제시된 화합물에 상응하다.

[0334] 다른 바람직한 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 도 5에 제시된 화합물에 상응하다.

[0335] 다른 바람직한 양태에서 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 도 6에 제시된 화합물에 상응하다.

[0336] 다른 바람직한 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 도 7에 제시된 화합물에 상응하다.

[0337] 다른 바람직한 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체는 도 8에 제시된 화합물에 상응하다.

[0338] **연결기**

[0339] ***생체절단성 연결기(영역 B)***

[0340] 접합체의 사용은 종종 강화된 약동학 또는 약동학적 동적 특성과 연관된다. 그러나, 접합체 모이어티의 존재는 목적 표적에 대한 올리고뉴클레오티드의 활성을, 예를 들어 혼성화 또는 뉴클레아제 모집(예컨대, RNAse H)을 방해하는 입체 장애를 통해 방해할 수 있다. 올리고뉴클레오티드(영역 A 또는 제1 영역)와 접합체 모이어티(영역 C 또는 제3 영역) 사이의 생리학적으로 불안정한 결합(생체절단성 연결기)의 사용은 접합체 모이어티의 존재에 기인한 개선된 특성을 가능하게 하는 반면, 표적 조직에서는 접합체 기가 올리고뉴클레오티드의 효과적인 활성을 방해하지 않도록 한다.

[0341] 생리학적으로 불안정한 결합의 절단은 불안정한 결합을 함유하는 분자가 적절한 세포내 및/또는 세포외 환경에 도달할 때 자발적으로 발생한다. 예를 들어, pH 불안정한 결합은 분자가 산성화 엔도좀에 도입할 때 절단될 수 있다. 따라서, pH 불안정한 결합은 엔도좀 절단성 결합인 것으로 간주될 수 있다. 효소 절단성 결합은 엔도좀 또는 리소좀 또는 세포질에 존재하는 효소에 노출될 때 절단될 수 있다. 다이설파이드 결합은 분자가 세포 세포질의 더욱 환원적인 환경에 도입될 때 절단될 수 있다. 따라서, 다이설파이드는 세포질 절단성 결합으로 간주될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, pH-불안정한 결합은 산성 조건(pH 7 미만) 하에 선택적으로 파괴되는 불안정한 결합이다. 이러한 결합은 또한 세포 엔도좀 및 리소좀이 7 미만의 pH를 가지므로, 엔도좀 불안정한

결합으로 지칭될 수 있다.

[0342] 표적화된 전달을 위해 접합체 모이어티에 연관된 생체절단성 연결기의 경우, 표적 조직(예를 들어 근육, 간, 신장 또는 종양)에서 보여지는 절단 속도는 혈청에서 발견되는 것보다 크다. 표적 조직 대 혈청의 절단 또는 S1 뉴클레아제에 의한 절단의 수준(%)을 측정하기 위한 적합한 방법은 "재료 및 방법" 섹션에 기술되어 있다. 일부 양태에서, 생체절단성 연결기(또한 생리학적으로 불안정한 연결기, 또는 뉴클레아제 민감성 연결기 또는 영역 B로 지칭됨)는, 본 발명의 접합체에서, 표준에 대해 비교될 때, 약 20% 이상, 예컨대 약 30% 이상, 예컨대 약 40% 이상, 예컨대 약 50% 이상, 예컨대 약 60% 이상, 예컨대 약 70% 이상, 예컨대 약 75% 이상 절단된다.

[0343] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 접합체는 하기 3개의 영역을 포함한다: i) 표적 핵산에 상보적인 10 내지 25개의 인접한 뉴클레오티드를 포함하는 제1 영역(영역 A); ii) 생체절단성 연결기를 포함하는 제2 영역(영역 B); 및 iii) 접합체 모이어티, 예컨대 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티를 포함하는 제3 영역(영역 C)(이때, 제3 영역은 제1 영역에 공유 결합으로 연결된 제2 영역에 공유 결합으로 연결됨).

[0344] 본 발명의 한 양태에서, 올리고뉴클레오티드 접합체는 인접한 뉴클레오티드 서열(영역 A)과 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티(영역 C) 사이에 생체절단성 연결기(영역 B)를 포함한다.

[0345] 일부 양태에서, 생체절단성 연결기는 표적 핵산에 상보적인 인접한 뉴클레오티드의 5'-말단 및/또는 3'-말단(영역 A)에 적합할 수 있다. 바람직한 양태에서, 생체절단성 연결기는 5'-말단에 존재한다.

[0346] 일부 양태에서, 절단성 연결기는, 예를 들어 표적 세포에서 발현될 수 있는 뉴클레아제에 민감하다. 일부 양태에서, 생체절단성 연결기는 2 내지 5개의 연속적인 포스포다이에스터 연결기로 구성된다. 연결기는 짧은 영역(예컨대, 연결기의 정의에서 상술된 바와 같이 1 내지 10개) 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드일 수 있다. 일부 양태에서, 생체절단성 연결기 영역 B 내의 뉴클레오시드는 (임의적으로 독립적으로) 뉴클레아제 절단을 방해하지 않는 DNA 및 RNA 또는 이들의 변형으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 뉴클레아제 절단을 방해하지 않는 DNA 및 RNA 뉴클레오시드의 변형은 비-천연 발생 핵염기일 수 있다. 특정 당-변형된 뉴클레오시드는 또한 알파-1-옥시-LNA와 같은 뉴클레아제 절단을 가능하게 할 수 있다. 일부 양태에서, 영역 B의 모든 뉴클레오시드는 (임의적으로 독립적으로) 2'-OH 리보스 당(RNA) 또는 2'-H 당(즉, RNA 또는 DNA)을 포함한다. 바람직한 양태에서, 영역 B의 2개 이상의 연속적인 뉴클레오시드는 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드(예컨대, 3, 4 또는 5개 이상의 연속적인 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드)이다. 더욱 더 바람직한 양태에서, 영역 B의 뉴클레오시드는 DNA 뉴클레오시드이고, 바람직하게는 영역 B는 1 내지 5개, 또는 1 내지 4개, 예컨대 2, 3, 4개의 연속적인 포스포다이에스터 연결된 DNA 뉴클레오시드로 이루어진다. 바람직한 양태에서, 영역 B는 작아서 RNAse H를 모집하지 않는다. 일부 양태에서, 영역 B는 3개 이하 또는 4개 이하의 연속적인 포스포다이에스터 연결된 DNA 및/또는 RNA 뉴클레오시드(예컨대, DNA 뉴클레오시드)를 포함한다.

[0347] 영역 B가 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드로 구성되는 경우, 영역 A 및 B는 영역 C에 연결된 올리고뉴클레오티드를 형성할 수 있다. 이러한 맥락에서, 영역 A는 영역 B로부터 분화될 수 있고, 이때 영역 A는 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화도를 갖는 하나 이상, 바람직하게는 2개 이상의 변형된 뉴클레오시드(예컨대, 2' 치환된 당 모이어티를 갖는 LNA 또는 뉴클레오시드)에 의해 개시되고, 영역 A는 스스로 관련 세포주에서 표적 핵산의 발현을 조절할 수 있다. 또한, 영역 A가 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드를 포함하는 경우, 이들은 뉴클레아제 내성 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 포스포로티오에이트 또는 보라노포스페이트와 연결된다. 한편, 영역 B는 DNA 또는 RNA 뉴클레오시드 사이에 포스포다이에스터 연결기를 포함한다. 일부 양태에서, 영역 B는 표적 핵산에 상보적이지 않거나, 이에 대한 50% 이상의 미스매치를 포함한다.

[0348] 일부 양태에서, 영역 B는 표적 핵산 서열, 또는 영역 A의 표적 핵산에 상보적인 인접한 뉴클레오티드에 상보적이지 않다.

[0349] 일부 양태에서, 영역 B는 표적 핵산 서열에 상보적이다. 이에 관하여,영역 A 및 B는 함께 표적 서열에 상보적인 단일의 인접한 서열을 형성할 수 있다.

[0350] 본 발명의 일부 양상에서, 제1 영역(영역 A)과 제2 영역(영역 B) 사이의 뉴클레오시드간 연결기는 제2 영역의 일부로 간주될 수 있다.

[0351] 일부 양태에서, 영역 B 내의 염기의 서열은 표적 조직 또는 세포 또는 하위-세포 구획에 존재하는 우세한 엔도뉴클레아제 절단 효소에 근거하여, 최적 엔도뉴클레아제 절단 부위를 제공하도록 선택된다. 이에 관하여, 표적 조직 및 비-표적 조직으로부터 세포 추출물을 단리함으로써, 영역 B에 사용하기 위한 엔도뉴클레아제 절단 서열은 비-표적 세포(예컨대, 신장)와 비교되는 목적 표적 세포(예컨대, 간/간세포)의 바람직한 절단 활성에 근거하

여 선택될 수 있다. 이에 관하여, 표적 하향-조절을 위한 화합물의 효능은 목적 조직/세포를 위해 최적화될 수 있다.

[0352] 일부 양태에서, 영역 B는 서열 AA, AT, AC, AG, TA, TT, TC, TG, CA, CT, CC, CG, GA, GT, GC 또는 GG의 다이뉴클레오티드를 포함하고, 이때 C는 5-메틸사이토신일 수 있고/거나 T는 U로 대체될 수 있다. 바람직하게는, 뉴클레오시드간 연결기는 포스포다이에스터 연결기이다. 일부 양태에서, 영역 B는 서열 AAA, AAT, AAC, AAG, ATA, ATT, ATC, ATG, ACA, ACT, ACC, ACG, AGA, AGT, AGC, AGG, TAA, TAT, TAC, TAG, TTA, TTT, TTC, TAG, TCA, TCT, TCC, TCG, TGA, TGT, TGC, TGG, CAA, CAT, CAC, CAG, CTA, CTG, CTC, CTT, CCA, CCT, CCC, CCG, CGA, CGT, CGC, CGG, GAA, GAT, GAC, CAG, GTA, GTT, GTC, GTG, GCA, GCT, GCC, GCG, GGA, GGT, GGC 및 GGG의 트라이뉴클레오티드를 포함하고, 이때 C는 5-메틸사이토신일 수 있고/거나 T는 U로 대체될 수 있다. 바람직하게는, 뉴클레오시드간 연결기는 포스포다이에스터 연결기이다. 일부 양태에서, 영역 B는 서열 AAAX, AATX, AACX, AAGX, ATAX, ATTX, ATCX, ATGX, ACAX, ACTX, ACCX, ACGX, AGAX, AGTX, AGCX, AGGX, TAAX, TATX, TACX, TAGX, TTAX, TTTX, TTCX, TAGX, TCAX, TCTX, TCCX, TCGX, TGAX, TGTX, TGCX, TGGX, CAAX, CATX, CACX, CAGX, CTAX, CTGX, CTCX, CTTX, CCAX, CCTX, CCCX, CCGX, CGAX, CGTX, CGCX, CGGX, GAAX, GATX, GACX, CAGX, GTAX, GTTX, GTCX, GTGX, GCAX, GCTX, GCCX, GCGX, GGAX, GGTX, GGCX 및 GGGX의 트라이뉴클레오티드를 포함하고, 이때 X는 A, T, U, G, C 및 이들의 유사체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있고, C는 5-메틸사이토신일 수 있고/거나 T는 U로 대체될 수 있다. 바람직하게는, 뉴클레오시드간 연결기는 포스포다이에스터 연결기이다. (천연 발생) 핵염기 A, T, U, G, C를 지칭할 때, 이들이 균등한 천연 핵염기로서 작용하는 핵염기 유사체(예컨대, 상보성 뉴클레오시드와의 염기 쌍)로 치환될 수 있음이 인정될 것이다.

[0353] ***다른 연결기(영역 Y)***

[0354] 연결기는 2개 이상의 작용기(올리고뉴클레오티드에 부착하기 위한 하나 및 접합체 모이어티에 부착하기 위한 다른 하나)를 가질 수 있다. 예시적인 연결기 작용기는 올리고뉴클레오티드 또는 접합체 모이어티 상의 친핵성 기와의 반응을 위하 친전자성일 수 있거나, 친전자성 기와의 반응을 위해 친핵성일 수 있다. 일부 양태에서, 연결기 작용기는 아미노, 하이드록실, 카복실산, 티올, 포스포르아미데이트, 포스포로티오에이트, 포스페이트, 포스파이트, 불포화(예컨대, 이중 또는 삼중 결합) 등을 포함한다. 일부 예시적인 연결기(영역 Y)는 8-아미노-3,6-다이옥사옥탄산(ADO), 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 6-아미노헥산산(AHEX 또는 AHA), 6-아미노헥실옥시, 4-아미노부티르산, 4-아미노사이클로헥실카복실산, 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복시-(6-아미도-카프로에이트)(LCSMCC), 석신이미딜 m-말레이미도-벤조일레이트(MBS), 석신이미딜 N-e-말레이미도-카프로일레이트(EMCS), 석신이미딜 6-(베타-말레이미도-프로피온아미도)헥사노에이트(SMPH), 석신이미딜 N-(a-말레이미도 아세테이트)(AMAS), 석신이미딜 4-(p-말레이미도페닐)부티레이트(SMPB), 베타-알라닌(베타-ALA), 페닐글리신(PHG), 4-아미노사이클로헥산산(ACHC), 베타-(사이클로프로필) 알라닌(베타-CYPR), 아미노 도데칸산(ADC), 알릴렌 다이올, 폴리에틸렌 글리콜, 아미노산 등을 포함한다. 일부 양태에서, 연결기(영역 Y)는 아미노 알킬, 예컨대 C_2-C_{36} 아미노 알킬 기, 예컨대, 예를 들어 C_6-C_{12} 아미노 알킬 기이다. 바람직한 양태에서, 연결기(영역 Y)는 C_6 아미노 알킬 기이다. 아미노 알킬 기는, 예를 들어 (예컨대, 보호된) 아미노 알킬 포스포라미다이트를 사용하는 표준 올리고뉴클레오티드 합성의 일부로서 올리고뉴클레오티드(영역 A 또는 영역 A-B)에 첨가될 수 있다. 아미노 알킬과 올리고뉴클레오티드 사이의 연결기는, 예를 들어 포스포로티오에이트 또는 포스포다이에스터, 또는 본원에 언급된 다른 뉴클레오시드 연결기 중 하나일 수 있다. 아미노 알킬 기는 올리고뉴클레오티드의 5'- 또는 3'-말단에 공유 결합으로 연결된다. 시판 중인 아미노 알킬 연결기는, 예를 들어 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에서의 연결기를 위한 3'-아미노-변형자 시약이고, 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에서의 연결기의 경우, 5'-아미노-변형자 C6이 이용가능하다. 이러한 시약은 글렌 리서치 코퍼레이션(미국 버지니아주 스털링 소재)로부터 이용가능하다. 이러한 화합물 또는 유사한 화합물은 플루오레세인을 올리고뉴클레오티드의 5'-말단으로 연결하기 위해 문헌[Krieg, et al, Antisense Research and Development 1991, 1, 161]에 의해 이용된다. 광범위한 추가 연결기가 당해 분야에 공지되어 있고, 올리고뉴클레오티드로의 접합체 모이어티의 부착에 유용할 수 있다. 많은 유용한 연결기의 검토는, 예를 들어, 문헌[Antisense Research and Applications, S. T. Crooke and B. Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1993, p. 303-350]에서 발견될 수 있다. 아크리딘과 같은 다른 화합물은 폴리메틸렌 연결기를 통해 올리고뉴클레오티드의 3'-말단 포스페이트 기에 부착되었다(문헌[Asseline, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81, 3297]). 임의의 상기 기는 단일 연결기(영역 Y)로서 또는 하나 이상의 추가 연결기와의 조합(영역 Y-Y' 또는 영역 Y-B 또는 B-Y)으로 사용될 수 있다.

[0355] 연결기 및 올리고뉴클레오티드의 접합체의 제조에서 이의 용도는 국제 공개공보 제96/11205호 및 국제 공개공보

제98/52614호 및 미국 특허공보 제4,948,882호; 제5,525,465호; 제5,541,313호; 제5,545,730호; 제5,552,538호; 제5,580,731호; 제5,486,603호; 제5,608,046호; 제4,587,044호; 제4,667,025호; 제5,254,469호; 제5,245,022호; 제5,112,963호; 제5,391,723호; 제5,510,475호; 제5,512,667호; 제5,574,142호; 제5,684,142호; 제5,770,716호; 제6,096,875호; 제6,335,432호; 및 제6,335,437호, 국제 공개공보 제2012/083046호(이들 각각은 이의 전체내용이 참고로서 혼입됨)와 같은 당해 분야 전반에 걸쳐 제공된다.

[0356] **제조 방법**

[0357] 추가 양상에서, 본 발명은 뉴클레오티드 단위를 반응시키고, 이에 의해 올리고뉴클레오티드에 포함된 공유 결합으로 연결된 인접한 뉴클레오티드 단위를 형성하는 단계를 포함하는 본 발명의 올리고뉴클레오티드의 제조 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 방법은 포스포라미다이트 화학을 사용한다(예를 들어, 문헌[Caruthers et al, 1987, Methods in Enzymology vol. 154, pages 287-313]). 추가 양태에서, 상기 방법은 인접한 뉴클레오티드 서열을 접합 모이어티(리간드)와 반응시키는 단계를 추가로 포함한다. 추가 양상에서, 상기 방법은 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 접합된 올리고뉴클레오티드와 약학적으로 허용되는 희석제, 용매, 담체, 염 및/또는 항원보강제를 혼합하는 단계를 포함하는 본 발명의 조성물의 제조를 위해 제공된다.

[0358] **약학 조성물**

[0359] 추가 양상에서, 본 발명은 임의의 상기 올리고뉴클레오티드 및/또는 올리고뉴클레오티드 접합체 및 약학적으로 허용되는 희석제, 용매, 담체, 염 및/또는 항원보강제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 약학적으로 허용되는 희석제는 포스페이트-완충된 염수(PBS)를 포함하고, 약학적으로 허용되는 염은, 비제한적으로, 나트륨 및 칼륨 염을 포함한다. 일부 양태에서, 약학적으로 허용되는 희석제는 멸균 포스페이트 완충된 염수이다. 일부 양태에서, 올리고뉴클레오티드는 약학적으로 허용되는 희석제에 50 내지 300 μM 용액의 농도로 사용된다.

[0360] 본 발명에 사용하는데 적합한 제형은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985]에서 발견된다. 약물 전달을 위한 방법은 간단한 검토를 위해, 예컨대 문헌[Langer, Science 249:1527-1533, 1990]을 참고한다. 국제 공개공보 제2007/031091호는 약학적으로 허용되는 희석제, 담체 및 항원보강제의 더욱 적합하고 바람직한 예를 제공한다(본원에 참고에 의해 혼입됨). 적합한 투여량, 제형, 투여 경로, 조성물, 투여 형태, 다른 치료제와의 조합, 전구약물 제형은 또한 국제 공개공보 제2007/031091호에 제공된다.

[0361] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 약학 조성물 또는 제형의 제조를 위한 약학적으로 허용되는 활성 또는 불활성 물질과 혼합될 수 있다. 약학 조성물의 제형화를 위한 조성물 및 방법은, 비제한적으로 투여 경로, 질병의 정도 또는 투여되는 투여량을 비롯한 기준의 수에 따라 변한다.

[0362] 이러한 조성물은 통상적인 멸균화 기술에 의해 멸균화될 수 있거나, 멸균 여과될 수 있다. 생산된 수용액은 그대로 사용하기 위해 포장되거나 동결건조될 수 있고, 동결건조된 제제는 투여 전에 멸균 수성 담체와 조합된다. 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 더욱 바람직하게는 5 내지 9 또는 6 내지 8, 가장 바람직하게는 7 내지 8, 예컨대 7 내지 7.5일 수 있다. 고체 형태의 생산된 조성물은, 예컨대 각각 정제 또는 캡슐의 밀봉된 포장 중에 고정된 양의 상기 약제를 함유하는 다수의 단일 투여량 단위로 포장될 수 있다. 고체 형태의 조성물은 또한 가요성 양을 위한 용기, 예컨대 국소 적용가능한 크림 또는 연고용으로 디자인된 압착가능한 튜브로 포장될 수 있다.

[0363] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 전구약물이다. 특히, 올리고뉴클레오티드 접합체에 관하여, 접합체 모이어티는 전구약물이 작용 부위, 예컨대 표적 세포에 전달되면 올리고뉴클레오티드로 절단된다.

[0364] **적용례**

[0365] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는, 예를 들어 진단, 치료 및 예방을 위한 연구 시약으로서 이용될 수 있다.

[0366] 연구에서, 이러한 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 세포(예컨대, 시험관내 세포 배양물) 및 실험 동물에서 PD-L1 단백질의 합성을 특이적으로 조절하는데 사용될 수 있고, 이에 의해 표적의 기능적 분석 또는 치료 중재를 위한 표적으로서의 유용성의 사정을 용이하게 한다. 전형적으로, 표적 조절은 단백질을 생산하는 mRNA를 분해시키거나 억제하고, 이에 의해 단백질 형성을 방지함으로써, 또는 단백질을 생산하는 유전자 또는 mRNA의 조절자를 분해시키거나 억제함으로써 달성된다.

[0367] 연구 또는 진단에서 본 발명의 올리고뉴클레오티드를 사용하는 경우, 표적 핵산은 cDNA, 또는 DNA 또는 RNA로부터 유래하는 합성 핵산일 수 있다.

[0368] 본 발명은 PD-L1을 발현하는 표적 세포에서 PD-L1 발현을 조절하는 생체내 또는 시험관내 방법을 제공하고, 상기 방법은 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체를 상기 세포에 효과량으로 투여함을 포함한다.

[0369] 일부 양태에서, 표적 세포는 포유동물 세포, 특히 인간 세포이다. 표적 세포는 포유동물 조직의 시험관내 세포 배양물 또는 생체내 세포 형성 부분일 수 있다. 바람직한 양태에서, 표적 세포는 간에 존재한다. 간 표적 세포는 실질 세포(예컨대, 간세포) 및 비-실질 세포, 예컨대 쿠퍼 세포, LSEC, 성상 세포(또는 Ito 세포), 담관세포 및 간-연관된 백혈구(예컨대, T-세포 및 NK 세포)로부터 선택될 수 있다. 일부 양태에서, 표적 세포는 항원-제시 세포이다. 항원-제시 세포는 이의 표면 상에서 주조직적합성 복합체(MHC) 클래스 I 또는 클래스 II와 복합체화된 외래 항원을 나타낸다. 일부 양태에서, 항원-제시 세포는 MHC 클래스 II(즉, 전문 항원-제시 세포, 예컨대 수지상 세포, 대식세포 및 B 세포)를 발현한다.

[0370] 진단에서, 올리고뉴클레오티드는 노턴 블로팅, 제자리 혼성화 또는 유사한 기술에 의해 세포 및 조직에서 PD-L1 발현을 검출하고 정량화시키는데 사용될 수 있다.

[0371] 치료를 위해, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 이의 약학 조성물은 PD-L1의 발현의 감소, 특히 간 표적-세포에서 PD-L1의 발현의 감소에 의해 완화되거나 치료될 수 있는 질병 또는 질환을 갖는 것으로 의심되는 동물 또는 인간에게 투여될 수 있다.

[0372] 본 발명은 치료적 또는 예방적 효과량의 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물을 질병을 앓거나 앓기 쉬운 대상에게 투여함을 포함하는, 질병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0373] 본 발명은 또한 약제로서 사용하기 위한 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0374] 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 전형적으로 효과량으로 투여된다.

[0375] 본 발명은 또한 본원에 언급된 질병 또는 질환의 치료용 약제의 제조에 기술된 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물의 용도를 제공한다. 한 양태에서, 질병은 a) 바이러스성 간 감염, 예컨대 HBV, HCV 및 HDV; b) 기생충 감염, 예컨대 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 및 트리파노소마증; 및 c) 간암 또는 간에서의 전이로부터 선택된다.

[0376] 한 양태에서, 본 발명은 바이러스성 또는 기생충 감염으로부터 선택되는 질병 또는 질환의 치료에 사용하기 위한 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물에 관한 것이다. 추가 양태에서, 질병은 a) 바이러스성 간 감염, 예컨대 HBV, HCV 및 HDV; b) 기생충 감염, 예컨대 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 및 트리파노소마증; 및 c) 간암 또는 간에서의 전이로부터 선택된다.

[0377] 본원에 언급된 질병 또는 질환은 면역 소실과 연관된다. 특히, 질병 또는 질환은 바이러스-특이적 T-세포 반응의 소실과 연관된다. 일부 양태에서, 질병 또는 질환은 PD-L1 발현의 감소에 의해 완화되거나 처리될 수 있다.

[0378] 본 발명의 방법은 바람직하게는 면역 소실과 연관된 질병에 대한 치료 또는 예방에 사용된다.

[0379] 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 간암 또는 간에서의 전이에 대한 면역 반응의 회복에 사용된다.

[0380] 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 병원균에 대한 면역 반응의 회복에 사용된다. 일부 양태에서, 병원균은 간에서 발견될 수 있다. 병원균은 바이러스 또는 기생충, 특히 본원에 기술된 것들일 수 있다. 바람직한 양태에서, 병원균은 HBV이다.

[0381] 본 발명은 또한 본원에 언급된 바이러스성 또는 기생충 감염의 회복용 약제의 제조를 위한, 본원에 정의된 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0382] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 바이러스성 감염, 특히 PD-1 경로가 영향을 받는 간에서의 바이러스성 감염의 치료에 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Kapoor and Kottilil 2014 Future Virol Vol. 9 pp. 565-585] 및 문헌[Salem and El-Badawy 2015 World J Hepatol Vol. 7

pp. 2449-2458] 참고). 바이러스성 간 감염은 간염 바이러스, 특히 HBV, HCV 및 HDV, 특히 이러한 감염의 만성 형태로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 HBV, 특히 만성 HBV를 치료하는데 사용된다. 만성 HBV 감염의 지시자는 순환되는 높은 수준의 바이러스성 로드(load)(HBV DNA) 및 더욱 높은 수준의 빈 HBsAg 입자(100-배 초과의 과량의 비리온)이다.

[0383] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 또한 HIV와의 동시감염으로 발생하는 바이러스성 간 감염을 치료하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물로 치료될 수 있는 다른 바이러스성 감염은 lcmv(림프구성 맥락수막염 바이러스), 및 단일 감염으로서 HIV, HSV-1 및 -2, 및 다른 헤르페스바이러스이다. 이러한 바이러스는 간친화성이 아니지만, 이들은 PD-L1 하향-조절에 민감할 수 있다.

[0384] 일부 양태에서, 면역성 또는 면역 반응의 회복은 T-세포 및/또는 NK 세포 반응의 개선 및/또는 T-세포 소실의 완화와 관련되고, 특히 HBV-특이적 T-세포 반응, HCV-특이적 T-세포 반응 및/또는 HDV-특이적 T-세포 반응이 회복된다. T-세포 반응의 개선은, 예를 들어 간에서의 T-세포의 증가, 특히 대조군(예컨대, 치료 전의 수준 또는 비히클 처리된 대상에서의 수준)과 비교될 때 CD8+ 및/또는 CD4+ T-세포의 증가로서 평가될 수 있다. 추가 양태에서, 이것은 대조군과 비교될 때 회복되거나 증가되는 바이러스 특이적 CD8+ T-세포이고, 특히 HBV 특이적 CD8+ T-세포 또는 HCV 특이적 CD8+ T-세포 또는 HDV 특이적 CD8+ T-세포는 대조군과 비교될 때 회복되거나 증가된다. 바람직한 양태에서, HBV s 항원(HBsAg)에 특이적인 CD8+ T-세포 및/또는 HBV e 항원(HBeAg)에 특이적인 CD8+ T-세포 및/또는 HBV 코어 항원(HBcAg)에 특이적인 CD8+ T-세포는 대조군에 비해 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물로 처리된 대상에서 증가된다. 바람직하게는, HBV 항원 특이적 CD8+ T-세포는 하나 이상의 사이토킨, 예컨대 인터페론-감마(IFN-γ) 또는 종양 괴사 인자 알파(TNF-α)를 생산한다. 상기 CD8+ T-세포의 증가는 특히 간에서 관찰된다. 본원에 기술된 증가는 대조군과 비교될 때 통계학적으로 유의하여야 한다. 바람직하게는, 증가는 대조군과 비교될 때, 적어도 20%, 예컨대 25%, 예컨대 50%, 예컨대 75%이다. 다른 양태에서, 자연 살해(NK) 세포 및/또는 자연 살해 T(NKT) 세포는 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체에 의해 활성화된다.

[0385] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 치료 기생충 감염, 특히 PD-1 경로가 영향을 받는 기생충 감염의 치료에 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Bhadra et al. 2012 J Infect Dis vol 206 pp. 125-134]; 문헌[Bhadra et al. 2011 Proc Natl Acad Sci U S A Vol. 108 pp. 9196-9201]; 문헌[Esch et al. J Immunol vol 191 pp 5542-5550]; 문헌[Freeman and Sharpe 2012 Nat Immunol Vol 13 pp. 113-115]; 문헌[Gutierrez et al. 2011 Infect Immun Vol 79 pp. 1873-1881]; 문헌[Joshi et al. 2009 PLoS Pathog Vol 5 e1000431]; 문헌[Liang et al. 2006 Eur J Immunol Vol. 36 pp 58-64]; 문헌[Wykes et al. 2014 Front Microbiol Vol 5 pp 249] 참고). 기생충 감염은 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 및 트리파노소마증으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 말라리아 감염은 플라스모듐(*Plasmodium*) 속, 특히 플라스모듐 비박스(*Plasmodium vivax*), 플라스모듐 말라리아에(*Plasmodium Malariae*) 및 플라스모듐 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*) 종의 원생동물에 의해 유발된다. 톡소플라즈마증은 톡소플라즈마 곤디(*Toxoplasma gondii*)에 의해 유발된 기생충 질병이다. 리슈마니아증은 리슈마니아(*Leishmania*) 속의 원생동물 기생충에 의해 유발된 질병이다. 트리파노소마증은 트리파노소마(*Trypanosoma*) 속의 원생동물에 의해 유발된다. 샤카스병은 트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*) 종에 의해 유발된 열대 형태이고, 수면병은 트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*) 종에 의해 유발된다.

[0386] 일부 양태에서, 면역성의 회복은 기생충-특이적 T-세포 및 NK 세포 반응, 특히 플라스모듐-특이적 T-세포 반응, 톡소플라즈마 곤디-특이적 T-세포 및 NK 세포 반응, 리슈마니아-특이적 T-세포 및 NK 세포 반응, 트리파노소마 크루지-특이적 T-세포 및 NK 세포 반응 또는 트리파노소마 브루세이-특이적 T-세포 및 NK 세포 반응의 회복과 관련된다. 추가 양태에서, 이것은 회복되는 기생충-특이적 CD8+ T-세포 및 NK 세포 반응이다.

[0387] **투여**

[0388] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 약학 조성물은 국소(예컨대, 피부, 흡입, 안구 또는 귀) 또는 장(예컨대, 경구 또는 위장관) 또는 비경구(예컨대, 정맥내, 피하, 근육내, 대뇌내, 뇌실내 또는 척추강내) 투여될 수 있다.

[0389] 바람직한 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 약학 조성물은 정맥내, 동맥내, 피하, 복강내 또는 근육내 주사 또는 주입, 척추강내 또는 두개골내, 예컨대 대뇌내 또는 뇌실내, 유리체내 투여를 비롯한 비경구 경

로에 의해 투여된다. 한 양태에서, 활성 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 정맥내 투여된다. 다른 양태에서, 활성 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 피하 투여된다.

[0390] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 0.1 내지 15 mg/kg, 예컨대 0.1 내지 10 mg/kg, 예컨대 0.2 내지 10 mg/kg, 예컨대 0.25 내지 10 mg/kg, 예컨대 0.1 내지 5 mg/kg, 예컨대 0.2 내지 5 mg/kg, 예컨대 0.25 내지 5 mg/kg의 투여량으로 투여된다. 투여는 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 1개월에 1회 수행될 수 있다.

[0391] **병용 요법**

[0392] 일부 양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 접합체 또는 약학 조성물은 다른 치료제와의 병용 치료에 사용하기 위한 것이다. 치료제는, 예를 들어 상기 질병 또는 질환을 위한 치료 표준일 수 있다.

[0393] 만성 HBV 감염의 치료의 경우, 항바이러스성 약물 및 면역 시스템 조절자의 병용이 치료 표준으로서 추천된다. HBV에 효과적인 항바이러스성 약물은, 예를 들어 뉴클레오시(티)드 유사체이다. HBV의 치료법에 대해 승인된 5개의 뉴클레오시(티)드 유사체, 즉 라미부딘(에피비르(Epivir)), 아데포비르(헵세라(Hepsera)), 테노포비르(비리드(Viread)), 텔비부딘(타이제카(Tyzeka)), 엔테카비르(바라클루드(Baraclude))(이들은 바이러스성 복제(HBV DNA)를 억제하는데 효과적이지만, HBsAg 수준에 대한 효과가 없음)가 존재한다. 다른 항바이러스성 약물은 리바비린 및 HBV 항체 치료법(단클론성 또는 다클론성)을 포함한다. 면역 시스템 조절자는, 예를 들어 인터페론 알파-2a 및 PEG화된 인터페론 알파-2a(페가시스(Pegasys)) 또는 TLR7 작용제(예컨대, GS-9620) 또는 치료적 백신일 수 있다. IFN-α 치료는 바이러스성 로드를 감소시키는데 매우 알맞은 효과만을 나타내지만, 매우 비효율적임에도 불구하고 약간은 HBsAg 감소를 야기한다(48주 치료 후 10% 미만).

[0394] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체는 또한 HBV에 대해 효과적인 다른 항바이러스성 약물, 예컨대 국제 공개공보 제2012/145697호 및 국제 공개공보 제2014/179629호에 기술된 안티센스 올리고뉴클레오티드, 또는 국제 공개공보 제2005/014806호, 국제 공개공보 제2012/024170호, 국제 공개공보 제2012/2055362호, 국제 공개공보 제2013/003520호 및 국제 공개공보 제2013/159109호에 기술된 siRNA 분자와 병용될 수 있다.

[0395] 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체가 다른 약제와의 병용 요법으로 투여될 때, 이들은 순차적으로 또는 동시에 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 다르게는, 본 발명에 따른 약학 조성물은 본원에 기술된 약학적으로 허용되는 부형제와 결합된 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 접합체, 및 당해 분야에 공지된 다른 치료제 또는 예방제의 조합으로 구성될 수 있다.

[0396] **양태**

[0397] 본 발명의 하기 양태는 본원에 기술된 임의의 다른 양태와 조합으로 사용될 수 있다.

[0398] 1. PD-L1의 발현을 감소시킬 수 있고 10 내지 30개의 뉴클레오티드 길이의 인접한 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 올리고뉴클레오티드.

[0399] 2. 양태 1에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 PD-L1 표적 핵산에 90% 이상 상보적인, 올리고뉴클레오티드.

[0400] 3. 양태 1 또는 2에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 1, 서열번호 2 및/또는 서열번호 3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 표적 핵산에 상보적인, 올리고뉴클레오티드.

[0401] 4. 양태 1 내지 3 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 1의 위치 1 및 15720 내의 영역에 상보적인, 올리고뉴클레오티드.

[0402] 5. 양태 1 내지 4 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 -10 kcal 미만의 ΔG° 를 갖고, 서열번호 1, 서열번호 2 및/또는 서열번호 3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 표적 핵산으로 혼성화될 수 있는, 올리고뉴클레오티드.

[0403] 6. 양태 1 내지 5 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 표적 핵산의 하위-서열에 상보적이고, 하위-서열이 서열번호 1의 위치 371 내지 3068, 5467 내지 12107, 15317 내지 15720, 15317 내지 18083, 15317 내지 19511 및 18881 내지 19494로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0404] 7. 양태 6에 있어서, 하위-서열이 서열번호 1의 위치 7300 내지 7333, 8028 내지 8072, 9812 내지 9859,

11787 내지 11873 및 15690 내지 15735로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0405] 8. 양태 2 내지 7 중 어느 한 양태에 있어서, 표적 핵산이 RNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0406] 9. 양태 8에 있어서, RNA가 mRNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0407] 10. 양태 9에 있어서, mRNA가 미성숙 mRNA 또는 성숙 mRNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0408] 11. 양태 1 내지 10 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 14개 이상의 인접한 뉴클레오티드, 특히 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24개의 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0409] 12. 양태 1 내지 10 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 16 내지 20개의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0410] 13. 양태 1 내지 10 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 14 내지 35개의 뉴클레오티드(길이)를 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0411] 14. 양태 13에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 18 내지 22개의 뉴클레오티드(길이)를 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0412] 15. 양태 1 내지 14 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 뉴클레오티드 서열이 단일 가닥인, 올리고뉴클레오티드.

[0413] 16. 양태 1 내지 15 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 표적 핵산의 하위-서열에 상보적이고, 하위-서열이 A7, A26, A43, A119, A142, A159, A160, A163, A169, A178, A179, A180, A189, A201, A202, A204, A214, A221, A224, A226, A243, A254, A258, 269, A274, A350, A360, A364, A365, A370, A372, A381, A383, A386, A389, A400, A427, A435 및 A438로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0414] 17. 양태 16에 있어서, 하위-서열이 A221, A360, A180, A160 및 A269로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0415] 18. 양태 1 내지 17 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 siRNA가 아니고 자가-상보적이지 않은, 올리고뉴클레오티드.

[0416] 19. 양태 1 내지 18 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 5 내지 743 및 771로부터 선택되는 서열을 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0417] 20. 양태 1 내지 19 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 6, 8, 9, 13, 41, 42, 58, 77, 92, 111, 128, 151, 164, 166, 169, 171, 222, 233, 245, 246, 250, 251, 252, 256, 272, 273, 287, 292, 303, 314, 318, 320, 324, 336, 342, 343, 344, 345, 346, 349, 359, 360, 374, 408, 409, 415, 417, 424, 429, 430, 458, 464, 466, 474, 490, 493, 512, 519, 519, 529, 533, 534, 547, 566, 567, 578, 582, 601, 619, 620, 636, 637, 638, 640, 645, 650, 651, 652, 653, 658, 659, 660, 665, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 687, 694, 706, 716, 728, 733, 734 및 735로부터 선택되는 서열을 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0418] 21. 양태 1 내지 20 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 서열번호 466, 640, 342, 287 및 566으로부터 선택되는 서열을 포함하거나 이로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0419] 22. 양태 1 내지 21 중 어느 한 양태에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 상보적인 표적 핵산과 비교하여 0 내지 3개의 미스매치를 갖는, 올리고뉴클레오티드.

[0420] 23. 양태 22에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 표적 핵산과 비교되는 하나의 미스매치를 갖는, 올리고뉴클레오티드.

[0421] 24. 양태 22에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 표적 핵산과 비교되는 2개의 미스매치를 갖는, 올리고뉴클레오티드.

[0422] 25. 양태 22에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열이 표적 핵산 서열에 완전히 상보적인, 올리고뉴클레오티드.

[0423] 26. 양태 1 내지 25 중 어느 한 양태에 있어서, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0424] 27. 양태 26에 있어서, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드가 고-친화도 변형된 뉴클레오시드를 포함하는, 올리고뉴클레오티드.

[0425] 28. 양태 26 또는 27에 있어서, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드가 2' 당 변형된 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0426] 29. 양태 28에 있어서, 하나 이상의 2' 당 변형된 뉴클레오시드가 독립적으로 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA, 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-DNA, 2'-플루오로-ANA 및 LNA 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0427] 30. 양태 28에 있어서, 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드가 LNA 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0428] 31. 양태 30에 있어서, 변형된 LNA 뉴클레오시드가 옥시-LNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0429] 32. 양태 31에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 베타-D-옥시-LNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0430] 33. 양태 30에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 티오-LNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0431] 34. 양태 30에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 아미노-LNA인, 올리고뉴클레오티드.

[0432] 35. 양태 30에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 cET인, 올리고뉴클레오티드.

[0433] 36. 양태 30에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 ENA인, 올리고뉴클레오티드.

[0434] 37. 양태 30에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 베타-D-옥시-LNA, 알파-1-옥시-LNA, 베타-D-아미노-LNA, 알파-1-아미노-LNA, 베타-D-티오-LNA, 알파-1-티오-LNA, (S)cET, (R)cET 베타-D-ENA 및 알파-1-ENA로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0435] 38. 양태 30 내지 37 중 어느 한 양태에 있어서, 변형된 LNA 뉴클레오시드 이외에 하나 이상의 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드가 존재하는, 올리고뉴클레오티드.

[0436] 39. 양태 38에 있어서, 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드가 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA(MOE), 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-DNA, 2'-플루오로-ANA로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0437] 40. 양태 1 내지 39 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결기를 포함하는, 올리고뉴클레오티드.

[0438] 41. 양태 40에 있어서, 변형된 뉴클레오시드간 연결기가 뉴클레아제 내성인, 올리고뉴클레오티드.

[0439] 42. 양태 40 또는 41에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열 내의 뉴클레오시드간 연결기의 50% 이상이 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기 또는 보라노포스페이트 뉴클레오시드간 연결기인, 올리고뉴클레오티드.

[0440] 43. 양태 40 또는 41에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열 내의 모든 뉴클레오시드간 연결기가 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기인, 올리고뉴클레오티드.

[0441] 44. 양태 1 내지 43 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 RNase H를 모집할 수 있는, 올리고뉴클레오티드.

[0442] 45. 양태 44에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 갭머인, 올리고뉴클레오티드.

[0443] 46. 양태 44 또는 45에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 구조식 5'-F-G-F'-3'의 갭머이고, 이때 영역 F 및 F'가 독립적으로 1 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드를 포함하거나 이로 이루어지고, G가 RNase H를 모집할 수 있는 6 내지 16개의 뉴클레오시드의 영역인, 올리고뉴클레오티드.

[0444] 47. 양태 44 또는 45에 있어서, 갭머가 구조식 5'-D'-F-G-F'-3' 또는 5'-F-G-F'-D"-3'를 갖고, 이때 영역 F 및 F'가 독립적으로 1 내지 7개의 변형된 뉴클레오시드를 포함하고, G가 RNase H를 모집할 수 있는 6 내지 16개의 뉴클레오시드의 영역이고, 영역 D' 또는 D"가 1 내지 5개의 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드를 포함하는, 올리고뉴클레오티드.

[0445] 48. 양태 47에 있어서, D' 또는 D"가 임의적인, 올리고뉴클레오티드.

[0446] 49. 양태 47에 있어서, 영역 D'가 2개의 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드로 이루어진, 올리고뉴클레오티

드.

[0447] 50. 양태 49에 있어서, 포스포다이에스터 연결된 뉴클레오시드가 ca(시티딘-아데노신)인, 올리고뉴클레오티드.

[0448] 51. 양태 46 또는 47에 있어서, 변형된 뉴클레오시드가 독립적으로 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA, 2'-아미노-DNA, 2'-플루오로-DNA, 아라비노 핵산(ANA), 2'-플루오로-ANA 및 LNA 뉴클레오시드로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 2' 당 변형된 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0449] 52. 양태 46 내지 51 중 어느 한 양태에 있어서, 영역 F 및 F' 내의 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드가 LNA 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0450] 53. 양태 52에 있어서, 영역 F 및 F' 내의 모든 변형된 뉴클레오시드가 LNA 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0451] 54. 양태 53에 있어서, 영역 F 및 F'가 LNA 뉴클레오시드로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0452] 55. 양태 52 내지 54 중 어느 한 양태에 있어서, 영역 F 및 F' 내의 변형된 뉴클레오시드가 옥시-LNA 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0453] 56. 양태 52에 있어서, 하나 이상의 영역 F 또는 F'가 2'-O-알킬-RNA, 2'-O-메틸-RNA, 2'-알콕시-RNA, 2'-O-메톡시에틸-RNA, 2'-아미노-DNA 및 2'-플루오로-DNA로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 2' 치환된 변형된 뉴클레오시드를 추가로 포함하는, 올리고뉴클레오티드.

[0454] 57. 양태 46 내지 56 중 어느 한 양태에 있어서, 영역 G 내의 RNase H 모집 뉴클레오시드가 DNA, 알파-1-LNA, C4' 알킬화된 DNA, ANA, 2'F-ANA 및 UNA로부터 독립적으로 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0455] 58. 양태 57에 있어서, 영역 G 내의 뉴클레오시드가 DNA 및/또는 알파-1-LNA 뉴클레오시드인, 올리고뉴클레오티드.

[0456] 59. 양태 57 또는 58에 있어서, 영역 G가 75% 이상의 DNA 뉴클레오시드로 이루어진, 올리고뉴클레오티드.

[0457] 60. 양태 1 내지 59 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 화합물 번호 5_1 내지 743_1 및 771_1 (표 5) 중 어느 하나로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0458] 61. 양태 1 내지 60 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 화합물 번호 6_1, 8_1, 9_1, 13_1, 41_1, 42_1, 58_1, 77_1, 92_1, 111_1, 128_1, 151_1, 164_1, 166_1, 169_1, 171_1, 222_1, 233_1, 245_1, 246_1, 250_1, 251_1, 252_1, 256_1, 272_1, 273_1, 287_1, 292_1, 303_1, 314_1, 318_1, 320_1, 324_1, 336_1, 342_1, 343_1, 344_1, 345_1, 346_1, 349_1, 359_1, 360_1, 374_1, 408_1, 409_1, 415_1, 417_1, 424_1, 429_1, 430_1, 458_1, 464_1, 466_1, 474_1, 490_1, 493_1, 512_1, 519_1, 519_1, 529_1, 533_1, 534_1, 547_1, 566_1, 567_1, 578_1, 582_1, 601_1, 619_1, 620_1, 636_1, 637_1, 638_1, 640_1, 645_1, 650_1, 651_1, 652_1, 653_1, 658_1, 659_1, 660_1, 665_1, 678_1, 679_1, 680_1, 682_1, 683_1, 684_1, 687_1, 694_1, 706_1, 716_1, 728_1, 733_1, 734_1 및 735_1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0459] 62. 양태 1 내지 60 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드가 화합물 번호 287_1, 342_1, 466_1, 640_1, 566_1, 766_1, 767_1, 768_1, 769_1 및 770_1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드.

[0460] 63. 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드(영역 A); 및 상기 올리고뉴클레오티드에 공유 결합으로 부착되는 하나 이상의 접합체 모이어티(영역 C)를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0461] 64. 양태 63에 있어서, 접합체 모이어티가 탄수화물, 세포 표면 수용체 리간드, 약물 물질, 호르몬, 친유성 물질, 중합체, 단백질, 펩티드, 독소, 비타민, 바이러스성 단백질 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0462] 65. 양태 63 또는 64에 있어서, 접합체 모이어티가 탄수화물 함유 모이어티인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0463] 66. 양태 65에 있어서, 탄수화물 접합체 모이어티가 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드에 공유 결합으로 부착된 하나 이상의 아시알로당단백질 수용체 표적화 모이어티를 포함하는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0464] 67. 양태 66에 있어서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티가 갈락토스, 갈락토사민, N-폼일-갈

락토사민, N-아세틸갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일-갈락토사민 및 N-이소부타노일갈락토사민으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 탄수화물 모이어티를 포함하는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0465] 68. 양태 66 또는 67에 있어서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티가 1-가, 2-가, 3-가 또는 4-가인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0466] 69. 양태 68에 있어서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티가 2 내지 4개의 말단 GalNAc 모이어티, 각각의 GalNAc 모이어티를 분지 분자에 연결하는 PEG 스페이서로 이루어진, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0467] 70. 양태 66 내지 69 중 어느 한 양태에 있어서, 아시알로당단백질 수용체 표적화 접합체 모이어티가 3-가 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 모이어티인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0468] 71. 양태 1 내지 70 중 어느 한 양태에 있어서, 접합체 모이어티가 도 1의 하나의 3-가 GalNAc 모이어티로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0469] 72. 양태 71에 있어서, 접합체 모이어티가 도 3의 3-가 GalNAc 모이어티인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0470] 73. 양태 63 내지 72 중 어느 한 양태에 있어서, 연결기가 올리고뉴클레오티드 또는 인접한 올리고뉴클레오티드 서열과 접합체 모이어티 사이에 존재하는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0471] 74. 양태 73에 있어서, 연결기가 생리학적으로 불안정한 연결기(영역 B)인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0472] 75. 양태 74에 있어서, 생리학적으로 불안정한 연결기가 뉴클레아제 민감성 연결기인, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0473] 76. 양태 74 또는 75에 있어서, 생리학적으로 불안정한 연결기가 2 내지 5개의 연속적인 포스포다이에스터 연결기로 이루어진, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0474] 77. 양태 76에 있어서, 생리학적으로 불안정한 연결기가 양태 47 내지 50에 존재하는 영역 D' 또는 D"와 동등한, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0475] 78. 양태 63 내지 77 중 어느 한 양태에 있어서, 올리고뉴클레오티드 접합체가 화합물 번호 766_2, 767_2, 768_2, 769_2 및 770_2로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0476] 79. 양태 78에 있어서, 올리고뉴클레오티드 접합체가 도 4, 5, 6, 7 및 8에 표시된 올리고뉴클레오티드 접합체로부터 선택되는, 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0477] 80. 양태 63 내지 76 중 어느 한 양태에 있어서, 비접합된 올리고뉴클레오티드와 비교하여, 표적 세포 내의 PD-L1의 개선된 억제, 또는 간과 비장 사이의 개선된 세포 분포 또는 접합체 올리고뉴클레오티드의 간으로의 개선된 세포 흡수를 나타내는 올리고뉴클레오티드 접합체.

[0478] 81. 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드 또는 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 및/또는 항원보강제를 포함하는 약학 조성물.

[0479] 82. 뉴클레오티드 단위를 반응시켜 올리고뉴클레오티드 내에 포함된 공유 결합으로 연결된 인접한 뉴클레오티드 단위를 형성하는, 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드의 제조 방법.

[0480] 83. 양태 82에 있어서, 인접한 뉴클레오티드 서열을 비-뉴클레오티드 접합 모이어티와 반응시킴을 추가로 포함하는, 제조 방법.

[0481] 84. 올리고뉴클레오티드를 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 및/또는 항원보강제와 혼합함을 포함하는, 양태 81에 따른 약학 조성물의 제조 방법.

[0482] 85. PD-L1을 발현하는 표적 세포에서 PD-L1 발현을 조절하는 생체내 또는 시험관내 방법으로서, 효과량의 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물을 상기 세포에 투여함을 포함하는 방법.

[0483] 86. 치료 또는 예방 효과량의 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물을 질병을 앓고 있거나 질병에 걸리기 쉬운 대상에게 투여함을 포함하는, 질병의 치료 또는 예방 방법.

[0484] 87. 치료 또는 예방 효과량의 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80

중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물을 바이러스 또는 기생충에 감염된 대상에게 투여함을 포함하는, 바이러스 또는 기생충에 대한 면역성을 회복하는 방법.

[0485] 88. 양태 87에 있어서, 면역성의 회복이, 대조군과 비교될 때, 하나 이상의 HBV 항원에 특이적인 CD8+ T-세포의 간에서의 증가인, 방법.

[0486] 89. 대상에서 질병의 치료 또는 예방용 약제로서 사용하기 위한 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물.

[0487] 90. 대상에서 질병의 치료 또는 예방용 약제의 제조를 위한, 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드 또는 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 중 올리고뉴클레오티드의 용도.

[0488] 91. 바이러스 또는 기생충에 대한 면역성의 회복에 있어서, 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물의 용도.

[0489] 92. 양태 91에 있어서, 면역성의 회복이, 대조군과 비교될 때, 하나 이상의 HBV 항원에 특이적인 CD8+ T-세포의 간에서의 증가인, 용도.

[0490] 93. 양태 92에 있어서, HBV 항원이 HBsAg인, 용도.

[0491] 94. 양태 86 내지 93 중 어느 한 양태에 있어서, 질병이 PD-L1의 생체내 활성과 연관된, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0492] 95. 양태 86 내지 93 중 어느 한 양태에 있어서, 질병이 항원-제시 세포에서 PD-L1의 증가된 발현과 연관된, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0493] 96. 양태 95에 있어서, PD-L1이, 양태 1 내지 62 중 어느 한 양태에 따른 올리고뉴클레오티드, 양태 63 내지 80 중 어느 한 양태에 따른 접합체 또는 양태 81에 따른 약학 조성물에 의한 치료 부재 하의 또는 치료 전의 발현과 비교하여 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 95% 이상만큼 감소하는, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0494] 97. 양태 86 내지 95 중 어느 한 양태에 있어서, 질병이 바이러스성 간 감염 및 기생충 감염로부터 선택되는, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0495] 98. 양태 97에 있어서, 바이러스성 감염이 HBV, HCV 또는 HDV인, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0496] 99. 양태 86 내지 95 중 어느 한 양태에 있어서, 질병이 만성 HBV인, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0497] 100. 양태 98에 있어서, 기생충 감염이 말라리아, 톡소플라즈마증, 리슈마니아증 또는 트리파노소마증인, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0498] 101. 양태 86 내지 95 중 어느 한 양태에 있어서, 대상이 포유동물인, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0499] 102. 양태 101애 있어서, 포유동물이 인간인, 방법, 올리고뉴클레오티드 또는 용도.

[0500] **실시예**

[0501] **재료 및 방법**

[0502] ***모티프 서열 및 올리고뉴클레오티드 화합물***

[0503] [표 5]

[0504] 인간 PD-L1 전사체(서열번호 1)를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드 모티프 서열(서열번호로 표시됨), 이들의 디자인, 및 모티프 서열을 기준으로 디자인된 특이적 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물(화합물 번호로 표시됨)의 목록.

[0505]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
5	taattggctctactgc	2-11-3	TAattggctctacTGC	5_1	236	-20
6	tcgcataagaatgact	4-10-2	TCGCataagaatgaCT	6_1	371	-19
7	tgaacacacagtcgca	2-12-2	TGaacacacagtcgCA	7_1	382	-19
8	ctgaacacacagtcgc	3-10-3	CTGaacacacagtCGC	8_1	383	-22
9	tctgaacacacagtcg	3-11-2	TCTgaacacacagtCG	9_1	384	-19
10	ttctgaacacacagtc	3-11-2	TTCtgaacacacagTC	10_1	385	-17
11	acaagtcatgttacta	2-11-3	ACaagtcatgttaCTA	11_1	463	-16
12	acacaagtcatgttac	2-12-2	ACacaagtcatgttAC	12_1	465	-14
13	cttacttagatgctgc	2-11-3	CTtacttagatgcTGC	13_1	495	-20
14	acttacttagatgctg	2-11-3	ACttacttagatgCTG	14_1	496	-18
15	gacttacttagatgct	3-11-2	GACttacttagatgCT	15_1	497	-19
16	agacttacttagatgc	2-11-3	AGacttacttagaTGC	16_1	498	-18
17	gcaggaagagacttac	3-10-3	GCAggaagagactTAC	17_1	506	-20
18	aataaattccgttcagg	4-9-4	AATAaattccgttCAGG	18_1	541	-22
19	gcaaataaattccgtt	3-10-3	GCAaataaattccGTT	19_2	545	-18
19	gcaaataaattccgtt	4-8-4	GCAAataaattcCGTT	19_1	545	-20
20	agcaaataaattccgt	4-9-3	AGCAaataaattcCGT	20_1	546	-20
21	cagagcaaataaattcc	4-10-3	CAGAgcaaataaatTCC	21_1	548	-21
22	tggacagagcaaataaat	4-11-3	TGGAcagagcaaataAAT	22_1	551	-19
23	atggacagagcaaata	4-8-4	ATGGacagagcaAATA	23_1	554	-20
24	cagaatggacagagca	2-11-3	CAgaatggacagaGCA	24_1	558	-21
25	ttctcagaatggacag	3-11-2	TTCtcagaatggacAG	25_1	562	-17
26	ctgaactttgacatag	4-8-4	CTGAactttgacATAG	26_1	663	-20
27	aagacaaacccagactga	2-13-3	AAgacaaacccagacTGA	27_1	675	-21
28	tataagacaaacccagac	4-10-4	TATAagacaaacccAGAC	28_1	678	-22
29	ttataagacaaacccaga	4-10-4	TTATaagacaaacccAGA	29_1	679	-23
30	tgttataagacaaaccc	4-10-3	TGTTataagacaaaCCC	30_1	682	-22
31	tagaacaatggtacttt	4-9-4	TAGAacaatggtaCTTT	31_1	708	-20
32	gtagaacaatggtact	4-10-2	GTAGaacaatggtaCT	32_1	710	-19
33	aggtagaacaatggta	3-10-3	AGGtagaacaatgGTA	33_1	712	-19
34	aagaggtagaacaatgg	4-9-4	AAGAggtagaacaATGG	34_1	714	-21
35	gcatccacagtaaatt	2-12-2	GCatccacagtaaaTT	35_1	749	-17
36	gaaggttatttaattc	2-11-3	GAaggttatttaaTTC	36_1	773	-13
37	ctaatcgaatgcagca	4-9-3	CTAAtcgaatgcaGCA	37_1	805	-22
38	tacccaatctaatcga	3-10-3	TACccaatctaatCGA	38_1	813	-20
39	tagttacccaatctaa	3-10-3	TAGttacccaatcTAA	39_1	817	-19
40	catttagttacccaat	3-10-3	CATttagttacccAAT	40_1	821	-18

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
41	tcatttagttacccaa	3-10-3	TCAtttagttaccCAA	41_1	822	-19
42	ttcatttagttaccca	2-10-4	TTcatttagttaCCCA	42_1	823	-22
43	gaattaatttcatttagt	4-10-4	GAATtaatttcattTAGT	43_1	829	-19
44	cagtgaggaattaattt	4-9-4	CAGTgaggaattaATTT	44_1	837	-20
45	ccaacagtgaggaatt	4-8-4	CCAAcagtgaggAATT	45_1	842	-21
46	cccaacagtgaggaat	3-10-3	CCCaacagtgaggAAT	46_1	843	-22
47	tatacccaacagtgagg	2-12-3	TAtacccaacagtgAGG	47_1	846	-21
48	ttatacccaacagtgag	2-11-4	TTatacccaacagTGAG	48_1	847	-21
49	tttatacccaacagtga	3-11-3	TTTatacccaacagTGA	49_1	848	-21
50	cctttatacccaacag	3-10-3	CCTttatacccaaCAG	50_1	851	-23
51	taacctttatacccaa	4-8-4	TAACctttatacCCAA	51_1	854	-22
52	aataacctttataccca	3-10-4	AATaacctttataCCCA	52_1	855	-23
53	gtaaataacctttata	3-11-2	GTAaataacctttaTA	53_1	859	-14
54	actgtaaataacctttat	4-10-4	ACTGtaaataacctTTAT	54_1	860	-20
55	atatatatgcaatgag	3-11-2	ATAtatatgcaatgAG	55_1	903	-14
56	agatatatatgcaatg	2-12-2	AGatatatatgcaaTG	56_1	905	-12
57	gagatatatatgcaat	3-10-3	GAGatatatatgcAAT	57_1	906	-15
58	ccagagatatatatgc	2-11-3	CCagagatatataTGC	58_1	909	-19
59	caatattccagagatat	4-9-4	CAATattccagagATAT	59_1	915	-20
60	gcaatattccagagata	4-10-3	GCAAtattccagagATA	60_1	916	-22
61	agcaatattccagagat	3-11-3	AGCaatattccagaGAT	61_1	917	-22
62	cagcaatattccagag	3-9-4	CAGcaatattccAGAG	62_1	919	-22
63	aatcagcaatattccag	4-9-4	AATCagcaatattCCAG	63_1	921	-23
64	acaatcagcaatattcc	4-9-4	ACAAtcagcaataTTCC	64_1	923	-21
65	actaagtagttacacttct	2-14-3	ACtaagtagttacactTCT	65_1	957	-20
66	ctaagtagttacacttc	4-11-2	CTAAgtagttacactTC	66_1	958	-18
67	gactaagtagttacactt	3-12-3	GACtaagtagttacaCTT	67_1	959	-20
68	tgactaagtagttaca	3-9-4	TGActaagtagtTACA	68_1	962	-19
69	ctttgactaagtagtta	4-10-3	CTTTgactaagtagTTA	69_1	964	-19
70	ctctttgactaagtag	3-10-3	CTCtttgactaagTAG	70_1	967	-19
71	gctctttgactaagta	4-10-2	GCTCtttgactaagTA	71_1	968	-21
72	ccttaaatactgttgac	2-11-4	CCttaaatactgtTGAC	72_1	1060	-20
73	cttaaatactgttgac	2-12-2	CTtaaatactgttgAC	73_1	1060	-13
74	tccttaaatactgttg	3-10-3	TCCttaaatactgTTG	74_1	1062	-18
75	tctccttaaatactgtt	4-11-2	TCTCcttaaatactgTT	75_1	1063	-19
76	tatcatagttctcctt	2-10-4	TAtcatagttctCCTT	76_1	1073	-21
77	agtatcatagttctcc	3-10-3	AGTatcatagttcTCC	77_1	1075	-22
78	gagtatcatagttctc	2-11-3	GAgtatcatagttCTC	78_1	1076	-18
79	agagtatcatagttct	2-10-4	AGagtatcatagTTCT	79_1	1077	-18
79	agagtatcatagttct	3-10-3	AGAgtatcatagtTCT	79_2	1077	-19

[0506]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
80	cagagtatcatagttc	3-10-3	CAGagtatcatagTTC	80_1	1078	-18
81	ttcagagtatcatagt	4-10-2	TTCAgagtatcataGT	81_1	1080	-18
82	cttcagagtatcatag	3-9-4	CTTcagagtatcATAG	82_1	1081	-19
83	ttcttcagagtatcata	4-11-2	TTCTtcagagtatcaTA	83_1	1082	-19
84	tttcttcagagtatcat	3-10-4	TTTcttcagagtaTCAT	84_1	1083	-20
85	gagaaaggctaagttt	4-9-3	GAGAaaggctaagTTT	85_1	1099	-19
86	gacactcttgtacatt	2-10-4	GAcactcttgtaCATT	86_1	1213	-19
87	tgagacactcttgtaca	2-13-2	TGagacactcttgtaCA	87_1	1215	-18
88	tgagacactcttgtac	2-11-3	TGagacactcttgTAC	88_1	1216	-18
89	ctttattaaactccat	2-10-4	CTttattaaactCCAT	89_1	1266	-18
90	accaaactttattaaa	4-10-2	ACCAaactttattaAA	90_1	1272	-14
91	aaacctctactaagtg	4-10-2	AAACctctactaagTG	91_1	1288	-16
92	agattaagacagttga	2-11-3	AGattaagacagtTGA	92_1	1310	-16
93	aagtaggagcaagaggc	2-12-3	AAgtaggagcaagaGGC	93_1	1475	-22
94	aaagtaggagcaagagg	4-10-3	AAAGtaggagcaagAGG	94_1	1476	-20
95	gttaagcagccaggag	2-12-2	GTtaagcagccaggAG	95_1	1806	-20
96	agggtaggatgggtag	2-12-2	AGggtaggatgggtAG	96_1	1842	-20
97	aagggtaggatgggta	3-11-2	AAGggtaggatgggTA	97_1	1843	-20
98	caagggtaggatgggt	2-12-2	CAagggtaggatggGT	98_2	1844	-20
98	caagggtaggatgggt	3-11-2	CAAgggtaggatggGT	98_1	1844	-21
99	ccaagggtaggatggg	2-12-2	CCaagggtaggatgGG	99_1	1845	-22
100	tccaagggtaggatgg	2-12-2	TCcaagggtaggatGG	100_1	1846	-20
101	cttccaagggtaggat	4-10-2	CTTCcaagggtaggAT	101_1	1848	-21
102	atcttccaagggtagga	3-12-2	ATCttccaagggtagGA	102_1	1849	-22
103	agaagtgatggctcatt	2-11-4	AGaagtgatggctCATT	103_1	1936	-21
104	aagaagtgatggctcat	3-10-4	AAGaagtgatggcTCAT	104_1	1937	-21
105	gaagaagtgatggctca	3-11-3	GAAgaagtgatggcTCA	105_1	1938	-21
106	atgaaatgtaaactggg	4-9-4	ATGAaatgtaaacTGGG	106_1	1955	-21
107	caatgaaatgtaaactgg	4-10-4	CAATgaaatgtaaaCTGG	107_1	1956	-20
108	gcaatgaaatgtaaactg	4-10-4	GCAAtgaaatgtaaACTG	108_1	1957	-20
109	agcaatgaaatgtaaact	4-10-4	AGCAatgaaatgtaAACT	109_1	1958	-20
110	gagcaatgaaatgtaaac	4-10-4	GAGCaatgaaatgtAAAC	110_1	1959	-19
111	tgaattcccatatccga	2-12-3	TGaattcccatatcCGA	111_1	1992	-22
112	agaattatgaccatat	2-11-3	AGaattatgaccaTAT	112_1	2010	-15
113	aggtaagaattatgacc	3-10-4	AGGtaagaattatGACC	113_1	2014	-21
114	tcaggtaagaattatgac	4-10-4	TCAGgtaagaattaTGAC	114_1	2015	-22
115	cttcaggtaagaattatg	4-10-4	CTTCaggtaagaatTATG	115_1	2017	-21
116	tcttcaggtaagaatta	4-9-4	TCTTcaggtaagaATTA	116_1	2019	-20
117	cttcttcaggtaagaat	4-9-4	CTTCttcaggtaaGAAT	117_1	2021	-21
118	tcttcttcaggtaagaa	4-10-3	TCTTcttcaggtaaGAA	118_1	2022	-20

[0507]

[0508]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
119	tcttcttcaggtaaga	3-10-3	TCTtcttcaggtaAGA	119_1	2023	-20
120	tggtctaagagaagaag	3-10-4	TGGtctaagagaaGAAG	120_1	2046	-20
121	gttggtctaagagaag	4-9-3	GTTGgtctaagagAAG	121_1	2049	-19
123	cagttggtctaagagaa	2-11-4	CAgttggtctaagAGAA	123_1	2050	-20
124	gcagttggtctaagagaa	3-13-2	GCAgttggtctaagagAA	124_1	2050	-22
122	agttggtctaagagaa	3-9-4	AGTtggtctaagAGAA	122_1	2050	-20
126	gcagttggtctaagaga	2-13-2	GCagttggtctaagaGA	126_1	2051	-21
125	cagttggtctaagaga	4-10-2	CAGTtggtctaagaGA	125_1	2051	-21
127	gcagttggtctaagag	2-11-3	GCagttggtctaaGAG	127_1	2052	-21
128	ctcatatcagggcagt	2-10-4	CTcatatcagggCAGT	128_1	2063	-24
129	cacacatgttctttaac	4-11-2	CACAcatgttctttaAC	129_1	2087	-18
130	taaatacacacatgttct	3-11-4	TAAatacacacatgTTCT	130_1	2092	-19
131	gtaaatacacacatgttc	4-11-3	GTAAatacacacatgTTC	131_1	2093	-19
132	tgtaaatacacacatgtt	4-10-4	TGTAaatacacacaTGTT	132_1	2094	-22
133	gatcatgtaaatacacac	4-10-4	GATCatgtaaatacACAC	133_1	2099	-20
134	agatcatgtaaatacaca	4-10-4	AGATcatgtaaataCACA	134_1	2100	-21
135	caaagatcatgtaaatacac	4-12-4	CAAAgatcatgtaaatACAC	135_1	2101	-19
136	acaaagatcatgtaaatac a	4-12-4	ACAAagatcatgtaaaTACA	136_1	2102	-20
137	gaatacaaagatcatgta	4-10-4	GAATacaaagatcaTGTA	137_1	2108	-20
138	agaatacaaagatcatgt	4-10-4	AGAAtacaaagatcATGT	138_1	2109	-20
139	cagaatacaaagatcatg	4-10-4	CAGAatacaaagatCATG	139_1	2110	-21
140	gcagaatacaaagatca	4-9-4	GCAGaatacaaagATCA	140_1	2112	-22
141	aggcagaatacaaagat	4-11-2	AGGCagaatacaaagAT	141_1	2114	-19
142	aaggcagaatacaaaga	4-10-3	AAGGcagaatacaaAGA	142_1	2115	-19
143	attagtgagggacgaa	3-10-3	ATTagtgagggacGAA	143_1	2132	-18
144	cattagtgagggacga	2-11-3	CAttagtgagggaCGA	144_1	2133	-20
145	gagggtgatggattag	2-11-3	GAgggtgatggatTAG	145_1	2218	-19
146	ttaggagtaataaagg	2-10-4	TTaggagtaataAAGG	146_1	2241	-14
147	ttaatgaatttggttg	3-11-2	TTAatgaatttggtTG	147_1	2263	-13
148	ctttaatgaatttggt	2-12-2	CTttaatgaatttgGT	148_1	2265	-14
149	catggattacaactaa	4-10-2	CATGgattacaactAA	149_1	2322	-16
150	tcatggattacaacta	2-11-3	TCatggattacaaCTA	150_1	2323	-16
151	gtcatggattacaact	3-11-2	GTCatggattacaaCT	151_1	2324	-18
152	cattaaatctagtcat	2-10-4	CAttaaatctagTCAT	152_1	2335	-16
153	gacattaaatctagtca	4-10-3	GACAttaaatctagTCA	153_1	2336	-19
154	agggacattaaatcta	4-10-2	AGGGacattaaatcTA	154_1	2340	-18
155	caaagcattataacca	4-9-3	CAAAgcattataaCCA	155_1	2372	-18
156	acttactaggcagaag	2-10-4	ACttactaggcaGAAG	156_1	2415	-19

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
157	cagagttaactgtaca	4-10-2	CAGAgttaactgtaCA	157_1	2545	-20
158	ccagagttaactgtac	4-10-2	CCAGagttaactgtAC	158_1	2546	-20
159	gccagagttaactgta	2-12-2	GCcagagttaactgTA	159_1	2547	-20
160	tgggccagagttaact	2-12-2	TGggccagagttaaCT	160_1	2550	-21
161	cagcatctatcagact	2-12-2	CAgcatctatcagaCT	161_1	2576	-19
162	tgaaataacatgagtcat	3-11-4	TGAaataacatgagTCAT	162_1	2711	-19
163	gtgaaataacatgagtc	3-10-4	GTGaaataacatgAGTC	163_1	2713	-19
164	tctgtttatgtcactg	4-10-2	TCTGtttatgtcacTG	164_1	2781	-20
165	gtctgtttatgtcact	4-10-2	GTCTgtttatgtcaCT	165_1	2782	-22
166	tggtctgtttatgtca	2-10-4	TGgtctgtttatGTCA	166_1	2784	-21
167	ttggtctgtttatgtc	4-10-2	TTGGtctgtttatgTC	167_1	2785	-20
168	tcacccattgtttaaa	2-12-2	TCacccattgtttaAA	168_1	2842	-15
169	ttcagcaaatattcgt	2-10-4	TTcagcaaatatTCGT	169_1	2995	-17
170	gtgtgttcagcaaatat	3-10-4	GTGtgttcagcaaATAT	170_1	2999	-21
171	tctattgttaggtatc	3-10-3	TCTattgttaggtATC	171_1	3053	-18
172	attgcccatcttactg	2-12-2	ATtgcccatcttacTG	172_1	3118	-19
173	tattgcccatcttact	3-11-2	TATtgcccatcttaCT	173_1	3119	-21
174	aaatattgcccatctt	2-11-3	AAatattgcccatCTT	174_1	3122	-17
175	ataaccttatcataca	3-11-2	ATAaccttatcataCA	175_1	3174	-16
176	tataaccttatcatac	2-11-3	TAtaaccttatcaTAC	176_1	3175	-14
177	ttataaccttatcata	3-11-2	TTAtaaccttatcaTA	177_1	3176	-14
178	tttataaccttatcat	3-10-3	TTTataaccttatCAT	178_1	3177	-16
179	actgctattgctatct	2-11-3	ACtgctattgctaTCT	179_1	3375	-19
180	aggactgctattgcta	2-11-3	AGgactgctattgCTA	180_1	3378	-21
181	gaggactgctattgct	3-11-2	GAGgactgctattgCT	181_1	3379	-22
182	acgtagaataataaca	2-12-2	ACgtagaataataaCA	182_1	3561	-11
183	ccaagtgatataatgg	2-10-4	CCaagtgatataATGG	183_1	3613	-19
184	ttagcagaccaagtga	2-10-4	TTagcagaccaaGTGA	184_1	3621	-21
185	gtttagcagaccaagt	2-12-2	GTttagcagaccaaGT	185_1	3623	-19
186	tgacagtgattatatt	2-12-2	TGacagtgattataTT	186_1	3856	-13
187	tgtccaagatattgac	4-10-2	TGTCcaagatattgAC	187_1	3868	-18
188	gaatatcctagattgt	3-10-3	GAAtatcctagatTGT	188_1	4066	-18
189	caaactgagaatatcc	2-11-3	CAaactgagaataTCC	189_1	4074	-16
190	gcaaactgagaatatc	3-11-2	GCAaactgagaataTC	190_1	4075	-16
191	tcctattacaatcgta	3-11-2	TCCtattacaatcgTA	191_1	4214	-19
192	ttcctattacaatcgt	4-10-2	TTCCtattacaatcGT	192_1	4215	-19
193	actaatgggaggattt	2-12-2	ACtaatgggaggatTT	193_1	4256	-15
194	tagttcagagaataag	2-12-2	TAgttcagagaataAG	194_1	4429	-13
195	taacatatagttcaga	2-11-3	TAacatatagttcAGA	195_1	4436	-15
196	ataacatatagttcag	3-11-2	ATAacatatagttcAG	196_1	4437	-14

[0509]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
197	cataacatatagttca	2-12-2	CAtaacatatagttCA	197_1	4438	-13
198	tcataacatatagttc	2-12-2	TCataacatatagtTC	198_1	4439	-12
199	tagctcctaacaatca	4-10-2	TAGCtcctaacaatCA	199_1	4507	-22
200	ctccaatctttgtata	4-10-2	CTCCaatctttgtaTA	200_1	4602	-20
201	tctccaatctttgtat	4-10-2	TCTCcaatctttgtAT	201_1	4603	-19
202	tctatttcagccaatc	2-12-2	TCtatttcagccaaTC	202_1	4708	-17
203	cggaagtcagagtgaa	3-10-3	CGGaagtcagagtGAA	203_1	4782	-19
204	ttaagcatgaggaata	4-10-2	TTAAgcatgaggaaTA	204_1	4798	-16
205	tgattgagcacctctt	3-10-3	TGAttgagcacctCTT	205_1	4831	-22
206	gactaattatttcgtt	3-11-2	GACtaattatttcgTT	206_1	4857	-15
207	tgactaattatttcgt	3-10-3	TGActaattatttCGT	207_1	4858	-17
208	gtgactaattatttcg	3-10-3	GTGactaattattTCG	208_1	4859	-17
209	ctgcttgaaatgtgac	4-10-2	CTGCttgaaatgtgAC	209_1	4870	-20
210	cctgcttgaaatgtga	2-11-3	CCtgcttgaaatgTGA	210_1	4871	-21
211	atcctgcttgaaatgt	2-10-4	ATcctgcttgaaATGT	211_1	4873	-20
212	attataaatctattct	3-10-3	ATTataaatctatTCT	212_1	5027	-13
213	gctaaatactttcatc	2-11-3	GCtaaatactttcATC	213_1	5151	-16
214	cattgtaacataccta	2-10-4	CAttgtaacataCCTA	214_1	5251	-19
215	gcattgtaacatacct	2-12-2	GCattgtaacatacCT	215_1	5252	-18
216	taatattgcaccaaat	2-12-2	TAatattgcaccaaAT	216_1	5295	-13
217	gataatattgcaccaa	2-11-3	GAtaatattgcacCAA	217_1	5297	-16
218	agataatattgcacca	2-12-2	AGataatattgcacCA	218_1	5298	-16
219	gccaagaagataatat	2-10-4	GCcaagaagataATAT	219_1	5305	-17
220	cacagccacataaact	4-10-2	CACAgccacataaaCT	220_1	5406	-21
221	ttgtaattgtggaaac	2-12-2	TTgtaattgtggaaAC	221_1	5463	-12
222	tgacttgtaattgtgg	2-11-3	TGacttgtaattgTGG	222_1	5467	-18
223	tctaactgaaatagtc	2-12-2	TCtaactgaaatagTC	223_1	5503	-13
224	gtggttctaactgaaa	3-11-2	GTGgttctaactgaAA	224_1	5508	-16
225	caatatgggacttggt	2-12-2	CAatatgggacttgGT	225_1	5522	-18
226	atgacaatatgggact	3-11-2	ATGacaatatgggaCT	226_1	5526	-17
227	tatgacaatatgggac	4-10-2	TATGacaatatgggAC	227_1	5527	-17
228	atatgacaatatggga	4-10-2	ATATgacaatatggGA	228_1	5528	-17
229	cttcacttaataatta	2-11-3	CTtcacttaataaTTA	229_1	5552	-13
230	ctgcttcacttaataa	4-10-2	CTGCttcacttaatAA	230_1	5555	-18
231	aagactgcttcactta	2-11-3	AAgactgcttcacTTA	231_1	5559	-17
232	gaatgccctaattatg	4-10-2	GAATgccctaattaTG	232_1	5589	-19
233	tggaatgccctaatta	3-11-2	TGGaatgccctaatTA	233_1	5591	-19
234	gcaaatgccagtaggt	3-11-2	GCAaatgccagtagGT	234_1	5642	-23
235	ctaatggaaggatttg	3-11-2	CTAatggaaggattTG	235_1	5673	-15
236	aatatagaacctaatg	2-12-2	AAtatagaacctaaTG	236_1	5683	-10

[0510]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
237	gaaagaatagaatgtt	3-10-3	GAAagaatagaatGTT	237_1	5769	-12
238	atgggtaatagattat	3-11-2	ATGggtaatagattAT	238_1	5893	-15
239	gaaagagcacagggtg	2-12-2	GAaagagcacagggTG	239_1	6103	-18
240	ctacatagagggaatg	4-10-2	CTACatagagggaaTG	240_1	6202	-18
241	gcttcctacatagagg	2-10-4	GCttcctacataGAGG	241_1	6207	-24
242	tgcttcctacatagag	4-10-2	TGCTtcctacatagAG	242_1	6208	-22
243	tgggcttgaaatatgt	2-11-3	TGggcttgaaataTGT	243_1	6417	-19
244	cattatatttaagaac	3-11-2	CATtatatttaagaAC	244_1	6457	-11
245	tcggttatgttatcat	2-10-4	TCggttatgttaTCAT	245_1	6470	-19
246	cactttatctggtcgg	2-10-4	CActttatctggTCGG	246_1	6482	-22
247	aaattggcacagcgtt	3-10-3	AAAttggcacagcGTT	247_1	6505	-18
248	accgtgacagtaaatg	4-9-3	ACCGtgacagtaaATG	248_1	6577	-20
249	tgggaaccgtgacagta	2-13-2	TGggaaccgtgacagTA	249_1	6581	-22
250	ccacatataggtcctt	2-11-3	CCacatataggtcCTT	250_1	6597	-21
251	catattgctaccatac	2-11-3	CAtattgctaccaTAC	251_1	6617	-18
252	tcatattgctaccata	3-10-3	TCAtattgctaccATA	252_1	6618	-19
253	caattgtcatattgct	4-8-4	CAATtgtcatatTGCT	253_1	6624	-21
254	cattcaattgtcatattg	3-12-3	CATtcaattgtcataTTG	254_1	6626	-18
255	tttctactgggaatttg	4-9-4	TTTCtactgggaaTTTG	255_1	6644	-20
256	caattagtgcagccag	3-10-3	CAAttagtgcagcCAG	256_1	6672	-21
257	gaataatgttcttatcc	4-10-3	GAATaatgttcttaTCC	257_1	6704	-20
258	cacaaattgaataatgttct	4-13-3	CACAaattgaataatgtTCT	258_1	6709	-20
259	catgcacaaattgaataat	4-11-4	CATGcacaaattgaaTAAT	259_1	6714	-20
260	atcctgcaatttcacat	3-11-3	ATCctgcaatttcaCAT	260_1	6832	-22
261	ccaccatagctgatca	2-12-2	CCaccatagctgatCA	261_1	6868	-22
262	accaccatagctgatca	2-12-3	ACcaccatagctgaTCA	262_1	6868	-23
263	caccaccatagctgatc	2-13-2	CAccaccatagctgaTC	263_1	6869	-21
264	tagtcggcaccaccat	2-12-2	TAgtcggcaccaccAT	264_1	6877	-22
265	cttgtagtcggcaccac	1-14-2	CttgtagtcggcaccAC	265_1	6880	-21
266	cttgtagtcggcacca	1-13-2	CttgtagtcggcacCA	266_1	6881	-21
267	cgcttgtagtcggcac	2-12-2	CGcttgtagtcggcAC	267_1	6883	-21
268	tcaataaagatcaggc	3-11-2	TCAataaagatcagGC	268_1	6942	-17
269	tggacttacaagaatg	2-12-2	TGgacttacaagaaTG	269_1	6986	-14
270	atggacttacaagaat	3-11-2	ATGgacttacaagaAT	270_1	6987	-15
271	gctcaagaaattggat	4-10-2	GCTCaagaaattggAT	271_1	7073	-19
272	tactgtagaacatggc	4-10-2	TACTgtagaacatgGC	272_1	7133	-21
273	gcaattcatttgatct	4-9-3	GCAAttcatttgaTCT	273_1	7239	-20
274	tgaagggaggagggacac	2-14-2	TGaagggaggagggacAC	274_1	7259	-20
275	agtggtgaagggaggag	2-13-2	AGtggtgaagggaggAG	275_1	7265	-21

[0511]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
276	tagtggtgaagggaggag	2-14-2	TAgtggtgaagggaggAG	276_1	7265	-21
277	atagtggtgaagggaggag	1-16-2	AtagtggtgaagggaggAG	277_1	7265	-20
278	tagtggtgaagggagga	2-13-2	TAgtggtgaagggagGA	278_1	7266	-21
279	atagtggtgaagggagga	2-14-2	ATagtggtgaagggagGA	279_1	7266	-21
280	tagtggtgaagggagg	3-11-2	TAGtggtgaagggaGG	280_1	7267	-21
281	atagtggtgaagggagg	3-12-2	ATAgtggtgaagggaGG	281_1	7267	-22
282	gatagtggtgaagggagg	2-14-2	GAtagtggtgaagggaGG	282_1	7267	-21
283	atagtggtgaagggag	4-10-2	ATAGtggtgaagggAG	283_1	7268	-20
284	gatagtggtgaagggag	2-12-3	GAtagtggtgaaggGAG	284_1	7268	-21
285	gagatagtggtgaagg	2-10-4	GAgatagtggtgAAGG	285_1	7271	-20
286	catgggagatagtggt	4-10-2	CATGggagatagtgGT	286_1	7276	-22
287	acaaataatggttactct	4-10-4	ACAAataatggttaCTCT	287_1	7302	-20
288	acacacaaataatggtta	4-10-4	ACACacaaataatgGTTA	288_1	7306	-20
289	gagggacacacaaataat	3-11-4	GAGggacacacaaaTAAT	289_1	7311	-21
290	atatagagaggctcaa	4-8-4	ATATagagaggcTCAA	290_1	7390	-21
291	ttgatatagagaggct	2-10-4	TTgatatagagaGGCT	291_1	7393	-20
292	gcatttgatatagaga	4-9-3	GCATttgatatagAGA	292_1	7397	-20
293	tttgcatttgatatag	2-11-3	TTtgcatttgataTAG	293_1	7400	-15
294	ctggaagaataggttc	3-11-2	CTGgaagaataggtTC	294_1	7512	-17
295	actggaagaataggtt	4-10-2	ACTGgaagaataggTT	295_1	7513	-18
296	tactggaagaataggt	4-10-2	TACTggaagaatagGT	296_1	7514	-18
297	tggcttatcctgtact	4-10-2	TGGCttatcctgtaCT	297_1	7526	-25
298	atggcttatcctgtac	2-10-4	ATggcttatcctGTAC	298_1	7527	-22
299	tatggcttatcctgta	4-10-2	TATGgcttatcctgTA	299_1	7528	-22
300	gtatggcttatcctgt	3-10-3	GTAtggcttatccTGT	300_1	7529	-23
301	atgaatatatgcccagt	2-11-4	ATgaatatatgccCAGT	301_1	7547	-22
302	gatgaatatatgccca	2-10-4	GAtgaatatatgCCCA	302_1	7549	-22
303	caagatgaatatatgcc	3-10-4	CAAgatgaatataTGCC	303_1	7551	-21
304	gacaacatcagtataga	4-9-4	GACAacatcagtaTAGA	304_1	7572	-22
305	caagacaacatcagta	4-8-4	CAAGacaacatcAGTA	305_1	7576	-20
306	cactcctagttccttt	3-10-3	CACtcctagttccTTT	306_1	7601	-22
307	aacactcctagttcct	3-10-3	AACactcctagttCCT	307_1	7603	-22
308	taacactcctagttcc	2-11-3	TAacactcctagtTCC	308_1	7604	-20
309	ctaacactcctagttc	2-12-2	CTaacactcctagtTC	309_1	7605	-18
310	tgataacataactgtg	2-12-2	TGataacataactgTG	310_1	7637	-13
311	ctgataacataactgt	2-10-4	CTgataacataaCTGT	311_1	7638	-18
312	tttgaactcaagtgac	4-10-2	TTTGaactcaagtgAC	312_1	7654	-16
313	tcctttacttagctag	4-9-3	TCCTttacttagcTAG	313_1	7684	-23
314	gagtttggattagctg	2-11-3	GAgtttggattagCTG	314_1	7764	-20
315	tgggatatgacaggga	2-11-3	TGggatatgacagGGA	315_1	7838	-21

[0512]

[0513]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
316	tgtgggatatgacagg	4-10-2	TGTGggatatgacaGG	316_1	7840	-22
317	atatggaagggatatc	4-10-2	ATATggaagggataTC	317_1	7875	-17
318	acaggatatggaaggg	3-10-3	ACAggatatggaaGGG	318_1	7880	-21
319	atttcaacaggatatgg	4-9-4	ATTTcaacaggatATGG	319_1	7885	-20
320	gagtaatttcaacagg	2-11-3	GAgtaatttcaacAGG	320_1	7891	-17
321	agggagtaatttcaaca	4-9-4	AGGGagtaatttcAACA	321_1	7893	-22
322	attagggagtaatttca	4-9-4	ATTAgggagtaatTTCA	322_1	7896	-21
323	cttactattagggagt	2-10-4	CTtactattaggGAGT	323_1	7903	-20
324	cagcttactattaggg	2-11-3	CAgcttactattaGGG	324_1	7906	-20
326	atttcagcttactattag	3-11-4	ATTtcagcttactaTTAG	326_1	7908	-20
325	tcagcttactattagg	3-10-3	TCAgcttactattAGG	325_1	7907	-20
327	ttcagcttactattag	2-10-4	TTcagcttactaTTAG	327_1	7908	-17
328	cagatttcagcttact	4-10-2	CAGAtttcagcttaCT	328_1	7913	-21
329	gactacaactagaggg	3-11-2	GACtacaactagagGG	329_1	7930	-19
330	agactacaactagagg	4-10-2	AGACtacaactagaGG	330_1	7931	-19
331	aagactacaactagag	2-12-2	AAgactacaactagAG	331_1	7932	-13
332	atgatttaattctagtcaaa	4-12-4	ATGAtttaattctagtCAAA	332_1	7982	-20
333	tttaattctagtcaaa	3-10-3	TTTaattctagtcAAA	333_1	7982	-12
334	gatttaattctagtca	4-8-4	GATTtaattctaGTCA	334_1	7984	-20
771	tgatttaattctagtca	3-10-4	TGAtttaattctaGTCA	771_1	7984	-20
335	atgatttaattctagtca	4-11-3	ATGAtttaattctagTCA	335_1	7984	-20
336	gatgatttaattctagtca	4-13-2	GATGatttaattctagtCA	336_1	7984	-20
337	gatttaattctagtca	2-10-4	GAtttaattctaGTCA	337_1	7984	-18
338	gatgatttaattctagtc	4-11-3	GATGatttaattctaGTC	338_1	7985	-20
339	tgatttaattctagtc	2-12-2	TGatttaattctagTC	339_1	7985	-13
340	gagatgatttaattcta	4-9-4	GAGAtgatttaatTCTA	340_1	7988	-20
341	gagatgatttaattct	3-10-3	GAGatgatttaatTCT	341_1	7989	-16
342	cagattgatggtagtt	4-10-2	CAGAttgatggtagTT	342_1	8030	-19
343	ctcagattgatggtag	2-10-4	CTcagattgatgGTAG	343_1	8032	-20
344	gttagccctcagattg	3-10-3	GTTagccctcagaTTG	344_1	8039	-23
345	tgtattgttagccctc	2-10-4	TGtattgttagcCCTC	345_1	8045	-24
346	acttgtattgttagcc	2-10-4	ACttgtattgttAGCC	346_1	8048	-22
347	agccagtatcagggac	3-11-2	AGCcagtatcagggAC	347_1	8191	-23
348	ttgacaatagtggcat	2-10-4	TTgacaatagtgGCAT	348_1	8213	-20
349	acaagtggtatcttct	3-10-3	ACAagtggtatctTCT	349_1	8228	-19
350	aatctactttacaagt	4-10-2	AATCtactttacaaGT	350_1	8238	-16
351	cacagtagatgcctgata	2-12-4	CAcagtagatgcctGATA	351_1	8351	-24
352	gaacacagtagatgcc	2-11-3	GAacacagtagatGCC	352_1	8356	-21
353	cttggaacacagtagat	4-11-2	CTTGgaacacagtagAT	353_1	8359	-20

[0514]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
354	atatcttggaacacag	3-10-3	ATAtcttggaacaCAG	354_1	8364	-18
355	tctttaatatcttggaac	3-11-4	TCTttaatatcttgGAAC	355_1	8368	-19
356	tgatttctttaatatcttg	2-13-4	TGatttctttaatatCTTG	356_1	8372	-19
357	tgatgatttctttaatatc	2-13-4	TGatgatttctttaaTATC	357_1	8375	-18
358	aggctaagtcatgatg	3-11-2	AGGctaagtcatgaTG	358_1	8389	-19
359	ttgatgaggctaagtc	4-10-2	TTGAtgaggctaagTC	359_1	8395	-19
360	ccaggattatactctt	3-11-2	CCAggattatactcTT	360_1	8439	-20
361	gccaggattatactct	2-10-4	GCcaggattataCTCT	361_1	8440	-23
362	ctgccaggattatact	3-11-2	CTGccaggattataCT	362_1	8442	-21
363	cagaaacttatactttatg	4-13-2	CAGAaacttatactttaTG	363_1	8473	-19
364	aagcagaaacttatact	4-9-4	AAGCagaaacttaTACT	364_1	8478	-20
365	gaagcagaaacttatact	3-11-4	GAAgcagaaacttaTACT	365_1	8478	-20
366	tggaagcagaaacttatac t	3-15-2	TGGaagcagaaacttataCT	366_1	8478	-21
367	tggaagcagaaacttatac	3-13-3	TGGaagcagaaacttaTAC	367_1	8479	-20
368	aagcagaaacttatac	2-11-3	AAgcagaaacttaTAC	368_1	8479	-13
369	tggaagcagaaacttata	3-11-4	TGGaagcagaaactTATA	369_1	8480	-21
370	aagggatattatggag	4-10-2	AAGGgatattatggAG	370_1	8587	-18
371	tgccggaagatttcct	2-12-2	TGccggaagatttcCT	371_1	8641	-21
372	atggattgggagtaga	4-10-2	ATGGattgggagtaGA	372_1	8772	-21
373	agatggattgggagta	2-12-2	AGatggattgggagTA	373_1	8774	-18
374	aagatggattgggagt	3-11-2	AAGatggattgggaGT	374_1	8775	-18
375	acaagatggattggga	2-10-4	ACaagatggattGGGA	375_1	8777	-20
375	acaagatggattggga	2-12-2	ACaagatggattggGA	375_2	8777	-17
376	agaaggttcagacttt	3-9-4	AGAaggttcagaCTTT	376_1	8835	-20
377	gcagaaggttcagact	2-11-3	GCagaaggttcagACT	377_1	8837	-21
377	gcagaaggttcagact	3-11-2	GCAgaaggttcagaCT	377_2	8837	-22
378	tgcagaaggttcagac	4-10-2	TGCAgaaggttcagAC	378_1	8838	-22
379	agtgcagaaggttcag	2-11-3	AGtgcagaaggttCAG	379_1	8840	-20
379	agtgcagaaggttcag	4-10-2	AGTGcagaaggttcAG	379_2	8840	-21
380	aagtgcagaaggttca	4-10-2	AAGTgcagaaggttCA	380_1	8841	-20
381	taagtgcagaaggttc	2-10-4	TAagtgcagaagGTTC	381_1	8842	-19
382	tctaagtgcagaaggt	2-10-4	TCtaagtgcagaAGGT	382_1	8844	-21
383	ctcaggagttctacttc	3-12-2	CTCaggagttctactTC	383_1	8948	-20
384	ctcaggagttctactt	3-10-3	CTCaggagttctaCTT	384_1	8949	-21
385	atggaggtgactcaggag	1-15-2	AtggaggtgactcaggAG	385_1	8957	-20
386	atggaggtgactcagga	2-13-2	ATggaggtgactcagGA	386_1	8958	-21
387	atggaggtgactcagg	2-11-3	ATggaggtgactcAGG	387_1	8959	-21
388	tatggaggtgactcagg	2-12-3	TAtggaggtgactcAGG	388_1	8959	-21
389	atatggaggtgactcagg	2-14-2	ATatggaggtgactcaGG	389_1	8959	-21

[0515]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
390	tatggaggtgactcag	4-10-2	TATGgaggtgactcAG	390_1	8960	-21
391	atatggaggtgactcag	2-11-4	ATatggaggtgacTCAG	391_1	8960	-22
392	catatggaggtgactcag	2-14-2	CAtatggaggtgactcAG	392_1	8960	-20
393	atatggaggtgactca	3-10-3	ATAtggaggtgacTCA	393_1	8961	-20
394	catatggaggtgactca	2-12-3	CAtatggaggtgacTCA	394_1	8961	-21
395	catatggaggtgactc	2-10-4	CAtatggaggtgACTC	395_1	8962	-20
396	gcatatggaggtgactc	2-13-2	GCatatggaggtgacTC	396_1	8962	-21
397	tgcatatggaggtgactc	2-14-2	TGcatatggaggtgacTC	397_1	8962	-21
398	ttgcatatggaggtgactc	1-16-2	TtgcatatggaggtgacTC	398_1	8962	-20
399	tttgcatatggaggtgactc	1-17-2	TttgcatatggaggtgacTC	399_1	8962	-21
400	gcatatggaggtgact	2-12-2	GCatatggaggtgaCT	400_1	8963	-20
401	tgcatatggaggtgact	2-13-2	TGcatatggaggtgaCT	401_1	8963	-20
402	ttgcatatggaggtgact	3-13-2	TTGcatatggaggtgaCT	402_1	8963	-22
403	tttgcatatggaggtgact	1-16-2	TttgcatatggaggtgaCT	403_1	8963	-20
404	tgcatatggaggtgac	3-11-2	TGCatatggaggtgAC	404_1	8964	-20
405	ttgcatatggaggtgac	3-11-3	TTGcatatggaggtGAC	405_1	8964	-21
406	tttgcatatggaggtgac	4-12-2	TTTGcatatggaggtgAC	406_1	8964	-21
407	tttgcatatggaggtga	4-11-2	TTTGcatatggaggtGA	407_1	8965	-21
408	tttgcatatggaggtg	2-10-4	TTtgcatatggaGGTG	408_1	8966	-21
409	aagtgaagttcaacagc	2-11-4	AAgtgaagttcaaCAGC	409_1	8997	-20
410	tgggaagtgaagttca	2-10-4	TGggaagtgaagTTCA	410_1	9002	-20
411	atgggaagtgaagttc	2-11-3	ATgggaagtgaagTTC	411_1	9003	-17
412	gatgggaagtgaagtt	4-9-3	GATGggaagtgaaGTT	412_1	9004	-21
413	ctgtgatgggaagtgaa	3-11-3	CTGtgatgggaagtGAA	413_1	9007	-20
414	attgagtgaatccaaa	3-10-3	ATTgagtgaatccAAA	414_1	9119	-14
415	aattgagtgaatccaa	2-10-4	AAttgagtgaatCCAA	415_1	9120	-16
416	gataattgagtgaatcc	4-10-3	GATAattgagtgaaTCC	416_1	9122	-20
417	gtgataattgagtgaa	3-10-3	GTGataattgagtGAA	417_1	9125	-16
418	aagaaaggtgcaataa	3-10-3	AAGaaaggtgcaaTAA	418_1	9155	-14
419	caagaaaggtgcaata	2-10-4	CAagaaaggtgcAATA	419_1	9156	-15
420	acaagaaaggtgcaat	4-10-2	ACAAgaaaggtgcaAT	420_1	9157	-16
421	atttaaactcacaaac	2-12-2	ATttaaactcacaaAC	421_1	9171	-10
422	ctgttaggttcagcga	2-10-4	CTgttaggttcaGCGA	422_1	9235	-24
423	tctgaatgaacatttcg	4-9-4	TCTGaatgaacatTTCG	423_1	9260	-20
424	ctcattgaaggttctg	2-10-4	CTcattgaaggtTCTG	424_1	9281	-20
425	ctaatctcattgaagg	3-11-2	CTAatctcattgaaGG	425_1	9286	-17
426	cctaatctcattgaag	2-12-2	CCtaatctcattgaAG	426_1	9287	-16
427	actttgatctttcagc	3-10-3	ACTttgatctttcAGC	427_1	9305	-20
428	actatgcaacactttg	2-12-2	ACtatgcaacacttTG	428_1	9315	-15

[0516]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
429	caaatagctttatcgg	3-10-3	CAAatagctttatCGG	429_1	9335	-17
430	ccaaatagctttatcg	2-10-4	CCaaatagctttATCG	430_1	9336	-19
431	tccaaatagctttatc	4-10-2	TCCAaatagctttaTC	431_1	9337	-18
432	gatccaaatagcttta	4-10-2	GATCcaaatagcttTA	432_1	9339	-18
433	atgatccaaatagctt	2-10-4	ATgatccaaataGCTT	433_1	9341	-19
434	tatgatccaaatagct	4-10-2	TATGatccaaatagCT	434_1	9342	-18
435	taaacagggctgggaat	4-9-4	TAAAcagggctggGAAT	435_1	9408	-22
436	acttaaacagggctgg	2-10-4	ACttaaacagggCTGG	436_1	9412	-21
437	acacttaaacagggct	2-10-4	ACacttaaacagGGCT	437_1	9414	-22
438	gaacacttaaacaggg	4-8-4	GAACacttaaacAGGG	438_1	9416	-20
439	agagaacacttaaacag	4-9-4	AGAGaacacttaaACAG	439_1	9418	-20
440	ctacagagaacactta	4-8-4	CTACagagaacaCTTA	440_1	9423	-20
441	atgctacagagaacact	3-10-4	ATGctacagagaaCACT	441_1	9425	-22
442	ataaatgctacagagaaca	4-11-4	ATAAatgctacagagAACA	442_1	9427	-20
443	agataaatgctacagaga	2-12-4	AGataaatgctacaGAGA	443_1	9430	-20
444	tagagataaatgctaca	4-9-4	TAGAgataaatgcTACA	444_1	9434	-21
445	tagatagagataaatgct	4-11-3	TAGAtagagataaatGCT	445_1	9437	-20
446	caatatactagatagaga	4-10-4	CAATatactagataGAGA	446_1	9445	-21
447	tacacaatatactagatag	4-11-4	TACAcaatatactagATAG	447_1	9448	-21
448	ctacacaatatactag	3-10-3	CTAcacaatatacTAG	448_1	9452	-16
449	gctacacaatatacta	4-8-4	GCTAcacaatatACTA	449_1	9453	-21
450	atatgctacacaatatac	4-10-4	ATATgctacacaatATAC	450_1	9455	-20
451	tgatatgctacacaat	4-8-4	TGATatgctacaCAAT	451_1	9459	-20
452	atgatatgatatgctac	4-9-4	ATGAtatgatatgCTAC	452_1	9464	-21
453	gaggagagagacaataaa	4-10-4	GAGGagagagacaaTAAA	453_1	9495	-20
454	ctaggaggagagagaca	3-11-3	CTAggaggagagagACA	454_1	9500	-22
455	tattctaggaggagaga	4-10-3	TATTctaggaggagAGA	455_1	9504	-21
456	ttatattctaggaggag	4-10-3	TTATattctaggagGAG	456_1	9507	-21
457	gtttatattctaggag	3-9-4	GTTtatattctaGGAG	457_1	9510	-20
458	tggagtttatattctagg	2-12-4	TGgagtttatattcTAGG	458_1	9512	-22
459	cgtaccaccactctgc	2-11-3	CGtaccaccactcTGC	459_1	9590	-25
460	tgaggaaatcattcattc	4-10-4	TGAGgaaatcattcATTC	460_1	9641	-22
461	tttgaggaaatcattcat	4-10-4	TTTGaggaaatcatTCAT	461_1	9643	-20
462	aggctaatcctatttg	4-10-2	AGGCtaatcctattTG	462_1	9657	-22
463	tttaggctaatcctat	4-8-4	TTTAggctaatcCTAT	463_1	9660	-22
464	tgctccagtgtaccct	3-11-2	TGCtccagtgtaccCT	464_1	9755	-27
465	tagtagtactcgatag	2-10-4	TAgtagtactcgATAG	465_1	9813	-18
466	ctaattgtagtagtactc	3-12-3	CTAattgtagtagtaCTC	466_1	9818	-20
467	tgctaattgtagtagt	2-10-4	TGctaattgtagTAGT	467_1	9822	-19
468	agtgctaattgtagta	4-10-2	AGTGctaattgtagTA	468_1	9824	-19

[0517]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
469	gcaagtgctaattgta	4-10-2	GCAAgtgctaattgTA	469_1	9827	-20
470	gaggaaatgaactaattta	4-13-2	GAGGaaatgaactaattTA	470_1	9881	-18
471	caggaggaaatgaacta	4-11-2	CAGGaggaaatgaacTA	471_1	9886	-19
472	ccctagagtcatttcc	2-11-3	CCctagagtcattTCC	472_1	9902	-24
473	atcttacatgatgaagc	3-11-3	ATCttacatgatgaAGC	473_1	9925	-20
475	agacacactcagatttcag	2-15-2	AGacacactcagatttcAG	475_1	9967	-20
474	gacacactcagatttcag	3-13-2	GACacactcagatttcAG	474_1	9967	-20
476	aagacacactcagatttcag	3-15-2	AAGacacactcagatttcAG	476_1	9967	-21
477	agacacactcagatttca	2-13-3	AGacacactcagattTCA	477_1	9968	-20
478	aagacacactcagatttca	3-13-3	AAGacacactcagattTCA	478_1	9968	-21
479	aaagacacactcagatttca	2-14-4	AAagacacactcagatTTCA	479_1	9968	-20
480	gaaagacacactcagatttc	3-14-3	GAAagacacactcagatTTC	480_1	9969	-20
481	aagacacactcagatttc	4-11-3	AAGAcacactcagatTTC	481_1	9969	-21
482	aaagacacactcagatttc	4-11-4	AAAGacacactcagaTTTC	482_1	9969	-20
483	tgaaagacacactcagattt	4-14-2	TGAAagacacactcagatTT	483_1	9970	-20
484	tgaaagacacactcagatt	2-13-4	TGaaagacacactcaGATT	484_1	9971	-21
485	tgaaagacacactcagat	3-12-3	TGAaagacacactcaGAT	485_1	9972	-20
486	attgaaagacacactca	4-10-3	ATTGaaagacacacTCA	486_1	9975	-19
487	tcattgaaagacacact	2-11-4	TCattgaaagacaCACT	487_1	9977	-18
488	ttccatcattgaaaga	3-9-4	TTCcatcattgaAAGA	488_1	9983	-18
489	ataataccacttatcat	4-9-4	ATAAtaccacttaTCAT	489_1	10010	-20
490	ttacttaatttctttgga	2-12-4	TTacttaatttcttTGGA	490_1	10055	-20
491	ttagaactagctttatca	3-12-3	TTAgaactagctttaTCA	491_1	10101	-20
492	gaggtacaaatatagg	3-10-3	GAGgtacaaatatAGG	492_1	10171	-18
493	cttatgatacaactta	3-10-3	CTTatgatacaacTTA	493_1	10384	-15
494	tcttatgatacaactt	2-11-3	TCttatgatacaaCTT	494_1	10385	-15
495	ttcttatgatacaact	3-11-2	TTCttatgatacaaCT	495_1	10386	-15
496	cagtttcttatgatac	2-11-3	CAgtttcttatgaTAC	496_1	10390	-16
497	gcagtttcttatgata	3-11-2	GCAgtttcttatgaTA	497_1	10391	-19
498	tacaaatgtctattaggtt	4-12-3	TACAaatgtctattagGTT	498_1	10457	-21
499	tgtacaaatgtctattag	4-11-3	TGTAcaaatgtctatTAG	499_1	10460	-20
500	agcatcacaattagta	3-11-2	AGCatcacaattagTA	500_1	10535	-18
501	ctaatgatagtgaagc	3-11-2	CTAatgatagtgaaGC	501_1	10548	-17
502	agctaatgatagtgaa	3-11-2	AGCtaatgatagtgAA	502_1	10550	-16
503	atgccttgacatatta	4-10-2	ATGCcttgacatatTA	503_1	10565	-20
504	ctcaagattattgacac	4-9-4	CTCAagattattgACAC	504_1	10623	-20
505	acctcaagattattga	2-10-4	ACctcaagattaTTGA	505_2	10626	-18

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
505	acctcaagattattga	3-9-4	ACCtcaagattaTTGA	505_1	10626	-20
506	aacctcaagattattg	4-10-2	AACCtcaagattatTG	506_1	10627	-17
507	cacaaacctcaagattatt	4-13-2	CACAaacctcaagattaTT	507_1	10628	-20
508	gtacttaattagacct	3-9-4	GTActtaattagACCT	508_1	10667	-21
509	agtacttaattagacc	4-9-3	AGTActtaattagACC	509_1	10668	-20
510	gtatgaggtggtaaac	4-10-2	GTATgaggtggtaaAC	510_1	10688	-18
511	aggaaacagcagaagtg	2-11-4	AGgaaacagcagaAGTG	511_1	10723	-21
512	gcacaacccagaggaa	2-12-2	GCacaacccagaggAA	512_1	10735	-20
513	caagcacaacccagag	3-11-2	CAAgcacaacccagAG	513_1	10738	-20
514	ttcaagcacaacccag	3-10-3	TTCaagcacaaccCAG	514_1	10740	-21
515	aattcaagcacaaccc	2-10-4	AAttcaagcacaACCC	515_1	10742	-20
516	taataattcaagcacaacc	4-13-2	TAATaattcaagcacaaCC	516_1	10743	-20
517	actaataattcaagcac	4-9-4	ACTAataattcaaGCAC	517_1	10747	-20
518	ataatactaataattcaagc	4-12-4	ATAAtactaataattcAAGC	518_1	10749	-19
519	tagatttgtgaggtaa	2-10-4	TAgatttgtgagGTAA	519_1	11055	-18
520	agccttaattctccat	4-10-2	AGCCttaattctccAT	520_1	11091	-24
521	aatgatctagagcctta	4-9-4	AATGatctagagcCTTA	521_1	11100	-22
522	ctaatgatctagagcc	3-10-3	CTAatgatctagaGCC	522_1	11103	-22
523	actaatgatctagagc	3-9-4	ACTaatgatctaGAGC	523_1	11104	-21
524	cattaacatgttcttatt	3-11-4	CATtaacatgttctTATT	524_1	11165	-19
525	acaagtacattaacatgttc	4-12-4	ACAAgtacattaacatGTTC	525_1	11170	-22
526	ttacaagtacattaacatg	4-11-4	TTACaagtacattaaCATG	526_1	11173	-20
527	gctttattcatgtttat	4-9-4	GCTTtattcatgtTTAT	527_1	11195	-22
528	gctttattcatgttta	3-11-2	GCTttattcatgttTA	528_1	11196	-18
529	agagctttattcatgttt	3-13-2	AGAgctttattcatgtTT	529_1	11197	-20
530	ataagagctttattcatg	4-10-4	ATAAgagctttattCATG	530_1	11200	-21
531	cataagagctttattca	4-9-4	CATAagagctttaTTCA	531_1	11202	-21
532	agcataagagctttat	4-8-4	AGCAtaagagctTTAT	532_1	11205	-22
533	tagattgtttagtgca	3-10-3	TAGattgtttagtGCA	533_1	11228	-20
534	gtagattgtttagtgc	2-10-4	GTagattgtttaGTGC	534_1	11229	-21
535	gacaattctagtagatt	4-9-4	GACAattctagtaGATT	535_1	11238	-21
536	ctgacaattctagtag	3-9-4	CTGacaattctaGTAG	536_1	11241	-20
537	gctgacaattctagta	4-10-2	GCTGacaattctagTA	537_1	11242	-21
538	aggattaagatacgta	2-12-2	AGgattaagatacgTA	538_1	11262	-15
539	caggattaagatacgt	2-11-3	CAggattaagataCGT	539_1	11263	-17
540	tcaggattaagatacg	3-11-2	TCAggattaagataCG	540_1	11264	-16
541	ttcaggattaagatac	2-10-4	TTcaggattaagATAC	541_1	11265	-15
542	aggaagaaagtttgattc	4-10-4	AGGAagaaagtttgATTC	542_1	11308	-21

[0518]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
543	tcaaggaagaaagtttga	4-10-4	TCAAggaagaaagtTTGA	543_1	11311	-20
544	ctcaaggaagaaagtttg	4-10-4	CTCAaggaagaaagTTTG	544_1	11312	-20
545	tgctcaaggaagaaagt	3-10-4	TGCtcaaggaagaAAGT	545_1	11315	-21
546	aattatgctcaaggaaga	4-11-3	AATTatgctcaaggaAGA	546_1	11319	-20
547	taggataccacattatga	4-12-2	TAGGataccacattatGA	547_1	11389	-22
548	cataatttattccattcctc	2-15-3	CAtaatttattccattcCTC	548_1	11449	-22
549	tgcataatttattccat	4-10-3	TGCAtaatttattcCAT	549_1	11454	-22
550	actgcataatttattcc	4-10-3	ACTGcataatttatTCC	550_1	11456	-21
551	ctaaactgcataatttatt	4-11-4	CTAAactgcataattTATT	551_1	11458	-20
552	ataactaaactgcata	2-10-4	ATaactaaactgCATA	552_1	11465	-16
553	ttattaataactaaactgc	3-12-4	TTAttaataactaaaCTGC	553_1	11468	-19
554	tagtacattattaataact	4-13-2	TAGTacattattaataaCT	554_1	11475	-18
555	cataactaaggacgtt	4-10-2	CATAactaaggacgTT	555_1	11493	-17
556	tcataactaaggacgt	2-11-3	TCataactaaggaCGT	556_1	11494	-16
557	cgtcataactaaggac	4-10-2	CGTCataactaaggAC	557_1	11496	-17
558	tcgtcataactaagga	2-12-2	TCgtcataactaagGA	558_1	11497	-16
559	atcgtcataactaagg	2-10-4	ATcgtcataactAAGG	559_1	11498	-17
560	gttagtatcttacatt	2-11-3	GTtagtatcttacATT	560_1	11525	-15
561	ctctattgttagtatc	3-10-3	CTCtattgttagtATC	561_1	11532	-17
562	agtatagagttactgt	3-10-3	AGTatagagttacTGT	562_1	11567	-19
563	ttcctggtgatacttt	4-10-2	TTCCtggtgatactTT	563_1	11644	-21
564	gttcctggtgatactt	4-10-2	GTTCctggtgatacTT	564_1	11645	-21
565	tgttcctggtgatact	2-12-2	TGttcctggtgataCT	565_1	11646	-20
566	ataaacatgaatctctcc	2-12-4	ATaaacatgaatctCTCC	566_1	11801	-20
567	ctttataaacatgaatctc	3-12-4	CTTtataaacatgaaTCTC	567_1	11804	-19
568	ctgtctttataaacatg	3-10-4	CTGtctttataaaCATG	568_1	11810	-19
569	ttgttataaatctgtctt	2-12-4	TTgttataaatctgTCTT	569_1	11820	-18
570	ttaaatttattcttggata	3-12-4	TTAaatttattcttgGATA	570_1	11849	-19
571	cttaaatttattcttgga	2-12-4	CTtaaatttattctTGGA	571_1	11851	-19
572	cttcttaaatttattcttg	4-13-2	CTTCttaaatttattctTG	572_1	11853	-18
573	tatgtttctcagtaaag	4-9-4	TATGtttctcagtAAAG	573_1	11877	-19
574	gaattatctttaaacca	3-10-4	GAAttatctttaaACCA	574_1	11947	-18
575	cccttaaatttctaca	3-11-2	CCCttaaatttctaCA	575_1	11980	-20
576	acactgctcttgtacc	4-10-2	ACACtgctcttgtaCC	576_1	11995	-23
577	tgacaacactgctctt	3-10-3	TGAcaacactgctCTT	577_1	12000	-21
578	tacatttattgggctc	4-10-2	TACAtttattgggcTC	578_1	12081	-19
579	gtacatttattgggct	2-10-4	GTacatttattgGGCT	579_1	12082	-23
580	ttggtacatttattgg	3-10-3	TTGgtacatttatTGG	580_1	12085	-18
581	catgttggtacatttat	4-10-3	CATGttggtacattTAT	581_1	12088	-21

[0519]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
582	aatcatgttggtacat	4-10-2	AATCatgttggtacAT	582_1	12092	-16
583	aaatcatgttggtaca	2-12-2	AAatcatgttggtaCA	583_1	12093	-14
584	gacaagtttggattaa	3-11-2	GACaagtttggattAA	584_1	12132	-14
585	aatgttcagatgcctc	2-10-4	AAtgttcagatgCCTC	585_1	12197	-21
586	gcttaatgttcagatg	2-12-2	GCttaatgttcagaTG	586_1	12201	-17
587	cgtacatagcttgatg	4-10-2	CGTAcatagcttgaTG	587_1	12267	-20
588	gtgaggaattaggata	3-11-2	GTGaggaattaggaTA	588_1	12753	-17
589	gtaacaatatggtttg	3-11-2	GTAacaatatggttTG	589_1	12780	-15
590	gaaatattgtagacta	2-11-3	GAaatattgtagaCTA	590_1	13151	-14
591	ttgaaatattgtagac	3-11-2	TTGaaatattgtagAC	591_1	13153	-12
592	aagtctagtaatttgc	2-10-4	AAgtctagtaatTTGC	592_1	13217	-17
593	gctcagtagattataa	4-10-2	GCTCagtagattatAA	593_1	13259	-17
594	catacactgttgctaa	3-10-3	CATacactgttgcTAA	594_1	13296	-19
595	atggtctcaaatcatt	3-10-3	ATGgtctcaaatcATT	595_1	13314	-17
596	caatggtctcaaatca	4-10-2	CAATggtctcaaatCA	596_1	13316	-18
597	ttcctattgattgact	4-10-2	TTCCtattgattgaCT	597_1	13568	-20
598	tttctgttcacaacac	4-10-2	TTTCtgttcacaacAC	598_1	13600	-17
599	aggaacccactaatct	2-11-3	AGgaacccactaaTCT	599_1	13702	-20
600	taaatggcaggaaccc	3-11-2	TAAatggcaggaacCC	600_1	13710	-19
601	gtaaatggcaggaacc	4-10-2	GTAAatggcaggaaCC	601_1	13711	-20
602	ttgtaaatggcaggaa	2-11-3	TTgtaaatggcagGAA	602_1	13713	-16
603	ttatgagttaggcatg	2-10-4	TTatgagttaggCATG	603_1	13835	-19
604	ccaggtgaaactttaa	3-11-2	CCAggtgaaactttAA	604_1	13935	-17
605	cccttagtcagctcct	3-10-3	CCCttagtcagctCCT	605_1	13997	-30
606	acccttagtcagctcc	2-10-4	ACccttagtcagCTCC	606_1	13998	-27
607	cacccttagtcagctc	2-11-3	CAcccttagtcagCTC	607_1	13999	-24
608	tctcttactaggctcc	3-10-3	TCTcttactaggcTCC	608_1	14091	-24
609	cctatctgtcatcatg	2-11-3	CCtatctgtcatcATG	609_1	14178	-20
610	tcctatctgtcatcat	3-11-2	TCCtatctgtcatcAT	610_1	14179	-20
611	gagaagtgtgagaagc	3-11-2	GAGaagtgtgagaaGC	611_1	14808	-19
612	catccttgaagtttag	4-10-2	CATCcttgaagtttAG	612_1	14908	-19
613	taataagatggctccc	3-10-3	TAAtaagatggctCCC	613_1	15046	-21
614	caaggcataataagat	3-11-2	CAAggcataataagAT	614_1	15053	-14
615	ccaaggcataataaga	2-10-4	CCaaggcataatAAGA	615_1	15054	-18
616	tgatccaattctcacc	2-12-2	TGatccaattctcaCC	616_1	15151	-19
617	atgatccaattctcac	3-10-3	ATGatccaattctCAC	617_1	15152	-19
618	cgcttcatcttcaccc	3-11-2	CGCttcatcttcacCC	618_1	15260	-26
619	tatgacactgcatctt	2-10-4	TAtgacactgcaTCTT	619_1	15317	-19
620	gtatgacactgcatct	3-10-3	GTAtgacactgcaTCT	620_1	15318	-21
621	tgtatgacactgcatc	2-10-4	TGtatgacactgCATC	621_1	15319	-20

[0520]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
622	ttctcttctgtaagtc	4-10-2	TTCTcttctgtaagTC	622_1	15363	-19
623	ttctacagaggaacta	2-10-4	TTctacagaggaACTA	623_1	15467	-17
624	actacagttctacaga	3-10-3	ACTacagttctacAGA	624_1	15474	-19
625	ttcccacaggtaaatg	4-10-2	TTCCcacaggtaaaTG	625_1	15561	-21
626	attatttgaatatactcatt	4-12-4	ATTAtttgaatatactCATT	626_1	15594	-20
627	tgggaggaaattatttg	4-10-3	TGGGaggaaattatTTG	627_1	15606	-20
628	tgactcatcttaaatg	4-10-2	TGACtcatcttaaaTG	628_1	15621	-17
629	ctgactcatcttaaat	3-11-2	CTGactcatcttaaAT	629_1	15622	-16
630	tttactctgactcatc	3-10-3	TTTactctgactcATC	630_1	15628	-17
631	tattggaggaattatt	3-11-2	TATtggaggaattaTT	631_1	15642	-14
632	gtattggaggaattat	3-11-2	GTAttggaggaattAT	632_1	15643	-16
633	tggtatacttctctaagtat	2-15-3	TGgtatacttctctaagTAT	633_1	15655	-22
634	gatctcttggtatact	4-10-2	GATCtcttggtataCT	634_1	15666	-20
635	cagacaactctatacc	2-12-2	CAgacaactctataCC	635_1	15689	-18
636	aacatcagacaactcta	4-9-4	AACAtcagacaacTCTA	636_1	15693	-21
637	taacatcagacaactc	4-10-2	TAACatcagacaacTC	637_1	15695	-16
638	tttaacatcagacaactc	4-10-4	TTTAacatcagacaACTC	638_1	15695	-20
639	atttaacatcagacaa	2-12-2	ATttaacatcagacAA	639_1	15698	-11
640	cctatttaacatcagac	2-11-4	CCtatttaacatcAGAC	640_1	15700	-20
641	tccctatttaacatca	3-10-3	TCCctatttaacaTCA	641_1	15703	-21
642	tcaacgactattggaat	4-9-4	TCAAcgactattgGAAT	642_1	15737	-20
643	cttatattctggctat	4-9-3	CTTAtattctggcTAT	643_1	15850	-20
644	atccttatattctggc	4-10-2	ATCCttatattctgGC	644_1	15853	-23
645	gatccttatattctgg	2-10-4	GAtccttatattCTGG	645_1	15854	-21
646	tgatccttatattctg	3-10-3	TGAtccttatattCTG	646_1	15855	-19
647	attgaaacttgatcct	4-8-4	ATTGaaacttgaTCCT	647_1	15864	-21
648	actgtcattgaaactt	2-10-4	ACtgtcattgaaACTT	648_1	15870	-16
649	tcttactgtcattgaa	3-11-2	TCTtactgtcattgAA	649_1	15874	-16
650	aggatcttactgtcatt	2-11-4	AGgatcttactgtCATT	650_1	15877	-21
651	gcaaatcaactccatc	3-10-3	GCAaatcaactccATC	651_1	15896	-20
652	gtgcaaatcaactcca	3-10-3	GTGcaaatcaactCCA	652_1	15898	-22
653	caattatttctttgtgc	4-10-3	CAATtatttctttgTGC	653_1	15910	-21
654	tggcaacaattatttctt	3-11-4	TGGcaacaattattTCTT	654_1	15915	-21
655	gctggcaacaattatt	3-9-4	GCTggcaacaatTATT	655_1	15919	-21
656	atccatttctactgcc	4-10-2	ATCCatttctactgCC	656_1	15973	-24
657	taatatctattgatttcta	4-11-4	TAATatctattgattTCTA	657_1	15988	-20
658	tcaatagtgtagggca	2-12-2	TCaatagtgtagggCA	658_1	16093	-18
659	ttcaatagtgtagggc	3-11-2	TTCaatagtgtaggGC	659_1	16094	-19

[0521]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
660	aggttaattaattcaatag	4-11-4	AGGTtaattaattcaATAG	660_1	16102	-21
661	catttgtaatccctag	3-10-3	CATttgtaatcccTAG	661_2	16163	-20
661	catttgtaatccctag	3-9-4	CATttgtaatccCTAG	661_1	16163	-22
662	acatttgtaatcccta	3-10-3	ACAtttgtaatccCTA	662_1	16164	-20
663	aacatttgtaatccct	2-10-4	AAcatttgtaatCCCT	663_2	16165	-21
663	aacatttgtaatccct	3-9-4	AACatttgtaatCCCT	663_1	16165	-22
664	taaatttcaagttctg	2-11-3	TAaatttcaagttCTG	664_1	16184	-14
665	gtttaaatttcaagttct	3-11-4	GTTtaaatttcaagTTCT	665_1	16185	-19
666	ccaagtttaaatttcaag	4-10-4	CCAAgtttaaatttCAAG	666_1	16189	-21
667	acccaagtttaaatttc	4-9-4	ACCCaagtttaaaTTTC	667_1	16192	-22
668	catacagtgacccaagttt	2-14-3	CAtacagtgacccaagTTT	668_1	16199	-23
669	acatcccatacagtga	2-11-3	ACatcccatacagTGA	669_1	16208	-21
670	agcacagctctacatc	2-10-4	AGcacagctctaCATC	670_1	16219	-22
671	atatagcacagctcta	3-9-4	ATAtagcacagcTCTA	671_1	16223	-21
672	tccatatagcacagct	3-11-2	TCCatatagcacagCT	672_1	16226	-22
673	atttccatatagcaca	3-9-4	ATTtccatatagCACA	673_1	16229	-20
674	tttatttccatatagca	4-9-4	TTTAtttccatatAGCA	674_1	16231	-22
675	tttatttccatatagc	3-10-3	TTTatttccatatAGC	675_1	16232	-18
676	aaggagaggagattatg	4-9-4	AAGGagaggagatTATG	676_1	16409	-21
677	agttcttgtgttagct	3-11-2	AGTtcttgtgttagCT	677_1	16456	-21
678	gagttcttgtgttagc	2-12-2	GAgttcttgtgttaGC	678_1	16457	-20
679	attaattatccatccac	3-10-4	ATTaattatccatCCAC	679_1	16590	-21
680	atcaattaattatccatc	3-11-4	ATCaattaattatcCATC	680_1	16593	-19
681	agaatcaattaattatcc	3-12-3	AGAatcaattaattaTCC	681_1	16596	-18
682	tgagataccgtgcatg	2-12-2	TGagataccgtgcaTG	682_1	16656	-18
683	aatgagataccgtgca	2-10-4	AAtgagataccgTGCA	683_1	16658	-21
684	ctgtggttaggctaat	3-11-2	CTGtggttaggctaAT	684_1	16834	-19
685	aagagtaagggtctgtggtt	1-17-2	AagagtaagggtctgtggTT	685_1	16842	-21
686	gatgggttaagagtaa	4-9-3	GATGggttaagagTAA	686_1	16854	-19
687	agcagatgggttaaga	3-11-2	AGCagatgggttaaGA	687_1	16858	-20
688	tgtaaacatttgtagc	2-10-4	TGtaaacatttgTAGC	688_1	16886	-19
689	cctgcttataaatgta	3-11-2	CCTgcttataaatgTA	689_1	16898	-19
690	tgccctgcttataaat	4-10-2	TGCCctgcttataaAT	690_1	16901	-23
691	tcttcttagttcaata	2-12-2	TCttcttagttcaaTA	691_1	16935	-15
692	tggtttctaactacat	2-10-4	TGgtttctaactACAT	692_1	16980	-18
693	agtttggtttctaacta	2-12-3	AGtttggtttctaaCTA	693_1	16983	-19
694	gaatgaaacttgcctg	3-10-3	GAAtgaaacttgcCTG	694_1	17047	-18
695	attatccttacatgat	3-10-3	ATTatccttacatGAT	695_1	17173	-17
696	gtacccaattatcctt	2-11-3	GTacccaattatcCTT	696_1	17180	-21

[0522]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
697	tgtacccaattatcct	3-10-3	TGTacccaattatCCT	697_1	17181	-24
698	ttgtacccaattatcc	2-11-3	TTgtacccaattaTCC	698_1	17182	-20
699	tttgtacccaattatc	3-11-2	TTTgtacccaattaTC	699_1	17183	-17
700	agcagcaggttatatt	4-10-2	AGCAgcaggttataTT	700_1	17197	-22
701	tgggaagtggtctggg	3-10-3	TGGgaagtggtctGGG	701_1	17292	-25
702	ctggagagtgataata	3-11-2	CTGgagagtgataaTA	702_1	17322	-17
703	aatgctggattacgtc	4-10-2	AATGctggattacgTC	703_1	17354	-19
704	caatgctggattacgt	2-11-3	CAatgctggattaCGT	704_1	17355	-19
705	ttgttcagaagtatcc	2-10-4	TTgttcagaagtATCC	705_1	17625	-19
706	gatgatttgcttggag	2-10-4	GAtgatttgcttGGAG	706_1	17646	-21
707	gaaatcattcacaacc	3-10-3	GAAatcattcacaACC	707_1	17860	-17
708	ttgtaacatctactac	3-10-3	TTGtaacatctacTAC	708_1	17891	-16
709	cattaagcagcaagtt	3-11-2	CATtaagcagcaagTT	709_1	17923	-17
710	ttactagatgtgagca	3-11-2	TTActagatgtgagCA	710_1	17942	-18
711	tttactagatgtgagc	2-11-3	TTtactagatgtgAGC	711_1	17943	-18
712	gaccaagcaccttaca	3-11-2	GACcaagcaccttaCA	712_1	17971	-22
713	agaccaagcaccttac	3-10-3	AGAccaagcacctTAC	713_1	17972	-22
714	atgggttaaataaagg	2-10-4	ATgggttaaataAAGG	714_1	18052	-15
715	tcaaccagagtattaa	2-12-2	TCaaccagagtattAA	715_1	18067	-13
716	gtcaaccagagtatta	3-11-2	GTCaaccagagtatTA	716_1	18068	-18
717	attgtaaagctgatat	2-11-3	ATtgtaaagctgaTAT	717_1	18135	-14
718	cacataattgtaaagc	2-10-4	CAcataattgtaAAGC	718_1	18141	-16
719	gaggtctgctatttac	2-11-3	GAggtctgctattTAC	719_1	18274	-19
720	tgtagattcaatgcct	2-11-3	TGtagattcaatgCCT	720_1	18404	-20
721	cctcattatactatga	2-11-3	CCtcattatactaTGA	721_1	18456	-19
722	ccttatgctatgacac	2-12-2	CCttatgctatgacAC	722_1	18509	-18
723	tccttatgctatgaca	4-10-2	TCCTtatgctatgaCA	723_1	18510	-22
724	aagatgtttaagtata	3-10-3	AAGatgtttaagtATA	724_1	18598	-13
725	ctgattattaagatgt	2-10-4	CTgattattaagATGT	725_1	18607	-17
726	tggaaaggtatgaatt	2-12-2	TGgaaaggtatgaaTT	726_1	18808	-13
727	acttgaatggcttgga	2-12-2	ACttgaatggcttgGA	727_1	18880	-18
728	aacttgaatggcttgg	3-10-3	AACttgaatggctTGG	728_1	18881	-19
729	caatgtgttactattt	4-10-2	CAATgtgttactatTT	729_1	19004	-16
730	acaatgtgttactatt	3-10-3	ACAatgtgttactATT	730_1	19005	-15
731	catctgctatataaga	4-10-2	CATCtgctatataaGA	731_1	19063	-18
732	cctagagcaaatactt	4-10-2	CCTAgagcaaatacTT	732_1	19223	-20
733	cagagttaataataag	3-10-3	CAGagttaataatAAG	733_1	19327	-13
734	gttcaagcacaacgaa	4-10-2	GTTCaagcacaacgAA	734_1	19493	-18
735	agggttcaagcacaac	2-11-3	AGggttcaagcacAAC	735_1	19496	-18
736	tgttggagacactgtt	2-12-2	TGttggagacactgTT	736_1	19677	-17

[0523]

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 1 상의 개시	dG
737	aaggaggagttaggac	3-11-2	AAGgaggagttaggAC	737_1	19821	-18
738	ctatgccatttacgat	4-10-2	CTATgccatttacgAT	738_1	19884	-21
739	tcaaatgcagaattag	2-12-2	TCaaatgcagaattAG	739_1	19913	-12
740	agtgacaatcaaatgc	2-10-4	AGtgacaatcaaATGC	740_1	19921	-18
741	aagtgacaatcaaatg	2-11-3	AAgtgacaatcaaATG	741_1	19922	-12
742	gtgtaccaagtaacaa	3-11-2	GTGtaccaagtaacAA	742_1	19978	-16
743	tgggatgttaaactga	3-10-3	TGGgatgttaaacTGA	743_1	20037	-20

[0524]

[0525] 모티프 서열은 올리고뉴클레오티드에 존재하는 핵염기의 인접한 서열을 나타낸다.

[0526] 디자인은 갭머 디자인 F-G-F'를 나타내고, 이때 각각의 수는, 임의적으로 표적 핵산에 상보적인 인접한 서열의 필수적인 부분이 아닌 DNA 및 LNA의 추가 반복 영역을 선행하거나 후행하는, 연속적인 변형된 뉴클레오시드, 예

컨대 2' 변형된 뉴클레오시드의 수(첫 번째 수 = 5' 플랭크), 이어서 DNA 뉴클레오시드의 수(두 번째 수 = 갭 영역), 이어서 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 변형된 뉴클레오시드의 수(세 번째 수 = 3' 플랭크).

[0527] 올리고뉴클레오티드 화합물은 모티프 서열의 특정 디자인을 나타낸다. 대문자는 베타-D-옥시 LNA 뉴클레오시드를 나타내고, 소문자는 DNA 뉴클레오시드를 나타내고, 모든 LNA C는 5-메틸 사이토신이고, 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기이다.

[0528] [표 6]

[0529] 마우스 PD-L1 전사체(서열번호 4)를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드, 이의 디자인, 및 모티프 서열을 기준으로 디자인된 특정 올리고뉴클레오티드 화합물(화합물 번호로 표시됨).

서열 번호	모티프 서열	디자인	올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호	서열번호 4 상의 개시	dG
744	agtttacattttctgc	3-10-3	AGTttacattttcTGC	744_1	4189	-20
745	tatgtgaagaggagag	3-10-3	TATgtgaagaggaGAG	745_1	7797	-19
746	cacctttaaaaccccca	3-10-3	CACctttaaaaccCCA	746_1	9221	-23
747	tcctttataatcacac	3-10-3	TCCtttataatcaCAC	747_1	10386	-19
748	acggtattttcacagg	3-10-3	ACGgtattttcacAGG	748_1	12389	-21
749	gacactacaatgagga	3-10-3	GACactacaatgaGGA	749_1	15088	-20
750	tggtttttaggactgt	3-10-3	TGGtttttaggacTGT	750_1	16410	-21
751	cgacaaattctatcct	3-10-3	CGAcaaattctatCCT	751_1	18688	-20
752	tgatatacaatgctac	3-10-3	TGAtatacaatgcTAC	752_1	18735	-16
753	tcgttgggtaaattta	3-10-3	TCGttgggtaaatTTA	753_1	19495	-17
754	tgctttataaatggtg	3-10-3	TGCtttataaatgGTG	754_1	19880	-19

[0530]

[0531] 모티프 서열은 올리고뉴클레오티드에 존재하는 핵염기의 인접한 서열을 나타낸다.

[0532] 디자인은 갭머 디자인 F-G-F'를 지칭하고, 이때 각각의 수는, 임의적으로 표적 핵산에 상보적인 인접한 서열의 필수적인 부분이 아닌 DNA 및 LNA의 추가 반복 영역을 선행하거나 후행하는 연속적인 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 변형된 뉴클레오시드의 수(첫 번째 수 = 5' 플랭크), 이어서 DNA 뉴클레오시드의 수(두 번째 수= 갭 영역), 이어서 변형된 뉴클레오시드, 예컨대 2' 변형된 뉴클레오시드의 수(세 번째 수=3' 플랭크)를 나타낸다.

[0533] 올리고뉴클레오티드 화합물은 모티프 서열의 특정 디자인을 나타낸다. 대문자는 베타-D-옥시 LNA 뉴클레오시드를 나타내고, 소문자는 DNA 뉴클레오시드를 나타내고, 모든 LNA C는 5-메틸 사이토신이고, 모든 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기를 나타낸다.

[0534] [표 7]

[0535] 5' ca 생체절단성 연결기를 갖는 올리고뉴클레오티드 모티프 서열 및 안티센스 화합물

서열번호	모티프 서열	ca 연결기를 갖는 올리고뉴클레오티드 화합물	화합물 번호
755	caagtttacattttctgc	c_oa_oAGTttacattttcTGC	755_1
756	catatgtgaagaggagag	c_oa_oTATgtgaagaggaGAG	756_1
757	cacctttaaaacccca	c_oa_oCACctttaaaaccCCA	757_1
758	catcctttataatcacac	c_oa_oTCCtttataatcaCAC	758_1
759	caacggtattttcacagg	c_oa_oACGgtattttcacAGG	759_1
760	cagacactacaatgagga	c_oa_oGACactacaatgaGGA	760_1
761	catggtttttaggactgt	c_oa_oTGGtttttaggacTGT	761_1
762	cacgacaaattctatcct	c_oa_oCGAcaaattctatCCT	762_1
763	catgatatacaatgctac	c_oa_oTGAtatacaatgcTAC	763_1
764	catcgttgggtaaattta	c_oa_oTCGttgggtaaatTTA	764_1
765	catgctttataaatggtg	c_oa_oTGCtttataaatgGTG	765_1
766	caacaaataatggttactct	c_oa_oACAAataatggttaCTCT	766_1
767	cacagattgatggtagtt	c_oa_oCAGAttgatggtagTT	767_1
768	cacctatttaacatcagac	c_oa_oCCtatttaacatcAGAC	768_1
769	cactaattgtagtagtactc	c_oa_oCTAattgtagtagtaCTC	769_1
770	caataaacatgaatctctcc	c_oa_oATaaacatgaatctCTCC	770_1

[0536]

[0537] 대문자는 베타-D-옥시 LNA 뉴클레오시드를 나타내고, 소문자는 DNA 뉴클레오시드를 나타내고, 모든 LNA C는 5-메틸 사이토신이고, 아래첨자 o는 포스포다이에스터 뉴클레오시드간 연결기를 나타내고, 달리 지시되지 않는 한, 다른 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기이다.

[0538] [표 8]

[0539] GalNAc 접합된 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물.

안티센스 올리고뉴클레오티드 접합체	화합물 번호
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$AGTttacattttcTGC	755_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TATgtgaagaggaGAG	756_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$CACctttaaaaccCCA	757_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TCCtttataatcaCAC	758_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$ACGgtattttcacAGG	759_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$GACactacaatgaGGA	760_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TGGtttttaggacTGT	761_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$CGAcaaattctatCCT	762_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TGAtatacaatgcTAC	763_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TCGttgggtaaatTTA	764_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$TGCtttataaatgGTG	765_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$ACAAataatggttaCTCT	766_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$CAGAttgatggtagTT	767_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$CCtatttaacatcAGAC	768_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$CTAattgtagtagtaCTC	769_2
GN2-C6$_o$c$_o$a$_o$ATaaacatgaatctCTCC	770_2

[0540]

[0541] GN2는 도 3에 제시된 3-가 GalNAc 클러스터를 나타내고, C6은 6개의 탄소를 갖는 아미노 알킬 기를 나타내고, 대문자는 베타-D-옥시 LNA 뉴클레오시드를 나타내고, 소문자는 DNA 뉴클레오시드를 나타내고, 모든 LNA C는 5-메틸 사이토신이고, 아래첨자 o는 포스포다이에스터 뉴클레오시드 연결기를 나타내고, 달리 지시되지 않는 한, 뉴클레오시드간 연결기는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결기이다. 일부 분자를 나타내는 화학 도면은 도 4 내지 8에 제시된다.

[0542] ***AAV/HBV 마우스 모델***

[0543] *파스퇴르 모델:*

[0544] HLA-A2.1-/HLA-DR1-유전자이식 H-2 클래스 I-/클래스 II-녹아웃(본원에 hHLA-A2/DR1로 언급됨) 마우스를 생산하고, 인스티투트 파스퇴르(Institut Pasteur)에서 사육하였다. 이러한 마우스는 마우스 MHC 반응에 의한 어떠한 간섭 없이 인간 면역 기능 연구를 위한 생체내 실험 모델을 나타낸다(문헌[Pajot et al 2004 Eur J Immunol. 34(11):3060-9]).

[0545] 아데노-연관된 바이러스(AAV) 벡터, 복제 경쟁적인 HBV DNA 게놈을 갖는 AAV 혈청형 2/8을 본 연구에 사용하였다. AAV-HBV 벡터(배치 GVPN #6163)를 멸균 포스페이트-완충된 염수(PBS)에서 희석하여 5 x 10^{11} vg/mL의 역가에 도달하였다. 100 μL의 이러한 희석 용액(투여량/마우스: 5 x 10^{10} vg)을 마우스의 꼬리 정맥에 정맥내(i.v.) 주사하였다. HBV DNA를 함유하는 완전한 바이러스성 입자를 HBV-담체 마우스의 혈액에서 검출하였다. HBcAg는 혈액 내의 HBV 순환 단백질 HBeAg 및 HBsAg와 함께 간에서 1년 이하 동안 검출되었다. 모든 AAV2/8-HBV-형질도입된 마우스에서, HBsAg, HBeAg 및 HBV DNA는 1년 이상 동안 혈청 내에서 지속되었다(문헌[Dion et al 2013 J Virol 87:5554-5563]).

[0546] *상하이 모델:*

[0547] 이러한 모델에서, IHBV 게놈(AAV/HBV)을 갖는 재조합 아데노-연관된 바이러스(AAV)에 감염된 마우스는 30주 초과 동안 안정한 바이러스혈증 및 항원혈증을 유지한다(문헌[Dan Yang, et al. 2014 Cellular & Molecular Immunology 11, 71-78]).

[0548] 수컷 C57BL/6 마우스(4 내지 6주령)(특정 병원균 부재)를 SLAC(Shanghai Laboratory Animal Center of Chinese Academy of Sciences; 중국 과학원의 상하이 실험 동물 센터)로부터 구입하였고, 동물 관리 시설에서 개별적으로 환기되는 우리에서 사육하였다. 우시(WuXi) IACUC(Institutional Animal Care and Use Committee; 협회 동물 관리 및 사용 위원회, 우시 IACUC 프로토콜 번호 R20131126-마우스)에 의해 지시된 바와 같은 동물의 관리 및 사용을 위한 지침을 따랐다. 3일 동안 마우스가 새로운 환경에 익숙하게 하고, 실험 디자인에 따라 분류하였다.

[0549] 재조합 AAV-HBV를 PBS(주사 당 200 μL)에서 희석하였다. 이러한 재조합 바이러스는 1.3 카피의 HBV 게놈(유전자형 D, 혈청형 ayw)을 갖는다.

[0550] 0일 째에, 모든 마우스에 200 μL AAV-HBV를 꼬리 정맥을 통해 주사하였다. AAV 주사 후 6, 13 및 20일 째에, 모든 마우스를 혈청 수집을 위해 하악하 채혈하였다(0.1 mL 혈액/마우스). 주사 후 22일 째에, 안정한 바이러스혈증을 갖는 마우스가 올리고뉴클레오티드 치료를 위해 준비되었다. 올리고뉴클레오티드는 비접합되거나 GalNAc 접합될 수 있다.

[0551] ***DNA 백신***

[0552] 플라스미드 DNA는 내독소-부재였고, 플라스미드-펙토리(Plasmid-Factory, 독일)에 의해 제조되었다. pCMV-S2.S ayw는 HBsAg(유전자형 D)의 preS2 및 S 도메인을 코딩하고, 이의 발현은 사이토메갈로바이러스 전초기 유전자 프로모터에 의해 조절된다(문헌[Michel et al 1995 Proc Natl Acad Sci U S A 92:5307-5311]). pCMV-HBc는 간염 코어(HBc) Ag를 갖는 HBV 캡시드를 코딩한다(문헌[Dion et al 2013 J Virol 87:5554-5563]).

[0553] DNA 백신에 의한 치료를 본원에 기술된 바와 같이 수행하였다. 백신접종 5일 전에, 심장독(CaTx, 라톡산(Latoxan) refL81-02, 50 μL/ 근육)을 마우스의 근육 내에 주사하였다. CaTx는 근육 섬유를 감극시켜 세포 퇴화를 유도하고, 주사 5일 후, 신규한 근육 섬유가 나타나고 형질감염에 대한 양호한 효능을 위해 DNA 백신을 수용할 것이다. 각각 1 mg/mL의 pCMV-S2.S ayw 및 pCMV코어를 동량으로 혼합하고, 각각의 마우스는 마취(100 μL의 12.5 mg/mL 케타민, 1.25 mg/mL 자일라진) 하에 문헌[Michel et al 1995 Proc Natl Acad Sci U S A 92:5307-5311]에 종래 기술된 바와 같이, 심장독-처리된 전경골근으로의 양측 근육내 주사에 의해 총 100 μg을 수용하였다.

[0554] ***항-PD-L1 항체***

[0555] 이것은 제넨테크(Genentech)에서 내부 생산된 마우스 항-마우스 PD-L1 IgG1 항체 클론 6E11이다. 이것은 아테졸리주맙을 크로스 블로킹(cross blocking)하고 로슈(Roche)에서 내부 생산된 아테졸리주맙의 유사한 시험관내 블로킹 활성을 갖는 대용 항체이다. 항체는 12.5 μg/g의 투여량으로 복강내(i.p.) 주사에 의해 투여된다.

[0556] ***올리고뉴클레오티드 합성***

[0557] 올리고뉴클레오티드 합성은 일반적으로 당해 분야에 공지되어 있다. 적용될 수 있는 프로토콜이 후술된다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 사용된 장치, 지지체 및 농도의 면에서 방법을 약간 바꿈으로써 생산될 수 있다.

[0558] 올리고뉴클레오티드는 올리고메이커(Oligomaker) 48에 대한 포스포라미다이트 접근법을 1 μmol 스케일로 사용하여 우리딘 유니버셜 지지체 상에서 합성된다. 합성의 종료시, 올리고뉴클레오티드는 60℃에서 5 내지 16시간 동안 수성 암모니아를 사용하여 고체 지지체로부터 절단된다. 올리고뉴클레오티드는 역상 HPLC(RP-HPLC) 또는 고체 상 추출에 의해 정제되고, UPLC에 의해 특징규명되고, 분자 질량은 또한 ESI-MS에 의해 확인된다.

[0559] *올리고뉴클레오티드의 신장:*

[0560] β-시아노에틸-포스포라미다이트(DNA-A(Bz), DNA-G(ibu), DNA-C(Bz), DNA-T, LNA-5-메틸-C(Bz), LNA-A(Bz), LNA-G(dmf) 또는 LNA-T)의 커플링은 활성화제로서 아세토니트릴 중 DCI(4,5-다이시아노이미다졸)(0.25 M) 및 아세토니트릴 중 5'-O-DMT-보호된 아미다이트(0.1 M)의 용액을 사용하여 수행된다. 최종 사이클을 위하여, 목적 변형을 갖는 포스포라미다이트, 예컨대 접합체 기를 부착하기 위한 C_6 연결기 또는 접합체 기 자체가 사용될 수 있다. 포스포르티오에이트 연결기의 도입을 위한 티올화가 잔탄 하이드라이드(아세토니트릴/피리딘 9:1 중 0.01 M)를 사용함으로써 수행된다. 포스포르다이에스터 연결기는 THF/피리딘/물 7:2:1 중 0.02 M 요오드를 사용하여 도입될 수 있다. 나머지 시약은 올리고뉴클레오티드 합성에 전형적으로 사용되는 것들이다.

[0561] 고체 상 합성 후 접합을 위하여, 시판 중인 C_6 아미노 연결기 포스포라미다이트가 고체 상 합성의 마지막 사이클에 사용될 수 있고, 탈보호 및 고체 지지체로부터의 절단 후, 아미노연결되고 탈보호된 올리고뉴클레오티드가

단리된다. 접합체는 표준 합성 방법을 사용하는 작용기의 활성화에 의해 도입된다.

[0562] 다르게는, 접합체 모이어티는, 국제 특허출원 제PCT/EP2015/073331호 또는 유럽 특허출원 제15194811.4호에 기술된 GalNAc- 또는 GalNAc-클러스터 포스포라미다이트를 사용함으로써, 고체 지지체 상에 고정하면서 올리고뉴클레오티드에 첨가될 수 있다.

[0563] *RP-HPLC에 의한 정제:*

[0564] 조질 화합물을 페노메넥스 주피터(Phenomenex Jupiter) C18 10 μ 150 x 10 mm 컬럼 상에서 제조용 RP-HPLC에 의해 정제한다. 0.1 M 암모늄 아세테이트 pH 8 및 아세토니트릴을 완충액으로서 5 mL/분의 유량으로 사용한다. 수집된 분획을 동결건조하여 정제된 화합물을 전형적으로 백색 고체로서 수득한다.

[0565] *약어:*

[0566] DCI: 4,5-다이시아노이미다졸

[0567] DCM: 다이클로로메탄

[0568] DMF: 다이메틸포름아미드

[0569] DMT: 4,4'-다이메톡시트라이틸

[0570] THF: 테트라하이드로퓨란

[0571] Bz: 벤조일

[0572] Ibu: 이소부티릴

[0573] RP-HPLC: 역상 고성능 액체 크로마토그래피

[0574] ***T_m 검정***

[0575] 올리고뉴클레오티드 및 RNA 표적(포스페이트 연결된, PO) 듀플렉스를 500 mL RNase-부재 물 중에서 3 mM까지 희석하고, 500 mL 2x T_m-완충액(200 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 20 mM Na 포스페이트, pH 7.0)과 혼합한다. 용액을 3분 동안 95℃까지 가열하고, 이어서 30분 동안 실온에서 어닐링(annealing)하였다. 듀플렉스 용융 온도(T_m)를, 펠티어(Peltier) 온도 프로그래머 PTP6이 장착된 람다(Lambda) 40 UV/VIS 분광광도계 상에서 PE 템프랩(Templab) 소프트웨어(퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 사용하여 측정하였다. 온도는 20℃에서 95℃까지 상승하고, 이어서 25℃까지 하락한다(260 nm에서 흡광도를 기록한다). 용융 및 어닐링 둘 다의 제1 미분계수 및 국소 최대치를 사용하여 듀플렉스 T_m을 평가하였다.

[0576] ***조직 특이적 시험관내 연결기 절단 검정***

[0577] 시험될 생체절단성 연결기(예컨대, DNA 포스포다이에스터 연결기(PO 연결기))를 갖는 FAM-표지된 올리고뉴클레오티드에 관련 조직(예컨대, 간 또는 신장) 및 혈청의 균질 현탁액을 사용하는 시험관내 절단을 수행하였다.

[0578] 조직 및 혈청 샘플을 적합한 동물(예컨대, 마우스, 원숭이, 돼지 또는 래트)로부터 수집하고, 균질화 완충액(0,5% 이게팔(Igepal) CA-630, 25 mM 트리스(Tris) pH 8.0, 100 mM NaCl, pH 8.0(1 N NaOH로 조정됨) 중에서 균질화시킨다. 조직 균질 현탁액 및 혈청 올리고뉴클레오티드로 하여 200 μg/g 조직의 농도까지 스파이킹(spiking)한다. 샘플을 37℃에서 24시간 동안 항온처리하고, 이어서 샘플을 페놀-클로로폼으로 추출한다. 다이오넥스(Dionex) DNApac p-100 컬럼 및 10 mM로부터 1 M까지의 나트륨 퍼클로레이트(pH 7.5) 구배를 사용하는 다이오넥스 얼티메이트(Ultimate) 3000 상에서 AIE HPLC 분석을 상기 용액에 수행하였다. 615 nm에서의 형광 검출기 및 260 nm에서의 uv 검출기를 둘 다 사용하여 절단되거나 비-절단된 올리고뉴클레오티드의 함량을 표준에 대해 측정하였다.

[0579] ***S1 뉴클레아제 절단 검정***

[0580] S1 뉴클레아제 민감성 연결기(예컨대, DNA 포스포다이에스터 연결기(PO 연결기))를 갖는 FAM-표지된 올리고뉴클레오티드에 S1 뉴클레아제 추출물 또는 혈청 중에서 시험관내 절단을 수행하였다.

[0581] 100 μM의 올리고뉴클레오티드에 뉴클레아제 완충액 중 S1 뉴클레아제(100 μL 당 60 U)를 사용하여 20 및 120 분 동안 시험관내 절단을 수행하였다. EDTA를 완충액 용액에 첨가함으로써, 효소적 활성화를 중단시킨다. 다

이오넥스 얼티메이트 3000 상에서 다이오넥스 DNApac p-100 컬럼 및 10 mM로부터 1 M까지의 나트륨 퍼클로레이트(pH 7.5)의 구배를 사용하여 상기 용액에 AIE HPLC 분석을 수행하였다. 615 nm에서의 형광 검출기 및 260 nm에서의 uv 검출기를 둘 다 사용하여 절단되거나 비-절단된 올리고뉴클레오티드의 함량을 표준에 대해 측정하였다.

[0582] ***간 단핵 세포의 제조***

[0583] AAV/HBV 마우스로부터 간 세포를 문헌[Tupin et al 2006 Methods Enzymol 417:185-201]에 기술된 방법에 따라 (작은 변형을 가짐) 후술된 바와 같이 준비하였다. 마우스 안락사 후, G25 바늘을 갖는 주사기를 사용하여 간문맥을 통해 10 mL의 멸균 PBS를 간에 관류하였다. 기관이 엷어질 때, 기관을 행크 균형 염 용액(HBSS)(깁코(GIBCO: 등록상표) HBSS, 24020) + 5% 보체제거된 우태 혈청(FCS)에서 수확하였다. 수확된 간을 100 μm 세포-여과기(cell-strainer)(비디 팔콘(BD Falcon), 352360)에 천천히 통과시키고, 세포를 30 mL의 HBSS + 5 % FCS에 현탁하였다. 세포 현탁액을 50 g로 5분 동안 원심분리하였다. 이어서, 상청액을 289 g로 4℃에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후, 상청액을 폐기하고, 펠렛을 실온에서 15 mL의 35% 등장성 퍼콜(퍼콜) 용액(RPMI 1640(깁코, 31870)으로 희석된 지이 헬스케어(GE Healthcare) 퍼콜 #17-0891-01)에 재현탁하고, 15 mL 튜브에 옮겼다. 세포를 1,360 g로 실온에서 25분 동안 더욱 원심분리하였다. 상청액을 흡기에 의해 폐기하고, 단핵 세포를 함유하는 펠렛을 HBSS + 5% FCS로 2회 세척하였다.

[0584] 세포를 완전 매질(10% FCS(하이클론(Hyclon), # SH30066, 로트 APG21570), 100 U/mL 페니실린 + 100 μg/mL 스트렙토마이신 + 0.3 mg/mL L-글루타민(깁코, 10378), 1X 비-필수 아미노산(깁코, 11140), 10 mM 헤페스(Hepes)(깁코, 15630), 1 mM 나트륨 피루베이트(깁코, 11360) 및 50 μM β-머캡토에탄올(LKB, 1830)이 보충된 α-최소 필수 매질(깁코, 22571))에서 배양하였다.

[0585] ***세포의 표면 표지***

[0586] 세포를 U-저부 96-웰 플레이트에 시딩하고, PBS FACS(1% 소 혈청 알부민 및 0.01% 나트륨 아자이드를 함유하는 PBS)로 세척하였다. 래트 항-마우스 CD16/CD32 항체 및 생존력 마커 LD 픽서블 옐로우(fixable yellow), 써모피셔, L34959를 함유하는 5 μL의 PBS FACS와 함께 세포를 4℃에서 어둠 하에 10분 동안 항온처리하였다. 이어서, 세포를 어둠에서 4℃에서 20분 동안 NK P46 BV421에 대한 단클론성 항체(Mab)(래트 Mab 항-마우스 NK P46, 바이오레전드(Biolegend), 137612) 및 F4/80(래트 Mab 항-마우스 F4/80 FITC, 비디 바이오레전드, 123108)을 함유하는 25 μL의 PBS FACS로 염색하고, 2개의 추가적인 표면 마커 PD1(래트 Mab 항-마우스 PD1 PE, 비디 바이오사이언시스(BD Biosciences), 551892) 및 PD-L1(래트 Mab 항-마우스 PD-L1 BV711, 바이오레전드, 124319)을 또한 첨가하였다.

[0587] ***세포내 사이토킨 염색(ICS) 검정***

[0588] ICS 검정을 비장세포 및 간 단핵 세포 둘 다 상에서 수행하였다. 세포를 U-저부 96-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 갖는 플레이트를 음성 대조군으로 완전한 매질 단독에서, 또는 2 μg/mL의 농도로 표 9에 기술된 펩티드를 갖는 매질에서 37℃에서 밤새 항온처리하였다. 2 μg/mL의 브레펠딘(Brefeldin) A(시그마(Sigma), B6542)를 항온처리 1시간 후에 첨가하였다.

[0589] 밤새 배양 후, 세포를 PBS FACS로 세척하고, 래트 항-마우스 CD16/CD32 항체 및 생존력 마커 LD 픽서블 옐로우, 써모피셔, L34959를 함유하는 5 μL의 PBS FACS와 함께 4℃에서 어둠에서 10분 동안 항온처리하였다. 이어서, Mab를 함유하는 25 μL의 PBS FACS로 세포를 4℃에서 어둠에서 20분 동안 염색하였다. 혼합물은 CD3에 대한 단클론성 항체(햄스터 Mab 항-마우스 CD3-PerCP, 비디 바이오사이언시스, 553067), CD8(래트 Mab 항-마우스 CD8-APC-H7, 비디 바이오사이언시스, 560182), CD4(래트 Mab 항-마우스 CD4-PE-Cy7, 비디 바이오사이언시스, 552775) 및 NK 세포(래트 Mab 항-마우스 NK P46 BV421, 바이오레전드, 137612)로 구성된다. 세포를 수차례 세척한 후에 고정하고, 사이토픽스/사이토펌(Cytofix/Cytoperm)으로 실온에서 어둠에서 20분 동안 투과시키고, 4℃의 펌/워쉬(Perm/Wash) 용액(비디 바이오사이언시스, 554714)으로 세척하였다.

[0590] IFNγ에 대한 항체(래트 Mab 항-마우스 IFNγ-APC, 클론 XMG1.2, 비디 바이오사이언시스, 554413) 및 종양 괴사 인자 알파(TNFα)(래트 Mab 항-마우스 TNFα-FITC, 클론 MP6-XT22; 1/250(비디 바이오사이언시스 554418))에 의한 세포내 사이토킨 염색을 4℃에서 어둠에서 30분 동안 수행하였다. MACSQuant 분석기를 사용하는 유동 세포분석에 의한 분석 전에, 세포를 펌/워쉬로 세척하고, 1% 폼알데하이드를 함유하는 PBS FACS에서 재현탁하였다.

[0591] 살아있는 CD3+CD8+CD4- 및 세포 CD3+CD8-CD4+를 게이팅(gating)하고, 점 도표 상에 제시한다. 2개의 영역은

각각의 사이토킨에 대한 양성 세포를 위한 게이트로 정의된다. 이러한 게이트에서 발견되는 경우의 수를 모집단 내의 경우의 총 수로 나누어 반응하는 T-세포의 백분율을 산출한다. 각각의 마우스의 경우, 단독의 매질에서 수득되는 백분율은 배경으로서 간주되었고, 펩티드 자극에 의해 수득된 백분율에서 차감되었다.

[0592] 가능성의 역치를 실험 배경에 따라 정의하였다(즉, 매질 단독 조건에서 각각의 군으로부터 수득된 염색된 세포의 평균 백분율 + 2의 표준 편차). 5개 이상의 경우에 나타낸 사이토킨의 백분율만이 양성으로서 간주되었다.

[0593] [표 9]

[0594] HBsAg(S2+S)의 HBV 코어 단백질 및 외피 도메인(Envelope domain)에 함유된 HLA-A2/DR1 제한된 에피토프.

단백질	개시 위치	종결 위치	서열	HLA 제한	참고문헌
코어	18	27	FLPSDFFPSV (서열번호 773)	A2	Bertoletti et al Gastroenterology 1997;112:193-199
	111	125	GRETVLEYLVSFGVW (서열번호 774)	DR1	(Bertoletti et al Gastroenterology 1997;112:193-199
외피 (S2+S)	114	128	TTFHQTLQDPRVRGL (서열번호 775)	DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	179	194	QAGFFLLTRILTIPQS (서열번호 776)	A2 + DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	183	191	FLLTRILTI (서열번호 777)	A2	Sette et al J Immunol 1994;153:5586-5592.
	200	214	TSLNFLGGTTVCLGQ (서열번호 778)	A2 + DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	204	212	FLGGTTVCL (서열번호 779)	A2	Rehermann et al J Exp Med 1995;181:1047-1058.
	335	343	WLSLLVPFV (서열번호 780)	A2	Nayersina et alJ Immunol 1993;150:4659-4671.
	337	357	SLLVPFVQWFVGLSPTVWLSV (서열번호 781)	A2 + DR1	Loirat et al J Immunol 2000;165:4748-4755
	348	357	GLSPTVWLSV (서열번호 782)	A2	Loirat et al J Immunol 2000;165:4748-4755
	370	379	SILSPFLPLL (서열번호 783)	A2	Mizukoshi et al J Immunol 2004;173:5863-5871.

[0595]

[0596] **실시예 1 - 시험관내 효능 시험**

[0597] 유전자 워크(gene walk)를 주로 16 내지 20량체 갭머를 사용하는 인간 PD-L1 전사체를 가로질러 수행하였다. 효능 시험을 인간 백혈병 단핵구 세포주 THP1 및 인간 비-호지킨 K 림프종 세포주(카르파스-299)에서 시험관내 실험으로 수행하였다.

[0598] 세포주

[0599] THP1 및 카르파스(Karpas)-299 세포주를 인증된 세포 배양을 위한 유럽 콜렉션(European Collection of Authenticated Cell Cultures: ECACC)으로부터 원래 구입하였고, 5% CO_2를 갖는 37℃의 가습된 인큐베이터에서 공급자에 의해 추천된 바와 같이 유지하였다.

[0600] 올리고뉴클레오티드 효능

[0601] THP-1 세포(RPMI-글루타맥스(GLutamax) 중 3.104, 10% FBS, 1% 펜-스트렙(Pen-Strep)(써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))를 96-웰 환저 플레이트 내로 올리고뉴클레오티드(4 내지 5 μL)에 첨가하고, 100

μL/웰의 최종 부피로 6일 동안 배양하였다. 올리고뉴클레오티드를 하나의 단일 농도(20 μM) 및 25 내지 0.004 μM(물 중 1:3 희석)의 투여량-범위 농도에서 선별하였다. 제조사의 지시에 따라 MagNA 퓨어(Pure) 96 시스템(로슈 다이아그노스틱스(Roche Diagnostics)) 상에서 MagNA 퓨어 96 세포 RNA 대용량 키트를 사용하여 전체 mRNA를 추출하였다. 유전자 발현 분석을 위하여, 표적화 내생 대조군으로서 사용된 인간 PD-L1 및 ACTB를 표적화하는 사전-디자인된 타크만(Taqman) 프라이머(써모 피셔 사이언티픽)를 갖는 콴트스튜디오(QuantStudio) 머신(어플라이드 바이오시스템스(Applied Biosystems)) 상에서 타크만 RNA-to-ct 1-단계 키트(써모 피셔 사이언티픽)를 사용하여 RT-qPCR을 수행하였다. 2(-델타 델타 C(T)) 방법 및 대조군 샘플(비-처리된 세포)과 비교되는 %인 억제율을 사용하여 상대적인 PD-L1 mRNA 발현 수준을 계산하였다.

[0602] 카르파스-299 세포를 RPMI 1640, 2 mM 글루타민 및 20% FBS(시그마)에서 배양하였다. PBS에 용해된 올리고뉴클레오티드 접합체의 첨가 전에 24시간 동안 항온처리된 96 웰 플레이트 중에서 세포를 10,000 세포/웰로 평판배양하였다. 올리고뉴클레오티드의 최종 농도는 100 μL/웰의 최종 부피에서 5 μM의 단일 투여량이거나, 100 μL 배양 부피에서 50 μM, 15.8 μM, 5.0 μM, 1.58 μM, 0.5 μM, 0.158 μM, 0.05 μM로부터 0.0158 μM까지의 범위의 투여 반응으로 첨가되었다. 올리고뉴클레오티드 화합물의 첨가 후 3일에 세포를 수확하였고, 제조사의 지시에 따라 퓨어링크 프로(PureLink Pro) 96 RNA 정제 키트(암바이온(Ambion))를 사용하여 RNA를 추출하였다. 제조사의 지시에 따라 M-MLT 역전사효소, 랜덤 10량체 레트로스크립트(RETROscript), RNase 억제제(암바이온) 및 100 mM dNTP 세트(인비트로겐(Invitrogen), PCR 등급)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자 발현 분석을 위하여, PD-L1(어플라이드 바이오시스템스; Hs01125299_m1) 및 TBP(어플라이드 바이오시스템스; 4325803)를 위한 타크만 프라이머 검정으로 설정된 듀플렉스에서 타크만 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(Taqman Fast Advanced Master Mix)(2X)(암바이온)를 사용하여 qPCR을 수행하였다. 상대적인 PD-L1 mRNA 발현 수준은 대조군 샘플(PBS-처리된 세포)의 %로서 표 10에 제시된다.

[0603] [표 10]

[0604] THP1 및 카르파스-299 세포주에서 항-PD-L1 화합물의 시험관내 효능(n=3 실험으로부터의 평균). PD-L1 mRNA 수준은 카르파스-299 세포 중 TBP 또는 THP1 세포 중 ACTB로 정규화되고, 대조군(PBS-처리된 세포)의 %로서 제시된다.

[0605]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
4_1	50	1	32	11	TAattggctctacTGC	236
5_1	25	5	9	6	TCGCataagaatgaCT	371
6_1	29	2	15	5	TGaacacacagtcgCA	382
7_1	27	7	3	1	CTGaacacacagtCGC	383
8_1	23	4	11	3	TCTgaacacacagtCG	384
9_1	32	3	19	6	TTCtgaacacacagTC	385
10_1	57	5	39	16	ACaagtcatgttaCTA	463
11_1	75	5	37	12	ACacaagtcatgttAC	465
12_1	22	2	10	3	CTtacttagatgcTGC	495
13_1	33	4	23	11	ACttacttagatgCTG	496
14_1	33	7	21	6	GACttacttagatgCT	497
15_1	41	6	18	10	AGacttacttagaTGC	498
16_1	96	14	40	7	GCAggaagagactTAC	506
17_1	22	2	9	3	AATAaattccgttCAGG	541
18_1	34	6	21	9	GCAAataaattcCGTT	545
18_2	51	4	27	11	GCAaataaattccGTT	545
19_1	38	5	23	7	AGCAaataaattcCGT	546
20_1	73	8	56	15	CAGAgcaaataaatTCC	548
21_1	83	8	65	10	TGGAcagagcaaataAAT	551
22_1	86	6	80	8	ATGGacagagcaAATA	554
23_1	44	4	30	2	CAgaatggacagaGCA	558
24_1	63	10	40	11	TTCtcagaatggacAG	562
25_1	31	1	39	5	CTGAactttgacATAG	663
26_1	60	4	56	19	AAgacaaacccagacTGA	675
27_1	36	4	34	10	TATAagacaaacccAGAC	678
28_1	40	4	28	13	TTATaagacaaaccCAGA	679
29_1	30	2	18	6	TGTTataagacaaaCCC	682
30_1	77	3	67	10	TAGAacaatggtaCTTT	708
31_1	81	17	20	14	GTAGaacaatggtaCT	710
32_1	29	5	14	8	AGGtagaacaatgGTA	712
33_1	32	1	43	20	AAGAggtagaacaATGG	714
34_1	70	4	35	13	GCatccacagtaaaTT	749
35_1	83	2	66	21	GAaggttatttaaTTC	773
36_1	18	2	15	5	CTAAtcgaatgcaGCA	805
37_1	64	7	35	10	TACccaatctaatCGA	813
38_1	69	1	49	13	TAGttacccaatcTAA	817
39_1	49	5	26	9	CATttagttacccAAT	821

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
40_1	23	7	8	2	TCAtttagttaccCAA	822
41_1	24	6	12	3	TTcatttagttaCCCA	823
42_1	51	7	40	5	GAATtaatttcattTAGT	829
43_1	71	9	45	3	CAGTgaggaattaATTT	837
44_1	60	5	45	17	CCAAcagtgaggAATT	842
45_1	63	1	37	15	CCCaacagtgaggAAT	843
46_1	31	3	29	12	TAtacccaacagtgAGG	846
47_1	44	3	27	0	TTatacccaacagTGAG	847
48_1	38	3	26	6	TTTatacccaacagTGA	848
49_1	20	4	7	1	CCTttatacccaaCAG	851
50_1	22	3	6	2	TAACctttatacCCAA	854
51_1	28	1	29	16	AATaacctttataCCCA	855
52_1	80	11	48	10	GTAaataacctttaTA	859
53_1	54	4	37	14	ACTGtaaataacctTTAT	860
54_1	81	4	53	15	ATAtatatgcaatgAG	903
55_1	86	12	70	15	AGatatatatgcaaTG	905
56_1	56	8	27	7	GAGatatatatgcAAT	906
57_1	28	7	13	5	CCagagatatataTGC	909
58_1	88	13	69	23	CAATattccagagATAT	915
59_1	29	3	14	6	GCAAtattccagagATA	916
60_1	25	3	14	3	AGCaatattccagaGAT	917
61_1	29	4	17	2	CAGcaatattccAGAG	919
62_1	27	3	14	3	AATCagcaatattCCAG	921
63_1	23	6	12	6	ACAAtcagcaataTTCC	923
64_1	53	9	43	15	ACtaagtagttacactTCT	957
65_1	32	5	14	6	CTAAgtagttacactTC	958
66_1	35	4	31	6	GACtaagtagttacaCTT	959
67_1	64	10	55	14	TGActaagtagtTACA	962
68_1	62	11	57	16	CTTTgactaagtagTTA	964
69_1	42	9	59	13	CTCtttgactaagTAG	967
70_1	81	6	56	12	GCTCtttgactaagTA	968
71_1	27	3	39	9	CCttaaatactgtTGAC	1060
72_1	75	5	36	7	CTtaaatactgttgAC	1060
73_1	35	6	43	13	TCCttaaatactgTTG	1062
74_1	57	4	79	25	TCTCcttaaatactgTT	1063
75_1	53	6	28	6	TAtcatagttctCCTT	1073
76_1	26	4	9	2	AGTatcatagttcTCC	1075
77_1	74	5	39	12	GAgtatcatagttCTC	1076
78_1	49	5	35	6	AGagtatcatagTTCT	1077
78_2	74	6	36	8	AGAgtatcatagtTCT	1077

[0606]

[0607]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
79_1	19	2	19	13	CAGagtatcatagTTC	1078
80_1	23	2	26	2	TTCAgagtatcataGT	1080
81_1	35	3	36	11	CTTcagagtatcATAG	1081
82_1	24	6	20	7	TTCTtcagagtatcaTA	1082
83_1	20	2	16	2	TTTcttcagagtaTCAT	1083
84_1	33	4	37	10	GAGAaaggctaagTTT	1099
85_1	42	2	35	18	GAcactcttgtaCATT	1213
86_1	50	4	54	8	TGagacactcttgtaCA	1215
87_1	50	8	28	8	TGagacactcttgTAC	1216
88_1	61	4	33	6	CTttattaaactCCAT	1266
89_1	71	8	43	12	ACCAaactttattaAA	1272
90_1	62	5	42	9	AAACctctactaagTG	1288
91_1	22	3	12	5	AGattaagacagtTGA	1310
92_1	46	3	ND	ND	AAgtaggagcaagaGGC	1475
93_1	42	4	60	24	AAAGtaggagcaagAGG	1476
94_1	86	15	46	10	GTtaagcagccaggAG	1806
95_1	66	6	82	27	AGggtaggatgggtAG	1842
96_1	83	19	62	36	AAGggtaggatgggTA	1843
97_1	60	9	69	5	CAAgggtaggatggGT	1844
97_2	76	13	34	7	CAagggtaggatggGT	1844
98_1	65	8	76	28	CCaagggtaggatgGG	1845
99_1	61	2	75	17	TCcaagggtaggatGG	1846
100_1	83	4	82	13	CTTCcaagggtaggAT	1848
101_1	45	3	52	14	ATCttccaagggtagGA	1849
102_1	29	2	17	7	AGaagtgatggctCATT	1936
103_1	26	3	22	1	AAGaagtgatggcTCAT	1937
104_1	34	6	22	2	GAAgaagtgatggcTCA	1938
105_1	41	5	21	5	ATGAaatgtaaacTGGG	1955
106_1	40	8	29	6	CAATgaaatgtaaaCTGG	1956
107_1	24	3	16	4	GCAAtgaaatgtaaACTG	1957
108_1	30	4	20	6	AGCAatgaaatgtaAACT	1958
109_1	44	4	34	14	GAGCaatgaaatgtAAAC	1959
110_1	18	1	13	3	TGaattcccatatcCGA	1992
111_1	69	8	35	8	AGaattatgaccaTAT	2010
112_1	77	7	38	10	AGGtaagaattatGACC	2014
113_1	97	10	56	13	TCAGgtaagaattaTGAC	2015
114_1	69	8	54	21	CTTCaggtaagaatTATG	2017
115_1	91	7	115	42	TCTTcaggtaagaATTA	2019
116_1	88	6	104	36	CTTCttcaggtaaGAAT	2021
117_1	85	6	118	17	TCTTcttcaggtaaGAA	2022

[0608]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
118_1	105	14	102	9	TCTtcttcaggtaAGA	2023
119_1	37	2	76	18	TGGtctaagagaaGAAG	2046
120_1	46	6	81	11	GTTGgtctaagagAAG	2049
121_1	74	11	64	4	AGTtggtctaagAGAA	2050
122_1	74	9	55	21	CAgttggtctaagAGAA	2050
123_1	65	9	95	21	GCAgttggtctaagagAA	2050
124_1	63	7	ND	ND	CAGTtggtctaagaGA	2051
125_1	65	6	ND	ND	GCagttggtctaagaGA	2051
126_1	67	14	104	34	GCagttggtctaaGAG	2052
127_1	22	6	10	3	CTcatatcagggCAGT	2063
128_1	50	4	46	9	CACAcatgttctttaAC	2087
129_1	22	4	12	12	TAAatacacacatgTTCT	2092
130_1	24	2	43	28	GTAAatacacacatgTTC	2093
131_1	33	3	20	12	TGTAaatacacacaTGTT	2094
132_1	73	17	57	21	GATCatgtaaatacACAC	2099
133_1	47	5	28	14	AGATcatgtaaataCACA	2100
134_1	35	6	26	11	CAAAgatcatgtaaatACAC	2101
135_1	30	2	14	3	ACAAagatcatgtaaaTACA	2102
136_1	52	6	24	18	GAATacaaagatcaTGTA	2108
137_1	33	5	20	6	AGAAtacaaagatcATGT	2109
138_1	37	1	22	15	CAGAatacaaagatCATG	2110
139_1	85	6	53	8	GCAGaatacaaagATCA	2112
140_1	79	4	40	6	AGGCagaatacaaagAT	2114
141_1	56	2	53	20	AAGGcagaatacaaAGA	2115
142_1	28	5	20	5	ATTagtgagggacGAA	2132
143_1	26	2	22	10	CAttagtgagggaCGA	2133
144_1	29	6	16	4	GAgggtgatggatTAG	2218
145_1	45	6	22	5	TTaggagtaataAAGG	2241
146_1	65	7	44	9	TTAatgaatttggtTG	2263
147_1	84	8	43	10	CTttaatgaatttgGT	2265
148_1	32	0	15	3	CATGgattacaactAA	2322
149_1	33	2	20	4	TCatggattacaaCTA	2323
150_1	29	1	11	3	GTCatggattacaaCT	2324
151_1	64	2	40	9	CAttaaatctagTCAT	2335
152_1	97	8	63	22	GACAttaaatctagTCA	2336
153_1	92	7	ND	ND	AGGGacattaaatcTA	2340
154_1	35	4	25	15	CAAAgcattataaCCA	2372
155_1	34	3	24	6	ACttactaggcaGAAG	2415
156_1	102	6	113	18	CAGAgttaactgtaCA	2545
157_1	102	10	103	15	CCAGagttaactgtAC	2546

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
158_1	88	7	95	18	GCcagagttaactgTA	2547
159_1	78	10	ND	ND	TGggccagagttaaCT	2550
160_1	59	5	26	5	CAgcatctatcagaCT	2576
161_1	78	8	42	10	TGAaataacatgagTCAT	2711
162_1	31	6	ND	ND	GTGaaataacatgAGTC	2713
163_1	18	2	11	3	TCTGtttatgtcacTG	2781
164_1	56	5	29	9	GTCTgtttatgtcaCT	2782
165_1	37	8	12	5	TGgtctgtttatGTCA	2784
166_1	39	1	19	3	TTGGtctgtttatgTC	2785
167_1	41	3	35	14	TCacccattgtttaAA	2842
168_1	18	3	14	4	TTcagcaaatatTCGT	2995
169_1	36	8	13	2	GTGtgttcagcaaATAT	2999
170_1	18	2	11	4	TCTattgttaggtATC	3053
171_1	67	4	26	12	ATtgcccatcttacTG	3118
172_1	71	2	33	9	TATtgcccatcttaCT	3119
173_1	47	4	20	5	AAatattgcccatCTT	3122
174_1	74	4	34	7	ATAaccttatcataCA	3174
175_1	98	19	44	12	TAtaaccttatcaTAC	3175
176_1	100	10	64	11	TTAtaaccttatcaTA	3176
177_1	72	38	28	5	TTTataaccttatCAT	3177
178_1	47	6	34	6	ACtgctattgctaTCT	3375
179_1	41	3	23	6	AGgactgctattgCTA	3378
180_1	32	6	27	7	GAGgactgctattgCT	3379
181_1	83	1	46	20	ACgtagaataataaCA	3561
182_1	94	4	52	9	CCaagtgatataATGG	3613
183_1	49	2	16	3	TTagcagaccaaGTGA	3621
184_1	96	3	26	5	GTttagcagaccaaGT	3623
185_1	78	3	46	10	TGacagtgattataTT	3856
186_1	88	5	45	21	TGTCcaagatattgAC	3868
187_1	46	6	23	6	GAAtatcctagatTGT	4066
188_1	79	3	45	14	CAaactgagaataTCC	4074
189_1	63	5	27	8	GCAaactgagaataTC	4075
190_1	77	9	37	11	TCCtattacaatcgTA	4214
191_1	74	10	36	9	TTCCtattacaatcGT	4215
192_1	91	8	51	28	ACtaatgggaggatTT	4256
193_1	95	14	67	24	TAgttcagagaataAG	4429
194_1	86	5	47	16	TAacatatagttcAGA	4436
195_1	87	4	81	20	ATAacatatagttcAG	4437
196_1	101	6	67	20	CAtaacatatagttCA	4438
197_1	91	6	60	13	TCataacatatagtTC	4439

[0609]

[0610]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
198_1	61	3	31	10	TAGCtcctaacaatCA	4507
199_1	79	12	49	11	CTCCaatctttgtaTA	4602
200_1	74	2	58	13	TCTCcaatctttgtAT	4603
201_1	53	3	33	10	TCtatttcagccaaTC	4708
202_1	25	4	30	9	CGGaagtcagagtGAA	4782
203_1	32	5	21	7	TTAAgcatgaggaaTA	4798
204_1	34	10	26	11	TGAttgagcacctCTT	4831
205_1	81	12	62	12	GACtaattatttcgTT	4857
206_1	57	7	37	7	TGActaattatttCGT	4858
207_1	26	5	21	6	GTGactaattattTCG	4859
208_1	48	3	33	13	CTGCttgaaatgtgAC	4870
209_1	32	1	34	13	CCtgcttgaaatgTGA	4871
210_1	60	5	50	19	ATcctgcttgaaATGT	4873
211_1	111	8	110	26	ATTataaatctatTCT	5027
212_1	107	1	67	12	GCtaaatactttcATC	5151
213_1	26	3	19	6	CAttgtaacataCCTA	5251
214_1	33	2	20	4	GCattgtaacatacCT	5252
215_1	89	8	53	16	TAatattgcaccaaAT	5295
216_1	25	2	29	9	GAtaatattgcacCAA	5297
217_1	27	1	27	6	AGataatattgcacCA	5298
218_1	79	6	45	11	GCcaagaagataATAT	5305
219_1	159	16	68	14	CACAgccacataaaCT	5406
220_1	90	2	72	12	TTgtaattgtggaaAC	5463
221_1	10	2	11	5	TGacttgtaattgTGG	5467
222_1	82	1	67	18	TCtaactgaaatagTC	5503
223_1	30	1	32	9	GTGgttctaactgaAA	5508
224_1	53	7	53	15	CAatatgggacttgGT	5522
225_1	44	1	33	10	ATGacaatatgggaCT	5526
226_1	49	1	41	14	TATGacaatatgggAC	5527
227_1	77	1	54	15	ATATgacaatatggGA	5528
228_1	100	3	98	29	CTtcacttaataaTTA	5552
229_1	90	12	80	19	CTGCttcacttaatAA	5555
230_1	91	0	79	23	AAgactgcttcacTTA	5559
231_1	49	8	77	34	GAATgccctaattaTG	5589
232_1	17	7	88	33	TGGaatgccctaatTA	5591
233_1	40	5	35	10	GCAaatgccagtagGT	5642
234_1	81	6	72	25	CTAatggaaggattTG	5673
235_1	97	17	87	25	AAtatagaacctaaTG	5683
236_1	98	4	83	21	GAAagaatagaatGTT	5769
237_1	93	2	102	26	ATGggtaatagattAT	5893

[0611]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
238_1	110	24	44	14	GAaagagcacagggTG	6103
239_1	66	5	36	10	CTACatagagggaaTG	6202
240_1	70	4	34	8	GCttcctacataGAGG	6207
241_1	64	NA	33	6	TGCTtcctacatagAG	6208
242_1	30	NA	19	7	TGggcttgaaataTGT	6417
243_1	88	6	69	15	CATtatatttaagaAC	6457
244_1	8	2	5	2	TCggttatgttaTCAT	6470
245_1	18	9	12	4	CActttatctggTCGG	6482
246_1	37	2	19	5	AAAttggcacagcGTT	6505
247_1	46	12	29	8	ACCGtgacagtaaATG	6577
248_1	31	2	25	2	TGggaaccgtgacagTA	6581
249_1	17	2	23	9	CCacatataggtcCTT	6597
250_1	15	6	23	7	CAtattgctaccaTAC	6617
251_1	4	2	9	2	TCAtattgctaccATA	6618
252_1	65	12	85	14	CAATtgtcatatTGCT	6624
253_1	20	2	51	7	CATtcaattgtcataTTG	6626
254_1	48	8	91	41	TTTCtactgggaaTTTG	6644
255_1	11	5	23	8	CAAttagtgcagcCAG	6672
256_1	43	7	62	13	GAATaatgttcttaTCC	6704
257_1	28	2	36	19	CACAaattgaataatgtTCT	6709
258_1	64	4	78	22	CATGcacaaattgaaTAAT	6714
259_1	53	8	104	73	ATCctgcaatttcaCAT	6832
260_1	54	5	59	14	CCaccatagctgatCA	6868
261_1	42	8	52	22	ACcaccatagctgaTCA	6868
262_1	68	5	118	66	CAccaccatagctgaTC	6869
263_1	40	2	73	20	TAgtcggcaccaccAT	6877
264_1	64	6	72	35	CttgtagtcggcaccAC	6880
265_1	56	4	82	35	CttgtagtcggcacCA	6881
266_1	41	5	46	21	CGcttgtagtcggcAC	6883
267_1	51	4	33	14	TCAataaagatcagGC	6942
268_1	61	2	49	10	TGgacttacaagaaTG	6986
269_1	45	7	40	9	ATGgacttacaagaAT	6987
270_1	51	12	36	12	GCTCaagaaattggAT	7073
271_1	17	0	14	5	TACTgtagaacatgGC	7133
272_1	15	3	11	3	GCAAttcatttgaTCT	7239
273_1	64	11	ND	ND	TGaagggaggagggacAC	7259
274_1	52	6	50	28	AGtggtgaagggaggAG	7265
275_1	79	7	ND	ND	TAgtggtgaagggaggAG	7265
276_1	81	6	ND	ND	AtagtggtgaagggaggAG	7265
277_1	70	9	ND	ND	TAgtggtgaagggagGA	7266

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
278_1	84	9	ND	ND	ATagtggtgaagggagGA	7266
279_1	40	6	64	53	TAGtggtgaagggaGG	7267
280_1	42	10	ND	ND	ATAgtggtgaagggaGG	7267
281_1	63	7	ND	ND	GAtagtggtgaagggaGG	7267
282_1	27	7	38	11	ATAGtggtgaagggAG	7268
283_1	60	22	ND	ND	GAtagtggtgaaggGAG	7268
284_1	23	3	97	54	GAgatagtggtgAAGG	7271
285_1	51	6	72	19	CATGggagatagtgGT	7276
286_1	7	1	21	9	ACAAataatggttaCTCT	7302
287_1	66	8	48	20	ACACacaaataatgGTTA	7306
288_1	67	6	58	20	GAGggacacacaaaTAAT	7311
289_1	46	2	50	21	ATATagagaggcTCAA	7390
290_1	22	6	ND	ND	TTgatatagagaGGCT	7393
291_1	11	2	17	3	GCATttgatatagAGA	7397
292_1	70	18	44	8	TTtgcatttgataTAG	7400
293_1	30	1	30	9	CTGgaagaataggtTC	7512
294_1	53	5	42	10	ACTGgaagaataggTT	7513
295_1	56	2	41	15	TACTggaagaatagGT	7514
296_1	80	8	53	13	TGGCttatcctgtaCT	7526
297_1	73	6	52	14	ATggcttatcctGTAC	7527
298_1	75	7	89	25	TATGgcttatcctgTA	7528
299_1	52	5	50	11	GTAtggcttatccTGT	7529
300_1	27	3	31	6	ATgaatatatgccCAGT	7547
301_1	41	8	33	9	GAtgaatatatgCCCA	7549
302_1	8	2	ND	ND	CAAgatgaatataTGCC	7551
303_1	32	5	37	14	GACAacatcagtaTAGA	7572
304_1	28	5	30	23	CAAGacaacatcAGTA	7576
305_1	47	5	41	9	CACtcctagttccTTT	7601
306_1	39	6	33	7	AACactcctagttCCT	7603
307_1	68	3	42	14	TAacactcctagtTCC	7604
308_1	115	5	69	22	CTaacactcctagtTC	7605
309_1	97	16	57	14	TGataacataactgTG	7637
310_1	36	1	23	10	CTgataacataaCTGT	7638
311_1	38	5	24	5	TTTGaactcaagtgAC	7654
312_1	42	3	39	5	TCCTttacttagcTAG	7684
313_1	15	2	14	3	GAgtttggattagCTG	7764
314_1	49	28	ND	ND	TGggatatgacagGGA	7838
315_1	34	6	ND	ND	TGTGggatatgacaGG	7840
316_1	47	3	37	8	ATATggaagggataTC	7875
317_1	11	3	ND	ND	ACAggatatggaaGGG	7880

[0612]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
318_1	48	4	ND	ND	ATTTcaacaggatATGG	7885
319_1	18	2	16	4	GAgtaatttcaacAGG	7891
320_1	74	6	44	5	AGGGagtaatttcAACA	7893
321_1	38	5	56	28	ATTAgggagtaatTTCA	7896
322_1	66	9	32	11	CTtactattaggGAGT	7903
323_1	13	1	15	5	CAgcttactattaGGG	7906
324_1	26	4	20	9	TCAgcttactattAGG	7907
325_1	43	4	17	2	ATTtcagcttactaTTAG	7908
326_1	54	5	57	16	TTcagcttactaTTAG	7908
327_1	28	3	8	2	CAGAtttcagcttaCT	7913
328_1	43	4	37	16	GACtacaactagagGG	7930
329_1	45	12	36	10	AGACtacaactagaGG	7931
330_1	99	8	94	32	AAgactacaactagAG	7932
331_1	59	4	52	19	ATGAtttaattctagtCAAA	7982
332_1	100	2	84	23	TTTaattctagtcAAA	7982
333_1	91	9	60	19	GATTtaattctaGTCA	7984
771_1	74	6	50	5	TGAtttaattctaGTCA	7984
334_1	73	5	54	12	ATGAtttaattctagTCA	7984
335_1	15	1	26	3	GATGatttaattctagtCA	7984
336_1	71	22	49	16	GAtttaattctaGTCA	7984
337_1	43	5	30	11	GATGatttaattctaGTC	7985
338_1	98	5	90	27	TGatttaattctagTC	7985
339_1	87	21	86	2	GAGAtgatttaatTCTA	7988
340_1	92	5	85	27	GAGatgatttaatTCT	7989
341_1	7	1	7	1	CAGAttgatggtagTT	8030
342_1	7	2	24	11	CTcagattgatgGTAG	8032
343_1	3	1	14	9	GTTagccctcagaTTG	8039
344_1	14	5	20	7	TGtattgttagcCCTC	8045
345_1	10	2	11	5	ACttgtattgttAGCC	8048
346_1	52	4	52	17	AGCcagtatcagggAC	8191
347_1	33	3	18	8	TTgacaatagtgGCAT	8213
348_1	7	2	13	5	ACAagtggtatctTCT	8228
349_1	63	8	44	15	AATCtactttacaaGT	8238
350_1	36	2	ND	ND	CAcagtagatgcctGATA	8351
351_1	24	2	30	9	GAacacagtagatGCC	8356
352_1	23	4	103	14	CTTGgaacacagtagAT	8359
353_1	20	2	45	2	ATAtcttggaacaCAG	8364
354_1	25	3	24	6	TCTttaatatcttgGAAC	8368
355_1	39	2	41	10	TGatttctttaatatCTTG	8372
356_1	54	5	88	43	TGatgatttctttaaTATC	8375

[0613]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
357_1	31	4	45	27	AGGctaagtcatgaTG	8389
358_1	18	3	43	20	TTGAtgaggctaagTC	8395
359_1	6	2	11	2	CCAggattatactcTT	8439
360_1	43	5	40	14	GCcaggattataCTCT	8440
361_1	56	8	73	13	CTGccaggattataCT	8442
362_1	23	1	33	7	CAGAaacttatactttaTG	8473
363_1	49	8	45	14	AAGCagaaacttaTACT	8478
364_1	39	6	37	4	GAAgcagaaacttaTACT	8478
365_1	26	4	45	13	TGGaagcagaaacttataCT	8478
366_1	21	4	44	5	TGGaagcagaaacttaTAC	8479
367_1	97	4	70	22	AAgcagaaacttaTAC	8479
368_1	34	3	32	11	TGGaagcagaaactTATA	8480
369_1	71	7	46	19	AAGGgatattatggAG	8587
370_1	51	9	79	38	TGccggaagatttcCT	8641
371_1	45	6	52	25	ATGGattgggagtaGA	8772
372_1	27	7	30	8	AGatggattgggagTA	8774
373_1	13	3	28	6	AAGatggattgggaGT	8775
374_1	42	10	44	11	ACaagatggattGGGA	8777
374_2	41	3	45	14	ACaagatggattggGA	8777
375_1	83	9	88	32	AGAaggttcagaCTTT	8835
376_1	40	5	33	3	GCAgaaggttcagaCT	8837
376_2	28	5	20	4	GCagaaggttcagACT	8837
377_1	70	2	43	8	TGCAgaaggttcagAC	8838
378_1	23	3	55	17	AGtgcagaaggttCAG	8840
378_2	51	6	41	8	AGTGcagaaggttcAG	8840
379_1	34	6	35	7	AAGTgcagaaggttCA	8841
380_1	44	11	24	6	TAagtgcagaagGTTC	8842
381_1	37	5	45	9	TCtaagtgcagaAGGT	8844
382_1	75	5	147	26	CTCaggagttctactTC	8948
383_1	90	10	141	55	CTCaggagttctaCTT	8949
384_1	73	8	234	116	AtggaggtgactcaggAG	8957
385_1	33	4	42	7	ATggaggtgactcagGA	8958
386_1	24	3	29	14	ATggaggtgactcAGG	8959
387_1	37	2	65	15	TAtggaggtgactcAGG	8959
388_1	50	10	81	19	ATatggaggtgactcaGG	8959
389_1	42	5	61	10	TATGgaggtgactcAG	8960
390_1	36	2	76	50	ATatggaggtgacTCAG	8960
391_1	52	6	64	6	CAtatggaggtgactcAG	8960
392_1	63	5	57	6	ATAtggaggtgacTCA	8961
393_1	53	7	64	12	CAtatggaggtgacTCA	8961

[0614]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
394_1	51	5	56	24	CAtatggaggtgACTC	8962
395_1	23	3	41	34	GCatatggaggtgacTC	8962
396_1	34	3	54	10	TGcatatggaggtgacTC	8962
397_1	54	5	71	24	TtgcatatggaggtgacTC	8962
398_1	61	11	59	13	TttgcatatggaggtgacTC	8962
399_1	25	2	30	6	GCatatggaggtgaCT	8963
400_1	34	4	25	9	TGcatatggaggtgaCT	8963
401_1	25	4	31	20	TTGcatatggaggtgaCT	8963
402_1	51	6	37	11	TttgcatatggaggtgaCT	8963
403_1	26	1	33	5	TGCatatggaggtgAC	8964
404_1	25	2	69	19	TTGcatatggaggtGAC	8964
405_1	26	4	24	4	TTTGcatatggaggtgAC	8964
406_1	19	3	20	7	TTTGcatatggaggtGA	8965
407_1	16	5	46	16	TTtgcatatggaGGTG	8966
408_1	9	2	9	6	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
409_1	26	8	109	52	TGggaagtgaagTTCA	9002
410_1	31	5	24	5	ATgggaagtgaagTTC	9003
411_1	49	9	19	10	GATGggaagtgaaGTT	9004
412_1	28	10	17	9	CTGtgatgggaagtGAA	9007
413_1	54	4	34	8	ATTgagtgaatccAAA	9119
414_1	11	1	14	2	AAttgagtgaatCCAA	9120
415_1	58	6	14	2	GATAattgagtgaaTCC	9122
416_1	5	1	16	3	GTGataattgagtGAA	9125
417_1	73	5	61	14	AAGaaaggtgcaaTAA	9155
418_1	86	6	64	13	CAagaaaggtgcAATA	9156
419_1	75	19	64	14	ACAAgaaaggtgcaAT	9157
420_1	75	8	50	13	ATttaaactcacaaAC	9171
421_1	21	8	23	6	CTgttaggttcaGCGA	9235
422_1	54	10	30	5	TCTGaatgaacatTTCG	9260
423_1	11	4	15	5	CTcattgaaggtTCTG	9281
424_1	87	3	52	8	CTAatctcattgaaGG	9286
425_1	95	1	85	13	CCtaatctcattgaAG	9287
426_1	31	7	22	7	ACTttgatctttcAGC	9305
427_1	64	7	49	16	ACtatgcaacacttTG	9315
428_1	18	6	21	3	CAAatagctttatCGG	9335
429_1	19	6	17	4	CCaaatagctttATCG	9336
430_1	35	4	27	8	TCCAaatagctttaTC	9337
431_1	75	8	43	7	GATCcaaatagcttTA	9339
432_1	67	11	32	8	ATgatccaaataGCTT	9341
433_1	53	5	43	6	TATGatccaaatagCT	9342

[0615]

[0616]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
434_1	97	9	66	29	TAAAcagggctggGAAT	9408
435_1	58	12	44	17	ACttaaacagggCTGG	9412
436_1	58	10	30	12	ACacttaaacagGGCT	9414
437_1	87	38	41	3	GAACacttaaacAGGG	9416
438_1	70	4	59	33	AGAGaacacttaaACAG	9418
439_1	83	17	28	9	CTACagagaacaCTTA	9423
440_1	49	12	27	4	ATGctacagagaaCACT	9425
441_1	53	10	24	13	ATAAatgctacagagAACA	9427
442_1	23	6	20	10	AGataaatgctacaGAGA	9430
443_1	48	6	27	7	TAGAgataaatgcTACA	9434
444_1	51	3	32	8	TAGAtagagataaatGCT	9437
445_1	38	5	ND	ND	CAATatactagataGAGA	9445
446_1	52	3	31	1	TACAcaatatactagATAG	9448
447_1	65	6	48	11	CTAcacaatatacTAG	9452
448_1	67	9	29	2	GCTAcacaatatACTA	9453
449_1	103	17	65	15	ATATgctacacaatATAC	9455
450_1	71	13	129	22	TGATatgctacaCAAT	9459
451_1	19	4	9	1	ATGAtatgatatgCTAC	9464
452_1	75	10	45	21	GAGGagagagacaaTAAA	9495
453_1	68	6	43	10	CTAggaggagagagACA	9500
454_1	72	7	79	25	TATTctaggaggagAGA	9504
455_1	31	3	29	9	TTATattctaggagGAG	9507
456_1	38	5	62	17	GTTtatattctaGGAG	9510
457_1	15	6	15	8	TGgagtttatattcTAGG	9512
458_1	34	3	21	3	CGtaccaccactcTGC	9590
459_1	41	5	55	22	TGAGgaaatcattcATTC	9641
460_1	81	8	47	22	TTTGaggaaatcatTCAT	9643
461_1	76	8	39	5	AGGCtaatcctattTG	9657
462_1	93	12	216	12	TTTAggctaatcCTAT	9660
463_1	15	6	30	9	TGCtccagtgtaccCT	9755
464_1	27	3	25	6	TAgtagtactcgATAG	9813
465_1	9	2	7	3	CTAattgtagtagtaCTC	9818
466_1	52	3	32	6	TGctaattgtagTAGT	9822
467_1	68	11	36	16	AGTGctaattgtagTA	9824
468_1	35	6	32	3	GCAAgtgctaattgTA	9827
469_1	91	9	ND	ND	GAGGaaatgaactaattTA	9881
470_1	92	5	ND	ND	CAGGaggaaatgaacTA	9886
471_1	67	5	42	6	CCctagagtcattTCC	9902
472_1	35	5	20	8	ATCttacatgatgaAGC	9925
473_1	13	1	20	5	GACacactcagatttcAG	9967

[0617]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
474_1	24	4	20	2	AGacacactcagatttcAG	9967
475_1	25	4	24	7	AAGacacactcagatttcAG	9967
476_1	26	6	19	4	AGacacactcagattTCA	9968
477_1	28	4	32	13	AAGacacactcagattTCA	9968
478_1	31	8	37	6	AAagacacactcagatTTCA	9968
479_1	63	7	51	26	GAAagacacactcagatTTC	9969
480_1	37	10	ND	ND	AAGAcacactcagatTTC	9969
481_1	41	4	ND	ND	AAAGacacactcagaTTTC	9969
482_1	19	5	48	14	TGAAagacacactcagatTT	9970
483_1	60	8	68	10	TGaaagacacactcaGATT	9971
484_1	42	8	63	22	TGAaagacacactcaGAT	9972
485_1	48	9	41	20	ATTGaaagacacacTCA	9975
486_1	27	6	27	12	TCattgaaagacaCACT	9977
487_1	88	13	121	33	TTCcatcattgaAAGA	9983
488_1	80	12	ND	ND	ATAAtaccacttaTCAT	10010
489_1	13	4	27	15	TTacttaatttcttTGGA	10055
490_1	32	5	60	24	TTAgaactagctttaTCA	10101
491_1	58	10	55	17	GAGgtacaaatatAGG	10171
492_1	4	1	12	3	CTTatgatacaacTTA	10384
493_1	37	6	35	5	TCttatgatacaaCTT	10385
494_1	30	0	27	6	TTCttatgatacaaCT	10386
495_1	27	8	18	3	CAgtttcttatgaTAC	10390
496_1	25	10	25	6	GCAgtttcttatgaTA	10391
497_1	77	6	72	29	TACAaatgtctattagGTT	10457
498_1	66	5	69	17	TGTAcaaatgtctatTAG	10460
499_1	27	10	20	4	AGCatcacaattagTA	10535
500_1	31	10	25	5	CTAatgatagtgaaGC	10548
501_1	21	7	30	8	AGCtaatgatagtgAA	10550
502_1	35	5	39	8	ATGCcttgacatatTA	10565
503_1	64	11	79	26	CTCAagattattgACAC	10623
504_2	25	4	83	32	ACctcaagattaTTGA	10626
504_1	94	7	22	6	ACCtcaagattaTTGA	10626
505_1	31	6	34	10	AACCtcaagattatTG	10627
506_1	55	6	62	17	CACAaacctcaagattaTT	10628
507_1	66	12	40	4	GTActtaattagACCT	10667
508_1	78	5	80	10	AGTActtaattagACC	10668
509_1	36	5	42	15	GTATgaggtggtaaAC	10688
510_1	40	4	48	22	AGgaaacagcagaAGTG	10723
511_1	27	7	13	6	GCacaacccagaggAA	10735
512_1	54	5	ND	ND	CAAgcacaacccagAG	10738

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
513_1	35	7	ND	ND	TTCaagcacaaccCAG	10740
514_1	49	6	52	15	AAttcaagcacaACCC	10742
515_1	72	4	106	49	TAATaattcaagcacaaCC	10743
516_1	43	4	57	21	ACTAataattcaaGCAC	10747
517_1	37	3	60	12	ATAAtactaataattcAAGC	10749
518_1	9	3	6	1	TAgatttgtgagGTAA	11055
519_1	59	10	31	5	AGCCttaattctccAT	11091
520_1	41	4	34	9	AATGatctagagcCTTA	11100
521_1	34	6	34	7	CTAatgatctagaGCC	11103
522_1	52	6	52	17	ACTaatgatctaGAGC	11104
523_1	60	4	54	10	CATtaacatgttctTATT	11165
524_1	57	4	55	8	ACAAgtacattaacatGTTC	11170
525_1	53	6	44	5	TTACaagtacattaaCATG	11173
526_1	54	11	49	17	GCTTtattcatgtTTAT	11195
527_1	34	7	17	5	GCTttattcatgttTA	11196
528_1	11	2	21	4	AGAgctttattcatgtTT	11197
529_1	22	4	33	7	ATAAgagctttattCATG	11200
530_1	30	5	32	15	CATAagagctttaTTCA	11202
531_1	77	8	24	4	AGCAtaagagctTTAT	11205
532_1	8	3	15	6	TAGattgtttagtGCA	11228
533_1	4	2	10	2	GTagattgtttaGTGC	11229
534_1	41	6	33	11	GACAattctagtaGATT	11238
535_1	50	1	37	7	CTGacaattctaGTAG	11241
536_1	49	7	36	6	GCTGacaattctagTA	11242
537_1	59	2	42	11	AGgattaagatacgTA	11262
538_1	28	11	28	4	CAggattaagataCGT	11263
539_1	96	5	20	6	TCAggattaagataCG	11264
540_1	70	11	59	11	TTcaggattaagATAC	11265
541_1	53	5	28	4	AGGAagaaagtttgATTC	11308
542_1	92	13	59	12	TCAAggaagaaagtTTGA	11311
543_1	44	3	67	7	CTCAaggaagaaagTTTG	11312
544_1	43	4	32	4	TGCtcaaggaagaAAGT	11315
545_1	41	7	44	20	AATTatgctcaaggaAGA	11319
546_1	11	4	26	8	TAGGataccacattatGA	11389
547_1	25	4	26	12	CAtaatttattccattcCTC	11449
548_1	64	6	ND	ND	TGCAtaatttattcCAT	11454
549_1	48	17	49	7	ACTGcataatttatTCC	11456
550_1	91	10	92	15	CTAAactgcataattTATT	11458
551_1	85	8	38	9	ATaactaaactgCATA	11465
552_1	86	4	ND	ND	TTAttaataactaaaCTGC	11468

[0618]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
553_1	91	13	92	21	TAGTacattattaataaCT	11475
554_1	50	4	37	7	CATAactaaggacgTT	11493
555_1	41	5	30	7	TCataactaaggaCGT	11494
556_1	80	7	55	13	CGTCataactaaggAC	11496
557_1	86	3	59	11	TCgtcataactaagGA	11497
558_1	51	9	33	12	ATcgtcataactAAGG	11498
559_1	91	6	65	26	GTtagtatcttacATT	11525
560_1	30	3	41	8	CTCtattgttagtATC	11532
561_1	59	8	18	6	AGTatagagttacTGT	11567
562_1	65	11	41	11	TTCCtggtgatactTT	11644
563_1	57	13	45	13	GTTCctggtgatacTT	11645
564_1	57	15	30	7	TGttcctggtgataCT	11646
565_1	17	4	35	4	ATaaacatgaatctCTCC	11801
566_1	16	3	30	4	CTTtataaacatgaaTCTC	11804
567_1	60	5	45	11	CTGtctttataaaCATG	11810
568_1	20	2	19	5	TTgttataaatctgTCTT	11820
569_1	68	9	44	4	TTAaatttattcttgGATA	11849
570_1	76	8	48	12	CTtaaatttattctTGGA	11851
571_1	62	5	66	5	CTTCttaaatttattctTG	11853
572_1	28	4	44	10	TATGtttctcagtAAAG	11877
573_1	29	6	36	11	GAAttatctttaaACCA	11947
574_1	74	6	34	7	CCCttaaatttctaCA	11980
575_1	37	8	30	9	ACACtgctcttgtaCC	11995
576_1	45	14	27	6	TGAcaacactgctCTT	12000
577_1	2	1	12	5	TACAtttattgggcTC	12081
578_1	65	14	39	9	GTacatttattgGGCT	12082
579_1	34	4	53	12	TTGgtacatttatTGG	12085
580_1	41	7	35	6	CATGttggtacattTAT	12088
581_1	11	4	12	5	AATCatgttggtacAT	12092
582_1	96	16	48	9	AAatcatgttggtaCA	12093
583_1	71	15	42	13	GACaagtttggattAA	12132
584_1	46	34	39	6	AAtgttcagatgCCTC	12197
585_1	37	26	28	12	GCttaatgttcagaTG	12201
586_1	75	8	43	12	CGTAcatagcttgaTG	12267
587_1	41	10	28	5	GTGaggaattaggaTA	12753
588_1	41	5	27	9	GTAacaatatggttTG	12780
589_1	67	10	37	7	GAaatattgtagaCTA	13151
590_1	97	10	80	12	TTGaaatattgtagAC	13153
591_1	64	10	47	9	AAgtctagtaatTTGC	13217
592_1	84	7	60	9	GCTCagtagattatAA	13259

[0619]

[0620]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
593_1	42	8	32	9	CATacactgttgcTAA	13296
594_1	101	6	79	17	ATGgtctcaaatcATT	13314
595_1	53	14	46	7	CAATggtctcaaatCA	13316
596_1	47	6	36	6	TTCCtattgattgaCT	13568
597_1	97	12	41	6	TTTCtgttcacaacAC	13600
598_1	85	1	49	11	AGgaacccactaaTCT	13702
599_1	56	3	34	7	TAAatggcaggaacCC	13710
600_1	15	4	24	8	GTAAatggcaggaaCC	13711
601_1	40	6	26	8	TTgtaaatggcagGAA	13713
602_1	59	12	26	6	TTatgagttaggCATG	13835
603_1	62	2	42	10	CCAggtgaaactttAA	13935
604_1	77	9	55	18	CCCttagtcagctCCT	13997
605_1	82	13	42	11	ACccttagtcagCTCC	13998
606_1	74	1	39	10	CAcccttagtcagCTC	13999
607_1	76	9	30	8	TCTcttactaggcTCC	14091
608_1	82	5	50	13	CCtatctgtcatcATG	14178
609_1	82	1	48	12	TCCtatctgtcatcAT	14179
610_1	41	6	50	13	GAGaagtgtgagaaGC	14808
611_1	70	5	84	19	CATCcttgaagtttAG	14908
612_1	64	14	61	16	TAAtaagatggctCCC	15046
613_1	85	2	51	14	CAAggcataataagAT	15053
614_1	47	1	35	10	CCaaggcataatAAGA	15054
615_1	74	8	53	11	TGatccaattctcaCC	15151
616_1	63	4	41	11	ATGatccaattctCAC	15152
617_1	46	7	42	9	CGCttcatcttcacCC	15260
618_1	104	4	15	4	TAtgacactgcaTCTT	15317
619_1	8	3	8	5	GTAtgacactgcaTCT	15318
620_1	21	3	27	10	TGtatgacactgCATC	15319
621_1	37	7	38	11	TTCTcttctgtaagTC	15363
622_1	49	7	36	11	TTctacagaggaACTA	15467
623_1	47	1	32	10	ACTacagttctacAGA	15474
624_1	78	8	69	6	TTCCcacaggtaaaTG	15561
625_1	70	7	ND	ND	ATTAtttgaatatactCATT	15594
626_1	73	7	49	25	TGGGaggaaattatTTG	15606
627_1	80	5	64	11	TGACtcatcttaaaTG	15621
628_1	71	6	66	19	CTGactcatcttaaAT	15622
629_1	31	6	41	6	TTTactctgactcATC	15628
630_1	88	2	68	18	TATtggaggaattaTT	15642
631_1	53	2	27	6	GTAttggaggaattAT	15643
632_1	23	3	39	7	TGgtatacttctctaagTAT	15655

[0621]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
633_1	42	9	33	3	GATCtcttggtataCT	15666
634_1	38	1	30	16	CAgacaactctataCC	15689
635_1	10	2	19	3	AACAtcagacaacTCTA	15693
636_1	13	1	11	3	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	14	2	27	2	TTTAacatcagacaACTC	15695
638_1	101	14	81	16	ATttaacatcagacAA	15698
639_1	14	1	17	1	CCtatttaacatcAGAC	15700
640_1	65	2	ND	ND	TCCctatttaacaTCA	15703
641_1	41	6	42	12	TCAAcgactattgGAAT	15737
642_1	37	2	29	5	CTTAtattctggcTAT	15850
643_1	31	7	35	4	ATCCttatattctgGC	15853
644_1	13	3	8	1	GAtccttatattCTGG	15854
645_1	25	5	20	4	TGAtccttatattCTG	15855
646_1	33	6	54	10	ATTGaaacttgaTCCT	15864
647_1	43	3	27	6	ACtgtcattgaaACTT	15870
648_1	54	7	32	12	TCTtactgtcattgAA	15874
649_1	12	1	25	2	AGgatcttactgtCATT	15877
650_1	13	4	11	3	GCAaatcaactccATC	15896
651_1	10	5	16	3	GTGcaaatcaactCCA	15898
652_1	7	0	36	18	CAATtatttctttgTGC	15910
653_1	21	3	31	7	TGGcaacaattattTCTT	15915
654_1	75	9	73	24	GCTggcaacaatTATT	15919
655_1	21	6	39	6	ATCCatttctactgCC	15973
656_1	25	3	38	8	TAATatctattgattTCTA	15988
657_1	14	2	11	5	TCaatagtgtagggCA	16093
658_1	11	4	10	3	TTCaatagtgtaggGC	16094
659_1	18	1	32	12	AGGTtaattaattcaATAG	16102
660_1	33	7	25	10	CATttgtaatccCTAG	16163
660_2	64	14	31	8	CATttgtaatcccTAG	16163
661_1	48	6	34	6	ACAtttgtaatccCTA	16164
662_2	29	6	23	5	AAcatttgtaatCCCT	16165
662_1	30	6	18	6	AACatttgtaatCCCT	16165
663_1	49	1	26	6	TAaatttcaagttCTG	16184
664_1	17	3	30	10	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
665_1	22	7	40	9	CCAAgtttaaatttCAAG	16189
666_1	89	11	ND	ND	ACCCaagtttaaaTTTC	16192
667_1	60	16	87	8	CAtacagtgacccaagTTT	16199
668_1	65	9	50	12	ACatcccatacagTGA	16208
669_1	83	8	103	4	AGcacagctctaCATC	16219
670_1	80	9	150	36	ATAtagcacagcTCTA	16223

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
671_1	57	14	ND	ND	TCCatatagcacagCT	16226
672_1	53	10	106	8	ATTtccatatagCACA	16229
673_1	78	3	96	14	TTTAtttccatatAGCA	16231
674_1	77	9	31	7	TTTatttccatatAGC	16232
675_1	32	6	ND	ND	AAGGagaggagatTATG	16409
676_1	32	5	24	6	AGTtcttgtgttagCT	16456
677_1	19	4	17	4	GAgttcttgtgttaGC	16457
678_1	14	3	25	3	ATTaattatccatCCAC	16590
679_1	11	2	20	6	ATCaattaattatcCATC	16593
680_1	31	5	40	11	AGAatcaattaattaTCC	16596
681_1	8	3	30	10	TGagataccgtgcaTG	16656
682_1	11	3	ND	ND	AAtgagataccgTGCA	16658
683_1	15	3	33	10	CTGtggttaggctaAT	16834
684_1	45	7	38	7	AagagtaagggtctgtggTT	16842
685_1	24	5	ND	ND	GATGggttaagagTAA	16854
686_1	11	2	ND	ND	AGCagatgggttaaGA	16858
687_1	ND	ND	51	7	TGtaaacatttgTAGC	16886
688_1	83	1	54	11	CCTgcttataaatgTA	16898
689_1	103	4	73	14	TGCCctgcttataaAT	16901
690_1	104	2	64	22	TCttcttagttcaaTA	16935
691_1	ND	ND	60	9	TGgtttctaactACAT	16980
692_1	ND	ND	94	22	AGtttggtttctaaCTA	16983
693_1	8	2	17	5	GAAtgaaacttgcCTG	17047
694_1	98	6	51	9	ATTatccttacatGAT	17173
695_1	48	4	18	4	GTacccaattatcCTT	17180
696_1	94	2	48	9	TGTacccaattatCCT	17181
697_1	31	5	42	13	TTgtacccaattaTCC	17182
698_1	41	4	39	6	TTTgtacccaattaTC	17183
699_1	63	0	28	12	AGCAgcaggttataTT	17197
700_1	99	6	43	12	TGGgaagtggtctGGG	17292
701_1	103	2	28	5	CTGgagagtgataaTA	17322
702_1	52	6	27	9	AATGctggattacgTC	17354
703_1	67	3	37	7	CAatgctggattaCGT	17355
704_1	36	10	80	12	TTgttcagaagtATCC	17625
705_1	19	9	47	9	GAtgatttgcttGGAG	17646
706_1	44	NA	60	9	GAAatcattcacaACC	17860
707_1	46	9	32	9	TTGtaacatctacTAC	17891
708_1	56	0	79	17	CATtaagcagcaagTT	17923
709_1	30	9	46	7	TTActagatgtgagCA	17942
710_1	29	4	36	6	TTtactagatgtgAGC	17943

[0622]

화합물 번호	KARPAS-299 세포 5 μM CMP		THP1 세포 20 μM CMP		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	대조군의 % mRNA	sd	대조군의 % mRNA	sd		
711_1	41	13	41	6	GACcaagcaccttaCA	17971
712_1	36	19	49	11	AGAccaagcacctTAC	17972
713_1	30	6	34	7	ATgggttaaataAAGG	18052
714_1	70	2	24	8	TCaaccagagtattAA	18067
715_1	11	4	26	8	GTCaaccagagtatTA	18068
716_1	126	56	26	6	ATtgtaaagctgaTAT	18135
717_1	73	1	42	10	CAcataattgtaAAGC	18141
718_1	23	9	55	18	GAggtctgctattTAC	18274
719_1	50	1	42	11	TGtagattcaatgCCT	18404
720_1	79	3	39	10	CCtcattatactaTGA	18456
721_1	27	6	30	8	CCttatgctatgacAC	18509
722_1	26	7	50	13	TCCTtatgctatgaCA	18510
723_1	59	1	48	12	AAGatgtttaagtATA	18598
724_1	54	2	50	13	CTgattattaagATGT	18607
725_1	92	10	84	19	TGgaaaggtatgaaTT	18808
726_1	24	8	61	16	ACttgaatggcttgGA	18880
727_1	8	4	51	14	AACttgaatggctTGG	18881
728_1	35	4	35	10	CAATgtgttactatTT	19004
729_1	36	9	53	11	ACAatgtgttactATT	19005
730_1	70	2	41	11	CATCtgctatataaGA	19063
731_1	38	NA	42	9	CCTAgagcaaatacTT	19223
732_1	102	15	15	4	CAGagttaataatAAG	19327
733_1	37	10	8	5	GTTCaagcacaacgAA	19493
734_1	13	1	38	11	AGggttcaagcacAAC	19496
735_1	49	NA	36	11	TGttggagacactgTT	19677
736_1	48	NA	32	10	AAGgaggagttaggAC	19821
737_1	36	NA	64	11	CTATgccatttacgAT	19884
738_1	105	19	66	19	TCaaatgcagaattAG	19913
739_1	44	NA	41	6	AGtgacaatcaaATGC	19921
740_1	107	NA	68	18	AAgtgacaatcaaATG	19922
741_1	102	4	27	6	GTGtaccaagtaacAA	19978
742_1	110	10	30	16	TGGgatgttaaacTGA	20037

[0623]

[0624] **실시예 2 - 투여량 반응 곡선에서 시험관내 효능 시험**

[0625] 표 10으로부터의 올리고뉴클레오티드의 선택을 실시예 1에 기술된 시험관내 효능 검정에서 PBS 중 반-로그 연속 희석(50 μM, 15.8 μM, 5.0 μM, 1.58 μM, 0.5 μM, 0.158 μM, 0.05 μM로부터 0.0158 μM까지의 올리고뉴클레오티드)을 사용하여 카르파스-299 세포에서 시험하였다. IC50 및 최대 억제(% 잔류 PD-L1 발현)를 올리고뉴클레오티드에 대해 평가하였다.

[0626] EC50 계산을 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 6에서 수행하였다. IC50 및 최대 PD-L1 녹다운 수준은 대조군(PBS-처리된 세포)의 %로서 표 11에 제시된다.

[0627] [표 11]

[0628] 염수의 %인 최대 억제 및 카르파스-299 세포주에서의 EC50.

화합물 번호	최대 억제 (% 잔류 PD-L1 발현; % 처리된 염수)		EC50 (μM)		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	11	3.3	0.69	0.11	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	29	1.7	0.06	0.01	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	19	1.7	0.23	0.02	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	14	4.7	0.45	0.12	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	10	1.8	0.19	0.02	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	17	1.3	0.19	0.02	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	23	1.5	0.17	0.01	CCagagatatataTGC	909
77_1	24	2.4	0.16	0.02	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	12	2.4	0.25	0.03	AGattaagacagtTGA	1310
111_1	3	2.0	0.27	0.03	TGaattcccatatcCGA	1992
128_1	11	1.8	0.25	0.03	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	16	2.7	0.28	0.05	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	19	1.6	0.15	0.01	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	36	1.7	0.11	0.02	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	10	1.6	0.22	0.02	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	12	2.0	0.21	0.02	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	1	2.0	0.21	0.02	TGacttgtaattgTGG	5467
233_1	1	4.3	0.89	0.17	TGGaatgccctaatTA	5591
245_1	4	2.0	0.17	0.02	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	7	2.1	0.25	0.03	CActttatctggTCGG	6482
250_1	0	2.5	0.23	0.03	CCacatataggtcCTT	6597
251_1	0	2.8	0.75	0.10	CAtattgctaccaTAC	6617
252_1	3	2.2	0.19	0.02	TCAtattgctaccATA	6618
256_1	5	2.2	0.32	0.03	CAAttagtgcagcCAG	6672
272_1	1	3.2	0.69	0.10	TACTgtagaacatgGC	7133
273_1	3	2.8	0.28	0.04	GCAAttcatttgaTCT	7239
287_1	1	1.4	0.13	0.01	ACAAataatggttaCTCT	7302
292_1	2	2.1	0.21	0.02	GCATttgatatagAGA	7397
303_1	0	1.2	0.21	0.01	CAAgatgaatataTGCC	7551
314_1	3	2.1	0.39	0.04	GAgtttggattagCTG	7764
318_1	3	1.4	0.14	0.01	ACAggatatggaaGGG	7880
320_1	2	2.4	0.22	0.03	GAgtaatttcaacAGG	7891
324_1	0	2.4	0.44	0.05	CAgcttactattaGGG	7906
336_1	0	2.5	0.21	0.03	GATGatttaattctagtCA	7984
342_1	1	2.2	0.12	0.01	CAGAttgatggtagTT	8030
343_1	4	1.8	0.11	0.01	CTcagattgatgGTAG	8032
344_1	0	0.9	0.12	0.01	GTTagccctcagaTTG	8039

[0629]

[0630]

화합물 번호	최대 억제 (% 잔류 PD-L1 발현; % 처리된 염수)		EC50 (μM)		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	Avg	SD	Avg	SD		
345_1	0	2.3	0.36	0.04	TGtattgttagcCCTC	8045
346_1	1	2.1	0.22	0.02	ACttgtattgttAGCC	8048
349_1	4	2.9	0.21	0.03	ACAagtggtatctTCT	8228
359_1	6	2.9	0.39	0.05	TTGAtgaggctaagTC	8395
360_1	0	1.7	0.18	0.02	CCAggattatactcTT	8439
374_1	5	1.7	0.33	0.03	AAGatggattgggaGT	8775
408_1	3	1.8	0.21	0.02	TTtgcatatggaGGTG	8966
409_1	0	1.8	0.21	0.02	AAgtgaagttcaaCAGC	8997
415_1	0	1.4	0.23	0.02	AAttgagtgaatCCAA	9120
417_1	7	0.9	0.15	0.01	GTGataattgagtGAA	9125
424_1	6	3.2	0.19	0.03	CTcattgaaggtTCTG	9281
429_1	5	2.5	0.48	0.05	CAAatagctttatCGG	9335
430_1	1	2.7	0.68	0.09	CCaaatagctttATCG	9336
458_1	0	4.1	0.35	0.07	TGgagtttatattcTAGG	9512
464_1	0	4.1	0.56	0.10	TGCtccagtgtaccCT	9755
466_1	1	2.1	0.21	0.02	CTAattgtagtagtaCTC	9818
474_1	0	2.4	0.27	0.03	GACacactcagatttcAG	9967
490_1	0	1.9	0.29	0.03	TTacttaatttcttTGGA	10055
493_1	3	1.8	0.20	0.02	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	0	3.3	0.63	0.10	GCacaacccagaggAA	10735
519_1	5	1.5	0.15	0.01	TAgatttgtgagGTAA	11055
529_1	0	2.7	0.24	0.03	AGAgctttattcatgtTT	11197
533_1	6	1.5	0.14	0.01	TAGattgtttagtGCA	11228
534_1	5	0.9	0.06	0.00	GTagattgtttaGTGC	11229
547_1	1	1.6	0.26	0.02	TAGGataccacattatGA	11389
566_1	0	3.0	0.40	0.06	ATaaacatgaatctCTCC	11801
567_1	2	2.5	0.34	0.04	CTTtataaacatgaaTCTC	11804
578_1	2	1.3	0.09	0.01	TACAtttattgggcTC	12081
582_1	1	1.6	0.20	0.02	AATCatgttggtacAT	12092
601_1	1	2.1	0.47	0.05	GTAAatggcaggaaCC	13711
619_1	4	3.4	0.44	0.08	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	1	1.2	0.12	0.01	GTAtgacactgcaTCT	15318
636_1	0	1.3	0.19	0.01	AACAtcagacaacTCTA	15693
638_1	0	2.2	0.36	0.04	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	0	2.1	0.21	0.02	TTTAacatcagacaACTC	15695
640_1	2	3.3	0.42	0.06	CCtatttaacatcAGAC	15700
645_1	1	2.9	0.34	0.04	GAtccttatattCTGG	15854
650_1	0	2.4	0.24	0.03	AGgatcttactgtCATT	15877
651_1	4	3.4	0.33	0.05	GCAaatcaactccATC	15896

화합물 번호	최대 억제 (% 잔류 PD-L1 발현; % 처리된 염수)		EC50 (μM)		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	Avg	SD	Avg	SD		
652_1	0	1.3	0.16	0.01	GTGcaaatcaactCCA	15898
653_1	4	2.0	0.09	0.01	CAATtatttctttgTGC	15910
658_1	3	1.6	0.32	0.02	TCaatagtgtagggCA	16093
659_1	5	1.4	0.20	0.01	TTCaatagtgtaggGC	16094
660_1	4	2.1	0.22	0.02	AGGTtaattaattcaATAG	16102
665_1	3	1.8	0.18	0.02	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
678_1	3	2.1	0.43	0.04	GAgttcttgtgttaGC	16457
679_1	0	3.5	0.31	0.05	ATTaattatccatCCAC	16590
680_1	4	1.6	0.12	0.01	ATCaattaattatcCATC	16593
682_1	3	2.4	0.27	0.03	TGagataccgtgcaTG	16656
683_1	0	3.2	0.16	0.03	AAtgagataccgTGCA	16658
684_1	2	2.3	0.25	0.03	CTGtggttaggctaAT	16834
687_1	5	1.3	0.13	0.01	AGCagatgggttaaGA	16858
694_1	0	1.7	0.16	0.02	GAAtgaaacttgcCTG	17047
706_1	15	3.6	0.27	0.06	GAtgatttgcttGGAG	17646
716_1	10	2.1	0.15	0.02	GTCaaccagagtatTA	18068
728_1	5	1.2	0.09	0.01	AACttgaatggctTGG	18881
733_1	0	12.7	8.01	3.62	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	0	14.6	3.49	2.39	GTTCaagcacaacgAA	19493
735_1	0	2.5	0.30	0.04	AGggttcaagcacAAC	19496

[0631]

[0632] 실시예 1에 기술된 시험관내 효능 검정에서 25 μM로부터 0.004 μM까지의 1:3 연속물을 사용하여 표 6으로부터의 올리고뉴클레오티드의 선택을 THP-1 세포에서 시험하였다. IC50 및 최대 억제(% 잔류 PD-L1 발현)를 올리고뉴클레오티드에 대해 평가하였다.

[0633] EC50 계산을 그래프패드 프리즘 6에서 수행하였다. IC50 및 최대 PD-L1 녹다운 수준은 대조군(PBS-처리된 세포)의 %로서 표 12에 제시된다.

[0634] [표 12]

[0635] 염수의 %인 최대 억제 및 THP1 세포주에서의 EC50.

화합물 번호	최대 억제 (% 잔류 PD-L1 발현; % 염수)		EC50 (μM)		화합물 (CMP)	서열번호 1 상의 개시
	Avg	SD	Avg	SD		
6_1	12	11.5	0.73	0.38	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	6	5.6	0.11	0.04	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	1	14.3	0.36	0.27	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	2	12.4	0.49	0.31	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	14	14.6	0.38	0.27	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	21	10.4	0.22	0.10	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	6	19.8	0.97	0.81	CCagagatatataTGC	909
77_1	5	4.8	0.14	0.04	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	0	12.9	0.57	0.39	AGattaagacagtTGA	1310
128_1	15	10.1	0.23	0.13	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	9	14.4	0.18	0.15	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	16	22.0	0.57	0.60	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	13	11.9	0.17	0.11	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	0	9.3	0.22	0.11	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	11	12.9	0.28	0.20	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	16	19.7	0.68	0.64	TGacttgtaattgTGG	5467
245_1	14	6.1	0.26	0.08	TCggttatgttaTCAT	6470
246_1	28	7.3	0.10	0.20	CActttatctggTCGG	6482
252_1	19	8.0	0.29	0.12	TCAtattgctaccATA	6618
272_1	3	9.7	0.25	0.14	TACTgtagaacatgGC	7133
314_1	13	9.6	0.31	0.15	GAgtttggattagCTG	7764
344_1	11	8.0	0.14	0.06	GTTagccctcagaTTG	8039
349_1	12	12.5	0.18	0.14	ACAagtggtatctTCT	8228
415_1	11	9.6	0.26	0.12	AAttgagtgaatCCAA	9120
493_1	15	16.5	0.48	0.34	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	43	14.1	0.31	0.68	GCacaacccagaggAA	10735
519_1	9	12.2	0.45	0.26	TAgatttgtgagGTAA	11055
533_1	11	13.6	0.29	0.21	TAGattgtttagtGCA	11228
534_1	9	6.5	0.09	0.03	GTagattgtttaGTGC	11229
582_1	0	12.3	0.33	0.23	AATCatgttggtacAT	12092
619_1	8	10.4	0.32	0.18	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	12	24.6	1.10	1.08	GTAtgacactgcaTCT	15318
638_1	2	5.4	0.00	0.00	TAACatcagacaacTC	15695
645_1	20	29.6	1.10	1.50	GAtccttatattCTGG	15854
651_1	0	11.2	0.14	0.09	GCAaatcaactccATC	15896
658_1	11	13.8	0.48	0.32	TCaatagtgtagggCA	16093
659_1	0	8.2	0.11	0.06	TTCaatagtgtaggGC	16094
733_1	0	69.6	11.03	26.95	CAGagttaataatAAG	19327
734_1	36	16.8	2.84	2.12	GTTCaagcacaacgAA	19493

[0636]

[0637] 표 7 및 8의 결과는 또한 서열번호 1의 PD-L1 미성숙 mRNA를 표적으로 하는 이들의 위치에 관하여 도 2에 도시된다.

[0638] 이것으로부터, 거의 모든 화합물이 1 μM 미만의 EC50 값 및 대조군 세포(염수로 처리됨)에서 PD-L1 발현 수준의 25% 미만의 표적 녹다운을 가짐이 보여질 수 있다.

[0639] **실시예 3 - 네이키드 및 GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하는 폴리(I:C) 유도된 마우스에서 시험관내 효력 및 효능 및 생체내 PD-L1 감소.**

[0640] 표 6의 올리고뉴클레오티드 접합체를 사용하는 MCP-11 세포에서의 투여량-반응 연구에서 효능 및 효력 시험을 시험관내 실험으로 수행하였다. 동일한 올리고뉴클레오티드 및 GalNAc 접합된 버젼(표 8 화합물 번호 755_2 내지 765_2)을 PD-L1 mRNA 및 단백질 발현을 감소시키는 이들의 능력에 대해 폴리(I:C) 유도된 C57BL/6J 암컷 마우스에서 생체내 시험하였다.

[0641] 시험관내 검정

[0642] 10% 말 혈청, 2 mM L-글루타민, 0.025 mg/mL 젠타미신 및 1 mM 나트륨 피루베이트가 보충된 DMEM(시그마 카탈로그 번호 D0819)에 현탁된 MCP-11 세포(원래 ATCC로부터 구입함)를 8,000 세포/웰의 밀도로 96-웰 환저 플레이트 내의 올리고뉴클레오티드(10 μL)에 첨가하였고, 5% CO_2를 갖는 37℃의 가습된 인큐베이터에서 200 μL/웰의 최종 부피로 3일 동안 배양하였다. 올리고뉴클레오티드는 투여량-범위 농도(50 μM, 15.8 μM, 5.0 μM, 1.58 μM, 0.5 μM, 0.158 μM, 0.05 μM 및 0.0158 μM)로 선별되었다.

[0643] 제조사의 지시에 따라 퓨어링크 프로 96 RNA 정제 키트(암바이온)를 사용하여 전체 mRNA를 추출하였다. 제조사의 지시에 따라서 M-MLT 역전사효소, 랜덤 10량체 레트로스크립트, RNase 억제제(암바이온) 및 100 mM dNTP 세트(인비트로겐, PCR 등급)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자 발현 분석을 위하여, PD-L1(써모 피셔 사이언티픽; FAM-MGB Mm00452054-m1) 및 Gusb(써모 피셔 사이언티픽; VIC-MGB-PL Mm01197698-m1)에 대한 타크만 프라이머 검정으로 설정된 듀플렉스에서 타크만 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(2X)(암바이온)를 사용하여 qPCR을 수행하였다. 상대적인 PD-L1 mRNA 발현 수준은 PBS 대조군 샘플(PBS-처리된 세포)의 %에서 잔류 PD-L1 발현의 %로서 표 9에 제시된다. EC50 계산을 그래프패드 프리즘 6에서 수행하였다. EC50 및 최대 PD-L1 녹다운 수준은 대조군(PBS) 세포의 %로서 표 13에 제시된다.

[0644] 생체내 검정

[0645] C57BL/6J 암컷 마우스(20 내지 23 g; 군 당 5 마리 마우스)에 마우스 PD-L1에 대한 5 mg/kg 비접합된 올리고뉴클레오티드 또는 마우스 PD-L1에 대한 2.8 mg/kg GalNAc-접합된 올리고뉴클레오티드를 s.c. 주사하였다. 3일 후, 마우스에 10 mg/kg 폴리(I:C)(LWM, 인비보겐)를 i.v. 주사하였다. 마우스를 폴리(I:C) 주사 후 5시간에 희생시켰고, 간 샘플을 RNA 추출 동안 RNAlater(써모 피셔 사이언티픽)에 위치시키거나 단백질 추출 동안 드라이아이스에 냉동하였다.

[0646] 전체 mRNA를 제조사의 지시에 따라 퓨어링크 프로 96 RNA 정제 키트(암바이온)를 사용하여 균질화된 간 샘플로부터 추출하였다. cDNA를, 제조사의 지시에 따라 M-MLT 역전사효소, 랜덤 10량체 레트로스크립트, RNase 억제제(암바이온) 및 100 mM dNTP 세트(인비트로겐, PCR 등급)를 사용하여 합성하였다. 유전자 발현 분석을 위해, PD-L1 mRNA(써모 피셔 사이언티픽; FAM-MGB Mm00452054-m1) 및 TBP(써모 피셔 사이언티픽; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1)에 대한 타크만 프라이머 검정으로 설정된 듀플렉스에서 타크만(등록상표) 패스트 어드밴스드 마스터 믹스 타크만 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(2X)(암바이온)를 사용하여 qPCR을 수행하였다. 상대적인 PD-L1 mRNA 발현 수준은 염수 및 폴리(I:C)가 주사된 마우스로부터의 대조군 샘플의 %로서 표 13에 제시된다.

[0647] 1x 홀트(Halt) 프로테아제 억제제 칵테일(EDTA-부재)(써모 피셔 사이언티픽)과 혼합된 100 mg 조직 T-PER(등록상표) 조직 단백질 추출 시약(써모 피셔 사이언티픽)에 대해 2 mL로 간 샘플을 균질화시킴으로써 간 균질 현탁액을 제조하였다. 제조사의 지시에 따라 쿠마시 플러스(Coomassie Plus)(브래드포드(Bradford)) 검정 시약(써모 사이언티픽(Thermo Scientific))을 사용하여 간 균질 현탁액 중 단백질 농도를 측정하였다. 간 균질 현탁액(40 μg 단백질)을 1x MOPS 실행 완충액 중에서 4 내지 12% 비스-트리스 플러스 폴리아크릴아미드 겔(써모 피셔 사이언티픽) 상에서 분리하고, 제조사의 지시에 따라 아이블롯 드라이(iBLOT Dry) 블로팅 시스템(써모 피셔 사이언티픽)을 사용하여 니트로셀룰로스 막으로 옮겼다. 각각의 블롯을 64 kDa 밴드에 수평적으로 2개의 부분으로 절단하였다. 5% 탈지유 및 0.05% 트윈(Tween)20을 함유하는 TBS 중에서 차단한 후, 5% 탈지유 및 0.05% 트윈20을 함유하는 TBS 중에서 1:10,000 희석된 토끼 단클론성 항-빈쿨린(압캠(Abcam) 카탈로그 번호 ab129002)(상부 막) 또는 1:1,000 희석된 염소 다클론성 항-mPD-L1(알앤디 시스템스(R&D Systems) 카탈로그 번호 AF1019)과 함께 막을 4℃에서 밤새 항온처리하였다. 0.05% 트윈20을 함유하는 TBS에서 세척하였고, 5% 탈지유 및 0.05% 트윈20을 함유하는 TBS 중에서 1:3,000 희석된 HRP-접합된 돼지 항-토끼 IgG(다코(DAKO))(상부 막) 또는 1:2,000 희석된 HRP-접합된 토끼 항-염소 IgG(다코)에 실온에서 1시간 동안 노출시켰다. 막의 세척 후, ECL 실렉트(select)(아머샴(Amersham) 지이 헬스케어)를 사용하여 반응성을 검출하였다. 올리고뉴클레오티드로 처리된 각각의 마우스 군의 경우, 빈쿨린 밴드에 관한 PD-L1 밴드의 강도를 염수 및 폴리(I:C)(대조군)가 주사된 마우스의 PD-L1/빈쿨린 밴드 강도와 비교함으로써 평가하였다. 결과를 표 13에 제시하고, 네이키드 및 접합된 올리고뉴클레오티드의 쌍에 의한 웨스턴블롯을 도 9의 A 내지 E에 도시한다.

[0648] [표 13]

[0649] 마우스 PD-L1에 대한 올리고뉴클레오티드 접합체의 시험관내 및 생체내 효능.

[0650]

화합물 번호	화합물 (CMP)	최대 억제(PBS의 %)	EC50 (μM)	PD-L1 mRNA (대조군의 %)	PD-L1 단백질 (대조군을 기준으로)
744_1	AGTttacattttcTGC	9.1	0.56	86	++
746_1	CACctttaaaaccCCA	5.0	0.46	181	nd
747_1	TCCtttataatcaCAC	4.4	0.52	104	++
748_1	ACGgtattttcacAGG	1.8	0.26	102	+++
749_1	GACactacaatgaGGA	7.6	1.21	104	nd
750_1	TGGtttttaggacTGT	12.4	0.74	84	nd
751_1	CGAcaaattctatCCT	9.9	0.69	112	nd
752_1	TGAtatacaatgcTAC	10.5	1.11	142	+++
753_1	TCGttgggtaaatTTA	5.7	0.53	116	+++
754_1	TGCtttataaatgGTG	5.2	0.35	98	nd
755_2	5'-GN2-C6-caAGTttacattttcTGC	nd	nd	58	+
757_2	5'-GN2-C6-caCACctttaaaaccCCA	nd	nd	62	nd
758_2	5'-GN2-C6-caTCCtttataatcaCAC	nd	nd	53	+
759_2	5'-GN2-C6-caACGgtattttcacAGG	nd	nd	66	+
760_2	5'-GN2-C6-caGACactacaatgaGGA	nd	nd	101	nd
761_2	5'-GN2-C6-caTGGtttttaggacTGT	nd	nd	99	nd
762_2	5'-GN2-C6-caCGAcaaattctatCCT	nd	nd	84	nd
763_2	5'-GN2-C6-caTGAtatacaatgcTAC	nd	nd	93	+++
764_2	5'-GN2-C6-caTCGttgggtaaatTTA	nd	nd	53	+
765_2	5'-GN2-C6-caTGCtttataaatgGTG	nd	nd	106	nd

[0651] +++: 대조군의 PD-L1/빈쿨린 밴드 강도와 유사함; ++: 대조군의 PD-L1/빈쿨린 밴드 강도보다 약함; +: 대조군의 PD-L1/빈쿨린 밴드 강도보다 훨씬 약함; nd = 측정되지 않음.

[0652] 표 13의 데이터로부터, 올리고뉴클레오티드의 GalNAc 접합이 생체내 PD-L1 감소를 명백히 개선함을 알 수 있다. mRNA의 감소는 일반적으로 PD-L1 단백질의 감소와 관련된다. 화합물 번호 754_1을 제외하고는, 낮은 시험관내 EC50 값은 일반적으로 올리고뉴클레오티드가 GalNAc에 접합되는 경우 양호한 생체내 PD-L1 mRNA 감소를 반영한다.

[0653] **실시예 4 - 폴리(I:C) 유도된 마우스로부터 분류된 간세포 및 비-실질 세포에서의 생체내 PK/PD**

[0654] 네이키드 및 GalNAc 접합된 올리고뉴클레오티드의 분포 및 PD-L1 mRNA 감소를 폴리(I:C) 유도된 마우스로부터 단리된 간세포 및 비-실질 세포에서 조사하였다.

[0655] C57BL/6J 암컷 마우스(군 당 n = 3)에 마우스 PD-L1 mRNA를 표적으로 하는 5 mg/kg 비접합된 올리고뉴클레오티드(748_1) 또는 7 mg/kg GalNAc-접합된 올리고뉴클레오티드(759_2)를 s.c. 주사하였다. 2일 후, 마우스에 15 mg/kg 폴리(I:C)(LWM, 인비보겐)를 i.p. 주사하였다. 폴리(I:C) 주사 후 18 내지 20시간에 마우스를 마취하였고, 5분 동안 15 mM 헤페스 및 0.38 mM EGTA를 함유하는 행크 균형 염 용액 및 이어서 12분 동안 콜라게나제 용액(0.17 mg/mL 콜라게나제 유형 2(워팅톤(Worthington) 4176), 0.03% BSA, 3.2 mM $CaCl_2$ 및 1.6 g/L $NaHCO_3$을 함유하는 행크 균형 염 용액)을 사용하여 대정맥을 통해 1분 당 7 mL의 유량으로 간을 관류하였다. 관류 후, 간을 제거하고, 간 캡슐을 개봉하고, 간 현탁액을, 윌리암(William) E 매질을 사용하여 70 μm 세포-여과기를 통해 여과하였고, 세포 현탁액의 분획(혼합된 간 세포)을 추후 분석을 위해 제거하였다. 세포 현탁액의 나머지를 50 xg로 3분 동안 원심분리하였다. 상청액을 비-실질 세포의 추후 정제를 위해 수집하였다. 펠렛을 25 mL 윌리암 E 매질(1x 펜/스트렙(Pen/Strep), 2 mM L-글루타민 및 10% FBS(ATCC #30-2030)가 보충된 시그마 카탈로그 번호 W1878)에 재현탁하였고, 90% 퍼콜을 함유하는 25 mL 윌리암 E 매질과 혼합하였고, 간세포를 10분 동안 50 xg의 원심분리에 의해 침전시켰다. 윌리암 E 매질 중에서의 2회 세척에 이어서, 침전된 간세포를 윌리암 E 매질에 재현탁하였다. 비-실질 세포를 함유하는 상청액을 7분 동안 500 xg로 원심분리하고, 세포를 4 mL RPMI 매질에 재현탁하였고, 1,800 xg로 30분 동안 퍼콜의 2개의 층(25% 및 50% 퍼콜)을 통해 원심분리하였다. 2개의 퍼콜 층 사이의 비-실질 세포의 수집 후, 세포를 세척하고, RPMI 매질에 재현탁하였다.

[0656] 전체 mRNA를, 제조사의 지시에 따라 퓨어링크 프로 96 RNA 정제 키트(암바이온)를 사용하여 정제된 간세포, 비-실질 세포 및 전체 간 현탁액(비-분별된 간 세포)으로부터 추출하였다. M-MLT 역전사효소, 랜덤 10량체 레트로

스크립트, RNase 억제제(암바이온) 및 100 mM dNTP 세트(인비트로겐, PCR 등급)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자 발현 분석을 위해, PD-L1(써모 피셔 사이언티픽; FAM-MGB Mm00452054-m1) 및 TBP(써모 피셔 사이언티픽; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1)에 대한 타크만 프라이머 검정으로 설정된 듀플렉스에서 타크만 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(2X)(암바이온)를 사용하여 qPCR을 수행하였다. 상대적인 PD-L1 mRNA 발현 수준을 염수 및 폴리(I:C)가 주사된 마우스로부터의 대조군 샘플의 %로서 표 10에 제시한다.

[0657] 서열 5'-TACCGT-s-Bio-3'를 갖는 바이오티닐화된 캡쳐 프로브 및 서열 5'-DIG-C12-S1-CCTGTG-3'를 갖는 다이곡시제닌 접합된 검출 프로브를 사용하는 ELISA를 사용하여 올리고뉴클레오티드 함량 분석을 수행하였다. 상기 프로브는 포스포다이에스터 골격을 갖는 LNA만으로 이루어졌다. 간 샘플(약 50 mg)을, 1개의 5 mm 스테인레스 강 비드를 함유하는 2 mL 에펜도르프(Eppendorf) 튜브 중에서 1.4 mL MagNa 순수한 용해 완충액(로슈 카탈로그 번호 03604721001)에서 균질화시켰다. 균질한 용해물이 수득될 때까지, 샘플을 레취(Retsch) MM400 균질화기(메르크 유로랩(Merck Eurolab)) 상에서 균질화시켰다. 샘플을 실온에서 30분 동안 항온처리하였다. 정의된 농도의 비접합된 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물(화합물 번호 748_1)을 비처리된 간으로 스파이킹하고, 이들을 샘플로서 가공함으로써, 표준을 생산하였다. 기대되는 샘플 올리고 함량(약 10배 이내)에 부합하도록 스파이크(Spike-in) 농도를 선택한다.

[0658] 균질화된 샘플을 5 x SSCT 완충액(0.05%(v/v) 트윈-20을 함유하는 750 mM NaCl 및 75 mM 나트륨 시트레이트, pH 7.0) 중에서 최소 10배로 희석하였고, 캡쳐-검출 용액(5x SSCT 완충액 중 35 nM 캡쳐 프로브 및 35 nM 검출 프로브)을 사용하는 6회 2배 희석의 희석 시리즈를 수행하였고, 실온에서 30분 동안 항온처리하였다. 각각의 웰에 100 µL를 갖는 96 웰 스트렙타비딘 코팅된 플레이트(눈크(Nunc) 카탈로그 번호 436014)에 샘플을 옮겼다. 플레이트를 천천히 교반하면서 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 2x SSCT 완충액으로 3회 세척하고, PBST(0.05%(v/v) 트윈-20을 함유하는 포스페이트 완충된 염수, pH 7.2, 새로이 제조됨)에 1:4,000으로 희석된 100 µL 항-DIG-AP Fab 단편(로슈 어플라이드 사이언스(Roche Applied Science), 카탈로그 번호 11 093 274 910)을 각각의 웰에 첨가하였고, 천천히 교반하면서 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 2x SSCT 완충액으로 3회 세척하고, 100 µL의 알칼리성 포스파타제(AP) 기질 용액(블루 포스(Blue Phos) 기질, KPL 제품 코드 50-88-00, 새로이 제조됨)을 첨가하였다. 색 강도를 천천히 교반하면서 30분 동안 항온처리한 후 615 nm에서 분광광도계로 측정하였다. 원 데이터를 판독기(Gen5 2.0 소프트웨어)로부터 엑셀 형식으로 보내고, 엑셀에서 추가로 분석하였다. 그래프패드 프리즘 6 소프트웨어를 사용하여 표준 곡선 및 로지스틱 4PL 회귀 모델을 생산하였다.

[0659] [표 14]

[0660] 비접합된 및 GalNAc-접합된 올리고뉴클레오티드로 처리된 폴리(I:C) 마우스로부터의 전체 간 현탁액, 간세포 및 비-실질 세포에서의 PD-L1 발현 및 올리고 함량, n=3.

[0661]

세포 유형	화합물 번호	PD-L1 발현 (염수-폴리(I:C)의 %)		올리고 함량 (ng/10^5 세포)	
		Avg	SD	Avg	SD
간 전체	748_1	31	12.4	2.3	0.3
	759_2	28	5.3	8.3	1.1
간세포	748_1	33	8.0	5.1	3.7
	759_2	7	1.0	43.8	18.9
비-실질 세포	748_1	31	10.1	2.2	0.7
	759_2	66	1.6	1.7	0.9

[0662] 상기 결과는 네이키드(화합물 번호 748_1) 및 접합된(화합물 번호 759_2) 올리고뉴클레오티드가 전체 간 세포에서 PD-L1 mRNA를 동등하게 잘 감소시킴을 나타낸다. 단리된 간세포에서, 접합된 올리고뉴클레오티드의 효과는 네이키드 올리고뉴클레오티드의 효과보다 거의 5배 강하지만, 네이키드 올리고뉴클레오티드는 비-실질 세포에서 GalNAc-접합된 올리고뉴클레오티드보다 2배 강한 효과를 나타냈다. 간세포 및 비-실질 세포에서, PD-L1 mRNA 발현의 감소는 이러한 세포 유형에서 올리고뉴클레오티드 함량과 일부 정도까지 관련된다.

[0663] **실시예 5 - 네이키드 및 GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하는 AAV/HBV 마우스에서의 생체내 PD-L1 녹다운**

[0664] 본 연구에서, AAV/HBV 마우스를 네이키드로 처리하거나 GalNAc PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드에 접합하고,

PD-L1 mRNA 발현 및 HBV 유전자 발현을 간에서 평가하였다.

[0665] 암컷 HLA-A2/DR1 마우스(5 내지 8주령)(군 당 5 마리의 동물)를 -1주에 비히클(염수), 네이키드 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드(5 mg/kg s.c.로 화합물 번호 752_1) 및 GalNAc PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드(7 mg/kg s.c.로 화합물 번호 763_2)로 사전처리하였고, 이러한 투여량은 등몰 농도의 올리고뉴클레오티드에 상응한다. 마우스에 5 x 10^{10} vg AAV-HBV를 0주에 형질도입하였다(더욱 상세한 내용에 대하여 재료 및 방법 섹션의 AAV/HBV 마우스 모델의 기재내용을 참고함). AAV-HBV 형질 도입 후 W1부터 W4까지, 마우스는 1주 떨어져 제공된 PD-L1 올리고뉴클레오티드 또는 비히클(염수 용액)의 4회의 부가적인 s.c. 주사를 수용하였다.

[0666] 혈액 샘플을 형질도입 전 1주 및 각각의 주사 후 1주에 채취하였다.

[0667] 마지막 주사 후 1주에 마우스를 희생시키고, 이의 간을 PBS 관류에 따라서 제거하였다. 간을 더욱 작은 조각으로 절단하였고, 바로 냉동시켰다.

[0668] HBV 유전자 발현을 측정하기 위하여, 모든 핵산 키트 카탈로그 번호 965672에 대하여 키아앰프 원(QIAamp One)을 사용하여 키아젠 바이오로봇(Qiagen Biorobot)으로 DNA를 혈청으로부터 추출하였고, 혈청을 PBS에서 1:20 희석으로 희석하였고, 총 100 μL를 200 μL 완충액 AL에 용해시켰다. DNA를 키트로부터 100 μL로 용리하였다.

[0669] 실시간 qPCR을 위하여 타크만 유전자 발현 마스터 믹스(카탈로그 번호 4369016, 어플라이드 바이오시스템스)를 1:1:0.5의 하기 프라이머 F3_코어, R3_코어, P3_코어(인터그레이티드 디엔에이 테크놀로지스(Integrated DNA Technologies), 모두 각각 100 μM로 재구성됨)를 첨가함으로써 제조된 프라이머 믹스와 함께 사용하였다:

[0670] 정방향 (F3_코어): CTG TGC CTT GGG TGG CTT T(서열번호 784)

[0671] 역방향 (R3_코어): AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA(서열번호 785)

[0672] 프로브 (P3_코어): 56-FAM-AGC TCC AAA/ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G-3IABkFQ(서열번호 786)

[0673] HBV 플라스미드(유전자형 D, GTD)를 사용하는 표준 곡선을 1 x 10^{9} 카피/μL에서 개시하여 1 카피/μL로 하향되는 10배 희석을 사용하여 준비하였고, 반응 당 5 μL로 사용하였다.

[0674] 각각의 반응을 위하여, 10 μL 유전자 발현 마스터 믹스, 4.5 μL 물, 0.5 μL 프라이머 믹스 및 5 μL 샘플 또는 표준을 첨가하였고, qPCR을 실행시켰다.

[0675] 분석을 위하여, 표준 곡선을 사용하여 카피 수/mL/웰을 계산하였다. 결과는 표 15에 제시된다.

[0676] qPCR을 사용하여 PD-L1 mRNA 발현을 측정하였다.

[0677] 세라믹 비드 및 1 mL의 트라이졸을 함유하는 2 mL 튜브(라이징 매트릭스(Lysing Matrix) D 튜브, 116913500, 엠피바이오(mpbio))에 첨가된 냉동된 간 조각으로부터 mRNA를 추출하였다.

[0678] 프리셀리스 티슈 디스럽터(Precellys Tissue Disruptor)를 사용하여 간 조각을 균질화시켰다. 200 μL 클로로폼을 균질화물에 첨가하였고, 와동시켰고, 10,000 rpm으로 4℃에서 20분 동안 원심분리시켰다. RNA 함유 투명상(약 500 μL)을 새로운 튜브에 옮겼고, 동일한 부피의 70% EtOH를 첨가하였다. 잘 혼합한 후, 용액을 RNeasy 스핀 컬럼 상으로 옮겼고, RNeasy 키트 매뉴얼 RNeasy 미니 카탈로그 번호 74104(퀴아젠)(RNA 분해 RNase-부재 DNase 세트, 카탈로그 번호 79254를 포함함)에 따라 RNA를 추가로 추출하였다. 50 μL H_2O에서 용리하였다. 최종 RNA 농도를 측정하였고, 모든 샘플에 대해 100 ng/μL로 조정하였다.

[0679] 제조사의 지시에 따라서 타크만 RNA-to-ct 1-단계 키트(카탈로그 번호 4392938, 써모 피셔)를 사용하여 7.5 μL RNA 상에서 qPCR을 수행하였다. 혼합된 프라이머는 함유된 PD-L1_1-3(프라이머 번호 Mm00452054_m1, Mm03048247_m1 및 Mm03048248_m1) 및 내인성 대조군(ATCB Mm00607939_s1, CANX Mm00500330_m1, YWHAZ Mm03950126_s1 및 GUSB Mm01197698_m1)을 사용하였다.

[0680] 2^-ddct 방법을 사용하여 데이터를 분석하였다. 4개의 모든 내인성 대조군의 평균을 사용하여 dct 값을 계산하였다. PD-L1 발현은 내인성 대조군의 평균 및 염수의 %와 관련된다.

[0681] [표 15]

[0682] 비접합된 및 GalNAc-접합된 올리고뉴클레오티드로 처리된 AAV/HBV 마우스에서의 PD-L1 mRNA 발현 및 HBV DNA, n=5.

	화합물 번호	PD-L1 mRNA 발현 (염수의 %)		HBV DNA 발현 (염수의 %)	
		Avg	SD	Avg	SD
네이키드	752_1	55	35	72	16
GalNAc 접합된	763_2	34	3	79	9

[0683]

[0684] 이러한 결과로부터, 네이키드 및 GalNAc 접합된 올리고뉴클레오티드가 둘 다 AAV/HBV 마우스의 간에서 PD-L1 mRNA 발현을 감소시킬 수 있고, GalNAc 접합된 올리고뉴클레오티드가 약간 양호함을 알 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 둘 다 또한 혈청에서 HBV DNA의 약간의 감소를 야기하였다.

[0685] **실시예 6 - AAV/HBV 마우스에서 T-세포 반응의 생체내 효과**

[0686] 본 연구에서, 파스퇴르로부터의 AAV/HBV 마우스를, PD-L1을 표적으로 하는 항체 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드로 처리하였다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 네이키드이거나 GalNAc에 접합되었다. 치료 중에, 동물을 HBs 및 HBc 항원에 대한 DNA 백신으로 면역화시켜(재료 및 방법 섹션 참고) 항원 제시 세포에 의한 효율적인 T-세포 프라이밍을 보장하였다. 치료가 간 및 비장에서의 세포 집단 및 이러한 집단에 대한 PD-L1 발현에 영향을 주는 법, 및 HBV 특이적 T-세포 반응이 확인될 수 있는지 여부를 평가하였다.

[0687] 치료 프로토콜:

[0688] 암컷 HLA-A2/DR1 마우스를 하기 프로토콜에 따라 처리하였다. 연구를, 하기 표 16 및 17에 나타낸 바와 같이 투여 섭생법에 약간의 차이를 갖는 2개의 별개의 하위-연구로 수행하였다.

[0689] DNA 백신 및 항-PD-L1 항체를 재료 및 방법 섹션에 기술된 바와 같이 투여하였다. 사용된 안티센스 올리고뉴클레오티드는 5 mg/kg의 화합물 번호 748_1(네이키드) 및 7 mg/kg의 화합물 번호 759_2(GalNAc 접합된)였고, 둘 다 피하 주사(s.c.)로서 투여되었다.

[0690] [표 16]

[0691] DNA 백신, 및 DNA 백신 + 항-PD-L1 항체에 의한 AAV/HBV 마우스 치료 프로토콜, 각각의 군 당 6 마리의 마우스.

일	비히클 (그룹 10)	DNA 백신 (그룹 11)	DNA 백신 + 항-PDL-1 Ab (그룹 13)
0	AAV/HBV		
29*	동물 무작위화		
34	염수+이소타입	-	Ab
41	염수+이소타입	-	Ab
48	염수+이소타입	-	Ab
50	-	CaTx	CaTx
55*	PBS+이소타입	DNA	DNA+Ab
62	염수+이소타입	-	Ab
69	PBS+이소타입	DNA	DNA+Ab
76*	염수+이소타입	-	Ab
83	염수+이소타입	-	Ab
97*	희생		

[0692]

[0693] 이소타입 = 마우스 IgG 대조군 Ab, CaTx = 심장독, DNA = DNA 백신, Ab = 항-PD-L1 Ab, 및 * = 혈청 수집

[0694] [표 17]

[0695] DNA 백신 및 DNA 백신 + 네이키드 또는 접합된 PD-L1 올리고뉴클레오티드(ASO)에 의한 AAV/HBV 마우스 치료 프로토콜, 각각의 군 당 7 마리의 마우스.

Day	비히클 (그룹 1)	DNA 백신 (그룹 2)	DNA 백신 + PDL-1 ASO (그룹 7)	DNA 백신 + GN-PDL-1 ASO (그룹 8)
0	AAV/HBV			
29*	동물 무작위화			
39	염수	염수		
41		염수	ASO	GN-ASO
46	염수	염수		
49		염수	ASO	GN-ASO
53	염수	염수		
55	CaTx	CaTx	CaTx	CaTx
56		염수	ASO	GN-ASO
59	PBS+ 염수	DNA+PBS	DNA	DNA
62*		염수	ASO	GN-ASO
67	염수	염수		
70		염수	ASO	GN-ASO
74	PBS+ 염수	DNA+PBS	DNA	DNA
77		염수	ASO	GN-ASO
81	염수	염수		
84*		염수	ASO	GN-ASO
88	염수	염수		
91		염수	ASO	GN-ASO
102	희생			

[0696]

[0697] DNA = DNA 백신, CaTx = 심장독, Ab = 항-PD-L1 Ab, ASO = 네이키드 PDL-1 올리고뉴클레오티드, GN-ASO = GalNAc-PDL-1 올리고뉴클레오티드, 및 * = 혈청 수집

[0698] 희생 시, 각각의 군으로부터의 각각의 마우스의 혈액, 비장 및 간 단핵 세포를 수집하고, 적혈구를 고갈시켰다(용해 완충액, 비디 바이오사이언시스, 555899). 간 단핵 세포는 재료 및 방법 섹션에 기술된 바와 같은 특정 제법을 요구하였다.

[0699] 세포 집단:

[0700] 간에서, 세포계수를 사용하는 간 단핵 세포 상의 표면 표지(재료 및 방법 참고)에 의해 세포 집단을 분석하였다.

[0701] 대조군(즉, 비히클 및 DNA-면역화된 군)과 비교하여 처리된 마우스의 비장 및 간에서의 NK 세포의 빈도에서 어떠한 유의한 변화도 나타나지 않았다. 표 18은, 네이키드 PD-L1 올리고뉴클레오티드(화합물 번호 748_1) 및 GalNAc 접합된 PD-L1 올리고뉴클레오티드(화합물 번호 759_2)로 처리된 군이 도 10A에 또한 제시된 각각의 대조군(즉, 비히클 및 DNA-면역화된 군)과 비교하여 T-세포에서의 유의한 증가를 가짐을 나타낸다. 이러한 증가는 CD4+ 및 CD8+ T-세포 집단(각각 표 18 및 도 10B 및 10C) 둘 다의 증가에 기인하였다.

[0702] [표 18]

[0703] 백만의 세포에서 치료에 따른 간의 T-세포.

	T-세포 (백만)		CD4+ T-세포 (백만)		CD8+ T-세포 (백만)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
비히클 (그룹 1)	0.77	0.44	0.51	0.35	0.11	0.05
DNA 백신 (그룹 2)	0.90	0.24	0.58	0.16	0.16	0.08
DNA 백신 + 항-PD-L1 Ab (그룹 13)	1.98	0.90	1.40	0.81	0.41	0.23
비히클 (그룹 10)	1.73	0.87	1.13	0.55	0.40	0.25
DNA 백신 (그룹 11)	1.27	0.97	0.79	0.58	0.32	0.32
DNA 백신 + PD-L1 ASO (그룹 7)	3.78	1.31	2.46	0.72	0.79	0.39
DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO (그룹 8)	3.33	0.66	2.18	0.40	0.67	0.17

[0704]

[0705] PD-L1 발현:

[0706] PD-L1 단백질의 발현을 희생 시 비장 및 간으로부터의 대식세포, B 및 T-세포 상에서 평가하였다. 표면 표지 항체 믹스(재료 및 방법 참고)에서 PD-L1 항체의 존재는 세포계수에 의한 PD-L1 발현 세포의 정량화를 가능하게 하였다.

[0707] 비장에서, PD-L1을 발현하는 대식세포, B 세포 및 CD4+ T-세포의 %에서, 치료 사이에 어떠한 유의적인 차이도 관찰되지 않았다. PD-L1을 발현하는 CD8+ T-세포의 %는, 다른 치료(데이터는 제시되지 않음)와 비교될 때, 네이키드 PD-L1 올리고뉴클레오티드(화합물 번호 748_1) 및 GalNAc 접합된 PD-L1 올리고뉴클레오티드(화합물 번호 759_2)로 처리된 마우스에서 더욱 낮았다.

[0708] 간에서, PD-L1은 주로 대조군(각각 조합된 2개의 비히클 및 DNA 백신접종 군, 도 11A)에서 32% 및 41%의 평균 빈도를 갖는 CD8+ T-세포 상에서 발현되었다. 네이키드 PD-L1 올리고뉴클레오티드 또는 GalNAc PD-L1 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 PD-L1을 발현하는 CD8+ T-세포의 빈도의 감소를 야기하였다(표 19 및 도 11A 참고). PD-L1을 발현하는 세포의 %의 유의한 차이는 또한, 이들 세포 유형이 CD8+ T-세포보다 PD-L1을 상당히 덜 발현하지만, ASO 치료 후 B 세포 및 CD4+ T-세포에 대해 나타났다(표 19 및 도 11B 및 11C 참고). 항-PD-L1 Ab에 의한 처리는 또한, 모든 세포 유형에서 PD-L1 발현의 명백한 감소를 야기하였다. 그러나, 이러한 감소가 치료에 사용된 항-PD-L1 항체에 의한 PD-L1 에피토프의 부분적인 봉쇄에 기인하여 표면 표지 항체 믹스 내의 PD-L1 검출 항체가 PD-L1에 결합하는 것을 방해하는 것이 가능하다. 따라서, 치료에 사용된 항-PD-L1 항체에 의한 PD-L1 하향 조절인 것으로 나타나는 것은 치료 항체와 검출 항체 사이의 에피토프 경쟁의 결과일 수 있다.

[0709] [표 19]

[0710] PD-L1 발현을 갖는 간 세포 집단의 %.

	CD8+ T-세포의 %		CD4+ T-세포의 %		B-세포의 %	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
비히클 (그룹 10)	35.5	4.7	0.75	0.52	5.9	1.5
DNA 백신 (그룹 11)	36.8	7.7	0.61	0.08	5.5	1.1
DNA 백신 + 항-PD-L1 Ab (그룹 13)	18.6	12.3	0.33	0.10	2.9	1.7
비히클 (그룹 1)	28.5	11.5	0.64	0.21	5.9	1.7
DNA 백신 (그룹 2)	44.9	14.4	1.43	0.69	8.7	3.1
DNA 백신 + PD-L1 ASO (그룹 7)	9.6	2.4	0.37	0.21	2.9	0.8
DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO 그룹 8)	14.6	3.3	0.31	0.11	2.8	0.8

[0711]

[0712] HBV 특이적 T-세포 반응:

[0713] 전염증성 사이토킨을 생산하는 CD4+ 및 CD8+ T-세포 및 NK 세포를, IFNɣ 및 TNFα 생산을 검출하는 세포내 사이토킨 염색 검정(재료 및 방법 섹션 참고)을 사용하여 검출하였다.

[0714] 비장에서, 희생 시 어떠한 NK 세포도 검출가능하지 않았고, IFNɣ 및 TNFα를 분비하는 소수의 CD4+ T-세포가 검출가능하였다(빈도 < 0.1%). 2개의 HBV 항원을 표적으로 하는 IFNɣ-생산 CD8+ T-세포는 네이키드 PD-L1 올리고뉴클레오티드 또는 GalNAc PD-L1 올리고뉴클레오티드로 처리된 마우스 및 DNA 백신만을 수용하는 본 연구로부터의 마우스(데이터는 제시되지 않음)에서 검출되었다.

[0715] DNA-면역화된 HBV-담체 마우스의 간에서, 희생 시 어떠한 IFNɣ-생산 NK 세포도 검출되지 않은 반면, 코어 또는 S2+S에 특이적인 IFNɣ-분비 CD4+ T-세포는 소수의 DNA-면역화된 마우스의 간에서 낮은 빈도로 검출되었다(0.4% 미만, 데이터는 제시되지 않음). IFNɣ를 생산하는 HBV S2+S-특이적 CD8+ T-세포는 다수의 DNA-면역화된 마우스에서 검출되었다. IFNɣ-분비 CD8+ T-세포의 빈도는 DNA 백신 및 네이키드 PD-L1 올리고뉴클레오티드 또는 GalNAc PD-L1 올리고뉴클레오티드의 조합으로 처리된 마우스에서 증가한 반면, 항-PD-L1 항체에 의한 처리는 DNA 백신접종에 어떠한 명백한 추가적인 효과도 부가하지 않았다(도 12). 외피 및 코어 항원을 표적으로 하는 IFNɣ-생산 CD8+ T-세포는 대부분의 DNA-면역화된 군(항-PD-L1 항체를 제외함)에서 검출되었다(도 12B). 대부분의 S2-S 특이적 T-세포는 IFNɣ 및 TNFα를 둘 다 생산하였다(도 12C). 결과는 또한 표 20에 제시된다.

[0716] [표 20]

[0717] 전체 IFNɣ 또는 IFNɣ + TNFα 세포 집단으로부터의 HBV 항원(S2-S 또는 코어) 특이적 CD8+ T-세포의 %.

	PreS2-S 특이적 T-세포 (IFNɣ 세포의 %)		코어 특이적 T-세포 (IFNɣ 세포 의 %)		S2-S 특이적 T-세포 (IFNɣ + TNFα 의 %)	
	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
비히클 (그룹 10)	0.15	0.37	0.18	0.43	0.00	0.00
DNA 백신 (그룹 11)	1.48	1.10	0.47	0.53	0.42	1.02
DNA 백신 + 항-PDL-1 Ab	1.18	0.95	0	0	0.38	0.49
비히클 (그룹 1)	0.17	0.45	0.11	0.28	0.00	0.00
DNA 백신 (그룹 2)	1.70	1.02	0.27	0.51	0.98	0.90
DNA 백신 + PDL-1 ASO	2.56	1.60	0.78	0.80	1.44	1.55
DNA 백신 + GN-PDL-1 ASO	3.83	2.18	0.68	1.16	2.62	1.62

[0718]

[0719] **실시예 7 - AAV/HBV 마우스의 혈청에서 HBV 항원 및 HBV DNA에 대한 생체내 효과**

[0720] 본 연구에서, 상하이로부터의 AAV/HBV 마우스(재료 및 방법 섹션 참고)를 GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물 번호 759_2로 처리하였다.

[0721] 치료가 비히클 처리된 동물과 비교하여 혈청내 HBe 및 HBs 항원 및 HBV DNA 수준에 영향을 주는 방법이 평가되었따.

[0722] 치료 프로토콜:

[0723] 재료 및 방법 섹션의 상하이 모델 하에 기술된 HBV 게놈(AAV/HBV)을 갖는 재조합 아데노-연관된 바이러스(AAV)로 감염된 수컷 C57BL/6 마우스를 본 연구에 사용하였다. 마우스(군 당 6 마리의 마우스)에 5 mg/kg의 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물 번호 759_2 또는 비히클(염수)(둘 다 피하 주사(s.c.)에 의해 투여됨)을 8주 동안 1주에 1회 주사하였다. 혈액 샘플을 치료 동안 매주 및 치료 후 6주에 수집하였다. HBV DNA, HBsAg 및 HBeAg 수준을 하기 기술된 혈청 샘플에서 측정하였다. 첫 번째 10주 동안의 결과를 표 21 및 도 13에 제시한다. 연구는 본원의 출원 시에 여전히 진행 중이었고, 이에 따라 남아있는 4주 동안의 데이터는 수득되지 않았다.

[0724] HBsAg 및 HBeAg 검출:

[0725] 혈청 HBsAg 및 HBeAg 수준을 제조사의 프로토콜에 따라 HBsAg 화학발광 면역검정(CLIA) 및 HBeAg 클리아 키트(CLIA kit)(오토바이오 다이아그노스틱스 컴파니 리미티드, 중국 정저우 소재, 각각 카탈로그 번호 CL0310-2 및 CL0312-2)를 사용하여 감염된 AAV-HBV 마우스의 혈청에서 측정하였다. 간략하게, 50 mL의 혈청을 각각의 항체 코팅된 마이크로티터 플레이트로 옮겼고, 50 mL의 효소 접합체 시약을 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 진탕기 상에서 60분 동안 항온처리한 후, 모든 웰을 자동 세척기를 사용하여 세척 완충액으로 6회 세척하였다. 25 mL의 기질 A 및 이어서 25 mL의 기질 B를 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 10분 동안 항온처리한 후, 엔비젼(Envision) 발광 판독기를 사용하여 발광을 측정하였다. HBsAg는 단위 IU/mL로 제공되고; 이때 1 ng HBsAg = 1.14 IU이다. HBeAg는 단위 NCU/mL 혈청으로 제공된다.

[0726] HBV DNA 추출 및 qPCR:

[0727] 초기에, 마우스 혈청을 포스페이트-완충된 염수(PBS)로 10(1:10)의 인자만큼 희석하였다. MagNA 퓨어 96(로슈) 로봇을 사용하여 DNA를 추출하였다. 50 mL의 희석된 혈청을 200 μL MagNA 퓨어 96 외부 용해 완충액(로슈, 카탈로그 번호 06374913001)을 갖는 가공 카트리지에서 혼합하였고, 10분 동안 항온처리하였다. 이어서, "MagNA 퓨어 96 DNA 및 바이러스성 핵산 소용량 키트"(로슈, 카탈로그 번호 06543588001) 및 "바이러스성 NA 플라즈마 SV 외부 용해 2.0" 프로토콜을 사용하여 DNA를 추출하였다. DNA 용리 부피는 50 mL였다.

[0728] 타크만 qPCR 머신(ViiA7, 라이프 테크놀로지스(life technologies))을 사용하여 추출된 HBV DNA의 정량화를 수행하였다. 각각의 DNA 샘플을 PCR에서 2회 시험하였다. 5 mL의 DNA 샘플을 384 웰 플레이트에 10 mL 타크만 유전자 발현 마스터 믹스(어플라이드 바이오시스템스, 카탈로그 번호 4369016), 0.5 mL 프라임타임(PrimeTime) XL qPCR 프라이머/프로브(IDT) 및 4.5 mL 증류수를 함유하는 15 mL의 PCR 마스터 믹스에 첨가하였고, 하기 설정을 사용하여 PCR을 수행하였다: UDG 항온처리(2분, 50℃), 효소 활성화(10분, 95℃) 및 PCR(변성을 위한 15초, 95℃ 및 어닐링 및 신장을 위한 1분, 60℃를 갖는 40회 사이클). DNA 카피 수를, ViiA7 소프트웨어에 의한 HBV 플라스미드 DNA 표준 곡선을 기준으로 C_t 값으로부터 계산하였다.

[0729] 타크만 프라이머 및 프로브에 대한 서열(IDT):

[0730] 정방향 코어 프라이머 (F3_코어): CTG TGC CTT GGG TGG CTT T(서열번호 784)

[0731] 역방향 프라이머 (R3_코어): AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA(서열번호 785)

[0732] 타크만 프로브 (P3_코어): 56-FAM/AGC TCC AAA/ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G/3IABkFQ 서열번호 786).

[0733] [표 21]

[0734] GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리 후 AAV/HBV 마우스로부터의 혈청 내 HBV-DNA, HBsAg 및 HBeAg 수준.

	염수						화합물 번호 759_2 (5 mg/kg)					
	HBV-DNA		HBsAg		HBeAg		HBV-DNA		HBsAg		HBeAg	
일	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std	Avg	Std
0	7.46	0.35	3.96	0.48	3.23	0.14	7.44	0.29	3.87	0.40	3.17	0.13
7	7.53	0.23	4.17	0.45	3.35	0.10	7.53	0.20	3.91	0.42	3.19	0.18
14	7.57	0.24	4.12	0.49	3.19	0.11	7.45	0.22	3.90	0.50	2.99	0.27
21	7.47	0.27	3.93	0.51	3.12	0.05	7.33	0.47	3.71	0.76	2.78	0.26
28	7.68	0.26	3.88	0.67	3.18	0.13	7.45	0.46	3.65	0.93	2.67	0.38
35	7.69	0.21	4.03	0.54	2.95	0.08	7.13	0.75	2.98	1.05	2.04	0.38
42	7.58	0.23	3.89	0.65	3.34	0.10	6.69	0.89	2.60	1.05	1.98	0.45
49	7.77	0.17	3.54	1.06	3.08	0.26	6.56	1.26	2.19	0.70	1.47	0.37
56	7.71	0.24	3.99	0.86	3.28	0.05	6.21	1.48	2.28	0.84	1.38	0.30
63	7.59	0.28	3.67	1.07	3.25	0.13	6.08	1.39	2.08	0.71	1.35	0.30

[0735]

[0736] 본 연구로부터, GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물 번호 759_2가 6주의 치료 후 혈청내 HBV-DNA, HBsAg 및 HBeAg 수준의 감소에 대한 상당한 효과 및 치료가 종료된 후 2주 이상 동안 지속되는 효과를 가짐을 알 수 있다.

[0737] **실시예 8 - GalNAc 접합된 PD-L1 올리고뉴클레오티드를 사용하는 인간 1차 간세포에서의 시험관내 PD-L1 녹다운**

[0738] 게놈을 사용하여 1차 인간 간세포에서 PD-L1 전사체를 감소시키는 GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물의 능력을 조사하였다.

[0739] 세포 배양물

[0740] 저온보존된 인간 간세포를 10% 우태 혈청, 페니실린(100 U/mL), 스트렙토마이신(0.1 mg/mL) 및 L-글루타민(0.292 mg/mL)이 보충된 WME에 약 5 x 10^6 세포/mL의 밀도로 현탁하고, 콜라겐-코팅된 24-웰 플레이트(벡톤 디킨슨 아게(Becton Dickinson AG), 스위스 알슈빌 소재)로 2 x 10^5 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. 세포를 4시간 동안 사전-배양하여 세포 배양물 플레이트로의 부착을 가능하게 한 후, 100 μM의 최종 농도의 올리고뉴클레오티드에 의한 처리를 개시하였다. 사용된 올리고뉴클레오티드는 표 21 및 표 8에 제시되고, 비히클은 PBS였다. 시딩 매질을 315 μL의 혈청 부재 WME(페니실린(100 U/mL), 스트렙토마이신(0.1 mg/mL), L-글루타민(0.292 mg/mL)이 보충됨)로 대체하였고, PBS 중 35 μL의 1 mM 올리고뉴클레오티드 저장 용액을 세포 배양물에 첨가하였고, 세포 상에 24 또는 66시간 동안 방치하였다.

[0741] 라이브러리 준비

[0742] 전사체 발현 프로파일링을, 2 x 51 bp 페어링된 엔드 리드(paired end read) 및 견본 당 30 M의 최소 리드 깊이(Q 스퀘어드(squared) EA)를 갖는 시퀀싱 전량을 사용하는 일루미나(Illumina) 시퀀싱 플랫폼 상에서의 일루미나 가닥 mRNA 화학을 사용하여 수행하였다. 350 μL의 퀴아젠 RLT 완충액을 첨가함으로써 세포를 용해시키고, 무작위화 계획으로 기재하였다.

[0743] 퀴아젠 RNeasy 미니 키트를 사용하여 mRNA를 정제하였다. mRNA를 정량화시키고, 아길런트 바이오애널라이저(Agilent Bioanalyzer)를 사용하여 완전성을 평가하였다. 단리된 RNA의 초기량 평가 시, 모든 샘플이 7.0 초과의 RIN 점수를 갖고 100 ng의 입력 품질 메트릭을 충족시킴을 관찰하였다.

[0744] 시퀀싱 라이브러리를 100 ng의 전체 RNA로 시작하는 일루미나 TruSeq 가닥 mRNA 라이브러리 준비를 사용하여 모든 샘플에 대해 생성하였다. 최종 cDNA 라이브러리를 크기 분포에 대해 아길런트 바이오애널라이저(DNA 1000 키트)를 사용하여 분석하였고, qPCR(카파 라이브러리 퀀트 키트(KAPA Library Quant Kit))에 의해 정량화시키고, 시퀀싱을 위한 준비에서 2 nM로 정규화시켰다. 표준 클러스터 생성 키트 v5를 사용하여 cDNA 라이브러리를 유동 세포 표면 및 cBot에 등온적으로 결합시켜 부착된 cDNA 구축물을 각각 약 1,000 카피의 클론성 클러스터까지 증폭시켰다. TruSeq SBS 키트를 사용하는 시퀀싱-바이-신테시스(sequencing-by-synthesis) 방법에 의해 DNA 서열을 측정하였다.

[0745] 데이터 가공

[0746] 길이 2 x 51 bp의 일루미나 페어링된-말단 시퀀싱 리드를, GSNAP 짧은 리드 정렬 프로그램(short read alignment program)을 사용하여 인간 기준 게놈 hg19 상에 매핑하였다. 삼툴스(SAMTOOLS) 프로그램을 사용하여 SAM-포맷 정렬을 분류된 정렬 BAM-포맷 파일로 전환하였다. hg19에 대한 상응하는 GTF 파일에 의해 특정된 NCBI RefSeq로부터의 엑손 주석에 근거하여 유전자 리드 수를 PD-L1에 대해 추정하였다. 각각의 샘플의 상이한 라이브러리 크기를 설명하는 정규화 단계를 DESeq2 R 패키지를 사용하여 적용하였다.

[0747] GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 화합물과의 항온처리 후 PD-L1 전사체의 감소를 표 22에 제시한다.

[0748] [표 22]

[0749] GalNAc 접합된 올리고뉴클레오티드와의 치료에 따른 인간 1차 간세포에서의 PD-L1 전사체 감소, n=4.

화합물	PD-L1 발현 수준 24 시간 (라이브러리 크기 조정된 수)	PD-L1 발현 수준 66 시간 (라이브러리 크기 조정된 수)
비히클	259	156
	159	168
	192	136
	202	211
767_2	7	7
	11	14
	22	9
	28	15
766_2	16	13
	15	10
	17	11
	29	13
769_2	15	21
	18	18
	25	18
	26	25
768_2	41	25
	27	48
	31	25
	34	22
770_2	21	16
	44	62
	67	51
	38	63

[0750]

[0751] 모든 5개의 GalNAc 접합된 안티센스 화합물은 비히클로 처리된 샘플과 비교될 때, 24 및 66시간 항온처리 후 유의한 PD-L1 전사체 감소를 나타냈다.

[0752] **실시예 9 - HBV 감염된 ASGPR-HepaRG 세포에서 접합된 및 네이키드 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드의 EC50**

[0753] 2개의 네이키드 및 균등한 GalNAc 접합된 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드의 효력을 HBV 감염된 ASGPR-HepaRG 세포와 비교하였다.

[0754] 세포주

[0755] HepaRG 세포(바이오프레딕 인터내셔널(Biopredic International), 프랑스 생-그레고리 소재)를 윌리암 E 매질(10% HepaRG 성장 보충제(바이오프레딕)가 보충됨)에서 배양하였다. 이러한 세포주로부터 인간 ASGPR1 및 ASGPR2를 안정적으로 과발현하는 HepaRG 세포주를, 렌티바이러스성 방법을 사용하여 생성하였다. 증식하는 HepaRG 세포를 CMV 프로모터 및 퓨로마이신 내성 유전자의 제어 하에 인간 ASGPR1 및 2를 코딩하는, 시리온 바이오텍(Sirion biotech)에 의해 주문 생산된 렌티바이러스(CLV-CMV-ASGPR1-T2a_ASGPR2-IRES-Puro)와 함께 MOI 300에서 형질도입하였다. 형질도입된 세포를 1 μg/mL 퓨로마이신과 함께 11일 동안 선택하였고, 이어서 이식 유전자의 안정한 발현을 보장하기 위해 동일한 농도의 항생제에서 유지하였다. ASGPR1/2 과발현을 RT-qPCR에 의해 mRNA 수준에서(ASGPR1: 8,560배 대 비-형질도입된, ASGPR2: 2,389 배 대 비-형질도입된) 및 유동 세포분석 분석에 의해 단백질 수준에서 모두 확인하였다.

[0756] 감염 전에 2주 이상 동안 1.8% DMSO를 사용하여 세포를 분화시켰다. HBV 유전자형 D를 HepG2.2.15 세포 배양물 상청액으로부터 유도하였고, PEG 침전을 사용하여 농축시켰다. HBV에 대한 시험 화합물의 활성을 평가하기 위하여, 96 웰 플레이트에서 분화된 ASGPR-HepaRG 세포를 20 내지 30의 MOI로 20시간 동안 HBV로 감염시킨 후, 세포를 PBS로 4회 세척하여 HBV 접종원을 제거하였다.

[0757] 올리고뉴클레오티드 효력

[0758] 하기 올리고뉴클레오티드를 25 μM로부터 0.4 nM(PBS 중 1:4 희석)까지의 연속적인 희석을 사용하여, 감염 후 7 및 10일에 HBV 감염된 ASGPR-HepaRG 세포에 첨가하였다. 세포를 감염 후 31일에 수확하였다:

네이키드 PD-L1 ASO	균등한 GalNAc 접합된 PD-L1 ASO
화합물 번호 640_1	화합물 번호 768_2
화합물 번호 466_1	화합물 번호 769_2

[0759]

[0760] 제조사의 지시에 따라 MagNA 퓨어 96 시스템 상에서 MagNA 퓨어 96 세포 RNA 대용량 키트(로슈 다이아그노스틱스)를 사용하여 전체 mRNA를 추출하였다. 유전자 발현 분석을 위하여, RT-qPCR을 실시예 5에 기술된 바와 같이 수행하였다.

[0761] 2^-ddct 방법을 사용하여 데이터를 분석하였다. 액틴B를 내인성 대조군으로서 사용하여 dct 값을 계산하였다. PD-L1 발현은 내인성 대조군 및 염수 비히클과 관련된다.

[0762] EC50 계산을 그래프패드 프리즘 6에서 수행하고, 표 23에 제시한다.

[0763] [표 23]

[0764] ASGPR-HepaRG HBV 감염된 세포에서의 EC50, n=4.

화합물 번호	EC50 (μM)
640_1	2.25
768_2	0.10
466_1	5.82
769_2	0.13

[0765]

[0766] 이러한 데이터는 PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드의 GalNAc 접합이 EC50 값을 상당히 개선함을 명백히 나타낸다.

[0767] **실시예 10 - 만성 HBV 환자로부터 유래하는 PBMC에서의 자극 T-세포 기능**

[0768] 네이키드 PD-L1 안티센스 화합물이 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 생체외 HBV 항원 자극 후에 만성적으로 감염된 HBV(CHB) 환자의 T-세포 기능을 증가시킬 수 있는지 여부를 조사하였다.

[0769] 3명의 만성 HBV 감염된 환자로부터의 냉동된 PBMC를 해동하고, 100 μL 매질(RPMI1640 + 글루타맥스 + 8% 인간 혈청 + 25 mM 헤페스 + 1% 펜스트렙) 중 200,000 세포/웰의 밀도로 시딩하였다. 다음날, 세포를, 100 pg/mL IL-12 및 5 ng/mL IL-7을 함유하는 100 μL 매질 중 5 μM의 화합물 번호 466_1 또는 화합물 번호 640_1의 존재 또는 부재 하에 1 μM 펩믹스(PepMix) HBV 라지 외피 단백질 또는 1 μM 펩믹스 HBV 코어 단백질(표 9 참고)로 자극하였다(콘카나발린 자극을 단지 8일에 적용하였음). 4일 후, PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 처치를 50 IU IL-2를 함유하는 매질로 새롭게 하였다. 첫 번째 자극 후 8일에, 세포를 펩믹스 또는 5 μg/mL 콘카발린 A + PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드로 24시간 동안 재자극하였다. 자극의 마지막 5시간 동안, 0.1 μL 브레펠딘 A, 0.1 μL 모넨신 및 3 μL 항-인간 CD-107(APC)을 첨가하였다.

[0770] 24시간 후, 세포를 염색 완충액(PBS + 1% BSA + 0.09% 나트륨 아자이드 + EDTA)으로 세척하고, 표면 염색을 4℃에서 30분 동안 적용하였다[항-인간 CD3(BV 605), 항-인간 CD4(FITC), 항-인간 CD8(BV711), 항-인간 PD-L1(BV421), 항-인간 PD1(PerCP-Cy5.5) 및 라이브 앤 데드(Live and Dead) 염색(BV510)(비디 바이오사이언시스)]. 세포를 4℃에서 15분 동안 비디 고정 완충액에 고정하였다. 다음날 아침, 세포에 비디 펌/워쉬 완충액을 4℃에서 15분 동안 투과시키고, 세포내 염색을 4℃에서 30분 동안 수행하였다[항-인간 INFg(PE)]. 펌/워쉬 완충액에서 세척 후, 세포를 250 μL 염색 완충액에 용해시켰다.

[0771] FACS 측정을 비디 포테싸(BD Fortessa, 비디 바이오사이언시스) 상에서 수행하였다. 분석을 위하여, 전체 세포 집단을 먼저 살아있는 세포 상에서 염색하고(라이브 앤 데스(Live and Death) 염색, BV510), 이어서 CD3+(BV605) 세포 상에서 염색하였다. 이어서, CD3+ 세포를 CD107a+(APC) 대 IFNg+(PE)로서 도표화하였다.

[0772] 결과는 표 24에 제시된다.

[0773] [표 24]

[0774] 3명의 만성적으로 HBV 감염된 환자로부터 단리된 PBMC로부터의 CD3+ T-세포 상에서 PD-L1 ASO 치료의 효과.

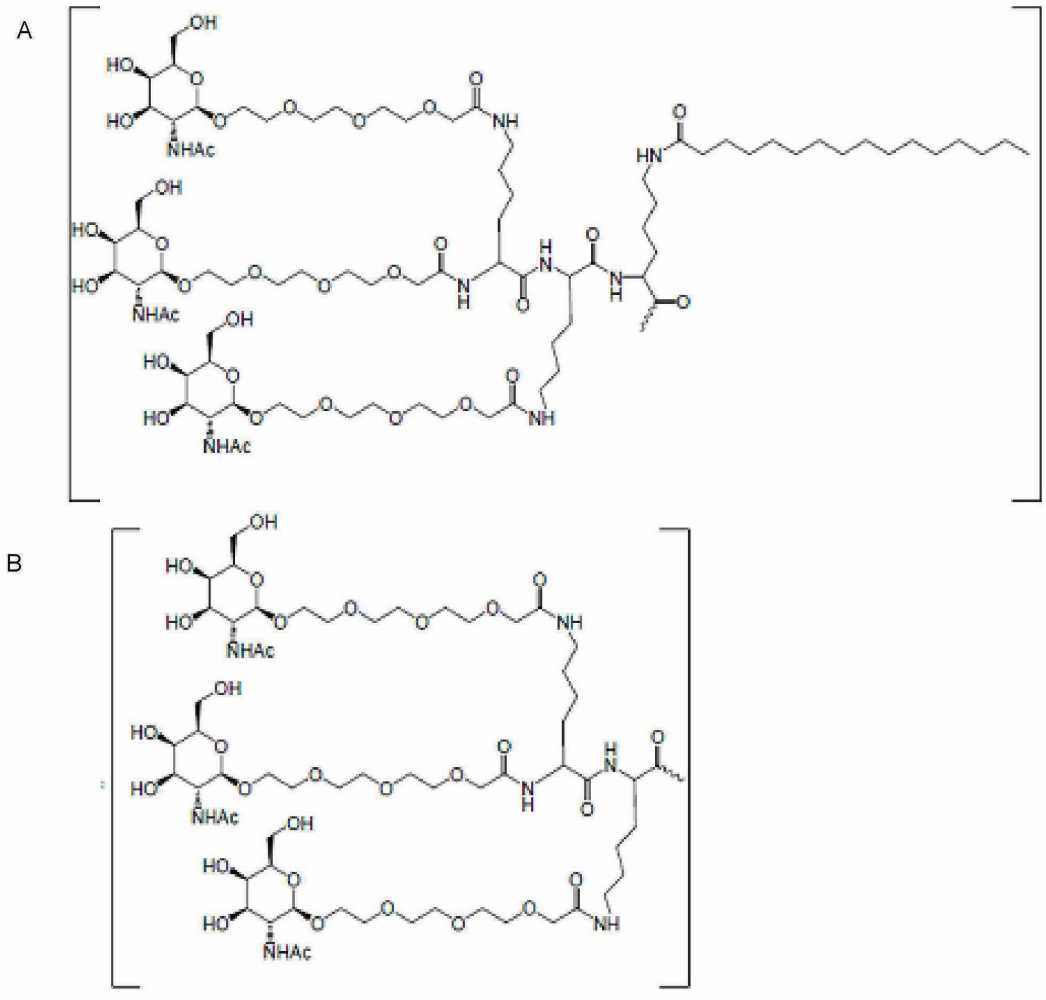
	항원 자극			외피 항원			코어 항원		
	염수	CMP 466_1	CMP 640_1	염수	CMP 466_1	CMP 640_1	염수	CMP 466_1	CMP 640_1
INFγ-/ CD107+	1.16	4.95	4.81	4.7	9.12	8.62	3.84	9.66	7.31
	2.7	3.59	2.74	2.57	3.69	3.2	3.25	3.34	2.92
	3	3.87	3.98	4.59	12.5	10.9	9.23	6.11	6.88
INFγ+/ CD107+	0.12	1.03	1.15	3.19	17.3	18.9	2.38	15.1	5.75
	0.49	3.12	1.75	2.73	7	5.34	1.63	2.35	1.9
	0.24	1.13	1.5	1.6	8.16	3.06	1.68	1.9	1.91
INFγ+/ CD107-	0.33	1.43	1.08	5.11	7.74	9.47	3.14	7.76	2.83
	0.61	2.9	2.26	7.84	5.79	5.78	2.33	2.82	2.95
	0.17	1.57	1.72	1.22	2.58	0.99	0.1	0.61	1.04

[0775]

[0776] 이러한 데이터로부터, 항원 자극 자체가 CHB 환자(n=3)의 PBMC에서 T-세포 활성화(INFg 및/또는 CD107a를 발현하는 CD3+ 세포의 증가 %)를 유도할 수 있음을 알 수 있다. PD-L1 안티센스 올리고뉴클레오티드 CMP 466_1 또는 640_1의 첨가는 CD3+ T-세포 반응의 추가적인 증가를 야기하였다. 이러한 증가는 주로 HBV 외피 자극된 군에서 관찰되었다.

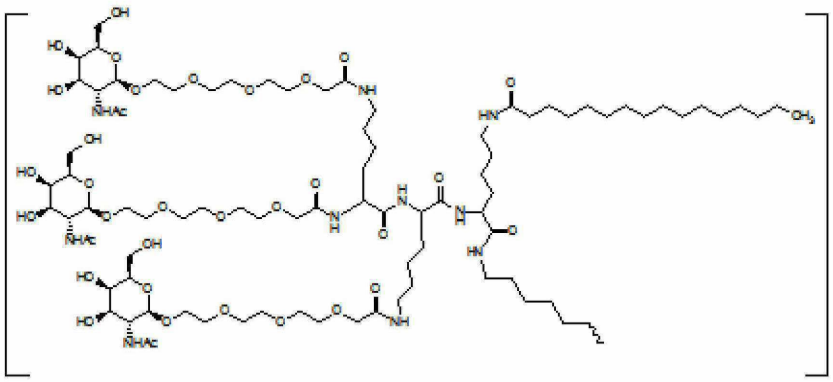
도면

도면1a

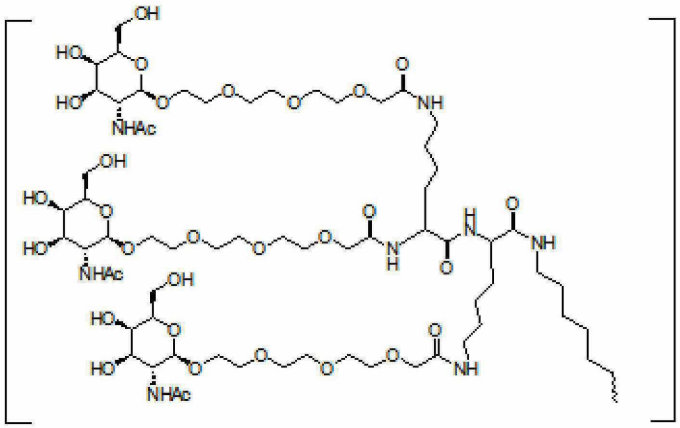


도면1b

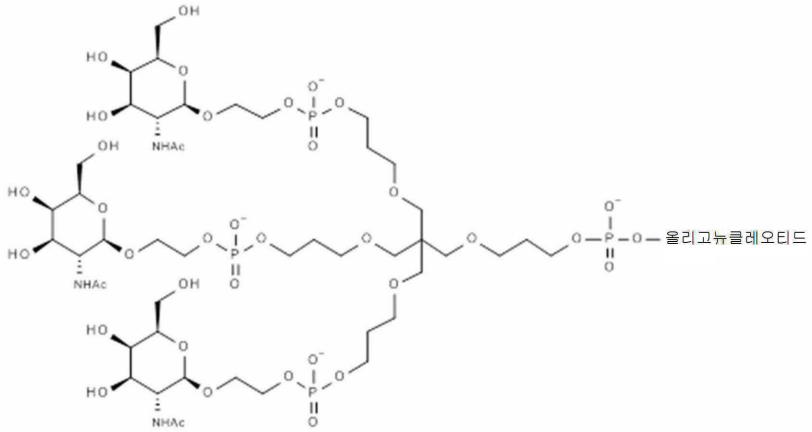
C



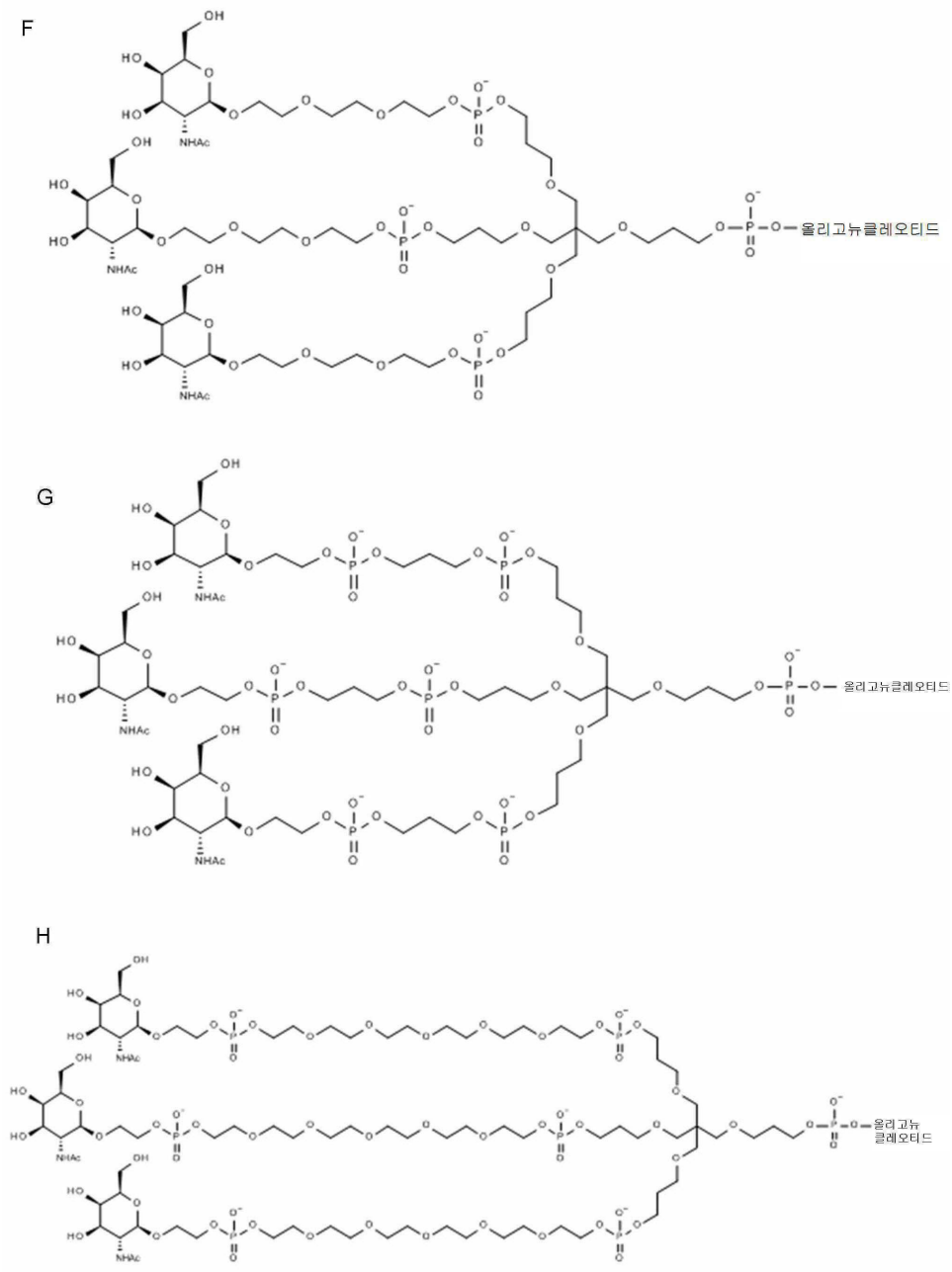
D



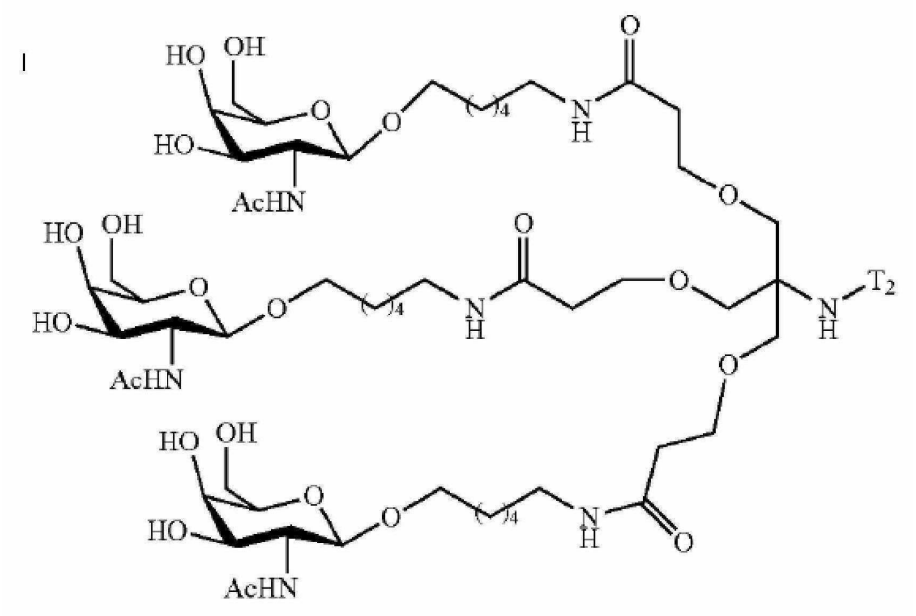
E



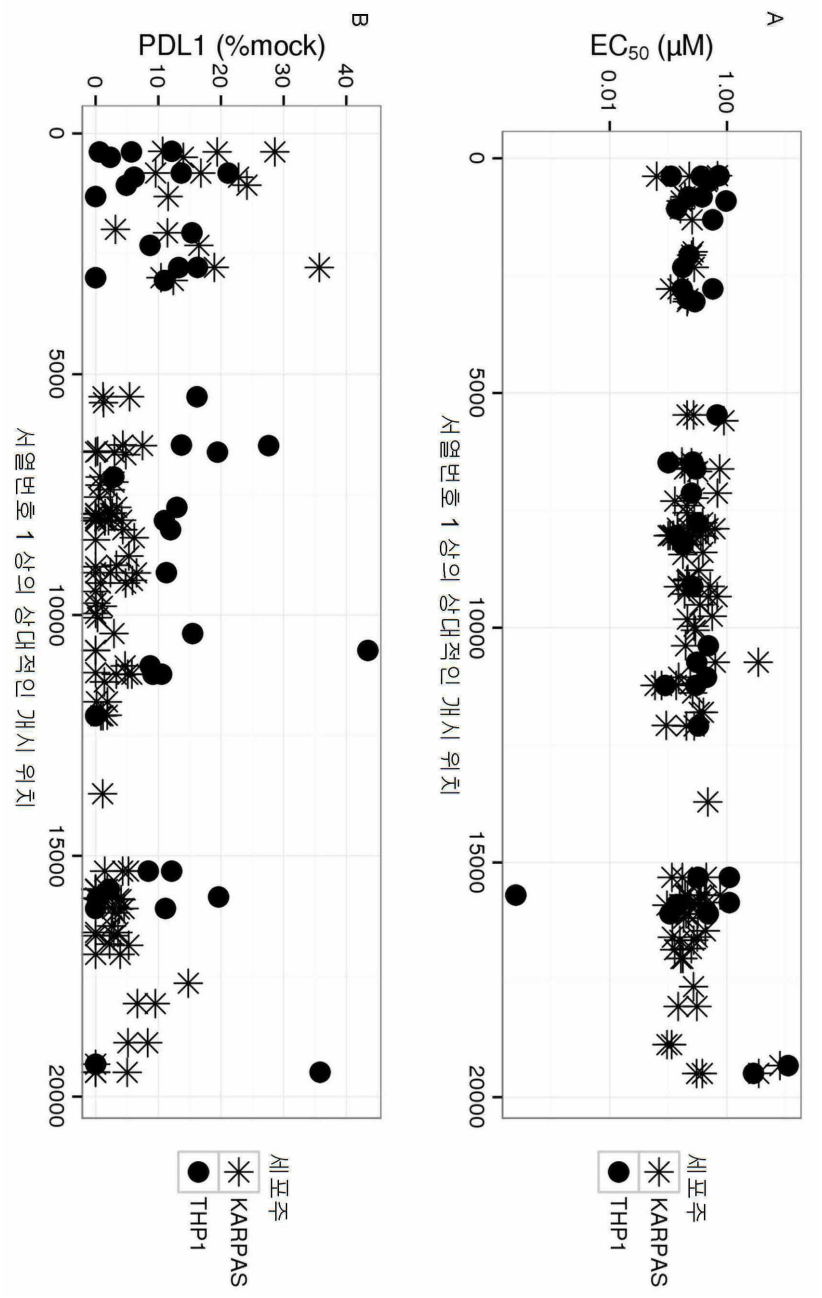
도면1c



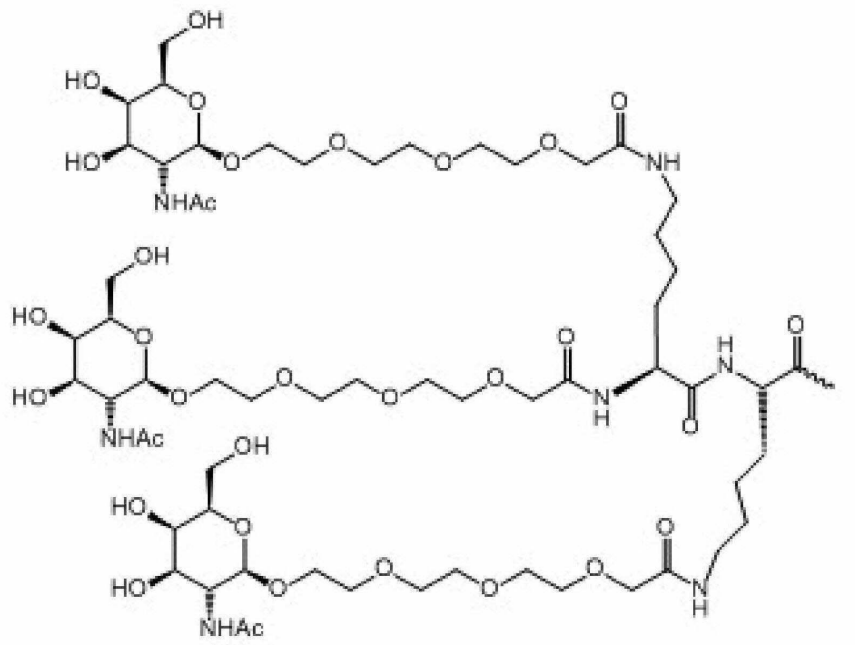
도면1d



도면2

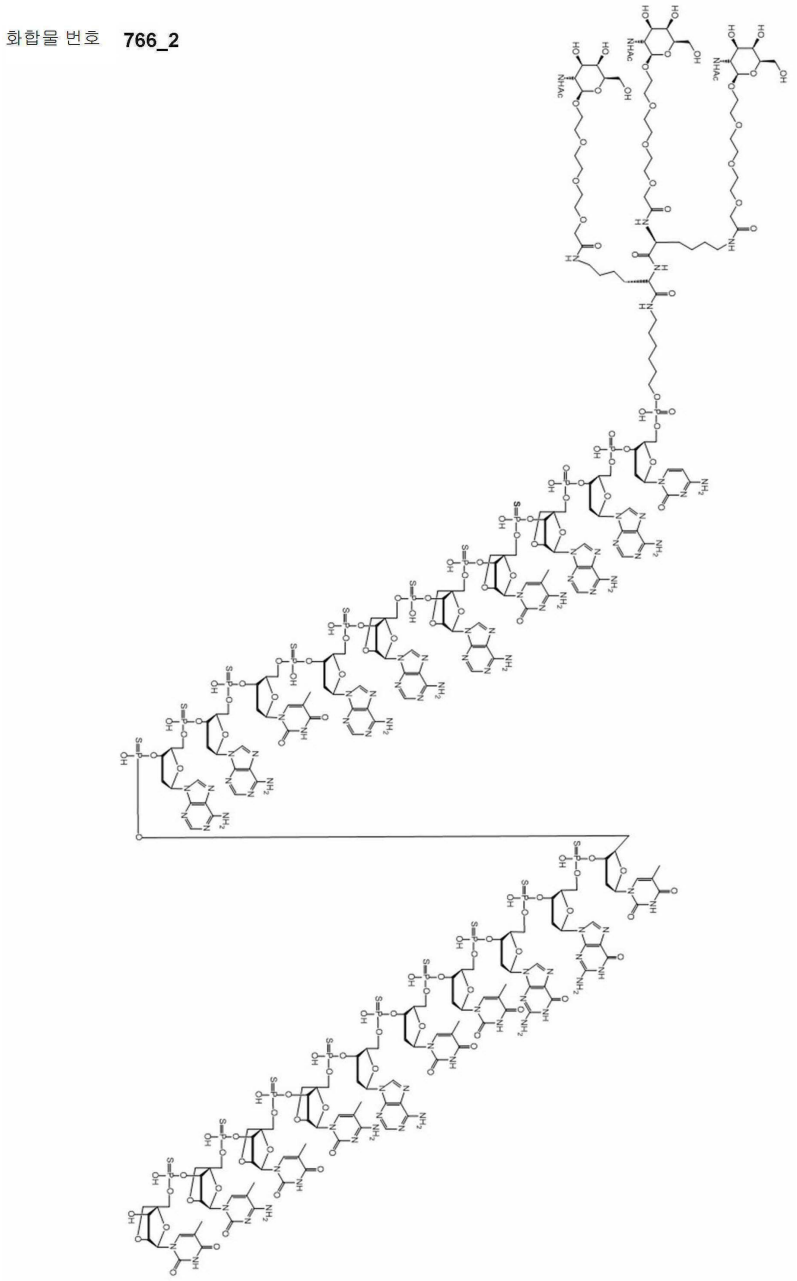

A
EC50 (μM)
0.01
1.00
0
5000
10000
15000
20000
서열번호 1 상의 상대적인 개시 위치
세포주
THP1
KARPAS
B
PDL1 (%mock)
0
10
20
30
40
0
5000
10000
15000
20000
서열번호 1 상의 상대적인 개시 위치
세포주
THP1
KARPAS

도면3



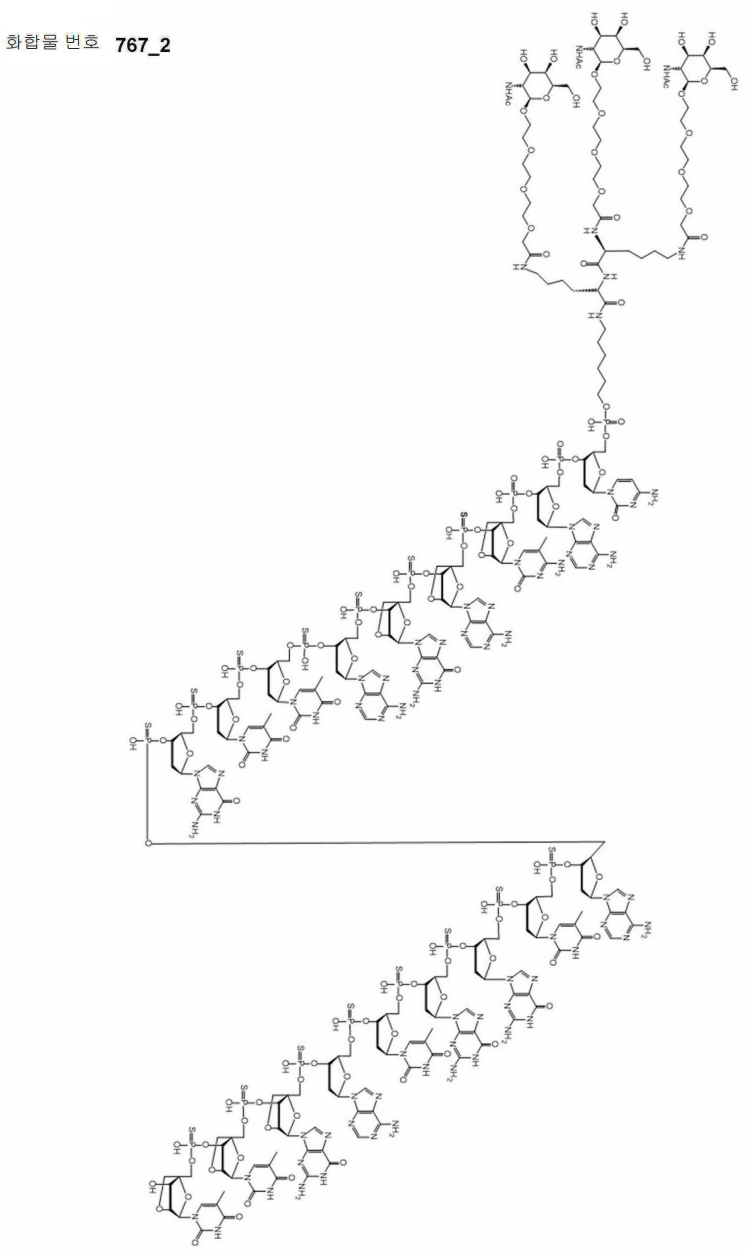
도면4

화합물 번호 **766_2**

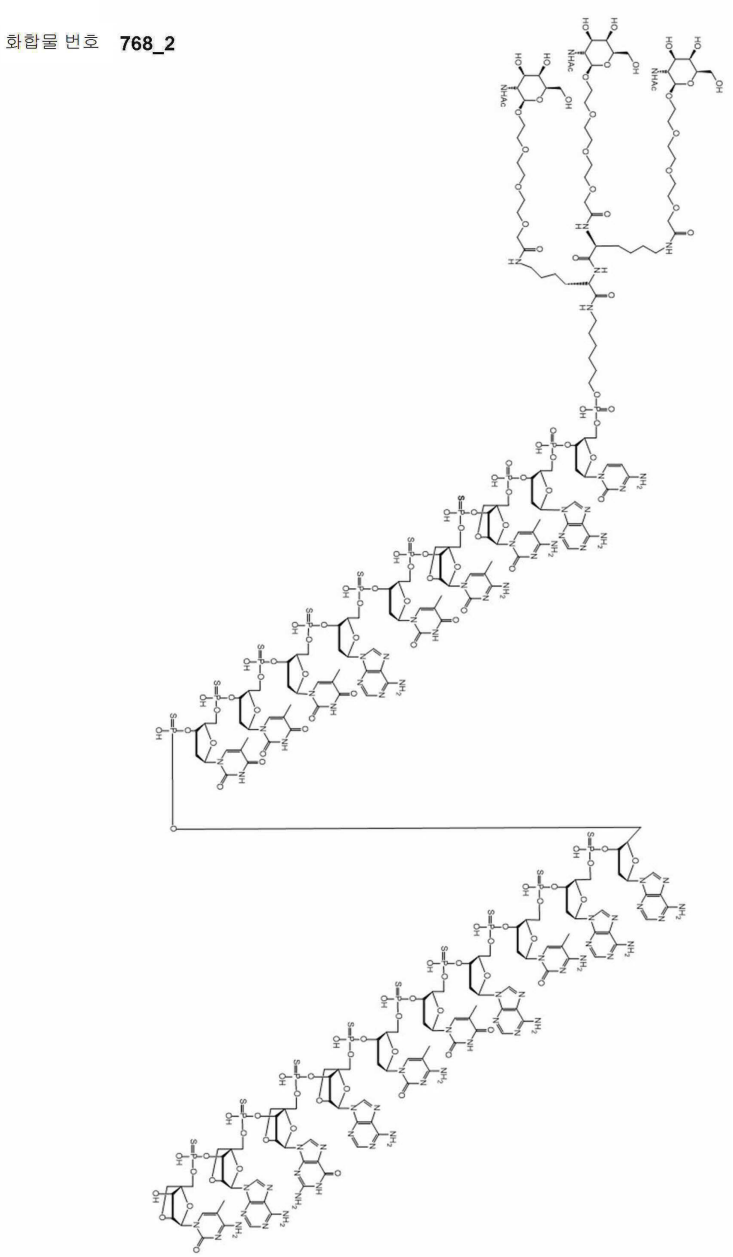


도면5

화합물 번호 **767_2**

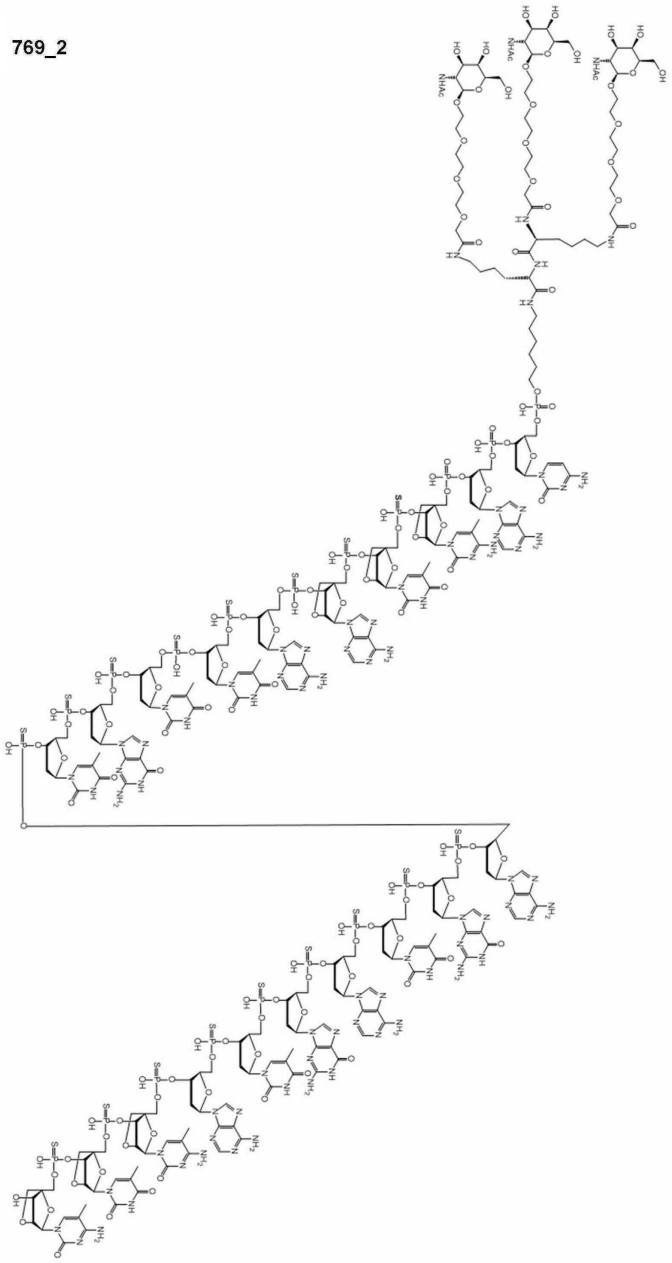


도면6



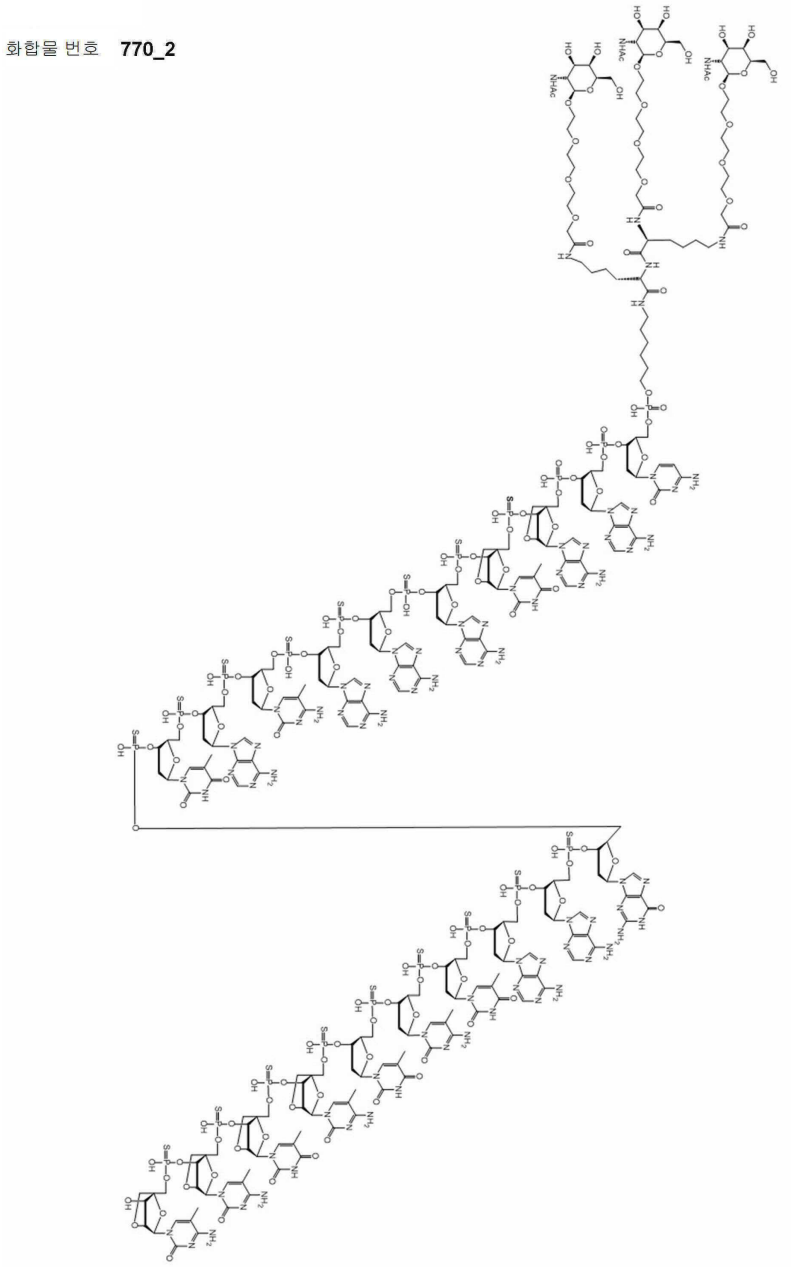
도면7

화합물 번호 **769_2**

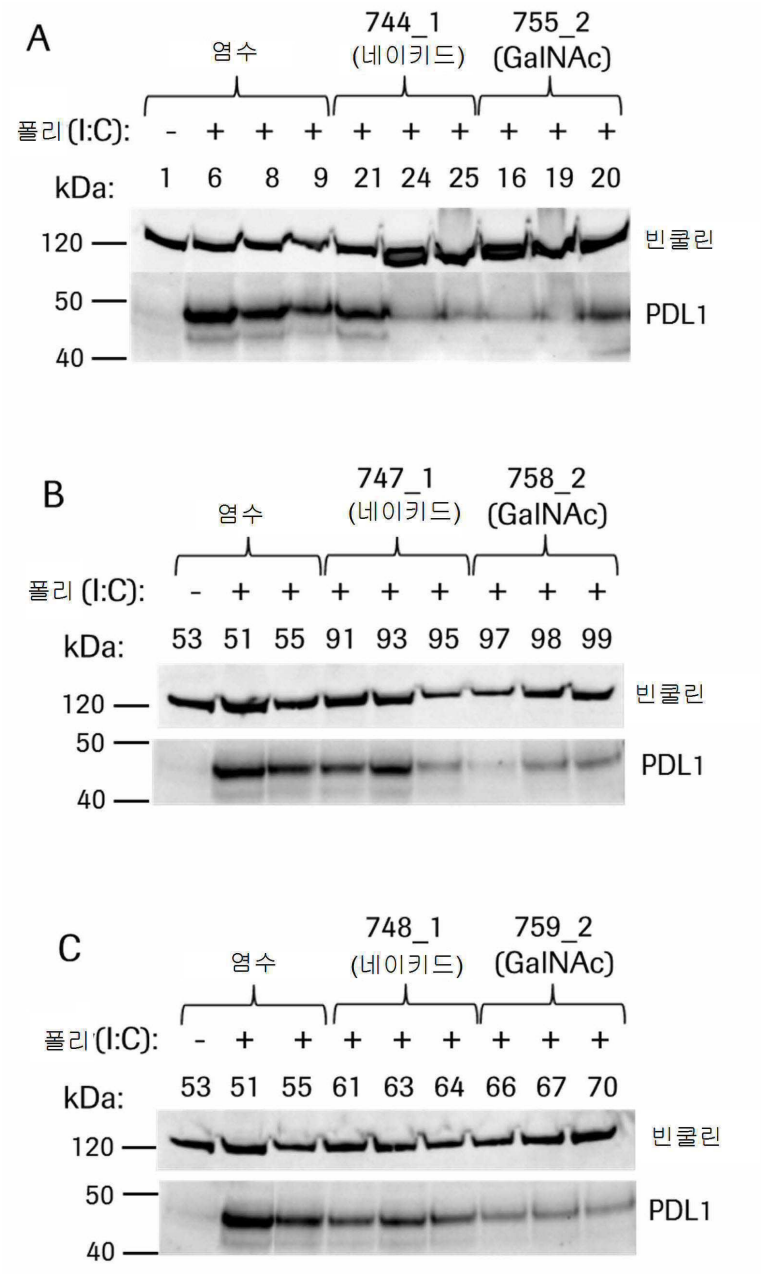


도면8

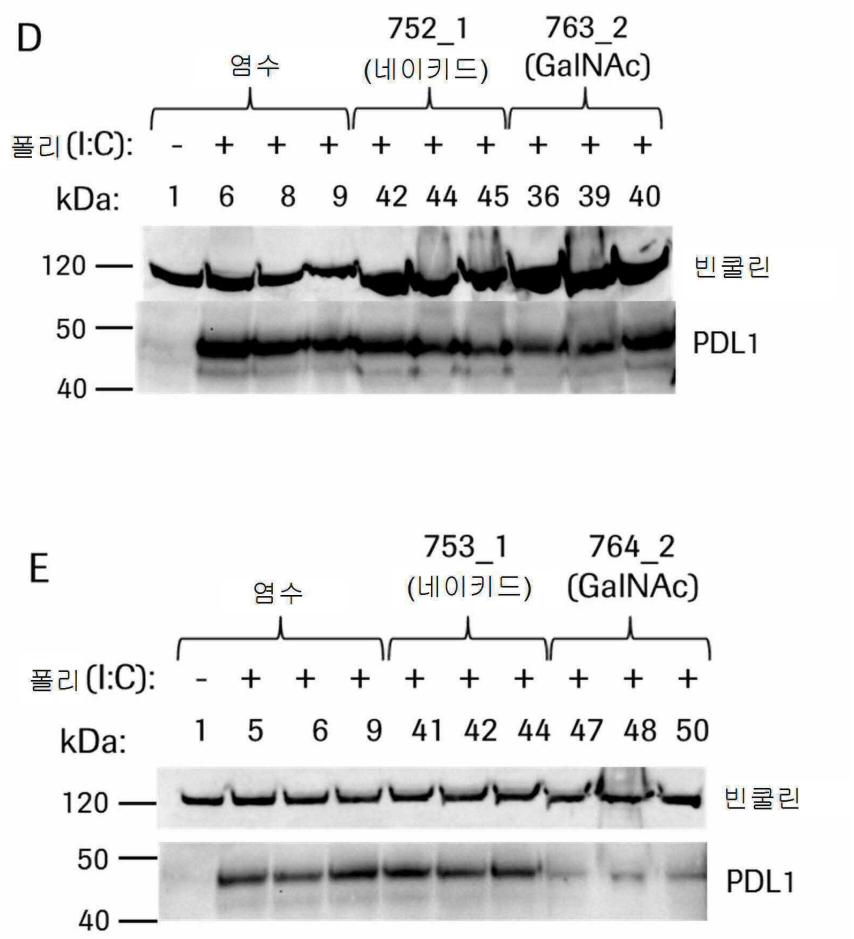
화합물 번호 **770_2**



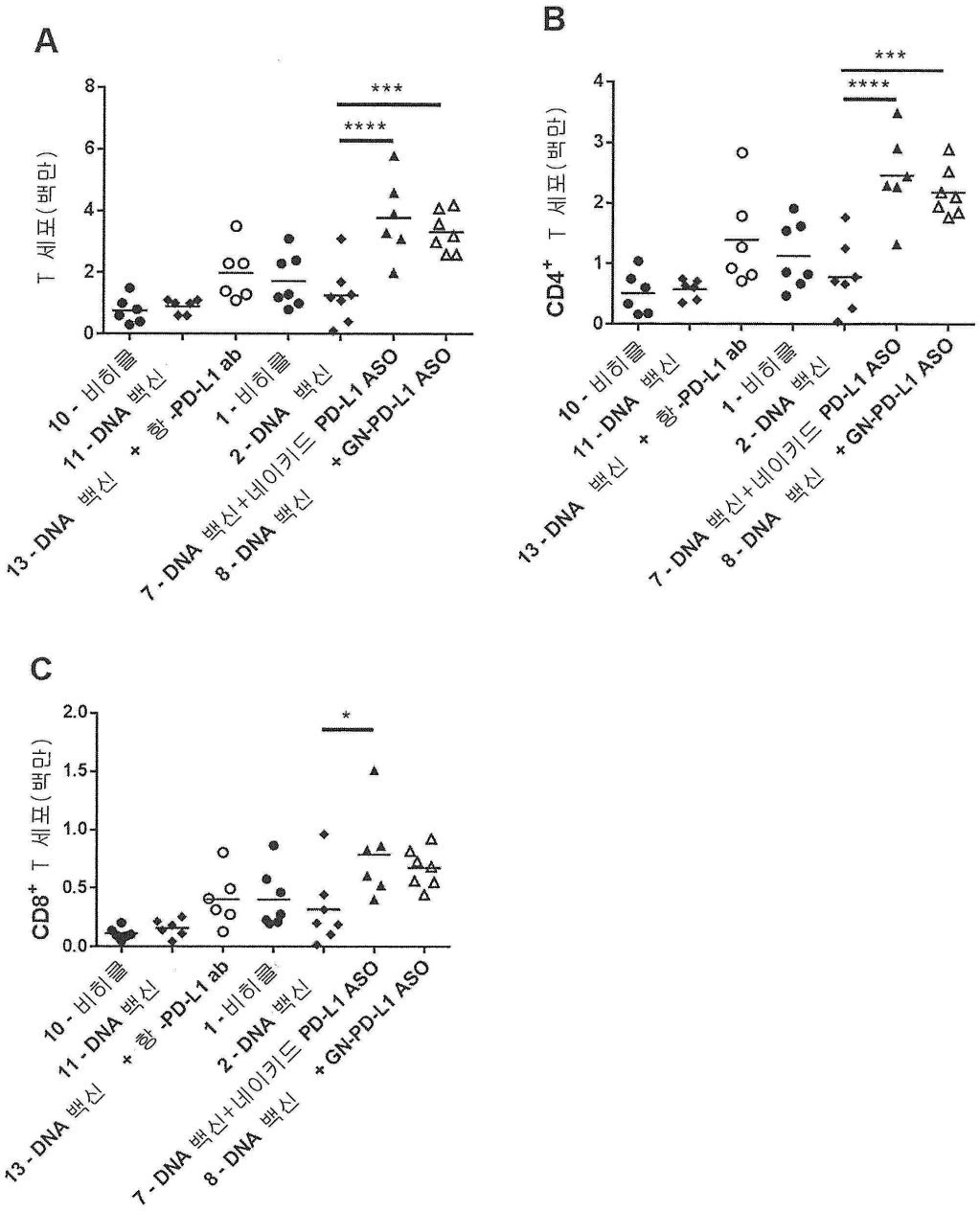
도면9a


A
염수
744_1
(네이키드)
755_2
(GalNAc)
폴리(I:C): - + + + + + + + + +
kDa: 1 6 8 9 21 24 25 16 19 20
120
50
40
빈쿨린
PDL1
B
염수
747_1
(네이키드)
758_2
(GalNAc)
폴리(I:C): - + + + + + + + +
kDa: 53 51 55 91 93 95 97 98 99
120
50
40
빈쿨린
PDL1
C
염수
748_1
(네이키드)
759_2
(GalNAc)
폴리(I:C): - + + + + + + + +
kDa: 53 51 55 61 63 64 66 67 70
120
50
40
빈쿨린
PDL1

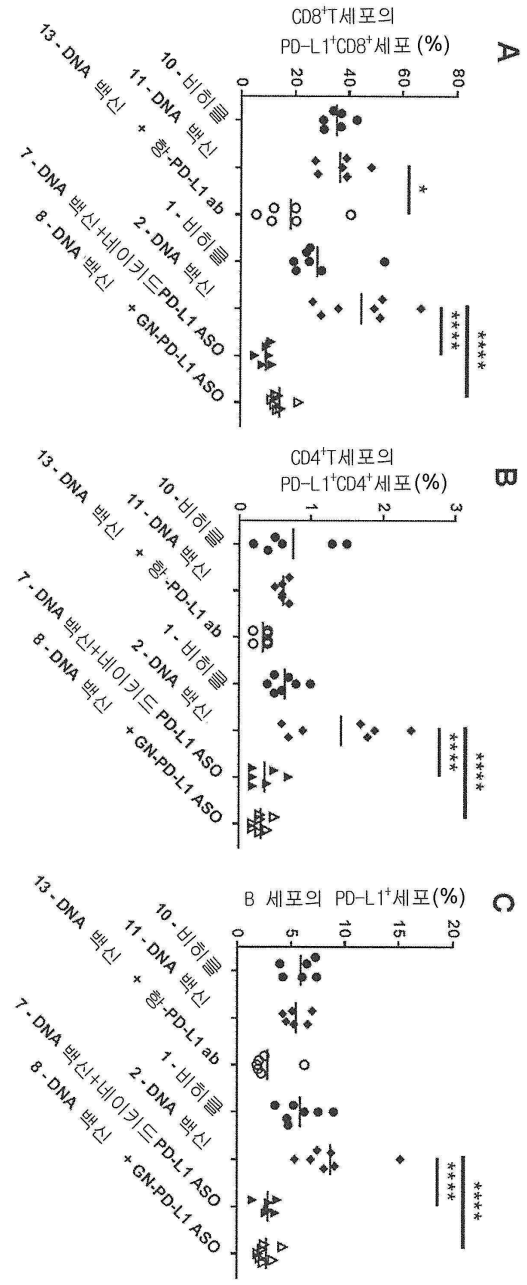
도면9b


D
염수
752_1
(네이키드)
763_2
(GalNAc)
폴리(I:C): - + + + + + + + + +
kDa: 1 6 8 9 42 44 45 36 39 40
120
50
40
빈쿨린
PDL1
E
염수
753_1
(네이키드)
764_2
(GalNAc)
폴리(I:C): - + + + + + + + + +
kDa: 1 5 6 9 41 42 44 47 48 50
120
50
40
빈쿨린
PDL1

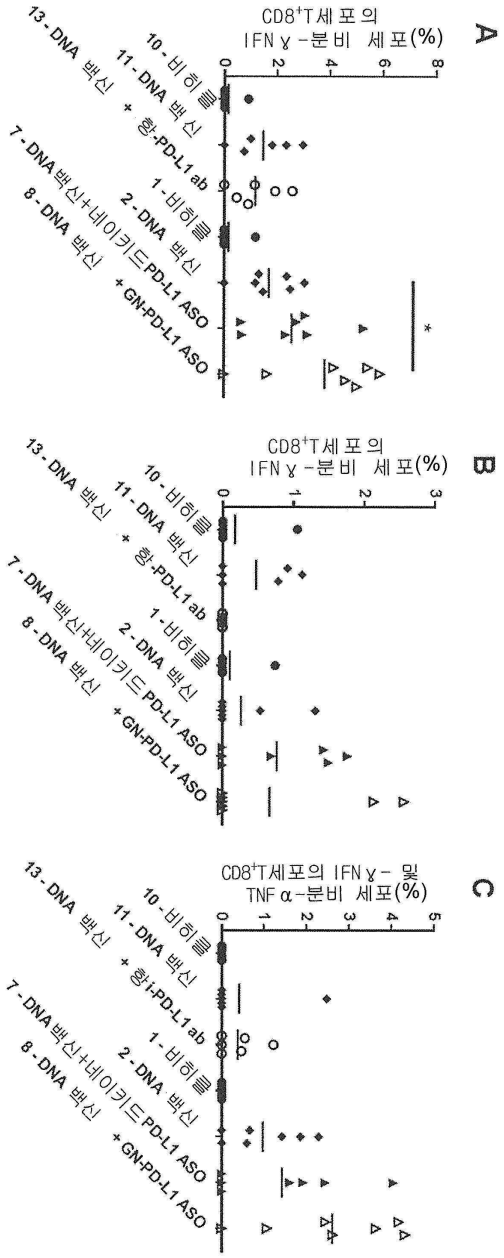
도면10


A
T 세포(백만)
8
6
4
2
0
***
****
10 - 비히클
11 - DNA 백신
13 - DNA 백신 + 항 -PD-L1 ab
1 - 비히클
2 - DNA 백신
7 - DNA 백신+네이키드 PD-L1 ASO
8 - DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO
B
CD4+ T 세포(백만)
4
3
2
1
0
***
****
10 - 비히클
11 - DNA 백신
13 - DNA 백신 + 항 -PD-L1 ab
1 - 비히클
2 - DNA 백신
7 - DNA 백신+네이키드 PD-L1 ASO
8 - DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO
C
CD8+ T 세포(백만)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
10 - 비히클
11 - DNA 백신
13 - DNA 백신 + 항 -PD-L1 ab
1 - 비히클
2 - DNA 백신
7 - DNA 백신+네이키드 PD-L1 ASO
8 - DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO

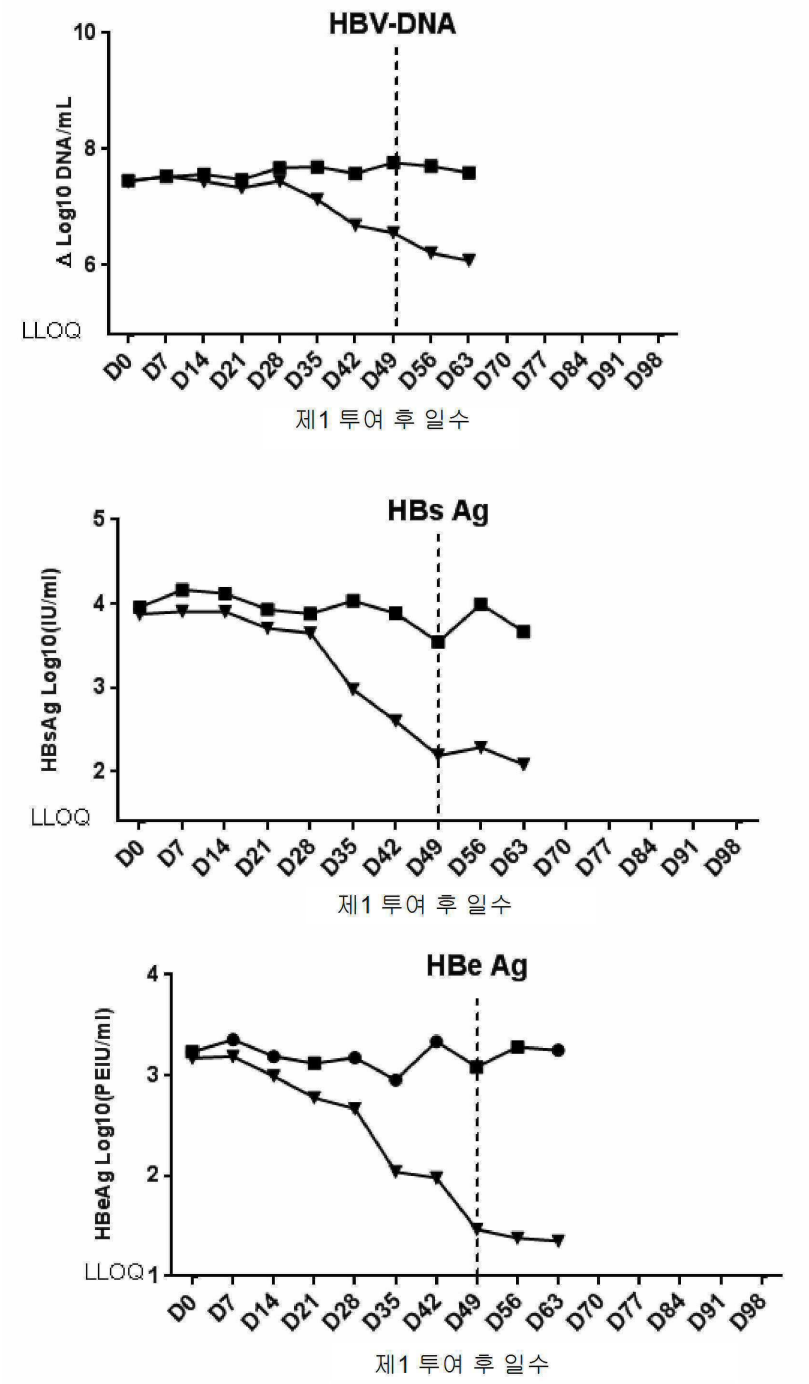
도면11


A
CD8+T세포의
PD-L1+CD8+세포 (%)
0
20
40
60
80
*
****
****
B
CD4+T세포의
PD-L1+CD4+세포(%)
0
1
2
3
****
****
C
B 세포의 PD-L1+세포(%)
0
5
10
15
20
****
****
10 - 비히클
11 - DNA 백신 + 항-PD-L1 ab
1 - 비히클
2 - DNA 백신
7 - DNA 백신+네이키드PD-L1 ASO
8 - DNA 백신 + GN-PD-L1 ASO
13 - DNA 백신

도면12


A
CD8+T세포의
IFNγ-분비 세포(%)
0
2
4
6
8
*
10-비히클
11-DNA 백신 + 항-PD-L1 ab
1-비히클
2-DNA 백신
7-DNA백신+네이키드PD-L1 ASO
8-DNA 백신 +GN-PD-L1 ASO
13-DNA 백신
B
CD8+T세포의
IFNγ-분비 세포(%)
0
1
2
3
10-비히클
11-DNA 백신 + 항-PD-L1 ab
1-비히클
2-DNA 백신
7-DNA백신+네이키드PD-L1 ASO
8-DNA 백신 +GN-PD-L1 ASO
13-DNA 백신
C
CD8+T세포의 IFNγ- 및
TNFα-분비 세포(%)
0
1
2
3
4
5
10-비히클
11-DNA 백신 + 항i-PD-L1 ab
1-비히클
2-DNA 백신
7-DNA백신+네이키드PD-L1 ASO
8-DNA 백신 +GN-PD-L1 ASO
13-DNA 백신

도면13



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

Roche Innovation Center Copenhagen A/S

<120> OLIGONUCLEOTIDES FOR REDUCTION OF PD-L1 EXPRESSION

<130> P33358-WO

<160> 786

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20064

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 1

ggcgcaacgc tgagcagctg gcgcgtcccg cgcggcccca gttctgcgca gcttcccgag 60

gctccgcacc agccgcgctt ctgtccgcct gcaggtaggg agcgttgttc ctccgcgggt 120

gcccacggcc cagtatctct ggctagctcg ctgggcactt taggacggag ggtctctaca 180

ccctttcttt gggatggaga gaggagaagg gaaagggaac gcgatggtct agggggcagt 240

agagccaatt acctgttggg gttaataaga acaggcaatg catctggcct tcctccaggc 300

gcgattcagt tttgctctaa aaataattta tacctctaaa aataaataag ataggtagta 360

taggataggt agtcattctt atgcgactgt gtgttcagaa tatagctctg atgctaggct 420

ggaggtctgg acacgggtcc aagtccaccg ccagctgctt gctagtaaca tgacttgtgt 480

aagttatccc agctgcagca tctaagtaag tctcttcctg cgctaagcag gtccaggatc 540

cctgaacgga atttatttgc tctgtccatt ctgagaaccc aaaggagtcc taaaagagga 600

atggaggagc ctaagaataa aaatagtata ataaaacatt tcttagacac attgaccttg 660

gcctatgtca aagttcagtc tgggtttgtc ttataacaca aggagtaaaa gtaccattgt 720

tctacctctt tttttaatac ttgaaaaaaa tttactgtgg atgcttttct atgaattaaa 780

taaccttcta aaaaatgttt tcattgctgc attcgattag attgggtaac taaatgaaat 840

taattcctca ctgttgggta taaaggttat ttacagtggt tctgtcttag ccattcactg 900

aactcattgc atatatatct ctggaatatt gctgattgtt tccttcaagt aaacttagaa 960

gtgtaactac ttagtcaaag agcctgaata ttttaaaggc cttttgaaga aaactgaaaa 1020

tgctttccag aaaggatgta tcagttgaca atgacagtcg tcaacagtat ttaaggagaa 1080

ctatgatact ctgaagaaaa acttagcctt tctcagtaaa agtaggtagg cagaggccac 1140

atgacagcag ttagagtgtg gtcttcaagg aagtcacaga aatactgtgg ggaattgaaa 1200

ccccatgtgg aaaatgtaca agagtgtctc agtgtgactg agaaggaggt tgggcatggg 1260

gtttcatgga gtttaataaa gtttggtcac ttagtagagg tttaataaat caactgtctt 1320

aatctttgat cctacttaag aatttttttt ttgtttttgt agagatgggg ctcttgttat 1380

gttgcccagg ctgttctcga actcctagcc tcaggcgatc ctccctcctc aggctccaga 1440

agtcctggga ttactggcgg gagccaccat gcaggcctct tgctcctact tttgagaaag 1500

gaagtttaac cggtttttt tgtctttttt ttttttttt tgagacagag tctcactctg 1560

ttgcccatgc tggagtgcag tggtgcaatc tcagctcact gcctcccggg ttcaagtgat 1620

tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg actacaggca cctgccacca cgcccagcta 1680

atttttgtat ttttagtaga aatggggttt caccatattg gccaggctga tctcgaactc 1740

ctgacctcag gtgatccgcc tgcctcggcc tcccaaagtg ctgggattac aggcatgagc 1800

cactgctcct ggctgcttaa ctttttctct atctcatcct cctacccatc ctacccttgg 1860

aagatagaga agtagtatta gttccatagt gttatactgg gcttccccca gggacaaacc 1920

cacttcccca acctgaatga gccatcactt cttccccagt ttacatttca ttgctcttta 1980

aatgtctcca ttcggatatg ggaattcaca tatggtcata attcttacct gaagaagatg 2040

tcagtcttct tctcttagac caactgccct gatatgaggt ttagaggtta aagaacatgt 2100

gtgtatttac atgatctttg tattctgcct tttcgtccct cactaatgac agctgcaccc 2160

caaggaaatg gagctgtgga agagagggtt tgataagaaa ttaagtaaat attggatcta 2220

atccatcacc ctccaggaag cctttattac tcctaaaaat ttcaaccaaa ttcattaaag 2280

gacaagaact ccaccagagt aggccataaa cattggcaaa attagttgta atccatgact 2340

agatttaatg tccctttgtt ttattcccat atggttataa tgctttgctt ggcattaggg 2400

gtattttaag ttttcttctg cctagtaagt gaatttgtgt ttataataca ataatcataa 2460

aatatcacat taatatttta taactgtaca gttataaaat attttataag taatatttat 2520

attttataag taatatttta taactgtaca gttaactctg gcccaaggaa aagatagtct 2580

gatagatgct gcagccccat tttagcaaat gtgacctcac aggcctgaat gccatcgcta 2640

ttccacatct acaggataga cggaaaggaa agaaataaaa aaataggtac ctaacactgg 2700

caagaggatg atgactcatg ttatttcact taacctttt atcttttaac atgaaggact 2760

catacaggtt gataagaaac cagtgacata aacagaccaa aaaatgatca gatctttcaa 2820

attagcaaaa aaataatatt ttttaaacaa tgggtgaaaa tacagtgtaa cagtaccaat 2880

tatcaacatg tgttgagaac cagaaaaatg ttctttttct ttgatcagca acactatttg 2940

ggaaaatcta tcctcagggc ctagcctggg gccctggcac acagtaggca ctcaacgaat 3000

atttgctgaa cacacaaata cttatgatat tttaaaaaat tggcaacaat ctgataccta 3060

acaatagagg gattaaatat tatggaactg ttaaataaga tgcttatgaa taccatgcag 3120

taagatgggc aatatttatg ccataagctt taatgaaaca aatgggtatt aaatgtatga 3180

taaggttata aattactttt taaaagatta cagggaaaaa aattgaaaga tatacactga 3240

aatgtttttt gctcacagtg gtgacaaggt ttctcagcac tggcactgtt gacgttttag 3300

gctgtatgtc tttgctgtgg gaggctggcc tgtgcactgc agggtgtttg gcagcactct 3360

tggcctctgc ccctagatag caatagcagt cctccctcaa ccagcccaat tttgacaacc 3420

aaaaatgttt ccaggcatca ccagatgctc cctgggtgag agtgatgaaa tagtagggga 3480

ttttcccctt cttttcttat tttctgtaat tccattatat tactttaata ataaagaaaa 3540

aaacataaaa aataaacgaa tgttattatt ctacgtcagt ttggatgttt ggactccatt 3600

ttggggttct ttccattata tcacttggtc tgctaaacat tctacggttt ggtaaggtga 3660

agtgattcat gaaattttgg ttttatttttt ttcctgatac taaaaataaa acattctttc 3720

acttggaaat ttggacacag aacaccaaaa aaaatccata atctcatctc tctttttctg 3780

tcttttcctt cctttttttcc ctttaaaaac aataaagagt gaaacctacc tgttctccct 3840

ctaatttaat tcctaaatat aatcactgtc aatatcttgg acatttcctg tgtctaaaca 3900

cacacacaca ctttttttttt tcagcaaaag tggatttctg ctacatgtag tgttctgcaa 3960

cttactttct atgtgtttac aaaatcagta catgtacata tgctgaattc agtccttaat 4020

ggtattatat tttgtgaata taccaaaatt tgtttaacca cttagacaat ctaggatatt 4080

ctcagtttgc tgttatgagc aatgctcttc ctttacatat acagacatat atatatatat 4140

gtgtgtgtgt gtgtttttgt tttagtagga tagatttcta ggagagggtg aaaggtctta 4200

tgacatccgc atttacgatt gtaataggaa gtatcaaagt gccccctaaa gaaaaaaatc 4260

ctcccattag tgggtaagaa agcctatttg ttcatatctt cacaaacact aaatattaga 4320

aatatttaca attgtggtca agctcataag tgaaaatggt atttcatatc ttatattttt 4380

tattgtgaga ttgaacatct ttcatatgtt tacatgtcac ctgtatttct tattctctga 4440

actatatgtt atgacctttc actttttttc ctcatgggtt atgtgtagtt tgtatagttg 4500

tcttattgat tgttaggagc tatttatata ttaggaacat taatctcctg tcttatatat 4560

acgtggcatc gattagttga tcatttgtga gttcatgtct gtatacaaag attggagagg 4620

cactaagagg gaaaacttac ctctttctta tcaaagtttg taaatatatg tataacagaa 4680

gagggagaaa atattaataa atgcacagat tggctgaaat agagtataaa tcttttactc 4740

ccctacttca acataaactg caaaaggaga gtgacttttc tttcactctg acttccgtat 4800

tcctcatgct taaaatagtg cctagcacag aagaggtgct caatcagtgt ttgctaaacg 4860

aaataattag tcacatttca agcaggatga ctaaatgaag aatagaatct aggcagatac 4920

tctggaagag tggctgtgag tcattcatat cttagtatga attagtcaaa tccaactctc 4980

tccccttccc actccccact gttagtagaa gaatctgttt attgagagaa tagatttata 5040

atttagaata agtgagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga 5100

ctagcatggc tgagacagtg aagtggaagc cttgaatagc taaagggtaa gatgaaagta 5160

tttagctgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaaag taaaagtcag attctccttg 5220

ctctgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga 5280
aataattgag aggaatttgg tgcaatatta tcttcttggc ttcttttgag tgggcagatt 5340
tttttcacgg cctgtaacta taataaattt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc 5400
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaagatat tgaacttcca attccctgtt 5460
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactattt cagttagaac 5520
caccaagtcc catattgtca tattgtatgt ttaattatta agtgaagcag tcttcttttc 5580
gtgttttcca taattagggc attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatattcat 5640

gacctactgg catttgctga acggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatttt 5700
aaatatttta accatgagtt taaaactaaa atgatcattt aaaatgcatg caattttctt 5760
atagagagaa cattctattc tttcttctac tttacacaat ggcaaagtct tctttctact 5820
ttacgcaatg ataaagttac ctgtgtcatt ttgtaaaaat atagagaata tagacaaatt 5880
gaaagacaca aaataatcta ttacccattt cccagggtta actactgaaa atatctgggg 5940
aaatggcctg tatgtataca tttatttgtt tgctttcaac aaggccaaga tcctttgatc 6000
tttcagtctt ggttgctctg tgacatgcct ttcctgatga ggatacttta aggaagaatt 6060

gtaagataca tggaaaatgt caggctaaca cagtactggc atcaccctgt gctctttcct 6120
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagtttagg gaagtaaaaa 6180
gagatgactg ttagaatcta ccattccctc tatgtaggaa gcaaataggt gtcctgtcaa 6240
aggacattct ggggatgtct acatgaaacc aagtctccct ggttgtaagg actccatctc 6300
catataatat ttatacagta atatatgttt ataaattgtg ggggcaactt gtttagctaa 6360
ttttattatt ctgctattgg gacactgtgt ctcagcatga gatatagtgt cccaaaacat 6420
atttcaagcc cattggataa aatatgtgtt tagcaagttc ttaaatataa tgataacata 6480

accgaccaga taaagtgatt tataaacgct gtgccaattt tgtaaatgtt tcgaggaatt 6540
ttccctttc tgaagattgt ccttctttct ttttagcatt tactgtcacg gttcccaagg 6600
acctatatgt ggtagagtat ggtagcaata tgacaattga atgcaaattc ccagtagaaa 6660
aacaattaga cctggctgca ctaattgtct attgggaaat ggaggataag aacattattc 6720
aatttgtgca tggagaggaa gacctgaagg ttcagcatag tagctacaga cagagggccc 6780
ggctgttgaa ggaccagctc tccctgggaa atgctgcact tcagatcaca gatgtgaaat 6840
tgcaggatgc aggggtgtac cgctgcatga tcagctatgg tggtgccgac tacaagcgaa 6900

ttactgtgaa agtcaatggt aagaattatt atagatgaga ggcctgatct ttattgaaaa 6960

catattccaa gtgttgaaga cttttcattc ttgtaagtcc atacttattt tcaaacagaa 7020

cagcatagtc tgttcattca ttcattcaat tcatgaattc attcacataa ttatccaatt 7080

tcttgagcac ctatttgata gtcactggaa atccagagac aaacaacaca gagccatgtt 7140

ctacagtatg tacagttttc caaaaagaat ttctagtctt tacttttta ttacaaatgg 7200

aatacgtata cttgcaaata attcagatac tgtggaagag atcaaatgaa ttgcaaaagt 7260

gtccctcctc ccttcaccac tatctcccat ggcatgcaga gagagtaacc attatttgtg 7320

tgtccctcca gaaatttttt tattcaacta ctatttttt attttattag gtccgtcagt 7380

tttccttttt tgagcctctc tatatcaaat gcaaataaat atattcagaa caaaccccac 7440

tgtaaggttc acattaaaaa agacttgaag tcaccctatg aagacaaaaa ataatcacat 7500

taagtgtgaa agaacctatt cttccagtac aggataagcc atacttactg ggcatatatt 7560

catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga aaaggaacta ggagtgttag 7620

ttcctcggta ttgacccaca gttatgttat caggtcactt gagttcaaag ttttgtgttg 7680

gcactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcac agaattgaga 7740

gctgaaagga tcccaggcag gagcagctaa tccaaactcc cacaaagaac aaaaatcccc 7800

cagaggatct tctgttctta tatttcctgc aatggcgtcc ctgtcatatc ccacaatggc 7860

ctccctgcca tttggatatc ccttccatat cctgttgaaa ttactcccta atagtaagct 7920

gaaatctgcc cctctagttg tagtcttggg attatttcat ttacatgatg acctttttaat 7980

atttgactag aattaaatca tctccccttg gtctttccat tcctgggcta actaccatca 8040

atctgagggc taacaataca agtagaaaaa gtatacattt gtcactgatc actgatcaat 8100

tattaatcaa tgatcactga taactataaa ctcaaaaaca aaatcatgtg gggattaaga 8160

gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgata ctggctcagg taatgccact 8220

attgtcaaga agataccact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt taccatatgc 8280

ttctccattc atgacatctc ttgagatgtt gtggtttata ctttcagttt ttctccagtc 8340

catccgcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca tcatgactta 8400

gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaggaa gagtataatc ctggcagtca 8460

ggaagaaggc agcataaagt ataagtttct gcttccaaaa aaggtctctc atcagcctgt 8520

agggagtgtg tagggaaggg acagctgtcc ttgtagtagg gaagggtttt attcaggtcg 8580

tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga tcaacacaat 8640

aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aaggggggagt tcttcctgga gcaaagcaaa 8700

tgaccaacca ggtttgagga cctgatttgt ttgacaattc cattttgtat tgtaaattac 8760

ttaattggca ttctactccc aatccatctt gtcatttgca tacagtggtt ttgggattga 8820

gttcagctat accaaaagtc tgaaccttct gcacttagaa caaggcaacc accaagcttc 8880

acttgcactg aggccgtgtc tccaatggaa atgaggcagc tggcttgcag gagcttccca 8940

actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa atgatttcac agtaatgctg 9000

ttgaacttca cttcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agcttcccca caggagttta 9060

ctcaccatgg tattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt 9120

tggattcact caattatcac tatcacttcg ggtgttattg cacctttctt gtttgtgagt 9180

ttaaatgcca gactctcagg ccactaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcgctg 9240

aacctaacag cagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt cagaaccttc aatgagatta 9300

ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tgtcccgata aagctatttg gatcatatgg 9360

accaaatcga ctgctgtcat tccccaccaa ccccatctct ccccaaaatt cccagccctg 9420

tttaagtgtt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat atcatatcat 9480

acttttctgt tttgtttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac aagcacaaag 9540

atttgggcct gttttataat attgttgcat ccccagggcc tgatatacag cagagtggtg 9600

gtacgaaaag agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga tttcctcaaa 9660

taggattagc ctaaaatttt ggaaacatga acagatttgg atatgtgaaa atttatttcc 9720

agactgttca tcaggaactg ttagcagctt ctaaagggta cactggagca gcagtagtaa 9780

aaggaggaag aggagcagct ctgctactgc tactatcgag tactactaca attagcactt 9840

gcttattctg tgtgttaggc cctgtactga acactctgtc taaattagtt catttcctcc 9900

tggaaatgac tctagggggt aagtgcttca tcatgtaaga tgagtatttt tcacattttg 9960

ttgtgtctga aatctgagtg tgtctttcaa tgatggaatc tttgattcca tgataagtgg 10020

tattattccc attttaagga tgaggaaact gaggtccaaa gaaattaagt aatttgccca 10080

aattcaccca gcctagaaaa tgataaagct agttctaaac ccaagcagat tagctctgaa 10140

gtctgggccc ttaataacca ctttttattg cctatatttg tacctctggt gtacgtatca 10200

agttatatgt tgacttcaaa actatcatga ccttttcttg gttttgattg tccaacatta 10260

gtatagtgtt ctgggtctgc aaaaattttg attactcatc tcatctgtaa aacattttga 10320

actcgtgtgt ttgtgcatgc acatttgtgt gtaattataa aaattttact ttctgttaat 10380

atataagttg tatcataaga aactgccgtt tttgaagagc aaaaaaaggt tgaatgttac 10440

cagttacatc tggttcaacc taatagacat ttgtacaaaa acagacattt taagaggttg 10500

aaataaaaat ttaataaaca atattttcag tttttactaa ttgtgatgct tcactatcat 10560

tagctaatat gtcaaggcat aatatacctt agggtgaact ttatcattaa caaaggtgga 10620

tggtgtcaat aatcttgagg tttgtgtttt tttatataac actgcgaggt ctaattaagt 10680

acttactgtt taccacctca tacagtggcc gataaaaagt gtcacttctg ctgtttcctc 10740
tgggttgtgc ttgaattatt agtattatct tcagtcctca gtttctttgt gggaaacttt 10800
ttaattagtt gtttaatttt gtaagatggt tagtttagtc aaaattagat aagagaattt 10860
gaaaatccgt agctacccca aagcaaccta cacataagaa ctattatttt tgtgttttga 10920
aatcataatt ttattgattt ccagtgtttc cactggtagt ggtttcattg atataggagt 10980
atcaaaacat cactcattat ttatttcagt ttcatttgat cctagccgtt ttgtattaac 11040
tctctgtgaa gaaattacct cacaaatcta ttgctgtcct tggtaaagga atggagaatt 11100

aaggctctag atcattagtg gttacactat agtattagaa gtaaaaaaaa gattatacca 11160
acaaaataag aacatgttaa tgtacttgta atgaataaac atgaataaag ctcttatgct 11220
atataggtgc actaaacaat ctactagaat tgtcagcaaa ctacgtatct taatcctgaa 11280
agggtcccaa accaatgatc taaaattgaa tcaaactttc ttccttgagc ataattactt 11340
aaatgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tgtaaatatc ataatgtggt 11400
atcctagata gcatcccaga acagaaaaag gatattaggg aaaaactgga ggaatggaat 11460
aaattatgca gtttagttat taataatgta ctaacgtcct tagttatgac gattgtacca 11520

tggtaatgta agatactaac aatagaggaa accgggtaag gagtatacag taactctata 11580
ctatctttgc aacttttttg taaatttaaa acttctaaaa taaagaacaa atttaaacat 11640
taaaaagtat caccaggaac atatatcact gtttacagat gaaatactat gtattttcat 11700
atctaatttc tgatcattga cttcaaatca gaaaagtgaa tgacacctca aaatcaggtt 11760
ttctgtttac tgaagtctaa gaaaagaaag cataccagct ggagagattc atgtttataa 11820
agacagattt ataacaacaa aaataaaata tccaagaata aatttaagaa gaagcacttt 11880
actgagaaac atatgaaaac ctgaacaaat ggagagggat attttgtatt tgaatagaaa 11940

gacttctggt ttaaagataa ttctctttaa attatttttt gtagaaattt aaggggtaca 12000
agagcagtgt tgtcacatgg atatattaca tagtggtgaa gtctggggtt ttagtgtaaa 12060
ttaatcttta cattttgttt gagcccaata aatgtaccaa catgattttt atagaaagat 12120
agtcattcct attaatccaa acttgtccca actttgaatt gaattgaggc agagctagca 12180
ggtgttcccc acggctgagg catctgaaca ttaagcatat ccctctgaga accagcctgc 12240
attgatactc tttctaatgt ggacagcatc aagctatgta cgtagttctg tgctcagcaa 12300
aagccctgac ttctttttgt ttatgtccta gccccataca acaaaatcaa ccaaagaatt 12360

ttggttgtgg atccagtcac ctctgaacat gaactgacat gtcaggctga gggctacccc 12420

aaggccgaag tcatctggac aagcagtgac catcaagtcc tgagtggtaa gaccaccacc 12480

accaattcca agagagagga gaagcttttc aatgtgacca gcacactgag aatcaacaca 12540

acaactaatg agattttcta ctgcactttt aggagattag atcctgagga aaaccataca 12600

gctgaattgg tcatcccagg taatattctg aatgtgtcca ttaaaatatg tctaacactg 12660

tcccctagca cctagcatga tgtctgccta tcatagtcat tcagtgattg ttgaataaat 12720

gaatgaatga ataacactat gtttacaaaa tatatcctaa ttcctcacct ccattcatcc 12780

aaaccatatt gttacttaat aaacattcag cagatattta tggaatatac cttttgttcc 12840

atgcattgta gtactcattg gatacacata gaataataag actcagttca cactcttcag 12900

gaaacagata aaaaactaag aaacaaacaa aaaacaggca atccaacacc atgtgggaaa 12960

tgctttcata gccgggaaac ctggggaata cctgagagga atactcaatt caggccttgt 13020

ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag ctgcttccct ctttccaggg tggcaggaaa 13080

taaatggaac atatttttct atcttatgcc aaacatgagg gaccctttct ccccggtgcc 13140

tctcccaagg tagtctacaa tatttcaact ctagcagtct gcttagtgca tagaacatga 13200

ggctgtgtgt ccctgggcaa attactagac ttctgtgtgc ttcactttcc ctgtaggatt 13260

ataatctact gagcaagctt attgtaaggg tcagattagc aacagtgtat gaaaatgatt 13320

tgagaccatt gcctgcacaa attcaactat tttttttttat ctcactactc tacagaagta 13380

ggtagggtgg gagacagagt ctgatgagag gctcagaatg tgaaagaaag tgaggcgagt 13440

gagcatgata tttaatataa acacaaagat attctgagaa gagctgctca ctgccccctc 13500

ccccaataca tgttgatagg aaaatgccac gtacttcagc aaaaacaact gaaaaattag 13560

atagaaaagt caatcaatag gaaaagataa tccaggacgg tgttgtgaac agaaagaggg 13620

ggaaaaaact ttagaaaatg atggggatgc tcttactggg gtacgagtcc tcaggtattg 13680

aactggcttt cagtaaaagc tagattagtg ggttcctgcc atttacaagc tgttttatga 13740

caacttactt gttgggtggc ctacagtaac tcacctaact gcactgagtc tgtttcctca 13800

tctgtaaatt ggggatttttt ttttaaatac ctggcatgcc taactcataa agttgttctg 13860

aaactgaaat aaaacatacg tgaacaggca ttgtaaactg taagttacgg aaaaagctgg 13920

ctgttgttgt gtctttaaag tttcacctgg gtagtcaaag atggatcatg ggtctcagtg 13980

gagagctgag ccaggcagga gctgactaag ggtgagaggt gggagttagc agcctctgaa 14040

catctgtgta ccatgggacc ccctttcctc ctgcatggta ccccagacaa ggagcctagt 14100

aagagatact aatggcttgt tgtccagaga tgttcaaact gcagagaaag ataagacaac 14160

aagcattggc ctccaatcat gatgacagat aggaggaggt gggagctcct tagcagtgct 14220

ggttggcctt ccatgttcta ctgtgggcca tctctgccat gtactgtagg ctactagctt 14280

ctatattaaa gaatgcaaga ggggccagga gcggaggctc atgcctgtaa tctcagcact 14340

ttgggaggcc aaggtgggca gatcacttga ggtcaggagt ttgtgaccag cctggccaac 14400

atggtgaaac tctgccttta ctaaaaatat aaaaattagc tgggtgtggt ggtgtgcacc 14460

tgtaatccca gctactcggg agactgaggc acaagaattg cttgaacctg ggaggcggaa 14520

gttgcagtga gcccagattg cgccactgca ctccaccctg ggcaacagag aaagactctg 14580

cctcaaaaaa aaaaaaaaaa agcaagagga agtgaaataa tcaaggccgc catttaatag 14640

tgagcagcca ctccatgtgg tactgtgcaa gcacattata aatattagcc tcacaagaaa 14700

tgtattagca tttgtatttt gtacactggt taagtatctt gcccaagacc tcaaaactgg 14760

ttaagggcag cagaatttag ccccagcacc acctttttcaa agcctgggct tctcacactt 14820

ctccatgctg ttcccatttt aacacaggta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc 14880

atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgaccattc tcctgacccc 14940

ttcccatcaa aattttatct ttagtcagtt tgttttcgtt ttgttttgtt tttcagaact 15000

acctctggca catcctccaa atgaaaggac tcacttggta attctgggag ccatcttatt 15060

atgccttggt gtagcactga cattcatctt ccgtttaaga aaaggtagta tttccttaat 15120

tgcagtggtc tccactgggg gtgaggaagg ggtgagaatt ggatcatggc tgcaaggaaa 15180

cccgacttaa cctctgcaag gtggtgcaaa ggcattccac tgttcaacag caattatatt 15240

gaagctgagt gggatcactg ggtgaagatg aagcgtaagg ggtgaggggc aggagaatgg 15300

gtatggatgg aggtagaaga tgcagtgtca tacagttttt ttctatcatg aaaataacca 15360

cagacttaca gaagagaaag agctaaaatg cccgtcattt tcagttgcat tttagtcttg 15420

cattagttgc aaccagctgg tttctgggta ccctaagtaa taaaaatagt tcctctgtag 15480

aactgtagta tgtttaccat agagtatttt gcaaaatttt tggtagagga tgttacataa 15540

tttgcatgtg ttcatttctc catttacctg tgggaacaat taaaatccag gaaaatgagt 15600

atattcaaat aatttcctcc catttaagat gagtcagagt aaataattcc tccaatactt 15660

agagaagtat accaagagat ccagtgatgg tatagagttg tctgatgtta aatagggaag 15720

tagaatatgg aaggggattc caatagtcgt tgaaaaattc cccataaccc cttacatggg 15780

ggaaagtagt gttaactgag agagtagaga taagctgttt ccaaaaatta tattcttaac 15840

aggactgaga tagccagaat ataaggatca agtttcaatg acagtaagat cctgagatgg 15900

agttgatttg cacaaagaaa taattgttgc cagcatgcat tttgaatatt tctctggaaa 15960

aaaagattag ttggcagtag aaatggatag aaatcaatag atattaaaat acctcagaat 16020

ttggttcatc tctgggaaaa gatgaaaaat aaaagtgtat actcctcaag aacatctagg 16080

atcaaaagca tgtgccctac actattgaat taattaacct cataagttgg gacctgtgga 16140

ataaggatgt ccaccagact tcctagggat tacaaatgtt tcacagaact tgaaatttaa 16200
acttgggtca ctgtatggga tgtagagctg tgctatatgg aaataaaaat gatttctttt 16260
tctcaaggga gaatgatgga tgtgaaaaaa tgtggcatcc aagatacaaa ctcaaagaag 16320
caaagtggta agaatatcag aaggaattgg gaagtaaaag tcaaaggaaa caaaaagcta 16380
aagcaataac aaagagaaat ccatcagtca taatctcctc tccttttaaa gaatgctggt 16440
tccccttgc ctcacagcta acacaagaac tcctccaccg tctgaggagg tttaggagca 16500
gggaagggga aggagtcagc ttcatttgct aatcttctgt tgccctgcac cctagcagct 16560

ccttgcagca ggggacaagg atgacttagg tggatggata attaattgat tctaaaatat 16620
tgtgtgtcag tattgtaata ctatgttaat tgcaccatgc acggtatctc atttaatccc 16680
ccacccccttg ccattaccaa agagagagag agagagagag agagaaatac tagaatttat 16740
cctcatttta cagtagagaa aacagagggt caagaagata atgtaaagtg cccaagaaca 16800
cacagctgat cacaaaaatc aagcttgggg gccattagcc taaccacaga cccttactct 16860
taacccatct gcttcaatcc attttgctac aaatgtttac atttataagc agggcagaaa 16920
aacctcatcc aggttattga actaagaaga aagttatatt aaggtttcta atttttttaa 16980

tgtagttaga aaccaaactt aacaatgagc ccaagtttaa agcagtctaa ttaacctgga 17040
caagctcagg caagtttcat tctgtggccc atagcatcat ctgtgttgta aagctaagta 17100
gcaaatgttg tttgggtcat gctgggggac aagccatccc aatttgctca ggactgaggg 17160
gttttccagg atatcatgta aggataattg ggtacaaata taacctgctg ctttctctca 17220
tttcaaattt atcatttatc atatcagcaa ctatgagtta tgtttttat tagatttctt 17280
gttacttttt ccccagacca cttcccatga aattaatata ctattatcac tctccagata 17340
cacatttgga ggagacgtaa tccagcattg gaacttctga tcttcaagca gggattctca 17400

acctgtggtt taggggttca tcggggctga gcgtgacaag aggaaggaat gggcccgtgg 17460
gatgcaggca atgtgggact taaaaggccc aagcactgaa aatggaacct ggcgaaagca 17520
gaggaggaga atgaagaaag atggagtcaa acagggagcc tggagggaga ccttgatact 17580
ttcaaatgcc tgaggggctc atcgacgcct gtgacaggga gaaaggatac ttctgaacaa 17640
ggagcctcca agcaaatcat ccattgctca tcctaggaag acgggttgag aatccctaat 17700
ttgagggtca gttcctgcag aagtgcccct tgcctccact caatgcctca atttgttttc 17760
tgcatgactg agagtctcag tgttggaacg ggacagtatt tatgtatgag tttttcctat 17820

ttattttgag tctgtgaggt cttcttgtca tgtgagtgtg gttgtgaatg atttcttttg 17880

aagatatatt gtagtagatg ttacaatttt gtcgccaaac taaacttgct gcttaatgat 17940

ttgctcacat ctagtaaaac atggagtatt tgtaaggtgc ttggtctcct ctataactac 18000

aagtatacat tggaagcata aagatcaaac cgttggttgc ataggatgtc acctttattt 18060

aacccattaa tactctggtt gacctaatct tattctcaga cctcaagtgt ctgtgcagta 18120

tctgttccat ttaaatatca gctttacaat tatgtggtag cctacacaca taatctcatt 18180

tcatcgctgt aaccaccctg ttgtgataac cactattatt ttacccatcg tacagctgag 18240

gaagcaaaca gattaagtaa cttgcccaaa ccagtaaata gcagacctca gactgccacc 18300

cactgtcctt ttataataca atttacagct atattttact ttaagcaatt cttttattca 18360

aaaaccattt attaagtgcc cttgcaatat caatcgctgt gccaggcatt gaatctacag 18420

atgtgagcaa gacaaagtac ctgtcctcaa ggagctcata gtataatgag gagattaaca 18480

agaaaatgta ttattacaat ttagtccagt gtcatagcat aaggatgatg cgaggggaaa 18540

acccgagcag tgttgccaag aggaggaaat aggccaatgt ggtctgggac ggttggatat 18600

acttaaacat cttaataatc agagtaattt tcatttacaa agagaggtcg gtacttaaaa 18660

taaccctgaa aaataacact ggaattcctt ttctagcatt atatttattc ctgatttgcc 18720

tttgccatat aatctaatgc ttgtttatat agtgtctggt attgtttaac agttctgtct 18780

tttctattta aatgccacta aattttaaat tcataccttt ccatgattca aaattcaaaa 18840

gatcccatgg gagatggttg gaaaatctcc acttcatcct ccaagccatt caagtttcct 18900

ttccagaagc aactgctact gcctttcatt catatgttct tctaaagata gtctacattt 18960

ggaaatgtat gttaaaagca cgtatttta aaatttttt cctaaatagt aacacattgt 19020

atgtctgctg tgtactttgc tatttttatt tattttagtg tttcttatat agcagatgga 19080

atgaatttga agttcccagg gctgaggatc catgccttct ttgtttctaa gttatctttc 19140

ccatagcttt tcattatctt tcatatgatc cagtatatgt taaatatgtc ctacatatac 19200

atttagacaa ccaccatttg ttaagtattt gctctaggac agagtttgga tttgtttatg 19260

tttgctcaaa aggagaccca tgggctctcc agggtgcact gagtcaatct agtcctaaaa 19320

agcaatctta ttattaactc tgtatgacag aatcatgtct ggaacttttg ttttctgctt 19380

tctgtcaagt ataaacttca ctttgatgct gtacttgcaa aatcacattt tctttctgga 19440

aattccggca gtgtaccttg actgctagct accctgtgcc agaaaagcct cattcgttgt 19500

gcttgaaccc ttgaatgcca ccagctgtca tcactacaca gccctcctaa gaggcttcct 19560

ggaggtttcg agattcagat gccctgggag atcccagagt ttcctttccc tcttggccat 19620

attctggtgt caatgacaag gagtaccttg gctttgccac atgtcaaggc tgaagaaaca 19680

gtgtctccaa cagagctcct tgtgttatct gtttgtacat gtgcatttgt acagtaattg 19740

gtgtgacagt gttctttgtg tgaattacag gcaagaattg tggctgagca aggcacatag 19800

tctactcagt ctattcctaa gtcctaactc ctccttgtgg tgttggattt gtaaggcact 19860

ttatcccttt tgtctcatgt ttcatcgtaa atggcatagg cagagatgat acctaattct 19920

gcatttgatt gtcacttttt gtacctgcat taatttaata aaatattctt atttattttg 19980

ttacttggta caccagcatg tccattttct tgtttatttt gtgtttaata aaatgttcag 20040

tttaacatcc cagtggagaa agtt 20064

<210> 2

<211> 20261

<212> DNA

<213> macaca fascicularis

<400> 2

gtaaaatcaa ggtgcgttca gatgttggct tgttgtaaat ttctgtttat attaataaca 60

taccaaatgt ggatttgttt taatcttcgg aactctttcc ggtgaaaacc tcatttacaa 120

gaaaactgga ctgacaggtt tcactttctg tttcatttct atacatagct ttattcctag 180

gacaccaaca ccactcgcta cccaaactga aagcttcccc gattccgccg aaggtcagga 240

aagtccaatg ccgggcaaac tggatttgct gccttgcgca gaggtgggcg ggaccccgcc 300

tccgggccgg gcgccaagtt gagcagctgg cacgcctcgc gaagccccag tcctgaagcc 360

ccagtcctgc gctgcttccc gaggctccgc accagccgcg cttctctctg cctgcaggta 420

gggagcgttg ttcctccgca ggtgcccacg gcccagcatc tctggctaac tcgctgggca 480

ccttaggacg gaggatctct acacccctttc tttgggatgg agagaggagg agggaaaggg 540

aaggcgatgg tctaggggggc agtagagcca attacctgtt ggggttaata agaacaggca 600

atgcatctgg gcttcctcca ggcgcaattc agttttgctc taaaaataat ttatacctct 660

aaaaataaat aaggtgggta gtataggata ggtagtcatt cttatgcgac cgtgtgttca 720

gaatatagct ctgatgctag gctggaagtc tggacacggg tcctagtcca ccgtcagctg 780

cttgctagta atatgacttg tgtaagtcat cccagctgca gcagataagt aagtctcttc 840

ctgcgctaag cacgtccagg acccctgaac ggaatttatt tgctctgtcc attctgaaaa 900

cccaaaggag tcctaaaaga ggaatggagg agcctaagaa taaaaatagt ataataaaac 960

atttcttaga catgttgacc ttggcctatg tcaaagttca gtctgggttt gtcttataac 1020

ataaggagta aaagtaccat tgttctacct ctttttttaa tacttgaaaa aaaatttact 1080

gtagatgctt ttctattaat taaataacct tctaaaaaat gtttttagtg ctgcattcga 1140

ttaggttgga taactaaatg aaattaattc ctcactgttg ggtataaagg ttatttacag 1200

tggttctgtc ttagctattc actgaacatc attacataga tatctctgga atattgctga 1260

ttgtttccgt caataaactt agaagtgtaa ctacttagtc aaagagactg aatattttaa 1320

aggcattttg aagaaaactg aaaatgcttt ccagaaagga tgtatcagtt gacaatgatg 1380

gttgtcaaca gtatttaagg agaactatga tactctgaag aaaaacttag cctttctcag 1440

tagaagcagg taggcagagg ccacatgaca gcagttagag tgtggtcttc aaggaagtca 1500

cagaaatact gtggggaatt gaaaccccaa gtggaaaatg tacaagagtg tctcagtgtg 1560

actgagaagg aggttgggct tggggtttaa cttaagaatt tttttctttt tcttttgtgg 1620

agatagggct tttgttatgt tacccaggct ggtcttgaac tcctagcctc aggcgatcct 1680

cccgcctcag gctgcagaag tcctgggatt actggccgga gccaccatgc aggcctcttg 1740

ctcctacttt tgagaaagga agcttaacct ttttttttg tttgtttgtt tttgtttttt 1800

gtttttttg agacgagtct cactctgttg cccaagctgg agtgcagtgg tgccatctca 1860

gctcacggca acctctgcct cctgggttca agtgattctc ctgcctcagc ctcccgagta 1920

gctgggacta caggcaccca ccaccacgcc cggctaattt ttgtattttt agtagagatg 1980

gggtttcacc atattggtca ggctgatctc gaactcctga ctcaggtgat ccacctgcct 2040

cagcctccca aagtgctggg attacaggcg tgagccaccg cgcctggcca cttgactttt 2100

tctctatctc ttccttctac ccatcctacc cttggaagat agagaagtaa tatcagttcc 2160

atcgtgttat actgggcttc ccccagggac aaacccactt ccccaacctg aatgagccat 2220

cacttcttcc ccagtttaca tttcattgct ctttgaatgt ctccgttcgg atatgggaat 2280

tcacatgtgg tcataattct tacctgaaga agactgacgt cttcttctct tagaccaact 2340

gccctgatgt gaggtttaga ggttaaagaa catgtgtgta tttacatgat ctttgtattc 2400

tgccttttcg tccctcacta atgacagctg aaccccaagg aaatagagct gtggaggaga 2460

gggtttgatg agaaagtagg taaatattgg atctaatcca tcatcttcca ggaaacctcc 2520

attacttcta aaaatttcaa ccaaattcgt taaaggacaa gaactccacc agagtagggc 2580

cataaacatt ggcaaaatta gttgtaatct atgactagat ttaatgtccc tttgttttat 2640

tcacatatgg ttataatgct ttgcttggaa ttaggggtat tttaagtttt cttctgccta 2700

gtaagtgtat ttgtgcttat aatacaataa ttataaaata tcacattaat attttataac 2760

tgtacagtta actctggccc aaggaaaaga tagtccggta gatgctgcag cctgattttg 2820

tatctaaccc tggcaagagg ataatgactc atgttatttc acttaccctt tttatctttt 2880

aacatgaagg gctcatatag gtcaataaga aaccagtgat ataaacagac caaaaaatga 2940

tcagatcttt cacattagca aaaaaaaata ttttttaaac aatacccaac tgggtgaaaa 3000

tacagtgtaa cagtaccaaa tatcaacatg tgtcaagaac cagaaaaatg tttgttttct 3060

ttgatcagca acactatttg aggaaatcta tcctcagggc ctagcctggg gcctggcaca 3120

cagtaggcac tgaacaaata tttgctgaac acacacatac ttatgatatt tttaaaattg 3180

gcaacaatcc aatacccaat aatagaggaa ttaaatatta tagaactgtt caataagatg 3240

cttacgaata tcatgcagta agatgggcaa tatttatatc ataagcttaa atgaaacaaa 3300

tgggtattaa aggtatggta aggttataaa ttacttttta agagattaaa gggaaaagac 3360

tgaaagatat atactgaaat gctcacagtg gtgacaaggt tccccagcct tggcactatt 3420

gacattttgg gctatgtctt tgctgtggga ggctggcctg tgctctgcag gaggtttggc 3480

agcactcttg gtttctaccc ctagatagca gtagcaaccc tccctcaacc agcccaattt 3540

tgacaaccaa aaatgtttcc aggcatcacc agattctccc tgggtgagag tgatgaaaca 3600

gtaggtgatt ttccccttct tttctcattt tctgtaattt tgtcacatta cgttaataat 3660

aaggaaaaaa cataaaaaat agatgaattt attattctac ctcagtttgg atgtttggac 3720

tccctttggg ggttctttcc attatatcac ttggtctgct aaacagtcta tggtttggca 3780

aggtgaaatg attcatgaaa ttttgttttt atttttacc tgatactaaa agtaaaacat 3840

tcattcgctt gaaaatttgg acacagaaca ccaaaaaaaa tccataatct catctctctt 3900

tttctgtctt ttccttcctt ttttcccttt aaaaacaaga gtgaaaacct accggttctc 3960

cctccaattt aattcctaaa tataatcact gttaacatct tggacatttc ctgtgtctaa 4020

acacacatac tcacttttc ttttttttag caaaaagtgg atttctgcta catgtagtgt 4080

tccgcaactt cctacatgtt tacaaaatca gtacatttac atatgctgaa ttcagtcctt 4140

aatggtatta tattttgtga atataacaaa atttatttaa ccacttagac aatctaagat 4200

attctcagtt tgctgttatg agcaatgctc ttcctttaca tatacatata tatgtgtgtg 4260

tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg ttttagtagg atagatttct aggagagggc 4320

gaaatgtcat atgacatcca catttacaat tgtaatagga agtatcaaag tgccccctaa 4380

aaaaaaaaat tcctcccatt agtgtgtgag aaagcctatt tgttcatatc ttcacaaaca 4440

ctaaatatta gaaatattta caattgtgtt caagctaaga agtgaaaaat ggtatttcat 4500

atcttataat ttttgttgtg agattgaaca tatttcctat gtttacatgt cacctgtatt 4560

tcttattctc tgaactatac gttatgacct ttcacttatt ttcctcatgg gttatgtgta 4620

gtttgtgtag ttgtcttatt gattgttagg agctatttat atattaggaa cattaatctc 4680

ctgtcttata tgtatgtggc attgattagt tgatcatttg tgagttcatg tctgtataca 4740

aagattagag aggcagtaag agggaaaact tacctctttc ttatcaaagt ttgtaaatat 4800

atgtataaca gaagagagag aaaacattaa taaatgctga aataaagtat aaatttttta 4860
ctccactact tcaacataaa ctacaaaagg agagtgactt ttctttcatg ctgacttcca 4920
tattccccat gcctaaaata gtgcctagca cagaagaggt gctcaatcag tgtttgctaa 4980
atgaaagaat tagtaacatt tcaagcagga tgactaaatg aagaatagaa tctaggcaga 5040
tactctggaa gagtgactgt gagtcattca tggtcttggt atgaattagt caaatccagc 5100
tttctcccct tcccactccc cactgttagt agaataatct gtttattgag agaatagatt 5160
tataatttag aataagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga 5220

ctagcatggc tgagatagtg aagtggaagt cttggaaagc taaagggtaa gatgaaagta 5280
tttagccgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaatg taaaagtcag attctccttg 5340
ctttgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatgtt acaatgcaga aaaaacatga 5400
aatagttgag aggaatttgg tgaaatatta tcttcctggc ttcttttgag tgagcagatt 5460
tttttcaggg cctgtaacta taataaattt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc 5520
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaaggtat tgaacttcct attccctgct 5580
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactattt caattagaac 5640

caccaagtcc cataatgtca tattgtgtgt ttaattatta agtaaagcag tcttcttttt 5700
gtgttttcca taattagcac attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatattcac 5760
gatctactgg catttgctga atggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatttt 5820
aaatatttta accatgagtt taaaactaaa atgataattt aaaatgcatg caattttctt 5880
atagagagaa tattctcttc tttcttctac tttacacaat gacaaagtct ttcttctgct 5940
ttacacaatg ataaagttcc ctgtgtcatt gtgtaaaaat atagagaata tagacaaatt 6000
gaaagacaca aaataatcta ttacccattt cccagggtta actactgaaa atatctgggg 6060

aaatggcctg tatgtatata tttatttgtt tgttttcaac aaggccagga tctttcaatc 6120
tttcaatctt ggttgctctg tgacatgcct ttcctgatga gaatactcta aggaagaatt 6180
gtaggataca tggaaaatgt cagggtaaca cagtactggc accaccctgc ggtcctttct 6240
gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagtttagg gaagtaaaaa 6300
gagatgttag aatctaccat tccctctatg taggaagcaa ataggtgtcc agtcaaagga 6360
cattctgggg atgtctacat gaaaccaagt ctcctggttg taagtactcc atctccatat 6420
aatatttcta cagtaatata tgtttataaa ttgtgggggc aacttgttta gctaatttta 6480

ttattctgtt attgggacac tatgtctctg catgagacat agtgtcccaa aacatatttc 6540

aagcccattg gataaaatat gtatttagca agttcttaaa tataatgata acataactga 6600

ccagataagg tgatttttaa atgctgtgcc aactttataa atgttttgag gaattttccc 6660

ttttctgaag gttattcttc tttcttttta gcatttactg tcacggttcc caaggaccta 6720

tatgtggtag agtatggcag caatatgaca attgaatgca aattcccagt agaaaaacaa 6780

ttagacctga cttcactaat tgtctattgg gaaatggagg ataagaacat tattcaattt 6840

gtgcatggag aggaagacct gaaggttcag catagtaact acagacagag ggcccagctg 6900

ttgaaggacc agctctccct gggaaatgct gcacttcgga tcacagatgt gaaattgcag 6960

gatgcagggg tttaccgctg catgatcagc tatggtggtg ccgactacaa gcggattacc 7020

gtgaaagtca atggtaagaa ttattataga tgagaggcct gatctttata gaaaacatat 7080

tctaagtgtt gaagactttt cattcttata agtccatact tattttcaaa cagaatagca 7140

tagtctcttc attcattcat tcagttcatg aattcattca cgtaagtctc caattagcat 7200

ttcttgagca cctatatgat agtcattgga aatccagaga caacacagag ccatgttcta 7260

cggtatgtac agttttccaa aaataattcc tagtctttac ttttttatta taaatgtaat 7320

acatatactt gcaaagaatt cagatactat ggaagagatc aaatgaattg caaaagtgtc 7380

cctcctccct tcaccactat ctcccatgag ataaccaaga gacactccaa gagagtaacc 7440

attatttgtg tgtccctcca gaacctttttt tattcaacta ccatttttt attttattag 7500

gtctgtcagt tttccttttt tgagcctctc tatatcaaat gctaataaat atattcagat 7560

caaaccccac tgtaaggttc atattaaaaa agacttgaag tctccctatg aagacaaaaa 7620

ataatcatat taagtgtaaa agaacttatt cttccagtac agtataaact atactcactg 7680

ggcatatatt catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga agaggaacta 7740

ggagtgtcaa ttcctgggaa ctgacccaca gttatgtcat caggtcactt gagttcgaag 7800

ttttgtgttg gcactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcat 7860

agaattgaga gctgaaagga tcccaggcag gagcgactaa tccaaactcc cacaaagaac 7920

aaaaatcccc cagaggatct tctgttcata tatttcctgc agtggcatcc ctgtcatatc 7980

ccacaatggc atccctgcca tttggactcc ccttccatat cctgttgaaa ttactcccta 8040

atagtaagct gaaatctgcc cctctagttg tagttttgga attatttcat ttccatgatg 8100

acctttttaat atttgactag aattaaatca tctccccttg gtatttccat tcctggacta 8160

actaccatca atctgagggc taacaataca agtagaaaaa gtctacactt gtcattgatc 8220

actgatcaat gattaatcaa tgatcactga taattataaa ctcaaaaaca aaatcatgta 8280

gggattaaga gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgatt ctggctcaaa 8340

taatgctact attgtcaaga agatatcact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt 8400

taccatgtgc ttctccattc acggcatttc ttgagatgtt gtggtttata ctttcagttt 8460

ttctccagtc catcagcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca 8520

tcatgactta gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaagaa gagtataatc 8580

ctggcagtca ggaagaaggc tgcataaagt ataagtttct gcttccaaag aagatctctc 8640

atcagcctgt agggagtgta tagggagggg acagctgtcc ttgtagtagc aaagggtttt 8700

attcaggtca tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga 8760

tcaacacaat aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aaggggggagt tcttcaggga 8820

gcaaagcaaa tgaccaacca ggtttgagga cctgatttga caattccatt ttgtatttta 8880

aattagttaa tttgcattct agtcccaatc catcttgtca tttgcagaca gtggttttgg 8940

ggttgagttg agctatacca aaagtctgaa ccttctgcac ttagaacaag gaaggcaacc 9000

accaagcttc acttgcactg aggcagtgtc tccaatggaa acgaggtagc tggcttgcag 9060

aagctttcca actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa ataatttcac 9120

agtactgctg ttgaacttca cttcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agctttgcca 9180

caggagttta ctcaccatgg gattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag 9240

aatttagttt tggattcact caattatcat gatcactttg ggtgttattg cacctttcat 9300

gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct 9360

ttaatcactg aacctaatag tagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt caggaccttc 9420

aatgagatga ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tatcccagta aagctatttg 9480

gatcgtatgg accagatcaa ctgctgtcat tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt 9540

cccagccctg tttaagtgtt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat 9600

atcatatcat acttttctat tttgtttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac 9660

aagcacagag atttgggtct gttttttaat attgttgtat ccccagggct tgacgtaaag 9720

cagagtggta gtatgacaaa agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga 9780

tttcctcaaa taggattagc ctaaaatttt ggaaacatga acagacttgg atatatgaaa 9840

atttatttcc aaaactgttc atcaggaact gttagcacct tctaaagggt acactgaagc 9900

agcagtagta aaaggaggag gaggagaagc agctctgcta ctactattat cgagtactac 9960

tacaactatc gagtactact acaactatcg agtactacta caattagcac ttgcttattc 10020

tgtgtgttag gtcctgtact gaacattctg cctaaattag ttcatttcct cctggaaatg 10080

actctgtggg gtaggtgctt catcatgtaa gatgagtatt tttcacactt cactgtctct 10140

gaaatctgag tgtgtctttc aatgatggaa tctttgattt catgataagt ggtattattc 10200

ccattttaag gatgaggaaa ctggggtcca aagaaattaa gtaatttgcc caaattcacc 10260

tagcctcgta aatgataaag ctagttctaa atccaagcag attggctctg aagtctgggc 10320
ccttaataac cacttattgc ctgtatttgc acctctggtg tatgtatcaa gttatatatt 10380
ggcttcaaaa ctatcatgac cttttcttga ttttgattgt tcaatattag tatagtgttc 10440
tagatctagt agaccagggg tctgcaaaaa attttgatta ctcacctcat ctgtaaaaca 10500
ttttaaactt gtgtgtctgt gcaggcacat ttgtgtgtaa ttataaaaaa tttactatct 10560
attaatatat aggttgtacc gtaagaaaaa ttgccatttt tgaagagcaa aaaaggttga 10620
atattaccag tttcatctgg ttcaacctaa tagacatttg tacaaaaaca gacattttaa 10680

gaggatgaaa taaaaattta ataaacaata ttttcaattt ttactaattg tgacgcttca 10740
ctattgttag ctaatatgtc aaggcatgat ataccttagg gtggaattta tcattaacaa 10800
aggtggatag tgtcaataat cttgaggttt gtgtttttt atataacact gtgaggtcta 10860
attaagtact taattgttta caacctcata cagtcgccaa taataagtgt cacttctgct 10920
gtttcctctg ggttgtgctt gaattattag tattatcttc aatcctcagt ttctttgtgg 10980
aaaactttt aattagttgt ttaattttgt aagatggtta gtttagtcaa aattagataa 11040
gagaatctga aaatccataa ttaccccaaa gcaacccact cataagaact attatttttg 11100

tgttttgaaa tcataatttt attgatttcc agtgtttcca ctggtagtgg tttcattgat 11160
gtaggagtat caaaacatca ctaattattt atttcagttt tgtttgatcc tagctgtttt 11220
gtgttaactt tgaagaaatt acatcacaga tctattgttg tccttggtaa aggaatggag 11280
agttaaggct ctagatcatt agtggttatg ctgtagtatt aggagtaaaa aaaaagatta 11340
tatcaacaaa ataagaacat gttaatgtac ttgtaataga taaacatgaa taaagctctt 11400
atgctatata gatgcactga acaatctact agaattgtca gcaaacggta tcttaatcct 11460
aaaagggtcc caaaccaatg atctaaaatt gaatcaaact ttcttccttg agcataatta 11520

tttaagtgat ttattaaaat agccagcatt taaaagctta aaatataagt atcataatgt 11580
ggtatcctag atagatccca gaacagagaa aggatattag ggaaaaactg gaggaatgga 11640
ataaattatg cagtttagtt attaataatg tactaatgtc cttagttatg accattgtac 11700
catggtaaag taagatacta acaatagagg aaattgggta aggggtatat gtaactctat 11760
actatctttg caatttttt gtaaatttaa aacttctaaa ataaagaaca aatttgaaca 11820
ttaaaaagtg tcgccaggaa catgtatcac tgtttacaga tgaaacagta tgtattttta 11880
tatctaattt ctgatcattg gcttcaaatc agaaaagtga atgacacatc aagatcaggt 11940

tttctgttta ctaaataaag tctaagaaaa caaagcatac cagctggaga gattcatgtt 12000

tataaagaca gatttataac aacaaaaata aaatatccaa gaataaattt aagaagaaat 12060

agggcactat gtaaaaagta tagcacttta ctgagaaaca tatgaaaacc tgaatacatg 12120

gagagaggta ttttatattt gaatagaaag attgctggtt taaagataat tctctttaaa 12180

tttttttgt agaaatttaa gaggtacaag agcagttttg tcacacggat atattacata 12240

gtggtgaagt ctggggtttt agtgtaaatt aatctttaca ttttgtttga gcccaataaa 12300

tgtaccaaca tgatttttat agcaagatag tcattcctat taacccaaac ttgtcccaac 12360

tttgaactga actgaggcag agctagcagg tgttccccac tgctgaggca tctgaacatt 12420

aagcgtatcc ctctgagaac cagcctgcat tgatcctctt tctaatgtag acagcatcaa 12480

gctatatatc tagttctgtg ctcagcaaaa gccctgactt ctttttgctt atgtcctagc 12540

tccatacaac aaaatcaacc aaagaatttt ggttgtcgat ccagtcacct ctgaacatga 12600

actaacatgt caggctgagg gctaccccaa ggccgaagtc atttggacaa gcagtgacca 12660

tcaagtcctg agtggtaaga ccaccaccac caattccaag agagaggaga agcttttaaa 12720

tgtgaccagc acactgagaa tcaacacaac agctaatgag attttctact gcatttttag 12780

gagattagat cctgaggaaa accatacagc tgaattggtc atcccaggta atattctgaa 12840

tgtgtccatt aaaatatgtc taacactgtc ccctagcacc tagtatgatg tctgcctatc 12900

atagtcattc agtgtttgtt gaataaatga attaatgaat aacattatat ttacaaaatg 12960

tatcctaatt cctcacttcc attcatccaa atcatattgt tacttaataa acattcacca 13020

aatatttatt gaatatgcct tttgttccat gcattgtagt actcatttga cacacataga 13080

ataataagac tcacgttcac actcttcagg aaacagataa aaaacaaatg aacaaacaaa 13140

aaacaggcaa tccaatacca tgtgggaaat gctttcatac catgtgggaa acctgggggа 13200

atacctgaga ggaatattca attcaggcca tgtttcagga atccaaatcc tggcacatca 13260

gagccgcctc cttcttacta gggtttctgt ggcaggaaat aaatggaacg tatttttcta 13320

tcttatgcca aacaggaggg acccttttctc ccctgtgcct ctcccaaggt agtctacaat 13380

atttcaacgc tagcagtctg tttagtgcac aggacatgag gctgtgtatc cctgggcaaa 13440

ttgctacact tctgtgtgct tcactttctc tgtaggatta taacctactg agcaaggtta 13500

ttgtgggggt caaattagca acagtgtatg aaaatgattt gagaccagtg cctgcacaaa 13560

ttcaactatt ttttttttatc tcactactct atagaagtag gtaggatggg agacagagtc 13620

tgatgggagg ctcagaatgt gaaagtaagt gaggtgagtg agcatgatat ttcatataaa 13680

cacaaagata ctctgagaag agcttctcac ttcccccgcc cccaatagat gttgacagga 13740

aaatgccatg tacttcagca aaaacagctg aaaaattaga cataaaagtc aatcaatagg 13800

aaaagataat ccaggatggt cttgtgaaca gaaagaggga aaaaaaaagt ttagaaaatg 13860

atggggatgc tcttactggg gtatgagtcc tcaggtattc aactggcttt cagaaaaagc 13920

tagactagtg ggttcctgcc atttaaaagc tgttttatga caacttactt gttgggtggc 13980

ctacagtaac tcacttaact gtgctgagtc tgtttcctca tctgtaaatt ggggatttt 14040

taaaataact ggcatgccta actcataaag ttgttctgaa actgaaataa aacatatatg 14100

aacaggcatt gtaaactgta agttacggaa aaagctggct gttgttgtgt ctttaaagct 14160

tcacctgggt agttagagat ggatcatggg tctcagtgga gagctgagcc aggcaggagc 14220

tgactaaggg taagaggtgg gagttagcaa tctctgaaca tctgtgtgcc atgggacccc 14280

ttttcctcct gcatggtacc ccagacaagg agcctagtaa gagatactaa tgacttgttg 14340

tccagagatg ttcaaactgc agagaaagat aagacaacaa gcattggcct ccaatcatga 14400

tgacagatag gaggaggtgg gagctcctta gcagtgctgg ttggttttcc atgttctact 14460

gtgggccatc tctgccatgt actgtaggct actaacttct atattaaaaa atgcaagagg 14520

ggccgggagt ggaggctcat gcctgtaatc tcagcacttt gggaggccaa ggtgggcaga 14580

tcacttgagg tcaggagttt gtaaccagcc tggccaacat ggtgaatctc tgcctctact 14640

aaaaatacaa aaattagcca gatgtggtgg cgtgcacccg taatcccagc tactcgggaa 14700

gctgaggcac gagaattgct tgaacctggg aggcggaggt tgcagtgagc caagattgtg 14760

ccactgccct ccagcctggg caacagagaa agactttgcc tcaaaaataa ataaataaat 14820

aaataaataa ataaataaat aaatggaagt gaaataatca aggccaccat ttaatactga 14880

gtagccactc catgtggtac tgtgctaagc acattataaa atattagcct cacaagaaat 14940

gtattagcat ttgtattttg tacactggtt aagtatcttg cccaagacct caaaactggt 15000

taaggggcag cagaatttaa ccccagcgcc acctttttcaa agtctgggct tcttacactt 15060

ctccatgctg ttcccatttt aacagatgta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc 15120

atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgactattc tcctgatgac 15180

cccttcccat caaaatttta tctttagtca gtttgttttt gttttgtttt gtttttcaga 15240

actacctctg gcgcttcctc caaatgaaag gactcacttg gtaattctgg gagccatctt 15300

tttactcctt ggtgtagcac tgacattcat cttctattta agaaaaggta gtatttcctt 15360

aattgcagtg gtctccactg gggatgagga gggggtgaga attggatcga tcatggctgc 15420

aaggaaacct gacttaacct ctgcagggtg gtgcaaaggc attccactat tcaacagtaa 15480

ttatattgaa gctgcatggg atcactgggt gaagatgagg tgtaaggggt gagggacagg 15540

agaatgggta tggatggagg tagaagatgc agtgtcatac aatttttttc tatcatgaaa 15600

ataaccacag acttactgta aagaaggagc taaaatgcct gtcattttca gttgcatttt 15660

agttttgcat tagttgcacc cagctggttt ctgggtactc taagtaataa aaatagttcc 15720

tctgtagaac tgtagtattt tcaccataga gtattttgta aaattattgg tagaggatgt 15780
tacataattt gcatgtgttc ctttctccat ttacctgtgg gaacaattaa aatccaggaa 15840
aatgagtata ttcaaataat ttcctcccat ttatgatgat tcagagtaaa taattcctct 15900
gatacttaga gaagtatacc aagagatcca gtgattgtat agagttgtct gatgttaaat 15960
agggaagtag aatatggaag ggaattccaa tagtcgttga aaaattcccc acaacccctt 16020
acatgggggа aagtggtgtt aactgagata gtagagataa gctgttacca aaaattatgt 16080
tcttaacagg attgagatag ccagaatata aggatcaagt ttcaatgaca gtaagatcct 16140

gagatgcagt tgatttgcac aaagaaataa ttgttgccag cttgcatttt gaatatttct 16200
ctggaaaaag agattagttg gcagtagaaa tgaatagaaa tcaatagata ttaaaatacc 16260
tcagaatttg attcatctct gggaaaagat gaaaaataaa agtgtatagt cctcaagaaa 16320
atctgggatc aaaagcatgg gccttaccct attgaattaa ttaacctcag aagttgggaa 16380
ctgtggaata aggatgtcca ccagacttcc tagggattac aaatgtttca tagaacttga 16440
aatttaaact tgggtcactg tatgggatgt agagctgtgc tatatggaaa taaaaatgat 16500
ttctttttct caagggagaa tgatggatat gaaaaaatgt ggcattcgag ttacaaactc 16560

aaagaagcaa cgtggtaaga atatcagaag gaattgggaa gtagaaggca aaggaaacaa 16620
aaagctaaag caataacaaa gagaaatcca ttagtcataa tctcctctcc ttttaaagaa 16680
tgctggttcc cctttgcctc acaactaata caagaacttc tccaccatct caggaagttt 16740
agggatggcc ttcaagagta gagagtaggg agcagctctg tggagagagg agaggagcag 16800
ggaaggggaa ggagtcagct tctctttgct aatctgttgc cctgcaccct agcagctccc 16860
tgcagcaggg gacaaggttg acttaggtgg atggataatt aattgattct aaaatattgt 16920
gtgtcagtat tgtatattgt aatactatgt taactgcgcc atgcacggta tctcatttaa 16980

tcccccaccc cttgccatta ccaaaaagag agagagaaaa atactagaat tatcctcatt 17040
ttacagtaga gaaaacagag ggtcaagaag ataaagtaaa gtgcccaaga acacacaact 17100
gatcacaaat atcaagcttg gggtccatta gcctaaccac agacccttac tcttaaccca 17160
tctgcttcaa tccattttgc tacaaatgtt tacatttata tgcagggcag aaaagtctca 17220
tccagtttat tgaactaaga agaaagttat attaaggtgt ctaatttttt ttaatgtagt 17280
tagaaaccaa acttaacaat gagcccaagt ttaaagcagt ctaattaact tgacaagctc 17340
aggcaagttt cattctgtgg cctgtagcat catctgtgtt gtaaagctaa gtagcaaatg 17400

ttatttgggt catcctgggg ggaaagtcat cccaatttgc tcaagactga ggggtttttc 17460

aggatatcat gtaaggataa ttgggtacaa atataacctg cttctttctc tcatttcaaa 17520

tttatcattt atcatctcag caactatgag ttatgttttt tattagattt cttgttactt 17580

tttccccaga ccgctcccca tgaaattaat atactattat cactctccag atacacaatt 17640

ggaggagacg taatccagca ttggaacttc tgatcttcaa gcagggattc tcagcctgtg 17700

gtttgggggt tcgtcagggc tgagcatgac cagaggaatg aatgggcccg tgggatgcat 17760

gcagtatggg acttaaaagg cccaagcact gaaaatggaa cctggcgaaa gcagaggagg 17820

agaatgaaga aaaatggagt tgaacaggga gcgtggaggg agaccttgat actttcaaat 17880

gcctgagggg ctcatcggtg catgtgacag ggagaaagga tacttctgaa caaggagcct 17940

ccaagcaaat catccactgc tcatcttagg aaaacgggtt gagaatccct aatttgaggg 18000

tcagttcctg cagaagtgcc ctttgcctcc actcaatgcc tcaatttgtt ttctgcgtga 18060

ctgagggtcc cagtgttgga acagtattta tgtatgagat tttcctattt attttgagtc 18120

tgtgaggtct tcttgtcatg ggagtgtggt tgtgaatgat ttcttttgaa gatatattgt 18180

agtagatgtt acaattttgt cgccaaacta aacttgatgc ttaatgactt gctcacatct 18240

agtaaaacat ggagtatttg taaggtgctt ggtctcctct ataactacaa gtacacattg 18300

gaagcataaa gatcaaaccg ttgatttgta taggatgtca cctttattta acccattaat 18360

actctgattg acttaatctt attctcagac ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt 18420

taaatatcag ctttataatt atgtggtacc atacacacat aatctccttt catcgctgta 18480

accaccctgt tgtgatgacc actattattt tacccattgt acagctgagg aagcaaacag 18540

attaagtaac ttgccaaaac cagtaaatag cagagctcag actgccaccc actgtccttt 18600

tataatacaa tttacagcta tattttactt taagcaattc atttattcaa aacccattta 18660

ttaagtgccc ttgcaatatc aatcactgta ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag 18720

agaaagtacc tgtcctcaag gagcttggag tataataagg agattaataa gaaaatatat 18780

tattacaatc tagtccagtg tcatagcata aggatgatgt gaggagaaaa gctgagcagt 18840

gttgccaaga ggaggaaata ggccaatgtg gtctgggaca gttgaatgta tttaaacatc 18900

ttaataatca aagtaatttt catttacaaa gagaagtcag tacttaaaat aaccctgaaa 18960

aataacactg gaattccttt tctagcatta tatttatccc tgatttgcct ttgccataca 19020

atctaatgct tgtttatata gtgtctgata ttgtttaaca gttctgtctt ttctattcaa 19080

atgctattaa attttaaatt catacctttc catgattcaa aattcaaaag atcccatggg 19140

agatggtttg aaaatctcca cttcatcctc caagccattc aagtttcctt tccagaagca 19200

actgctactg ccttttattc atatgttctt ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg 19260

ttaaaagcat atatttttaa atttttttcc ctaaatagta acacattata tgtctgctgt 19320

gcactttgct atttttattt attgtagtgt ttcttatgta gcagatggaa tgaatttgaa 19380

gctcccaagg gtcaggacac atgccttctt tgtttctaag ttatctttcc catagctttt 19440

cataatcttt catatgattt agtacatgtt aaatatgtgc tacatataca tttagacaac 19500

cagcatttgt taagtatttg ctctaggact gagtttggat ttatgtttgc tcaaaaggag 19560

acccatgggc tctccagggt gcactgagtc aatctagtcc taaaaagcaa tcttattatt 19620

aactctgtat gacagaatca tatctggaac ttttgttttc tgctttctgt caagtataaa 19680

cttcactttg atgctgtact tgcaaaatca cattttcttt ctggaaattc cagtagtgta 19740

ccttgactgc tagttaccct gtgccagaaa agcctcattc gttgtgcttg aacccttaa 19800

tgccaccagc tgtcatcact acacaggcct cctaagaggc ttcctggagg ttttgagatt 19860

cagatgccct gagagatccc agagtttcct ttccctcttg gccacattct ggtgtcagtg 19920

acaaggaata ccttcgcttt gccacccgtc aaggttgaag aaacagcgtc tccaacagag 19980

ctccttgtgt tatctgtttg tacatgtgca tttgtacagt aatttgtgtg acagtgttct 20040

ttgtgtgaat tacaggcaag aactgtggct gagcaaggca catagtctac tcagtctatt 20100

cctaactcct ccttttggtg ttggatttgt aaggcacttt atccctttg tctcatgttt 20160

catcgtaaat ggcataggca gagatgatat ctaattctgc atttgattgt cacttttgt 20220

acctgcatta atttaataaa atatccttat ttattttgtt a 20261

<210> 3

<211> 20340

<212> DNA

<213> macaca fascicularis

<220><221> misc_feature

<222> (1658)..(1881)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (2742)..(2745)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (2747)..(2747)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (2749)..(2749)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (4764)..(4802)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (8775)..(8778)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (8980)..(8984)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (9161)..(9293)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (9344)..(9348)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (9840)..(9874)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (9958)..(9973)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (10437)..(10452)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (10603)..(10603)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221

> misc_feature

<222> (10830)..(10830)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (10989)..(11006)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (11105)..(11122)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (11457)..(11457)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (13710)..(13710)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (14015)..(14049)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (14518)..(14585)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (14689)..(14699)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (14707)..(14767)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (14837)..(14865)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (15703)..(15741)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (17403)..(17415)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (19122)..(19135)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 3

ctgaaagctt ccccgattcc gccgaaggtc aggaaagtcc aatgccgggc aaactggatt 60

tgctgccttg cgcagaggtg ggcgggaccc cgcctccggg ccgggcgcca agttgagcag 120

ctggcacgcc tcgcgaagcc ccagtcctga agccccagtc ctgcgctgct tcccgaggct 180

ccgcaccagc cgcgcttctc tctgcctgca ggtagggagc gttgttcctc cgcaggtgcc 240

cacggcccag catctctggc taactcgctg ggcaccttag gacggaggat ctctacaccc 300

tttctttggg atggagagag gaggagggaa agggaaggcg atggtctagg gggcagtaga 360

gccaattacc tgttggggtt aataagaaca ggcaatgcat ctgggcttcc tccagcgcaa 420

ttcagttttg ctctaaaaat aatttatacc tctaaaaata aataaggtgg gtagtatagg 480

ataggtagtc attcttatgc gaccgtgtgt tcagaatata gctctgatgc taggctggaa 540

gtctggacac gggtcctagt ccaccgtcag ctgcttgcta gtaatatgac ttgtgtaagt 600

catcccagct gcagcagata agtaagtctc ttcctgcgct aagcacgtcc aggacccctg 660

aacggaattt atttgctctg tccattctga aaacccaaag gagtcctaaa agaggaatgg 720

aggagcctaa gaataaaaat agtataataa aacatttctt agacaggttg accttggcct 780

atgtcaaagt tcagtctggg tttgtcttat aacataagga gtaaaagtac cattgttcta 840

cctctttttt taatacttga aaaaaaattt actgtagatg cttttctatt aattaaataa 900

ccttctaaaa aatgttttta gtgctgcatt cgattaggtt ggataactaa atgaaattaa 960

ttcctcactg ttgggtataa aggttattta cagtggttct gtcttagcta ttcactgaac 1020

atcattacat agatatctct ggaatattgc tgattgtttc cgtcaataaa cttagaagtg 1080

taactactta gtcaaagaga ctgaatattt taaaggcatt ttgaagaaaa ctgaaaatgc 1140

tttccagaaa ggatgtatca gttgacaatg atggttgtca acagtattta aggagaacta 1200

tgatactctg aagaaaaact tagcctttct cagtagaagc aggtaggcag aggccacatg 1260

acagcagtta gagtgtggtc ttcaaggaag tcacagaaat actgtgggga attgaaaccc 1320

caagtggaaa atgtacaaga gtgtctcagt gtgactgaga aggaggttgg gcttggggtt 1380

taacttaaga atttttttctt ttcttttgtg gagatagggc ttttgttatg ttacccaggc 1440

tggtcttgaa ctcctagcct caggcgatcc tcccgcctca ggctgcagaa gtcctgggat 1500

tactggccgg agccaccatg caggcctctt gctcctactt ttgagaaagg aagcttaacc 1560

ttttttttttt gtttgttttt gttttttgtt ttttttgtag acgagtctca ctctgttgcc 1620

caagctggag tgcagtggtg ccatctcagc tcacagcnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1680

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1740

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1800

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1860

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngacttttttc tctatctctt ccttctaccc atcctaccct 1920

tggaagatag agaagtaata tcagttccat cgtgttatac tgggcttccc ccagggacaa 1980

acccacttcc ccaacctgaa tgagccatca cttcttcccc agtttacatt tcattgctct 2040

ttgaatgtct ccgttcggat atgggaattc acatgtggtc ataattctta cctgaagaag 2100

actgacgtct tcttctctta gaccaactgc cctgatgtga ggtttagagg ttaaagaaca 2160

tgtgtgtatt tacatgatct ttgtattctg ccttttcgtc cctcactaat gacagctgaa 2220

ccccaaggaa atagagctgt ggaggagagg gtttgatgag aaagtaggta aatattggat 2280

ctaatccatc atcttccagg aaacctccat tacttctaaa aatttcaacc aaattcgtta 2340

aaggacaaga actccaccag agtagggcca taaacattgg caaaattagt tgtaatctat 2400

gactagattt aatgtccctt tgttttattc acatatggtt ataatgcttt gcttggaatt 2460

aggggtattt taagttttct tctgcctagt aagtgtattt gtgcttataa tacaataatt 2520

ataaaatatc acattaatat tttataactg tacagttaac tctggcccaa ggaaaagata 2580

gtccggtaga tgctgcagcc tgattttgta tctaaccctg gcaagaggat aatgactcat 2640

gttatttcac ttacccttt tatcttttaa catgaagggc tcatataggt caataagaaa 2700

ccagtgatat aaacagacca aaaaatgatc agatctttca cnnnnanana aaaaaaatat 2760

ttttaaacaa tacccaactg ggtgaaaata caatgtaaca gtaccaaata tcaacatgtg 2820

tcaagaacca gaaaaatgtt tgttttcttt gatcagcaac actatttgag gaaatctatc 2880

ctcagggcct agcctggggc ctggcacaca gtaggcactg aacaaatatt tgctgaacac 2940

acacatactt atgatatttt taaaattggc aacaatccaa tacccaataa tagaggaatt 3000

aaatattata gaactgttca ataagatgct tacgaatatc atgcagtaag atgggcaata 3060

tttatatcat aagcttaaat gaaacaaatg ggtattaaag gtatggtaag gttataaatt 3120

acttttaag agattaaagg gaaaagactg aaagatatat actgaaatgc tcacagtggt 3180

gacaaggttc cccagccttg gcactattga cattttgggc tatgtctttg ctgtgggagg 3240

ctggcctgtg ctctgcagga ggtttggcag cactcttggt ttctacccct agatagcagt 3300

agcaaccctc cctcaaccag cccaattttg acaaccaaaa atgtttccag gcatcaccag 3360

attctccctg ggtgagagtg atgaaacagt aggtgatttt ccccttcttt tctcattttc 3420

tgtaattttg tcacattacg ttaataataa ggaaaaaaca taaaaaatag atgaatttat 3480

tattctacct cagtttggat gtttggactc cctttggggg ttctttccat tatatcactt 3540

ggtctgctaa acagtctatg gtttggcaag gtgaaatgat tcatgaaatt ttgtttttat 3600

tttttacctg atactaaaag taaaacattc attcgcttga aaatttggac acagaacacc 3660

aaaaaaaatc cataatctca tctctctttt tctgtctttt ccttcctttt ttccctttaa 3720

aaacaagagt gaaaacctac cggttctccc tccaatttaa ttcctaaata taatcactgt 3780

taacatcttg gacatttcct gtgtctaaac acacatactc acttttttctt ttttttagca 3840

aaaagtggat ttctgctaca tgtagtgttc cgcaacttcc tacatgttta caaaatcagt 3900

acatttacat acgctgaatt cagtccttaa tggtattata ttttgtgaat ataacaaaat 3960

ttatttaacc acttagacaa tctaagatat tctcagtttg ctgttatgag caatgctctt 4020

cctttacata tacatatata tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt 4080

ttagtaggat agatttctag gagagggcga aatgtcatat gacatccaca tttacaattg 4140

taataggaag tatcaaagtg ccccctaaaa aaaaaaattc ctcccattag tgtgtgagaa 4200

agcctatttg ttcatatctt cacaaacact aaatattaga aatatttaca attgtgttca 4260

agctaagaag tgaaaaatgg tatttcatat cttataattt ttgttgtgag attgaacata 4320

tttcctatgt ttacatgtca cctgtatttc ttattctctg aactatacgt tatgaccttt 4380

cacttatttt cctcatgggt tatgtgtagt ttgtgtagtt gtcttattga ttgttaggag 4440

ctatttatat attaggaaca ttaatctcct gtcttatatg tatgtggcat tgattagttg 4500

atcatttgtg agttcatgtc tgtatacaaa gattagagag gcagtaagag ggaaaactta 4560

cctctttctt atcaaagttt gtaaatatat gtataacaga agagagagaa aacattaata 4620

aatgctgaaa taaagtataa atttttactc cactacttca acataaacta caaaaggaga 4680

gtgacttttc tttcatgctg acttccatat tccccatgcc taaaatagtg cctagcacag 4740

aagaggtgct caatcagtgt ttgnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 4800

nnaaatgaag aatagaatct aggcagatac tctggaagag tgactgtgag tcattcatgg 4860

tcttggtatg aattagtcaa atccagcttt ctccccttcc cactccccac tgttagtaga 4920

ataatctgtt tattgagaga atagatttat aatttagaat aagaggggca gaagaggaga 4980

ttttgaagga tggcacctga aggaggacta gcatggctga gatagtgaag tggaagtctt 5040

ggaaagctaa agggtaagat gaaagtattt agccgtaggg ggaaaaagca ttgacaggtt 5100

ggaaatgtaa aagtcagatt ctccttgctt tgaaattttg tacagggcag gttctactag 5160

gtatgttaca atgcagaaaa aacatgaaat agttgagagg aatttggtga aatattatct 5220

tcctggcttc ttttgagtga gcagattttt ttcagggcct gtaactataa taaatttgaa 5280

acttctcatc ttttagtaac ttttttcact taagtttatg tggctgtggg caatggaatg 5340

aaggtattga acttcctatt ccctgctggg tttccacaat tacaagtcaa tcatgactgg 5400

ttattagaag actatttcaa ttagaaccac caagtcccat aatgtcatat tgtgtgttta 5460

attattaagt aaagcagtct tctttttgtg ttttccataa ttagcacatt ccagaaagat 5520

gaggatattt gctgtcttta tattcacgat ctactggcat ttgctgaatg gtaagacacc 5580

aaatccttcc attaggttct atattttaaa tattttaacc atgagtttaa aactaaaatg 5640

ataatttaaa atgcatgcaa ttttcttata gagagaatat tctcttcttt cttctacttt 5700

acacaatgac aaagtctttc ttctgcttta cacaatgata aagctccctg tgtcattgtg 5760

taaaaatata gagaatatag acaaattgaa agacacaaaa taatctatta cccatttccc 5820

agggttaact actgaaaata tctggggaaa tggcctgtat gtatatattt atttgtttgt 5880

tttcaacaag gccaggatct ttcaatcttt caatcttggt tgctctgtga catgcctttc 5940

ctgatgagaa tactctaagg aagaattgta ggatacatgg aaaatgtcag ggtaacacag 6000

tactggcacc accctgcggt cctttctgaa ctccatacca atgtacttct tgccagaaaa 6060

ctgatcaaaa gtttagggaa gtaaaaagag atgttagaat ctaccattcc ctctatgtag 6120

gaagcaaata ggtgtccagt caaaggacat tctggggatg tctacatgaa accaagtctc 6180

ctggttgtaa gtactccatc tccatataat atttctacag taatatatgt ttataaattg 6240

tgggggcaac ttgtttagct aattttatta ttctgttatt gggacactat gtctctgcat 6300

gagacatagt gtcccaaaac atatttcaag cccattggat aaaatatgta tttagcaagt 6360

tcttaaatat aatgataaca taactgacca gataaggtga tttttaaatg ctgtgccaac 6420

tttataaatg ttttgaggaa ttttcccttt tctgaaggtt attcttcttt ctttttagca 6480

tttactgtca cggttcccaa ggacctatat gtggtagagt atggcagcaa tatgacaatt 6540

gaatgcaaat tcccagtaga aaaacaatta gacctgactt cactaattgt ctattgggaa 6600

atggaggata agaacattat tcaatttgtg catggagagg aagacctgaa ggttcagcat 6660

agtaactaca gacagagggc ccagctgttg aaggaccagc tctccctggg aaatgctgca 6720

cttcggatca cagatgtgaa attgcaggat gcaggggttt accgctgcat gatcagctat 6780

ggtggtgccg actacaagcg gattaccgtg aaagtcaatg gtaagaatta ttatagatga 6840

gaggcctgat ctttatagaa aacatattct aagtgttgaa gacttttcat tcttataagt 6900

ccatacttat tttcaaacag aatagcatag tctcttcatt cattcattca gttcatgaat 6960

tcattcacgt aagtctccaa ttagcatttc ttgagcacct atatgatagt cattggaaat 7020

ccagagacaa cacagagcca tgttctacgg tatgtacagt tttccaaaaa taattcctag 7080

tctttacttt tttattataa atgtaataca tatacttgca aagaattcag atactatgga 7140

agagatcaaa tgaattgcaa aagtgtccct cctcccttca ccactatctc ccatgagata 7200

accaagagac actccaagag agtaaccatt atttgtgtgt ccctccagaa cctttttttat 7260

tcaactacca ttttttttatt ttattaggtc tgtcagtttt cctttttga gcctctctat 7320

atcaaatgct aataaatata ttcagatcaa accccactgt aaggttcata ttaaaaaaga 7380

cttgaagtct ccctatgaag acaaaaaata atcatattaa gtgtaaaaga acttattctt 7440

ccagtacagt ataaactata ctcactgggc atatattcat cttgaaaatc tatactgatg 7500

ttgtcttggg gaattgaaga ggaactagga gtgtcaattc ctgggaactg acccacagtt 7560

atgtcatcag gtcacttgag ttcgaagttt tgtgttagca ctagctaagt aaaggaaaac 7620

acctctgctt tcattgttga gtttcataga attgagagct gaaaggatcc caggcaggag 7680

cgactaatcc aaactcccac aaagaacaaa aatcccccag aggatcttct gttcatatat 7740

ttcctgcagt ggcatccctg tcatatccca caatggcatc cctgccattt ggactcccct 7800

tccatatcct gttgaaatta ctccctaata gtaagctgaa atctgcccct ctagttgtag 7860

ttttggaatt atttcatttc catgatgacc ttttaatatt tgactagaat taaatcatct 7920

ccccttggta tttccattcc tggactaact accatcaatc tgagggctaa caatacaagt 7980

agaaaaagtc tacacttgtc attgatcact gatcaatgat taatcaatga tcactgataa 8040

ttataaactc aaaaacaaaa tcatgtaggg attaagagaa atgtatcagt tttatgttgt 8100

atttctggtc cctgattctg gctcaaataa tgctactatt gtcaagaaga tatcacttgt 8160

aaagtagatt taattttcat tatattttac catgtgcttc tccattcacg gcatttcttg 8220

agatgttgtg gtttatactt tcagtttttc tccagtccat cagcaaatat caggcatcta 8280

ctgtgttcca agatattaaa gaaatcatca tgacttagcc tcatcaacag cattgctaga 8340

tctgggatgg aaaagaagag tataatcctg gcagtcagga agaaggctgc ataaagtata 8400

agtttctgct tccaaagaag atctctcatc agcctgtagg gagtgtatag ggaggggaca 8460

gctgtccttg tagtagcaaa gggttttatt caggtcatct gggctccata atatcccttg 8520

tgtatctgca gtctcctttg ccatggatca acacaatagg aaatcttccg gcactgatgg 8580

tttttccaag ggggagttct tcagggagca aagcaaatga ccaaccaggt ttgaggacct 8640

gatttgacaa ttccattttg tattttaaat tagttaattt gcattctagt cccaatccat 8700

cttgtcattt gcagacagtg gttttggggt tgagttgagc tataccaaaa gtctgaacct 8760

tctgcactta gaacnnnnaa ggcaaccacc aagcttcact tgcactgagg cagtgtctcc 8820

aatggaaacg aggtagctgg cttgcagaag ctttccaact cagggaagta gaactcctga 8880

gtcacctcca tatgcaaata atttcacagt actgctgttg aacttcactt cccatcacag 8940

caaatgtgtg gtaacatagc tttgccacag gagtttactn nnnnccatgg gattttaaag 9000

gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt tggattcact caattatcat 9060

gatcactttg ggtgttattg cacctttcat gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg 9120

cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcactg nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 9180

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 9240

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnctgtcat 9300

tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt cccagccctg tttnnnnngt ttttctttaa 9360

tcactgaacc taatagtagg gaaaacgaaa tgttcattca gactttcagg accttcaatg 9420

agatgaggca gctgaaagat caaagtagtt gcatagttat cccagtaaag ctatttggat 9480

cgtatggacc agatcaactg ctgtcattcc ccaccaaccc catctttccc caaaattccc 9540

agccctgttt aagtgttctc tgtagcattt atctctatct agtatattgt gtagcatatc 9600

atatcatact tttctatttt gtttattgtc tctctcctcc tagaatataa actccacaag 9660

cacagagatt tgggtctgtt ttttaatatt gttgtatccc cagggcttga cgtaaagcag 9720

agtggtagta tgacaaaagc acacaaaaaa tatttgttga gtcaatgaat gaatgatttc 9780

ctcaaatagg attagcctaa aatttggaaa catgaacaga cttggatata tgaaaatttn 9840

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnttctaa agggtacact gaagcagcag 9900

tagtaaaagg aggaggagga gaagcagctc tgctactact attatcgagt actactannn 9960

nnnnnnnnnn nnnctacaac tatcgagtac tactacaatt agcacttgct tattctgtgt 10020

gttaggtcct gtactgaaca ttctgcctaa attagttcat ttcctcctgg aaatgactct 10080

gtggggtagg tgcttcatca tgtaagatga gtatttttca cacttcactg tctctgaaat 10140

ctgagtgtgt ctttcaatga tggaatcttt gatttcatga taagtggtat tattcccatt 10200

ttaaggatga ggaaactggg gtccaaagaa attaagtaat ttgcccaaat tcacctagcc 10260

tcgtaaatga taaagctagt tctaaatcca agcagattgg ctctgaagtc tgggccctta 10320

ataaccactt attgcctgta tttgcacctc tggtgtatgt atcaagttat atattggctt 10380

caaaactatc atgacctttt cttgattttg attgttcaat attagtatag tgttctnnnn 10440

nnnnnnnnnn nngggtctgc aaaaaatttt gattactcac ctcatctgta aaacatttta 10500

aacttgtgtg tctgtgcagg cacatttgtg tgtaattata aaaaatttac tatctattaa 10560

tatataggtt gtaccgtaag aaaaattgcc atttttgaag agncaaaaaa ggttgaatat 10620

taccagtttc atctggttca acctaataga catttgtaca aaaacagaca ttttaagagg 10680

atgaaataaa aatttaataa acaatatttt caatttttac taattgtgac gcttcactat 10740

tgttagctaa tatgtcaagg catgatatac cttagggtgg aatttatcat taacaaaggt 10800

ggatagtgtc aataatcttg aggtttgtgn ttttttatat aacactgtga ggtctaatta 10860

agtacttaat tgtttacaac ctcatacagt cgccaataat aagtgtcact tctgctgttt 10920

cctctgggtt gtgcttgaat tattagtatt atcttcaatc ctcagtttct ttgtggaaaa 10980

ctttttaann nnnnnnnnnn nnnnnnaaga tggttagttt agtcaaaatt agataagaga 11040

atctgaaaat ccataattac cccaaagcaa cccactcata agaactatta tttttgtgtt 11100

ttggnnnnnn nnnnnnnnnn nntttccagt gtttccactg gtagtggttt cattgatgta 11160

ggagtatcaa aacatcacta attatttatt tcagttttgt ttgatcctag ctgttttgtg 11220

ttaactttga agaaattaca tcacagatct attgttgtcc ttggtaaagg aatggagagt 11280

taaggctcta gatcattagt ggttatgctg tagtattagg agtaaaaaaa agattatatc 11340

aacaaaataa gaacatgtta atgtacttgt aatagataaa catgaataaa gctcttatgc 11400

tatatagatg cactgaacaa tctactagaa ttgtcagcaa acggtatctt aatcctnaaa 11460

agggtcccaa accaatgatc taaaattgaa tcaaactttc ttccttgagc ataattattt 11520

aagtgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tataagtatc ataatgtggt 11580

atcctagata gatcccagaa cagagaaagg atattaggga aaaactggag gaatggaata 11640

aattatgcag tttagttatt aataatgtac taatgtcctt agttatgacc attgtaccat 11700

ggtaaagtaa gatactaaca atagaggaaa ttgggtaagg ggtatatgta actctatact 11760

atctttgcaa ttttttgta aatttaaaac ttctaaaata aagaacaaat ttgaacatta 11820

aaaagtgtcg ccaggaacat gtatcactgt ttacagatga aacagtatgt atttttatat 11880

ctaatttctg atcattggct tcaaatcaga aaagtgaatg acacatcaag atcaggtttt 11940

ctgtttacta aataaagtct aagaaaacaa agcataccag ctggagagat tcatgtttat 12000

aaagacagat ttataacaac aaaataaaat atccaagaat aaatttaaga agaaataggg 12060

cactatgtaa aaagtatagc actttactga gaaacatatg aaaacctgaa tacatggaga 12120

gaggtatttt atatttgaat agaaagattg ctggtttaaa gataattctc tttaaatttt 12180

ttttgttaga aatttaagag gtacaagagc agttttgtca cacggatata ttacatagtg 12240

gtgaagtctg gggttttagt gtaaattaat ctttacattt tgtttgagcc caataaatgt 12300

accaacatga tttttatagc aagatagtca ttcctattaa cccaaacttg tcccaacttt 12360

gaactgaact gaggcagagc tagcaggtgt tccccactgc tgaggcatct gaacattaag 12420

cgtatccctc tgagaaccag cctgcattga tcctctttct aatgtagaca gcatcaagct 12480

atatatctag ttctgtgctc agcaaaagcc ctgacttctt tttgcttatg tcctagctcc 12540

atacaacaaa atcaaccaaa gaattttggt tgtcgatcca gtcacctctg aacatgaact 12600

aacatgtcag gctgagggct accccaaggc cgaagtcatt tggacaagca gtgaccatca 12660
agtcctgagt ggtaagacca ccaccaccaa ttccaagaga gaggagaagc ttttaaatgt 12720
gaccagcaca ctgagaatca acacaacagc taatgagatt ttctactgca ttttttaggag 12780
attagatcct gaggaaaacc atacagctga attggtcatc ccaggtaata ttctgaatgt 12840
gtccattaaa atatgtctaa cactgtcccc tagcacctag tatgatgtct gcctatcata 12900
gtcattcagt gtttgttgaa taaatgaatt aatgaataac attatattta caaaatgtat 12960
cctaattcct cacttccatt catccaaatc atattgttac ttaataaaca ttcaccaaat 13020

atttattgaa tatgcctttt gttccatgca ttgtagtact catttgacac acatagaata 13080
ataagactca cgttcacact cttcaggaaa cagataaaaa acaaatgaac aaacaaaaaa 13140
caggcaatcc aataccatgt gggaaatgct ttcataccat gtgggaaacc tgggggaata 13200
cctgagagga atattcaatt caggccatgt ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag 13260
ccgcctcctt cttactaggg tttctgtggc aggaaataaa tggaacgtat ttttctatct 13320
tatgccaaac aggagggacc ctttctcccc tgtgcctctc ccaaggtagt ctacaatatt 13380
tcaacgctag cagtctgttt agtgcacagg acatgaggct gtgtatccct gggcaaattg 13440

ctacacttct gtgtgcttca ctttctctgt aggattataa cctactgagc aaggttattg 13500
tgggggtcaa attagcaaca gtgtatgaaa atgatttgag accagtgcct gcacaaattc 13560
aactattttt ttttatctca ctactctata gaagtaggta ggatgggaga cagagtctga 13620
tgggaggctc agaatgtgaa agtaagtgag gtgagtgagc atgatatttc atataaacac 13680
aaagatactc tgagaagagc ttctcacttn ccccgccccc aatagatgtt gacaggaaaa 13740
tgccacgtac ttcagcaaaa acagctgaaa aattagacat aaaagtcaat caataggaaa 13800
agataatcca ggatggtctt gtgaacagaa agaggaaaaa aaaagtttag aaaatgatgg 13860

ggatgctctt actggggtat gagtcctcag gtattcaact ggctttcaga aaaagctaga 13920
ctagtgggtt cctgccattt aaaagctgtt ttatgacaac ttacttgttg ggtggcctac 13980
agtaactcac ttaactgtgc tgagtctgtt tcctnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14040
nnnnnnnnna tgcctaactc ataaagttgt tctgaaactg aaataaaaca tatatgaaca 14100
ggcattgtaa actgtaagtt acggaaaaag ctggctgttg ttgtgtcttt aaagcttcac 14160
ctgggtagtt agagatggat catgggtctc agtggagagc tgagccaggc aggagctgac 14220
taagggtaag aggtgggaat tagcaatctc tgaacatctg tgtgccatgg gacccctttt 14280

cctcctgcat ggtaccccag acaaggagcc tagtaagaga tactaatgac ttgttgtcca 14340

gagatgttca aactgcagag aaagataaga caacaagcat tggcctccaa tcatgatgac 14400

agatagagga ggtgggagct ccttagcagt gctggttggt tttccatgtt ctactgtggg 14460

ccatctctgc catgtactgt aggctactaa cttctatatt aaaaaatgca agaggggnnn 14520

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14580

nnnnntcagg agtttgtaac cagcctggcc aacatggtga atctctgcct ctactaaaaa 14640

tacaaaaatt agccagatgt ggtggcgtgc acccgtaatc ccagctacnn nnnnnnnnna 14700

ggcacgnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14760

nnnnnnnagc atgggcaaca gagaaagact ttgcctcaaa aataaataaa aaataaataa 14820

ataaataaat aaataannnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnncattt aatactgagt 14880

agccactcca tgtggtactg tgctaagcac attataaaat attagcctca caagaaatgt 14940

attagcattt gtattttgta cactggttaa gtatcttgcc caagacctca aaactggtta 15000

aggggcagca gaatttaacc ccagcgccac cttttcaaag tctgggcttc ttacacttct 15060

ccatgctgtt cccattttaa cagatgtatc tcgccattcc agccactcaa actttggcat 15120

ttaagaaaat tatcctaaag ctaaactaaa cttcaaggat gactattctc ctcatgaccc 15180

cttcccatca aaattttatc tttagtcagt ttgtttttgt tttgttttgt ttttcagaac 15240

tacctctggc gcttcctcca aatgaaagga ctcacttggt aattctggga gccatctttt 15300

tactccttgg tgtagcactg acattcatct tctatttaag aaaaggtagt atttccttaa 15360

ttgcagtggt ctccactggg gatgaggagg gggtgagaat tggatcgatc atggctgcaa 15420

ggaaacctga cttaacctct gcagggtggt gcaaaggcat tccactattc aacagtaatt 15480

atattgaagc tgcatgggat cactgggtga agatggggtg taaggggtga gggacaggag 15540

aatgggtatg gatggaggta gaagatgcag tgtcatacaa tttttttcta tcatgaaaat 15600

aaccacagac ttactgtaaa gaaggagcta aaatgcctgt cattttcagt tgcattttag 15660

ttttgcatta gttgcaccca gctggtttct gggtactcta acnnnnnnnn nnnnnnnnnn 15720

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nccatagagt attttgtaaa attattggca gaggatgtac 15780

ataatttgca tgtgttcctt tctccattta cctgtgggaa caattaaaat ccaggaaaat 15840

gagtatattc aaataatttc ctcccattta tgatgattca gagtaaataa ttcctctgat 15900

acttagagaa gtataccaag agatccagtg attgtataga gttgtctgat gttaaatagg 15960

gaagtagaat atggaaggga ttccaatagt cgttgaaaaa ttccccacaa ccccttacat 16020

gggggaaagt ggtgttaact gagatagtag agataagctg ttaccaaaaa ttatgttctt 16080

aacaggattg agatagccag aatataagga tcaagtttca atgacagtaa gatcctgaga 16140

tgcagttgat ttgcacaaag aaataattgt tgccagcttg cattttgaat atttctctgg 16200

aaaaagagat tagttggcag tagaaatgaa tagaaatcaa tagatattaa aatacctcag 16260

aatttgattc atctctggga aaagatgaaa aataaaagtg tatagtcctc aagaaaatct 16320

gggatcaaaa gcatgggcct taccctattg aattaattaa cctcagaagt tgggaactgt 16380

ggaataagga tgtccaccag acttcctagg gattacaaat gtttcataga acttgaaatt 16440

taaacttggg tcactgtatg ggatgtagag ctgtgctata tggaaataaa aatgatttct 16500

ttttctcaag ggagaatgat ggatatgaaa aaatgtggca ttcgagttac aaactcaaag 16560

aagcaacgtg gtaagaatat cagaaggaat tgggaagtag aaggcaaagg aaacaaaaag 16620

ctaaagcaat aacaaagaga aatccattag tcataatctc ctctcctttt aaagaatgct 16680

ggttcccctt tgcctcacaa ctaatacaag aacttctcca ccatctcagg aagtttaggg 16740

atggccttca agagtagaga gtagggagca gctctgtgga gagaggagag gagcagggaa 16800

ggggaaggag tcagcttctc tttgctaatc tgttgccctg caccctagca gctccctgca 16860

gcaggggaca aggttgactt aggtggatgg ataattaatt gattctaaaa tattgtgtgt 16920

cagtattgta tattgtaata ctatgttaac tgcgccatgc acggtatctc atttaatccc 16980

ccacccccttg ccattaccaa aaagagagag agaaaaatac tagaattatc ctcattttac 17040

agtagagaaa acagagggtc aagaagataa agtaaagtgc ccaagaacac acaactgatc 17100

acaaatatca agcttggggt ccattagcct aaccacagac ccttactctt aacccatctg 17160

cttcaatcca ttttgctaca aatgtttaca ttatatgcag ggcagaaaag tctcatccag 17220

tttattgaac taagaagaaa gttatattaa ggtgtctaat ttttttaat gtagttagaa 17280

accaaactta acaatgagcc caagtttaaa gcagtctaat taacttgaca agctcaggca 17340

agtttcattc tgtggcctgt agcatcatct gtgttgtaaa gctaagtagc aaatgttatt 17400

tgnnnnnnnn nnnnnggtca tcctgggggg aaagtcatcc caatttgctc aagactgagg 17460

ggtttttcag gatatcatgt aaggataatt gggtacaaat ataacctgct tctttctctc 17520

atttcaaatt tatcatttat catctcagca actatgagtt atgttttta ttagatttct 17580

tgttactttt tccccagacc gctccccatg aaattaatat actattatca ctctccagat 17640

acacaattgg aggagacgta atccagcatt ggaacttctg atcttcaagc agggattctc 17700

agcctgtggt ttgggggttc gtcagggctg agcatgacca gaggaatgaa tgggcccgtg 17760

ggatgcatgc agtatgggac ttaaaaggcc caagcactga aaatggaacc tggcgaaagc 17820

agaggaggag aatgaagaaa aatggagttg aacagggagc gtggagggag accttgatac 17880

tttcaaatgc ctgaggggct catcggtgca tgtgacaggg agaaaggata cttctgaaca 17940

aggagcctcc aagcaaatca tccactgctc atcttaggaa aacgggttga gaatccctaa 18000

tttgagggtc agttcctgca gaagtgccct ttgcctccac tcaatgcctc aatttgtttt 18060

ctgcgtgact gagggtccca gtgttggaac agtatttatg tatgagattt tcctatttat 18120
tttgagtctg tgaggtcttc ttgtcatggg agtgtggttg tgaatgattt cttttgaaga 18180
tatattgtag tagatgttac aattttgtcg ccaaactaaa cttgatgctt aatgacttgc 18240
tcacatctag taaaacatgg agtatttgta aggtgcttgg tctcctctat aactacaagt 18300
acacattgga agcataaaga tcaaaccgtt gatttgtata ggatgtcacc tttatttaac 18360
ccattaatac tctgattgac ttaatcttat tctcagacct caagtgtctg tgcagtatct 18420
gttccattta aatatcagct ttataattat gtggtaccat acacacataa tctcctttca 18480

tcgctgtaac caccctgttg tgatgaccac tattatttta cccattgtac agctgaggaa 18540
gcaaacagat taagtaactt gccaaaacca gtaaatagca gagctcagac tgccacccac 18600
tgtccttta taatacaatt tacagctata ttttacttta agcaattcat ttattcaaaa 18660
cccatttatt aagtgccctt gcaatatcaa tcactgtacc aggcattgaa tctacagatg 18720
tgagcaagag aaagtacctg tcctcaagga gcttggagta taataaggag attaataaga 18780
aaatatatta ttacaatcta gtccagtgtc atagcataag gatgatgtga ggagaaaagc 18840
tgagcagtgt tgccaagagg aggaaatagg ccaatgtggt ctgggacagt tgaatgtatt 18900

taaacatctt aataatcaaa gtaattttca tttacaaaga gaagtcagta cttaaaataa 18960
ccctgaaaaa taacactgga attccttttc tagcattata tttatccctg atttgccttt 19020
gccatacaat ctaatgcttg tttatatagt gtctgatatt gtttaacagt tctgtctttt 19080
ctattcaatg ctattaattt taaattcata cctttccatg annnnnnnnn nnnnngatcc 19140
catgggagat ggtttgaaaa tctccacttc atcctccaag ccattcaagt ttcctttcca 19200
gaagcaactg ctactgcctt ttattcatat gttcttctaa agatagtcta catttggaaa 19260
tgtatgttaa aagcatatat ttttaaattt ttttccctaa atagtaacac attatatgtc 19320

tgctgtgcac tttgctattt ttatttattg tagtgtttct tatgtagcag atggaatgaa 19380
tttgaagctc ccaaaggtca ggacacatgc cttctttgtt tctaagttat ctttcccata 19440
gcttttcata atctttcata tgatttagta catgttaaat atgtgctaca tatacattta 19500
gacaaccagc atttgttaag tatttgctct aggactgagt ttggatttat gtttgctcaa 19560
aaggagaccc atgggctctc cagggtgcac tgagtcaatc tagtcctaaa aagcaatctt 19620
attattaact ctgtatgaca gaatcatatc tggaactttt gttttctgct ttctgtcaag 19680
tataaacttc actttgatgc tgtacttgca aaatcacatt ttctttctgg aaattccagt 19740

agtgtacctt gactgctagt taccctgtgc cagaaaagcc tcattcgttg tgcttgaacc 19800

ctttaatgcc accagctgtc atcactacac aggcctccta agaggcttcc tggaggtttt 19860

gagattcaga tgccctgaga gatcccagag tttcctttcc ctcttggcca cattctggtg 19920

tcagtgacaa ggaatacctt cgctttgcca cccgtcaagg ttgaagaaac agcgtctcca 19980

acagagctcc ttgtgttatc tgtttgtaca tgtgcatttg tacagtaatt tgtgtgacag 20040

tgttctttgt gtgaattaca ggcaagaact gtggctgagc aaggcacata gtctactcag 20100

tctattccta actcctcctt ttggtgttgg atttgtaagg cactttatcc cttttgtctc 20160

atgtttcatc gtaaatggca taggcagaga tgatatctaa ttctgcattt gattgtcact 20220

ttttgtacct gcattaattt aataaaatat ccttatttat tttgttactt ggtacaccag 20280

catgtccatt ttcttgttta ttttgtgttt cataaaatgc ttagtttaac atcccggtgg 20340

<210> 4

<211> 20641

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 4

gcctcatgcc aggctgcact tgcacgtcgc gggccagtct cctcgcctgc aggtaaggga 60

gcatcttctc gcggaatccg cttgcagggc actttaaaga gccagaatcc ctagaccttt 120

ttaggacgga gaagggaacc ggtttcctgg gaaagttaag aactcagaat ccgcagtttt 180

gtgtgtttat ggatcttgtg ggtaggtagc tgggtcagaa gagatgaatt aattggtcct 240

agcgcgactt gactgtttgc tagcaatgac tgggtctttc cacttgaagc atctccggag 300

gtcccttcct ctgtcgaggt ctaggatgct ggagcttaag attttcattc tatctgccca 360

gagaacctaa aggatttttg gaagaaaatg tcccaaacag ttcttagata cagtgaccta 420

ggctatgtta aagtttaggt tggggttgtc ataagaggtg aaagtacaat attctatctt 480

tttttaaaaa taaattatta caggtgcttt cctatgaatt acttagccag ttttttttta 540

attgctatat tccattgtgc tgggttatta aagggcatca ctctcccact gaggaatgca 600

caggttagta atagtgcctt actagctcag tcatccactg accatctgtg tatgtgactg 660

tctggaatat ggctaggtat ttcatttaga taaactctta tatgtataag tacttcatta 720

tgtttgagtg tctgaaaggc ctttgtgtag aaaaaaaaaa aacaacaacc tgagaataca 780

ttccagaaag tatccgcagc tgatgatgat agtgaccaag cggtgtttaa ggagaacttt 840

atacagggaa aatattcacc tttcccagct gagcatcata gataggaaga catgatagtg 900

gttatatgct gctctaagga gggatggaga agggatggat ttgagcacag ggttcaggat 960

catttgatag aatttgaaaa ctgggtaaat tttcactctt ttgagaaagg aagtttgcat 1020

ctgcttcccc tccccgcccc aggcactctt ccccccccca tccccccccg tgcccccccc 1080

ccccatggga agataaagaa gtggcgttcc aagatcttca tctggacttc ccctgggaca 1140

aacctatttc cccatcttga atgagcgtca cttctttact ttaaactctg ttctgtgaaa 1200

ggctctcagc tcttgtctgg gaatttgtga aaggttacag tttcttgccg gagggaggga 1260

gaaggtgacc ctggactctt agcccatgta agaggtgcag gtttagaggt caaaggccat 1320

gctgatttac atggtccctg aatttcccct tttgatctac tgctcacacc tgcaccctga 1380

gagccaggga ggggaggata tgatactgaa gaaggtgact atcagaccca acccatcacc 1440

tttcagactt tatactaagc tttaaagcag actcataagc aatagataac tgttccaact 1500

gagtctgcca tcaacgtagg aaaaattagg tacagtcttc agtggatatc atgtacctca 1560

ttgtgactgt ctagtactcg gcttggccat ttctcccagg gcctcattgc aacagtcact 1620

gtgtcctcac aggcctggat gtcatcctgc ctcatctgct tgggcagatg aactggagag 1680

atatgattaa taatgagtca tttgattttg ctctttttgt aaatgtcctt ggtttggttt 1740

ggtttgttta ttttttgttt tgttgttgtt gtttgttttt attttcatgc tcttgttgtt 1800

gtttgagaca gagtctcact atgtagccca ggctagcctc ttcccccagt ctctcagatg 1860

ctgttgcatc tgccctttтc taacatcaat gattcataat aatcagcaag aaggctatga 1920

ccttaacagt caaaataagt aatcaggtaa ttattgagag ctaaatattt atttaaacaa 1980

atcaagttgc atttttcaag aattgaatgg ggggatctaa aaagtaatgt ttgtgctgca 2040

caaagatgta gtggtatcag ttgccatagt ctttctccct agatccgcag atctccttag 2100

ggaaatctat aattcaagcc taaacttgga cctggtacac aactggtact cgcccaaaca 2160

ttggccaagc acacacatat ttgtgactct gaaaaaaggg acaacacata acagcaaagg 2220

cgctccgtgt taggggcctg ttaaatacaa gacttgggga aattatgcca taatcttaca 2280

ttttaaaaat ggctattaca tgtgtgagac aacgggggct ggagagatac ctcagaggta 2340

ctaggcacac atatggcaag cagatgtaca agcaggcaaa acattcttaa aaaacaaaaa 2400

caaaacccca aaacagattt ctttctatat tatttatatg gggttctgcc tgcgtgtaca 2460

cctgaagggc agaggagagc accaggtctc ataggtggtt ggttgtaagc taccatatgg 2520

ttgctaggaa ttaaactcag gactttggta agagcagcca gtgctcttaa cctctgagcc 2580

atccctccag tcccagacaa aacactctta cacataaaat aaatcaatct ttaaaagtgt 2640

agaggaaaat ggctgaacag aaactattga cagacatgct gagagtggtc accgtttctc 2700

cagcttggca ctggtggtgc tgtaggccat ctcagtgtct gtcaccttgg ggcggggcgg 2760

ggggcgggag ggggggaagg cggcagggca gggtcttggc agcatctcgg gcctctattt 2820

catcacatca gtaacagctc tccttcgtcc caagcaagct ttggcaacca aataaatatg 2880

ttagccaata ttaccaaacg gtccctagag gagaatgtgt gtaatgtgcc tacattcgtt 2940

tttataacaa caccaacaat atccaaccat aaaaataaac tgaaatggtc actctacctc 3000

agtgacaacg tctgagctcc gtttcagggt ccctcacaag aaattcgata ggtgtaatga 3060

tttatttttc ctaataagta aaatgattat tcactcattt gaaaattgga cacacacaca 3120

aaaaaatgaa gaaaaaattt gctatttcat ctctcctttt ctatctcttt ccctttaaaa 3180

aaagtataaa tgtgggctaa agagatggct cagcagttaa gagcactggc tgctcttccg 3240

gaggtactga gttcaaactg caccaaccac atggtggctc acaaccatct gtaatgggat 3300

ctgatgccct cttctggtgt gtctagagac agtgacagtg tactcacata cataaaataa 3360

gtaaaaaaaa aaaaaacaaa actttttttt aagtataaat gtgtaagaac ttacctgtct 3420

tccctataaa agccacaatt acctttgcag ataatcactg tcaggcagtg tcttcaagag 3480

aagtggggtt gttctacgac acaagaatat ttttgtttat atactaccct ctaagctcct 3540

tcctacttct ctgcaaactc atcccctgtg catatactga aatctatccg tcacggtatt 3600

ttgagtatac acagttatcc gtcacggtat tttgagtata cacagtttta ttagctaata 3660

catggggtat ttcaagtctg ggactgttgt tggctgtgtc atctctgtta catatgactt 3720

atattttcta agatgaattt ccaagacagg aatagagaga tcatacgaca tgcacagtta 3780

aagttttaag agattacaaa attgaccttt aagaagctat acaatttcac atcctttcca 3840

ggaaaggtca agaaatccct gtatcttcac taatgctacc tatgaggagt ctgtaatttt 3900

ggtagagcag aaggtccaaa tggtatcaca gatcctccat ggactttctt atcgagagcg 3960

ttctttccgc ttttattgat tatccttcga gctatgtgag actctcatcc gtcttcctct 4020

tgaccgatgt atagttttct cactgagttc agaggctagg atgcagaagc cgtcctcgtc 4080

agctttatac acctttcaga ttgactgtga atgagcacac aggtcagaga gacggtaagg 4140

gaagacctac tctcccatga acgttgtaaa catgcgaata acacagaagc agaaaatgta 4200

aactattaga ctggctggaa tgtagcgctc acctttgagc ccactccttt agacaccggt 4260

ttcatggaag aatggctcct gtttcccacc tgctgcttca gcagtgcccc aaatagtgcc 4320

agattcagag gagatactca gtgtttgccg agtgaattag gaaagtgttc agcggagggg 4380

acactagcat tcagacatcc agaccttaga gtaaccgggc cagatggaag tctccttcct 4440

tcccatagct gttaccactg tactgtcttt actggggaaa agatttatca tgtggaatag 4500

gtgcgaggca gaggtgagat tttaatgggg aggaagcatt gaaaagtgaa agtgaaaatt 4560

ggatgctctt tgctttgaag ctttgcctaa agcaggtttt agctttcaaa tacgtttcaa 4620

tgttgaaaga acgcatgata catatggagg ggggcctggg gggggtcctt ggctgagttt 4680

gaatgtacat taacaatctg gggggctaat aactcaatgt aaagctgctg atcccatcat 4740

actgacttct ttccacttgg ttctacatgg ctttgagtta caaaatgaaa gcattgaatt 4800

ttgaactgtt cagctgtgtt tccacacttg caaatcggtt gttggccagc cctcagaatt 4860

gcttcagtta cagctggctc gtctgctctt tccagactgg cttttagggc ttatgtatat 4920

atgagaagga cacatttact agtgtctcct tgctctgcta ttgaaattaa gcagacctct 4980

ctgtgtttcc cgttactaga tagttcccaa aacatgagga tatttgctgg cattatattc 5040

acagcctgct gtcacttgct acggggtaag tcaccaaatc ttttcagtgg gttctatatt 5100

ttcaatattt tagctatgaa ttaaaaatgg aagtaatttg tggggtgtgt atgtgtgtgt 5160

atatgtgtgt gtagaggggg gtctgtgtgt atgtgcagtt gctaggcaca cataaagcgt 5220

tcataggaca acctagagct tagtcctcac cttctacctt gtttgagaca aggtctctta 5280

tttgttgtac attgctgagt cctgtagttc ggctagctca gaacctcctg ggggctctcc 5340

tgtctccacc tcccagtcca ctgagattgt aggcacatgc tactgcacct ggcttctacc 5400

tggtctctgg ggatttgaac ttgggtccat gggctacaca gcaagtcgtt tacttactgg 5460

gcaatcactc catcccctaa gataattata aggaatatac cttgcttatc caaacacatt 5520

ctcattctcc tttgccataa ataagttact tggcaaatat attgtatgta tttttaataa 5580

ataaataaaa tcttaaaaat aaataaaatt atttgtgaag acaaaaaaaa taagttactt 5640

ggaaaggatg aaggaaaata ctggagcttt gggtgtggtt tagtagtaga acacttggct 5700

gatgtaaaaa aaaagcccta ggtgcaatcc caacaccaga aacaaatgaa ggaatgaaca 5760

acaaccgccc ccacccccca ggggatgaat ataaaaatat caggtaatac agaactaaca 5820

ggtgatccgt ttcctatgaa taactactga acattcccag ggaggtggcc cactgataat 5880

atatttttat ttattggttc cttttaaaca agactgggaa tatattatct agcttgcatc 5940

accaccacca ccccccaccc ccgccccatg aagttatttc aaagaagaat tttagtgttc 6000

atgtgattcc ctaaataaaa tgatagtaac cttttaccca ggttttcaga tgtgtttgga 6060

ggagttttct gtcttctgag ggctggtcct ctttcctttt cagcgtttac tatcacggct 6120

ccaaaggact tgtacgtggt ggagtatggc agcaacgtca cgatggagtg cagattccct 6180

gtagaacggg agctggacct gcttgcgtta gtggtgtact gggaaaagga agatgagcaa 6240

gtgattcagt ttgtggcagg agaggaggac cttaagcctc agcacagcaa cttcaggggg 6300

agagcctcgc tgccaaagga ccagcttttg aagggaaatg ctgcccttca gatcacagac 6360

gtcaagctgc aggacgcagg cgtttactgc tgcataatca gctacggtgg tgcggactac 6420

aagcgaatca cgctgaaagt caatggtaag aattaccctg gatggggaag gcttcatccg 6480

tatttaaaac agctccctaa tgttgagagc tcttcattct tgagagttcg cacgcacttc 6540
tcacagaaca acagcagcct gttcttctcg ctcgtttgtt cattcgttcg ttcacacact 6600
tcaccagtga aaaagcctag cactgtgtgt ttgatagtaa cttgagattc agtaccagat 6660
aatactcagc catgctttgc agtcagtacc atgatcttgc aaaggtgaaa tgccaggtgt 6720
ttgtttctta tcataaatgc aatatataat atattacata gatgtataga tataactgtg 6780
taacatgcaa taagatataa tatgcatata tttcatataa cataatgtat aatatataat 6840
gtataataat atatactaca atatatagtt atatgcatag ttatatattg catttatgat 6900

aaaaagcaaa cacctggcat ttcacttttg caagcttttt gaattacttg taaatatata 6960
tacatgcaaa catacataca cacacatgtt tttttacaag taatttgaat gtcatggaaa 7020
gaaatagaat cataaaaatg tccctcctcc ctaactacca tcttctaagc ataaatatac 7080
agtaactact atttgtacat ccctccatga ctttttgatt ggattactgt ttatatttaa 7140
tctatcaggc ttagcacatt ttctttcctt tgaatacctc catacaaaat tcaatgtgtg 7200
tttatatata tatgtatata tatagttata tcatatcata tatcatacaa agttttatat 7260
atgtatacat atataaacac acatatctac acatacatac acatttttta tatatataca 7320

caatatataa tgtatatgtg tgtgtgtgtg catatacctc tatatctatc tatctatcta 7380
tctatctatc tatctatcta tctatctatc tatagcttct actgtaaggg tcacttttta 7440
aaaaattaag gttaatctat gaaggatgag aagtgaagat cttaagtgta gaagaagccg 7500
ttcttccaca gagatggtac aggctacact cagcaggcat gcattcattt tcagggcctg 7560
catctctggg agtgctgagg aggaactatg agtgtaagtt cctgggtaac gagccacaga 7620
aatgtcatca ggtcccttga gttcacggtt ctgggttgga actaactaag ggaaggaaaa 7680
caccttgcta accacccctg ctttcactgt tgggttgcat agacctgaga gcttcactca 7740

tcgcaggcgt gcacacagcc agcccagttg cccaccagga ctggaaatcc ccaaggctct 7800
cctcttcaca tacctcccac agtggtgtcc ctcgaatcag gtccctttcg tggtctgcgg 7860
aaacttcacc ttgatggaca ctgagccgaa ccccgtcttc tccaggcaga cgttgcagat 7920
ggtctgcctg ctccttttcg gttttcataa taactttaaa actatttggc tagaatcaga 7980
tagtctcctt cgatcttttt actcctaaac tagtgtgaag ctcaatatta tacataggaa 8040
aaattcacat tcctcataag ggatcacggc agttattaac gcaatcttat gtagagatta 8100
ggaaaaatgt gtccattcga cagtttatta atgggtctgt gatggtgggt cgcttagagc 8160

ttatgaagat gccacttgcc ttatttcggt gcttggctct aacttccatt acctttttact 8220

tacaattctt catttgtgac actcatgaaa ggagactcgg gatatggttg ttaatatctt 8280

gagcagctgt tagtacatca gcaaatatga ggctcctgtt tggttccaag atttttaaag 8340

acattgtgaa gctggaaggc catgagcagt caaagttgct ggacctgggg cactggaagg 8400

agctcaaggc gggcagtcag gaagaaggga gcagggtgta agcctctgtg acaagaggtc 8460

tctcatggct tgttaggagt aggtgactct ggtaaggagg aatttactct agattatgtg 8520

ctcagtgata tctctgatac caaagacaat cttttggagc gcacggcttc tccacggagg 8580

gacctgtgat gcggcaaagc tggtatccaa gcagtcttga aggcctgctt gactattttg 8640

ttttcttaca gaaatcacta cgtcgatatt ttactcccag ttcaccttgc catttgcatg 8700

cacgttagct ggtctaggcc aagagtctga accttggttg tggctcaaat ctgtaatctc 8760

agctatgtgg gaagctgagg caggagaatc gcgcaattag gacttgtctg agctacgaac 8820

atatagcagg ttcaagagca gcctgggcaa tttggcaaga tccgttctca aagacataca 8880

tacatacata tatttggcaa gatccgttct caaagacata catacataca tacatttggc 8940

aagatccgtt ctcaaagaca tacatacatg catgcatgca taaatacatg tataaatgaa 9000

tataaaatta aaataggaac aggactgagg acatgcccag tgatgtacag gaccctggtt 9060

tcagtttcta gcaccatggt cgctggcatg caaaagcttt ccatgtcaag gaagtagaac 9120

tcctgaattc tgtgctatgc aaatgacttc acagcaaggt tccttcccat cactgcaagt 9180

gtgtggtggt gaagcagccc tacagggagt tcactcgcca tggggtttta aaggtgaatt 9240

atttcaaaac tgaaatctga aagagtgtag ttttggatta actcagtttt tattatctct 9300

ttggataatg ttctaccttc aaaggtttac agaagaccct caggcatcag gcttttaatt 9360

gaaaaatatt cagctttaat cactgacctc aatatcagaa aagaatgaag tgtccattta 9420

gtagtcctcg gaccgtagat ggcattaagc agctgtaaga aacacgctca tcacatggtt 9480

caacaattaa ggattgccat ggtgcacccg atcccccagc tctgtttaaa ccttttctct 9540

gtcatctatg cctatctaag atgtctcagc atatcatgct tattgtctct ttccttctct 9600

tgaacacaag ctctaggggt aggggctttg gtcagtttta ttgttggacc tgttggcctt 9660

gacgtattat gaaggggcag tgtaataaga aaagaaaacc gtgtttgttg atggaatggt 9720

ttaaaaaaaa attagcttaa aatgtatgct atacgaacgg gcatgaatct gggagatttt 9780

agactgttcc ttgtgagccg taggaacttt cttgtttctg tgttcacagt cctccgcagc 9840

tgtgctcatg gtcctccaca tctgcctaac aacagcaggg gtagatgtta taattaacac 9900

tcacagaaca cctgatatgt gagaggttgt gccctgggct tcttgctcat atgaattcat 9960

ttcatcttta acataactct tcgggggagg cacttgccca tgaccatggc ttgttttctt 10020

tcctatcgac tatctttcaa atcggaatgt gtctttccct aggtgacatc tcagattcaa 10080

tgttacacag cactgctgtg cccattttca ggcattaaaa atgcgatccg cctaaattcc 10140

accccgataa aattatgcag ccaggttcgg aacccaacta gcccatctct aaaaatctat 10200

gcccttccta gcctcgcttt gttgcctgtc tttgtacctc tggagtgggt atcaaggaac 10260

agaatggctt taaacatgat ttgaactttt cctggttttt gatcacagca gtaacagagt 10320

gttctagaga taagccagag gtttgaaaac aaacagaact tgtctttgag gtgttataaa 10380

catgtgtgtg attataaagg atatatctgg tgccaatagg tatagcttat attataagaa 10440

atggccattg tgaagatcag aaggagataa ctcactgatt tcaggtggtt gattcaatct 10500

aacacatgat atattctgaa actgtacaaa aaagatattc aaaagaagaa acacatggaa 10560

caaagagtat atggaaattc tgacaactca gaatcagtgt atgttaagat gaagttcatg 10620

attaacaaat ggagatggtc gcagtcatcc tgaagcttat tttagccaat gctttatcac 10680

atccaactca atcttcgttt ttttttttc agatggatct tcccattttt aattaacctt 10740

atcatgatag cccctagtaa ggcatgtcct gacatttctt ttctttttt ttatagctta 10800

tgtttctttt tttaaaaatt tttttactac atattttcct caattacatt tccaatgcta 10860

tcccaaaagt cccccatacc ctcctccccc actcccctac ccacccactc ccacttttg 10920

gccctggggt tcccctgtac tgggggatat aaagtctgcg tgtccaatgg gcctctcttt 10980

ccagtgatgg cctactaggc catcttttga tacatatgca gcttgagtca agagctccgg 11040

ggtactggtt agttcatagt gttgttccac ctatagggtt gcagatccct ttagttcctt 11100

gggtgctttc tctagcttct ccattgggag ccctgtgatc catccaatag ctgactgtga 11160

gcatccactt ctgtgtttgc taggtcccgg ccaagtctca caagagacag ctatttcagg 11220

gtcctttcag catatgcttg ctagtgtatg caatggtgtc atcgtttgga ggctaattat 11280

gggatggctc cctggatatg gcagtctcta aatggtccat ccttttgtct cagctccaaa 11340

ctttgtctct gtaactcctt tcaatcttcg tttttaatgt ccgaaaatga ctggtaacgt 11400

cactgcttac atttcccttt gctttgtgtt gaattgtgag ctttatcttt gatctggagt 11460

ttctttaaga agactttgta atgtgcttat ttttaaagat ggtgaattca attaaagata 11520

gacaagaggg acgggtctgt atttcatctg gtagagtgct tacctgccat tcatgaagtt 11580

ctggttcgat ccccggcaca gcatagaacc acatgcggtg gcaactcagt tgcctgtgac 11640

cccagcactc aggagctaga ggcaggttac ctttgactac acagcaagtt caaggctagc 11700

ctggtctaca tgcaactctt cctcaaaggg aaaacaaaac aaaaatagac aggagaattg 11760

gaaacatcca tagaaaccca aatatgaatc aatagactcc cctcttcctg tgtcagacat 11820

tcagactcag tgacagccgt caccgtttat gaggcatgac tgattttaca gatcctagag 11880

caagcgtgca caattctggt gtttcctgcc tgcgtcctca cacacacgct caccttaggg 11940

acggaggcag cggaggtcta gtcagtttca gacgaatcca ctcatcagct gctcaccatg 12000
gtcttctagg tgaagcagaa ctctccttcc atcagcaccc gtgaaaaaca aaagtggaaa 12060
gcagatattt cactccgaat gctttatcat tggcagtgat ttcaaattta aaccactaat 12120
ttcccagaag aattaggtca cgggccatgt ggcattagac cctattgtgg tgacattatt 12180
tcctgatgtg cctatttaat aatgtatagt ggtctcatct ttatttagtt ggtcttgaat 12240
gtgataaata caagactggg caagtgttca tcaaagctgt tacttgaaat tgtaattata 12300
cctatttttgt tggtggtgtt ttttcttggt tcatggacaa ccaaacacat tacggctttg 12360

ctttgtctta gctactctgt gtcaagttcc tgtgaaaata ccgtattaca gtgctcttat 12420
tacatctttg gtaatgaagt agtcacctaa gcccctatcc tgggctctct atggctcact 12480
aaagaatcgt aagttggata atgattgctg aagaaataga tatgttttat ttacattgag 12540
gtagaaagac ctgtggtttc taggtaacag tttacttaac ttagttgcta catctagttt 12600
gcactcagta aacaccctgg tgtggttttt acaacaacaa ggttgttcct gaagcccaaa 12660
catggcccag atttgaatag aagacctgag gcagactaac actcactccc tgctgccaaa 12720
gtagcagagc cggggacata tttctccaat agccagcccg agttgatgct ctttgtaagc 12780

agacaccaca aagccacacg gctagcccta agatgggaga gccctgacct ctctttgctt 12840
ctgacctagc cccataccgc aaaatcaacc agagaatttc cgtggatcca gccacttctg 12900
agcatgaact aatatgtcag gccgagggtt atccagaagc tgaggtaatc tggacaaaca 12960
gtgaccacca acccgtgagt gggaagagaa gtgtcaccac ttcccggaca gaggggatgc 13020
ttctcaatgt gaccagcagt ctgagggtca acgccacagc gaatgatgtt ttctactgta 13080
cgttttggag atcacagcca gggcaaaacc acacagcgga gctgatcatc ccaggtgagt 13140
tgcctaactc gtccccggat tcctagcacg atggccatcc gccatagtca tttagcagta 13200

gttggccgag tgtatgaata catgaaactt acattggcta gacgtattct agttcctctt 13260
tctcttgcgt gcaagccata atgctacttg gtcaacactc agcaagaatt aagtgtttgc 13320
tcctgacaga cagtatgtta gtcattgagt attcgtggct ggataggaca taagttactc 13380
tgctccagga aacaggtgac agtcgcatgt aggagatgct cttgtaactt gggcaccacg 13440
ggcaacgtga gagcaagctt atgcttcagg aatgtaaacc tttgtcacat caaagctgcc 13500
ctcttccctc ccgggctgct gtagtagaaa gcaaatgcat tgccttttt tgtatcttat 13560
attcaacagg aagaatcctt tcttcccata ctcctcttca gggcattccc tgatacttca 13620

actccaggaa gtctgcctgt gcatagaaca cgaggctgat gcctatgggc aaccgactag 13680

ctgggttgta actcaccagg ccagggcatt gtagggatag aatgagctgc acgaaaatga 13740

ttgtaggaaa atcgtttgag aattcagctg tctttaaaat tcatttacct tacagaaata 13800

gggccacagg agacagtttg gtgagaggct cagagcatta tatgaatatg aacccagagg 13860

tactcactct gaggagggtt gcttctgcct ccatcgacac ccctttccca atgtatgtca 13920

acagtacatt gatgtctaga gatagctctg tgaagtttag agaagatata taaaactaca 13980

ttaaaaagtc aaccaatatg aaaaatgaag cccaggatgg gcgtggagcc aaaaggagca 14040

cacaagtttg gaaaaatgta aaataaaaag gaagacactc taactagaat tggacttttc 14100

cataaaagct atattgttgg tttcctacca ttaaatgttt tatggggctg gagacgttgt 14160

agctcagttg ggagagtact tgcctagcat ccacaatgct ctgaccccag cgccatataa 14220

acgtatatag ggctcaccta tagtctaaac actttggtgg tggaagccgg agggtcagtt 14280

caaggtcatc ctcagcttca tagcaagttc aaggccagta tggactgact acaagagacc 14340

ctgcctcaaa gacaaaacaa gcaaacatca tcataataaa acagcaaaaa gctgttctct 14400

ggccatttct ttgtaggaca tcctggagta acttaaccac tctgagtgtc tcttctcatc 14460

tgtaacttgg gttcatagtg ggaccaaata ggagctgagt tacaacagga gatggaagtt 14520

agcaatctca gagcatccca gagccctggg acccattttt ctctttctca aaactccagg 14580

cagagaaaca gggagatgtt aatgactgga gtgcccaaga gtctcagaca tggaagaaac 14640

acaacccgca ctggtccaca tttgtgggag acagaagcgg cttagcagtg ccccgctttc 14700

ccatgttcgg gagttggcct tccacaccaa gtcagccatt actgtctata ttaatgagtg 14760

cacaaggaag ttactgcact aaggttacca tttaatattg cagtcacttt ctgtggcaac 14820

atgtcacagg cctggagttc ttctctgtgc tgctcccagt ttcttaggag atctgtcttc 14880

ttcttccaac ccttacctgg acattaactt tcagtgatta agattaccct aagaccaaac 14940

tatatttcag gagtcatcat tcccctgact atggcgcagc aaagccttac cttccatcag 15000

cttctcttta tccttttcca gaactgcctg caacacatcc tccacagaac aggactcact 15060

gggtgcttct gggatccatc ctgttgttcc tcattgtagt gtccacggtc ctcctcttct 15120

tgagaaaaca aggtatttcc tccattgctg tactgcctgc agggaagtgc atgagggtcc 15180

cttcaccatt gccttgagca ggcagtgcca gagatggtac caccctgaca agaacagacc 15240

cacatcacag ggcgtcctac actgcacgct agctgaacct caccaggaaa cactgacttg 15300

aaaggtgctg ccctccattc cctgggcttg ctttcagtta cacagagtaa gttttaacag 15360

tgactctggt gtactgagtc ttccttaagt cctgttcaca ttgttgctct gcgacatctc 15420

ctaccttgga gctcggtgtt ggaccctgtt gtaatatgaa gaggtatcag ttggacaagg 15480

gcgtagggaa gctaaaagac ttagctttca aggcgtgggg gaggggggagg gcattgtgag 15540

gttccctgtt cagcggttca gagtaaagct gggcagcaca caagtttaga caacaaggaa 15600

gatgctctaa ctggggttgg aggtcaatgg tgcagggata ggtagcaatg gaggctaaag 15660

aagaaagcca taaggtttct ttctacagac tctgaagaca gagcactgtg gtgcctattg 15720

gtctcaggtg aactcaagtc ttgtgttcct tacaccacct attgagctgg gttctggata 15780

ccctaagtgg aaaaacactt ctgtctaaaa agagctgtgg catctttacc acaaagcact 15840

ttttttttt gcaagatttc tgaagacgaa atgacacagt ttttaaaata atttccatat 15900

atttatttca gtacttaccc ataagaatga ctgaaatcta ggaaaatgaa tatattcaaa 15960

taatgccttc ctattgtaaa gtgacttaga gtaaaccttt tcaccaaata ctttgaaatg 16020

cataccaagt gagccaatga tgcatggact tgtgtgaagc caaatgggga aatagaatat 16080

gggagggaac atcaatcatc agagaggaat tccccatcac ccttttggag ggcgcgtgta 16140

tgggaaaagt gttgtaactg gggcggtagc gaccagctgc ttccaaagaa taagccctga 16200

gcagaaccaa gagggttgcc agggtgtgaa gattaagctt cagagacaca tctggcttag 16260

ggctagccta ggacttgcac aggaccgcag ttgttgccta atggcatctg ggatgattgg 16320

ctgaggatga ggaaagcaga gagtcagtta ggtggtaagc tagctcagga tgtgggacgt 16380

ttctgaggga agggtggaag acaaagtaga cagtcctaaa aaccatctga gaatgaaagt 16440

atgtacccta aattgttgaa taattaactt tgcggcgtgg gatctggaat aaggaagttc 16500

acgggctaaa agcctggtga ttaggggatt gatcggtgtc tcctaaaaac cttaagttga 16560

aaatcgagtc cctgtgggtt gtagtagcat cttgctataa ggaattaaga ttgatttctt 16620

cttctttagt gagaatgcta gatgtggaga aatgtggcgt tgaagataca agctcaaaaa 16680

accgaaatgg taagtgtgag taacgaggga ggggcaagcc gagggaatga gtgggacaga 16740

gcagccaagc agggtcctgc aagggctgca gttccagcgc tctgtaggct gaggcagggg 16800

gatagggagt tccaggccag caaccacaca gccaaaacaa aacaaacaaa acaaaaaaca 16860

aagcaaaagg aagagcagaa aaagctactg ttaccaacaa gagacatact ttagccgtga 16920

tctcctctcc ttccaaagga agctgtttgt gggggctgct ggttcctctg cctaaggatc 16980

gccacatctg agaaaactct gggtttgctg ctgcggtgtc tgtgtggtag ccctgcaacc 17040

agggacgctg ttgacttatt tgaatgggca tttgattaag caaatgattc tgctgtgtgg 17100

ttagctgtta actgtttcat gtgtatgata tggcatttca tttcatcatc ctgcccccaa 17160

tcagataaat atgagaatca tctccattgt atagtaggga aaacagggct gagaagataa 17220

tgcgaggtgc ctaagaacac acagacttgc taccacagac gtccgttctt tgctaggtgc 17280

ttcaatctat gctgctacta atgtctgtat ttataagagt agaaaactct gcccgggcgt 17340

tggtggccca cgcctttaat cccagcactc gggaggcaga ggtagtcgga tttctgagtt 17400

tgaggccagc ctggtctaca gagtgagttc caggacagcc aggctacaca gagaaaccct 17460
gtctcgaaaa aaatcaaaaa agaaaaaaga acaagaaaac tctaactgaa ctatcttgta 17520
gtaaattaca gtgtgttcta attcatttta gtgttgttag aaaccaaaca gtaaggccag 17580
gcagaactaa agtggtttcg ctaacttggg cagacccaag caggttccct cctgtacatt 17640
accatttatt ctgctgagtc accctgagga accggcctgg cttgctcaag actgaggatt 17700
tctcagccat gaacactttc cattttaaaa ctagggcagt cccggacaag caaggatggt 17760
tagtcatcct tcatcatgta agggtagtca gacataggta gtatctgtct ctgtcttacg 17820

gcaacgttac tatctgctct agcaaacatc ccatttgttt atcttacata tcatacgttt 17880
ccccccccaca tattccctgc ccctgtgaaa ttattatact atgatcactc tccagataca 17940
caattcgagg agacgtaagc agtgttgaac cctctgatcg tcgattggca gcttgtggtc 18000
tgtgaaagaa agggcccatg ggacatgagt ccaaagactc aagatggaac ctgagggaga 18060
gaaccaagaa agtgttggga gaggagcctg gaacaacgga cattttttcc agggagacac 18120
tgctaagcaa gttgcccatc agtcgtcttg ggaaatggat tgagggttcc tggcttagca 18180
gctggtcctt gcacagtgac cttttcctct gctcagtgcc gggatgagag atggagtcat 18240

gagtgttgaa gaataagtgc cttctattta ttttgagtct gtgtgttctc actttgggca 18300
tgtaattatg actggtgaat tctgacgaca tgatagatct taagatgtag tcaccaaact 18360
caactgctgc ttagcatcct ccgtaactac tgatacaagc agggaacaca gaggtcacct 18420
gcttggtttg acaggctctt gctgtctgac tcaaataatc tttatttttc agtcctcaag 18480
gctcttcgat agcagttgtt ctgtatcagc cttataggtg tcaggtatag cactcaacat 18540
ctcatctcat tacaatagca accctcatca ccatagcaac agctaacctc tgttatcctc 18600
acttcatagc caggaagctg agcgactaag tcacttgccc acagagtatc agctctcaga 18660

tttctgttct tcagccactg tcctttcagg atagaatttg tcgttaagaa attaatttaa 18720
aaactgatta ttgagtagca ttgtatatca atcacaacat gccttgtgca ctgtgctggc 18780
ctctgagcat aaagatgtac gccggagtac cggtcggaca tgtttatgtg tgttaaatac 18840
tcagagaaat gttcattaac aaggagcttg cattttagag acactggaaa gtaactccag 18900
ttcattgtct agcattacat ttacctcatt tgctatcctt gccatacagt ctcttgttct 18960
ccatgaagtg tcatgaatct tgttgaatag ttcttttatt ttttaaatgt ttctatttaa 19020
atgatattga catctgaggc gatagctcag ttggtaaaac cctttcctca caagtgtgaa 19080

accctgagtc ttatccctag aacccacata aaaaacagtt gcgtatgttt gtgcatgctt 19140

ttgatcccag cactagggag gcagaggcag gcagatcctg agctctcatt gaccacccag 19200

cctagcctac atggttagct ccaggcctac aggagctggc agagcctgaa aaacgatgcc 19260

tagacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacaccat gtactcatag 19320

acctaagtgc accctcctac acatgcacac acatacaatt caaacacaaa tcaacaggga 19380

attgtctcag aatggtcccc aagacaaaga agaagaaaaa caccaaacca gctctattcc 19440

ctcagcctat cctctctact ccttcctaga agcaactact attgtttttg tatataaatt 19500

tacccaacga cagttaatat gtagaatata tattaaagtg tctgtcaata tatattatct 19560

ctttctttct ttcttccttt ctttctttct ttctttcttt ctttctttct ttctttcttt 19620

ctttcttcct tccttccttc cttccttcct tccttccttc ctttctttct ttctttcttt 19680

ttttctgtct atctgtacct aaatggttgc tcactatgca ttttctgtgc tcttcgccct 19740

ttttatttaa tgtatggata tttatgctgc ttccagaatg gatctaaagc tctttgtttc 19800

taggttttct cccccatcct tctaggcatc tctcacactg tctaggccag acaccatgtc 19860

tgctgcctga atctgtagac accatttata aagcacgtac tcaccgagtt tgtatttggc 19920

ttgttctgtg tctgattaaa gggagaccat gagtccccag ggtacactga gttaccccag 19980

taccaagggg gagccttgtt tgtgtctcca tggcagaagc aggcctggag ccattttggt 20040

ttcttccttg acttctctca aacacagacg cctcacttgc tcattacagg ttctcctttg 20100

ggaatgtcag cattgctcct tgactgctgg ctgccctgga aggagcccat tagctctgtg 20160

tgagcccttg acagctactg cctctcctta ccacaggggc ctctaagata ctgttaccta 20220

gaggtcttga ggatctgtgt tctctggggg gaggaaagga ggaggaaccc agaactttct 20280

tacagttttc cttgttctgt cacatgtcaa gactgaagga acaggctggg ctacgtagtg 20340

agatcctgtc tcaaaggaaa gacgagcata gccgaacccc cggtggaacc ccctctgtta 20400

cctgttcaca caagcttatt gatgagtctc atgttaatgt cttgtttgta tgaagtttaa 20460

gaaaatatcg ggttgggcaa cacattctat ttattcattt tatttgaaat cttaatgcca 20520

tctcatggtg ttggattggt gtggcacttt attcttttgt gttgtgtata accataaatt 20580

ttattttgca tcagattgtc aatgtattgc attaatttaa taaatatttt tatttattaa 20640

a 20641

<210> 5

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 5

taattggctc tactgc 16

<210> 6

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 6

tcgcataaga atgact 16

<210> 7

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 7

tgaacacaca gtcgca 16

<210> 8

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 8

ctgaacacac agtcgc 16

<210> 9

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 9

tctgaacaca cagtcg 16

<210> 10

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 10

ttctgaacac acagtc 16

<210> 11

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 11

acaagtcatg ttacta 16

<210> 12

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 12

acacaagtca tgttac 16

<210> 13

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 13

cttacttaga tgctgc 16

<210> 14

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 14

acttacttag atgctg 16

<210> 15

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 15

gacttactta gatgct 16

<210> 16

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 16

agacttactt agatgc 16

<210> 17

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 17

gcaggaagag acttac 16

<210> 18

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 18

aataaattcc gttcagg 17

<210> 19

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 19

gcaaataaat tccgtt 16

<210> 20

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 20

agcaaataaa ttccgt 16

<210> 21

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 21

cagagcaaat aaattcc 17

<210> 22

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 22

tggacagagc aaataaat 18

<210> 23

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 23

atggacagag caaata 16

<210> 24

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 24

cagaatggac agagca 16

<210> 25

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 25

ttctcagaat ggacag 16

<210> 26

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 26

ctgaactttg acatag 16

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 27

aagacaaacc cagactga 18

<210> 28

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 28

tataagacaa acccagac 18

<210> 29

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 29

ttataagaca aacccaga 18

<210> 30

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 30

tgttataaga caaaccc 17

<210> 31

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 31

tagaacaatg gtacttt 17

<210> 32

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 32

gtagaacaat ggtact 16

<210> 33

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 33

aggtagaaca atggta 16

<210> 34

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 34

aagaggtaga acaatgg 17

<210> 35

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 35

gcatccacag taaatt 16

<210> 36

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 36

gaaggttatt taattc 16

<210> 37

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 37

ctaatcgaat gcagca 16

<210> 38

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 38

tacccaatct aatcga 16

<210> 39

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 39

tagttaccca atctaa 16

<210> 40

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 40

catttagtta cccaat 16

<210> 41

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 41

tcatttagtt acccaa 16

<210> 42

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 42

ttcatttagt taccca 16

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 43

gaattaattt catttagt 18

<210> 44

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 44

cagtgaggaa ttaattt 17

<210> 45

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 45

ccaacagtga ggaatt 16

<210> 46

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 46

cccaacagtg aggaat 16

<210> 47

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 47

tatacccaac agtgagg 17

<210> 48

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 48

ttatacccaa cagtgag 17

<210> 49

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 49

tttataccca acagtga 17

<210> 50

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 50

cctttatacc caacag 16

<210> 51

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 51

taacctttat acccaa 16

<210> 52

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 52

aataaccttt ataccca 17

<210> 53

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 53

gtaaataacc tttata 16

<210> 54

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 54

actgtaaata acctttat 18

<210> 55

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 55

atatatatgc aatgag 16

<210> 56

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 56

agatatatat gcaatg 16

<210> 57

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 57

gagatatata tgcaat 16

<210> 58

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 58

ccagagatat atatgc 16

<210> 59

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 59

caatattcca gagatat 17

<210> 60

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 60

gcaatattcc agagata 17

<210> 61

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 61

agcaatattc cagagat 17

<210> 62

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 62

cagcaatatt ccagag 16

<210> 63

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 63

aatcagcaat attccag 17

<210> 64

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 64

acaatcagca atattcc 17

<210> 65

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 65

actaagtagt tacacttct 19

<210> 66

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 66

ctaagtagtt acacttc 17

<210> 67

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 67

gactaagtag ttacactt 18

<210> 68

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 68

tgactaagta gttaca 16

<210> 69

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 69

ctttgactaa gtagtta 17

<210> 70

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 70

ctctttgact aagtag 16

<210> 71

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 71

gctctttgac taagta 16

<210> 72

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 72

ccttaaatac tgttgac 17

<210> 73

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 73

cttaaatact gttgac 16

<210> 74

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 74

tccttaaata ctgttg 16

<210> 75

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 75

tctccttaaa tactgtt 17

<210> 76

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 76

tatcatagtt ctcctt 16

<210> 77

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 77

agtatcatag ttctcc 16

<210> 78

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 78

gagtatcata gttctc 16

<210> 79

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 79

agagtatcat agttct 16

<210> 80

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 80

cagagtatca tagttc 16

<210> 81

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 81

ttcagagtat catagt 16

<210> 82

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 82

cttcagagta tcatag 16

<210> 83

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 83

ttcttcagag tatcata 17

<210> 84

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 84

tttcttcaga gtatcat 17

<210> 85

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 85

gagaaaggct aagttt 16

<210> 86

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 86

gacactcttg tacatt 16

<210> 87

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 87

tgagacactc ttgtaca 17

<210> 88

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 88

tgagacactc ttgtac 16

<210> 89

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 89

ctttattaaa ctccat 16

<210> 90

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 90

accaaacttt attaaa 16

<210> 91

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 91

aaacctctac taagtg 16

<210> 92

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 92

agattaagac agttga 16

<210> 93

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 93

aagtaggagc aagaggc 17

<210> 94

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 94

aaagtaggag caagagg 17

<210> 95

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 95

gttaagcagc caggag 16

<210> 96

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 96

agggtaggat gggtag 16

<210> 97

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 97

aagggtagga tgggta 16

<210> 98

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 98

caagggtagg atgggt 16

<210> 99

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 99

ccaagggtag gatggg 16

<210> 100

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 100

tccaagggta ggatgg 16

<210> 101

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 101

cttccaaggg taggat 16

<210> 102

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 102

atcttccaag ggtagga 17

<210> 103

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 103

agaagtgatg gctcatt 17

<210> 104

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 104

aagaagtgat ggctcat 17

<210> 105

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 105

gaagaagtga tggctca 17

<210> 106

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 106

atgaaatgta aactggg 17

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 107

caatgaaatg taaactgg 18

<210> 108

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 108

gcaatgaaat gtaaactg 18

<210> 109

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 109

agcaatgaaa tgtaaact 18

<210> 110

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 110

gagcaatgaa atgtaaac 18

<210> 111

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 111

tgaattccca tatccga 17

<210> 112

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 112

agaattatga ccatat 16

<210> 113

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 113

aggtaagaat tatgacc 17

<210> 114

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 114

tcaggtaaga attatgac 18

<210> 115

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 115

cttcaggtaa gaattatg 18

<210> 116

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 116

tcttcaggta agaatta 17

<210> 117

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 117

cttcttcagg taagaat 17

<210> 118

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 118

tcttcttcag gtaagaa 17

<210> 119

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 119

tcttcttcag gtaaga 16

<210> 120

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 120

tggtctaaga gaagaag 17

<210> 121

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 121

gttggtctaa gagaag 16

<210> 122

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 122

agttggtcta agagaa 16

<210> 123

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 123

cagttggtct aagagaa 17

<210> 124

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 124

gcagttggtc taagagaa 18

<210> 125

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 125

cagttggtct aagaga 16

<210> 126

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 126

gcagttggtc taagaga 17

<210> 127

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 127

gcagttggtc taagag 16

<210> 128

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 128

ctcatatcag ggcagt 16

<210> 129

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 129

cacacatgtt ctttaac 17

<210> 130

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 130

taaatacaca catgttct 18

<210> 131

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 131

gtaaatacac acatgttc 18

<210> 132

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 132

tgtaaataca cacatgtt 18

<210> 133

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 133

gatcatgtaa atacacac 18

<210> 134

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 134

agatcatgta aatacaca 18

<210> 135

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 135

caaagatcat gtaaatacac 20

<210> 136

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 136

acaaagatca tgtaaataca 20

<210> 137

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 137

gaatacaaag atcatgta 18

<210> 138

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 138

agaatacaaa gatcatgt 18

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 139

cagaatacaa agatcatg 18

<210> 140

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 140

gcagaataca aagatca 17

<210> 141

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 141

aggcagaata caaagat 17

<210> 142

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 142

aaggcagaat acaaaga 17

<210> 143

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 143

attagtgagg gacgaa 16

<210> 144

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 144

cattagtgag ggacga 16

<210> 145

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 145

gagggtgatg gattag 16

<210> 146

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 146

ttaggagtaa taaagg 16

<210> 147

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 147

ttaatgaatt tggttg 16

<210> 148

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 148

ctttaatgaa tttggt 16

<210> 149

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 149

catggattac aactaa 16

<210> 150

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 150

tcatggatta caacta 16

<210> 151

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 151

gtcatggatt acaact 16

<210> 152

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 152

cattaaatct agtcat 16

<210> 153

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 153

gacattaaat ctagtca 17

<210> 154

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 154

agggacatta aatcta 16

<210> 155

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 155

caaagcatta taacca 16

<210> 156

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 156

acttactagg cagaag 16

<210> 157

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 157

cagagttaac tgtaca 16

<210> 158

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 158

ccagagttaa ctgtac 16

<210> 159

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 159

gccagagtta actgta 16

<210> 160

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 160

tgggccagag ttaact 16

<210> 161

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 161

cagcatctat cagact 16

<210> 162

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 162

tgaaataaca tgagtcat 18

<210> 163

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 163

gtgaaataac atgagtc 17

<210> 164

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 164

tctgtttatg tcactg 16

<210> 165

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 165

gtctgtttat gtcact 16

<210> 166

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 166

tggtctgttt atgtca 16

<210> 167

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 167

ttggtctgtt tatgtc 16

<210> 168

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 168

tcacccattg tttaaa 16

<210> 169

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 169

ttcagcaaat attcgt 16

<210> 170

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 170

gtgtgttcag caaatat 17

<210> 171

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 171

tctattgtta ggtatc 16

<210> 172

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 172

attgcccatc ttactg 16

<210> 173

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 173

tattgcccat cttact 16

<210> 174

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 174

aaatattgcc catctt 16

<210> 175

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 175

ataaccttat cataca 16

<210> 176

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 176

tataacctta tcatac 16

<210> 177

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 177

ttataacctt atcata 16

<210> 178

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 178

tttataacct tatcat 16

<210> 179

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 179

actgctattg ctatct 16

<210> 180

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 180

aggactgcta ttgcta 16

<210> 181

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 181

gaggactgct attgct 16

<210> 182

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 182

acgtagaata ataaca 16

<210> 183

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 183

ccaagtgata taatgg 16

<210> 184

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 184

ttagcagacc aagtga 16

<210> 185

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 185

gtttagcaga ccaagt 16

<210> 186

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 186

tgacagtgat tatatt 16

<210> 187

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 187

tgtccaagat attgac 16

<210> 188

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 188

gaatatccta gattgt 16

<210> 189

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 189

caaactgaga atatcc 16

<210> 190

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 190

gcaaactgag aatatc 16

<210> 191

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 191

tcctattaca atcgta 16

<210> 192

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 192

ttcctattac aatcgt 16

<210> 193

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 193

actaatggga ggattt 16

<210> 194

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 194

tagttcagag aataag 16

<210> 195

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 195

taacatatag ttcaga 16

<210> 196

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 196

ataacatata gttcag 16

<210> 197

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 197

cataacatat agttca 16

<210> 198

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 198

tcataacata tagttc 16

<210> 199

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 199

tagctcctaa caatca 16

<210> 200

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 200

ctccaatctt tgtata 16

<210> 201

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 201

tctccaatct ttgtat 16

<210> 202

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 202

tctatttcag ccaatc 16

<210> 203

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 203

cggaagtcag agtgaa 16

<210> 204

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 204

ttaagcatga ggaata 16

<210> 205

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 205

tgattgagca cctctt 16

<210> 206

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 206

gactaattat ttcgtt 16

<210> 207

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 207

tgactaatta tttcgt 16

<210> 208

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 208

gtgactaatt atttcg 16

<210> 209

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 209

ctgcttgaaa tgtgac 16

<210> 210

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 210

cctgcttgaa atgtga 16

<210> 211

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 211

atcctgcttg aaatgt 16

<210> 212

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 212

attataaatc tattct 16

<210> 213

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 213

gctaaatact ttcatc 16

<210> 214

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 214

cattgtaaca taccta 16

<210> 215

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 215

gcattgtaac atacct 16

<210> 216

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 216

taatattgca ccaaat 16

<210> 217

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 217

gataatattg caccaa 16

<210> 218

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 218

agataatatt gcacca 16

<210> 219

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 219

gccaagaaga taatat 16

<210> 220

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 220

cacagccaca taaact 16

<210> 221

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 221

ttgtaattgt ggaaac 16

<210> 222

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 222

tgacttgtaa ttgtgg 16

<210> 223

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 223

tctaactgaa atagtc 16

<210> 224

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 224

gtggttctaa ctgaaa 16

<210> 225

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 225

caatatggga cttggt 16

<210> 226

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 226

atgacaatat gggact 16

<210> 227

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 227

tatgacaata tgggac 16

<210> 228

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 228

atatgacaat atggga 16

<210> 229

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 229

cttcacttaa taatta 16

<210> 230

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 230

ctgcttcact taataa 16

<210> 231

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 231

aagactgctt cactta 16

<210> 232

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 232

gaatgcccta attatg 16

<210> 233

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 233

tggaatgccc taatta 16

<210> 234

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 234

gcaaatgcca gtaggt 16

<210> 235

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 235

ctaatggaag gatttg 16

<210> 236

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 236

aatatagaac ctaatg 16

<210> 237

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 237

gaaagaatag aatgtt 16

<210> 238

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 238

atgggtaata gattat 16

<210> 239

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 239

gaaagagcac agggtg 16

<210> 240

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 240

ctacatagag ggaatg 16

<210> 241

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 241

gcttcctaca tagagg 16

<210> 242

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 242

tgcttcctac atagag 16

<210> 243

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 243

tgggcttgaa atatgt 16

<210> 244

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 244

cattatattt aagaac 16

<210> 245

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 245

tcggttatgt tatcat 16

<210> 246

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 246

cactttatct ggtcgg 16

<210> 247

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 247

aaattggcac agcgtt 16

<210> 248

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 248

accgtgacag taaatg 16

<210> 249

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 249

tgggaaccgt gacagta 17

<210> 250

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 250

ccacatatag gtcctt 16

<210> 251

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 251

catattgcta ccatac 16

<210> 252

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 252

tcatattgct accata 16

<210> 253

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 253

caattgtcat attgct 16

<210> 254

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 254

cattcaattg tcatattg 18

<210> 255

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 255

tttctactgg gaatttg 17

<210> 256

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 256

caattagtgc agccag 16

<210> 257

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 257

gaataatgtt cttatcc 17

<210> 258

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 258

cacaaattga ataatgttct 20

<210> 259

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 259

catgcacaaa ttgaataat 19

<210> 260

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 260

atcctgcaat ttcacat 17

<210> 261

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 261

ccaccatagc tgatca 16

<210> 262

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 262

accaccatag ctgatca 17

<210> 263

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 263

caccaccata gctgatc 17

<210> 264

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 264

tagtcggcac caccat 16

<210> 265

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 265

cttgtagtcg gcaccac 17

<210> 266

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 266

cttgtagtcg gcacca 16

<210> 267

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 267

cgcttgtagt cggcac 16

<210> 268

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 268

tcaataaaga tcaggc 16

<210> 269

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 269

tggacttaca agaatg 16

<210> 270

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 270

atggacttac aagaat 16

<210> 271

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 271

gctcaagaaa ttggat 16

<210> 272

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 272

tactgtagaa catggc 16

<210> 273

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 273

gcaattcatt tgatct 16

<210> 274

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 274

tgaagggagg agggacac 18

<210> 275

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 275

agtggtgaag ggaggag 17

<210> 276

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 276

tagtggtgaa gggaggag 18

<210> 277

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 277

atagtggtga agggaggag 19

<210> 278

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 278

tagtggtgaa gggagga 17

<210> 279

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 279

atagtggtga agggagga 18

<210> 280

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 280

tagtggtgaa gggagg 16

<210> 281

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 281

atagtggtga agggagg 17

<210> 282

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 282

gatagtggtg aagggagg 18

<210> 283

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 283

atagtggtga agggag 16

<210> 284

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 284

gatagtggtg aagggag 17

<210> 285

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 285

gagatagtgg tgaagg 16

<210> 286

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 286

catgggagat agtggt 16

<210> 287

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 287

acaaataatg gttactct 18

<210> 288

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 288

acacacaaat aatggtta 18

<210> 289

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 289

gagggacaca caaataat 18

<210> 290

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 290

atatagagag gctcaa 16

<210> 291

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 291

ttgatataga gaggct 16

<210> 292

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 292

gcatttgata tagaga 16

<210> 293

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 293

tttgcatttg atatag 16

<210> 294

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 294

ctggaagaat aggttc 16

<210> 295

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 295

actggaagaa taggtt 16

<210> 296

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 296

tactggaaga ataggt 16

<210> 297

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 297

tggcttatcc tgtact 16

<210> 298

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 298

atggcttatc ctgtac 16

<210> 299

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 299

tatggcttat cctgta 16

<210> 300

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 300

gtatggctta tcctgt 16

<210> 301

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 301

atgaatatat gcccagt 17

<210> 302

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 302

gatgaatata tgccca 16

<210> 303

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 303

caagatgaat atatgcc 17

<210> 304

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 304

gacaacatca gtataga 17

<210> 305

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 305

caagacaaca tcagta 16

<210> 306

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 306

cactcctagt tccttt 16

<210> 307

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 307

aacactccta gttcct 16

<210> 308

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 308

taacactcct agttcc 16

<210> 309

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 309

ctaacactcc tagttc 16

<210> 310

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 310

tgataacata actgtg 16

<210> 311

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 311

ctgataacat aactgt 16

<210> 312

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 312

tttgaactca agtgac 16

<210> 313

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 313

tcctttactt agctag 16

<210> 314

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 314

gagtttggat tagctg 16

<210> 315

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 315

tgggatatga caggga 16

<210> 316

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 316

tgtgggatat gacagg 16

<210> 317

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 317

atatggaagg gatatc 16

<210> 318

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 318

acaggatatg gaaggg 16

<210> 319

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 319

atttcaacag gatatgg 17

<210> 320

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 320

gagtaatttc aacagg 16

<210> 321

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 321

agggagtaat ttcaaca 17

<210> 322

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 322

attagggagt aatttca 17

<210> 323

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 323

cttactatta gggagt 16

<210> 324

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 324

cagcttacta ttaggg 16

<210> 325

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 325

tcagcttact attagg 16

<210> 326

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 326

atttcagctt actattag 18

<210> 327

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 327

ttcagcttac tattag 16

<210> 328

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 328

cagatttcag cttact 16

<210> 329

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 329

gactacaact agaggg 16

<210> 330

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 330

agactacaac tagagg 16

<210> 331

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 331

aagactacaa ctagag 16

<210> 332

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 332

atgatttaat tctagtcaaa 20

<210> 333

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 333

tttaattcta gtcaaa 16

<210> 334

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 334

gatttaattc tagtca 16

<210> 335

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 335

atgatttaat tctagtca 18

<210> 336

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 336

gatgatttaa ttctagtca 19

<210> 337

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 337

gatttaattc tagtca 16

<210> 338

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 338

gatgatttaa ttctagtc 18

<210> 339

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 339

tgatttaatt ctagtc 16

<210> 340

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 340

gagatgattt aattcta 17

<210> 341

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 341

gagatgattt aattct 16

<210> 342

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 342

cagattgatg gtagtt 16

<210> 343

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 343

ctcagattga tggtag 16

<210> 344

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 344

gttagccctc agattg 16

<210> 345

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 345

tgtattgtta gccctc 16

<210> 346

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 346

acttgtattg ttagcc 16

<210> 347

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 347

agccagtatc agggac 16

<210> 348

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 348

ttgacaatag tggcat 16

<210> 349

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 349

acaagtggta tcttct 16

<210> 350

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 350

aatctacttt acaagt 16

<210> 351

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 351

cacagtagat gcctgata 18

<210> 352

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 352

gaacacagta gatgcc 16

<210> 353

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 353

cttggaacac agtagat 17

<210> 354

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 354

atatcttgga acacag 16

<210> 355

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 355

tctttaatat cttggaac 18

<210> 356

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 356

tgatttcttt aatatcttg 19

<210> 357

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 357

tgatgatttc tttaatatc 19

<210> 358

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 358

aggctaagtc atgatg 16

<210> 359

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 359

ttgatgaggc taagtc 16

<210> 360

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 360

ccaggattat actctt 16

<210> 361

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 361

gccaggatta tactct 16

<210> 362

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 362

ctgccaggat tatact 16

<210> 363

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 363

cagaaactta tactttatg 19

<210> 364

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 364

aagcagaaac ttatact 17

<210> 365

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 365

gaagcagaaa cttatact 18

<210> 366

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 366

tggaagcaga aacttatact 20

<210> 367

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 367

tggaagcaga aacttatac 19

<210> 368

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 368

aagcagaaac ttatac 16

<210> 369

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 369

tggaagcaga aacttata 18

<210> 370

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 370

aagggatatt atggag 16

<210> 371

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 371

tgccggaaga tttcct 16

<210> 372

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 372

atggattggg agtaga 16

<210> 373

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 373

agatggattg ggagta 16

<210> 374

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 374

aagatggatt gggagt 16

<210> 375

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 375

acaagatgga ttggga 16

<210> 376

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 376

agaaggttca gacttt 16

<210> 377

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 377

gcagaaggtt cagact 16

<210> 378

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 378

tgcagaaggt tcagac 16

<210> 379

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 379

agtgcagaag gttcag 16

<210> 380

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 380

aagtgcagaa ggttca 16

<210> 381

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 381

taagtgcaga aggttc 16

<210> 382

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 382

tctaagtgca gaaggt 16

<210> 383

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 383

ctcaggagtt ctacttc 17

<210> 384

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 384

ctcaggagtt ctactt 16

<210> 385

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 385

atggaggtga ctcaggag 18

<210> 386

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 386

atggaggtga ctcagga 17

<210> 387

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 387

atggaggtga ctcagg 16

<210> 388

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 388

tatggaggtg actcagg 17

<210> 389

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 389

atatggaggt gactcagg 18

<210> 390

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 390

tatggaggtg actcag 16

<210> 391

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 391

atatggaggt gactcag 17

<210> 392

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 392

catatggagg tgactcag 18

<210> 393

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 393

atatggaggt gactca 16

<210> 394

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 394

catatggagg tgactca 17

<210> 395

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 395

catatggagg tgactc 16

<210> 396

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 396

gcatatggag gtgactc 17

<210> 397

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 397

tgcatatgga ggtgactc 18

<210> 398

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 398

ttgcatatgg aggtgactc 19

<210> 399

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 399

tttgcatatg gaggtgactc 20

<210> 400

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 400

gcatatggag gtgact 16

<210> 401

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 401

tgcatatgga ggtgact 17

<210> 402

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 402

ttgcatatgg aggtgact 18

<210> 403

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 403

tttgcatatg gaggtgact 19

<210> 404

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 404

tgcatatgga ggtgac 16

<210> 405

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 405

ttgcatatgg aggtgac 17

<210> 406

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 406

tttgcatatg gaggtgac 18

<210> 407

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 407

tttgcatatg gaggtga 17

<210> 408

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 408

tttgcatatg gaggtg 16

<210> 409

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 409

aagtgaagtt caacagc 17

<210> 410

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 410

tgggaagtga agttca 16

<210> 411

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 411

atgggaagtg aagttc 16

<210> 412

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 412

gatgggaagt gaagtt 16

<210> 413

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 413

ctgtgatggg aagtgaa 17

<210> 414

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 414

attgagtgaa tccaaa 16

<210> 415

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 415

aattgagtga atccaa 16

<210> 416

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 416

gataattgag tgaatcc 17

<210> 417

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 417

gtgataattg agtgaa 16

<210> 418

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 418

aagaaaggtg caataa 16

<210> 419

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 419

caagaaaggt gcaata 16

<210> 420

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 420

acaagaaagg tgcaat 16

<210> 421

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 421

atttaaactc acaaac 16

<210> 422

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 422

ctgttaggtt cagcga 16

<210> 423

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 423

tctgaatgaa catttcg 17

<210> 424

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 424

ctcattgaag gttctg 16

<210> 425

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 425

ctaatctcat tgaagg 16

<210> 426

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 426

cctaatctca ttgaag 16

<210> 427

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 427

actttgatct ttcagc 16

<210> 428

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 428

actatgcaac actttg 16

<210> 429

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 429

caaatagctt tatcgg 16

<210> 430

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 430

ccaaatagct ttatcg 16

<210> 431

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 431

tccaaatagc tttatc 16

<210> 432

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 432

gatccaaata gcttta 16

<210> 433

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 433

atgatccaaa tagctt 16

<210> 434

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 434

tatgatccaa atagct 16

<210> 435

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 435

taaacagggc tgggaat 17

<210> 436

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 436

acttaaacag ggctgg 16

<210> 437

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 437

acacttaaac agggct 16

<210> 438

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 438

gaacacttaa acaggg 16

<210> 439

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 439

agagaacact taaacag 17

<210> 440

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 440

ctacagagaa cactta 16

<210> 441

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 441

atgctacaga gaacact 17

<210> 442

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 442

ataaatgcta cagagaaca 19

<210> 443

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 443

agataaatgc tacagaga 18

<210> 444

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 444

tagagataaa tgctaca 17

<210> 445

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 445

tagatagaga taaatgct 18

<210> 446

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 446

caatatacta gatagaga 18

<210> 447

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 447

tacacaatat actagatag 19

<210> 448

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 448

ctacacaata tactag 16

<210> 449

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 449

gctacacaat atacta 16

<210> 450

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 450

atatgctaca caatatac 18

<210> 451

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 451

tgatatgcta cacaat 16

<210> 452

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 452

atgatatgat atgctac 17

<210> 453

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 453

gaggagagag acaataaa 18

<210> 454

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 454

ctaggaggag agagaca 17

<210> 455

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 455

tattctagga ggagaga 17

<210> 456

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 456

ttatattcta ggaggag 17

<210> 457

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 457

gtttatattc taggag 16

<210> 458

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 458

tggagtttat attctagg 18

<210> 459

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 459

cgtaccacca ctctgc 16

<210> 460

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 460

tgaggaaatc attcattc 18

<210> 461

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 461

tttgaggaaa tcattcat 18

<210> 462

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 462

aggctaatcc tatttg 16

<210> 463

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 463

tttaggctaa tcctat 16

<210> 464

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 464

tgctccagtg taccct 16

<210> 465

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 465

tagtagtact cgatag 16

<210> 466

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 466

ctaattgtag tagtactc 18

<210> 467

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 467

tgctaattgt agtagt 16

<210> 468

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 468

agtgctaatt gtagta 16

<210> 469

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 469

gcaagtgcta attgta 16

<210> 470

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 470

gaggaaatga actaattta 19

<210> 471

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 471

caggaggaaa tgaacta 17

<210> 472

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 472

ccctagagtc atttcc 16

<210> 473

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 473

atcttacatg atgaagc 17

<210> 474

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 474

gacacactca gatttcag 18

<210> 475

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 475

agacacactc agatttcag 19

<210> 476

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 476

aagacacact cagatttcag 20

<210> 477

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 477

agacacactc agatttca 18

<210> 478

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 478

aagacacact cagatttca 19

<210> 479

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 479

aaagacacac tcagatttca 20

<210> 480

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 480

gaaagacaca ctcagatttc 20

<210> 481

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 481

aagacacact cagatttc 18

<210> 482

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 482

aaagacacac tcagatttc 19

<210> 483

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 483

tgaaagacac actcagattt 20

<210> 484

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 484

tgaaagacac actcagatt 19

<210> 485

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 485

tgaaagacac actcagat 18

<210> 486

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 486

attgaaagac acactca 17

<210> 487

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 487

tcattgaaag acacact 17

<210> 488

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 488

ttccatcatt gaaaga 16

<210> 489

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 489

ataataccac ttatcat 17

<210> 490

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 490

ttacttaatt tctttgga 18

<210> 491

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 491

ttagaactag ctttatca 18

<210> 492

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 492

gaggtacaaa tatagg 16

<210> 493

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 493

cttatgatac aactta 16

<210> 494

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 494

tcttatgata caactt 16

<210> 495

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 495

ttcttatgat acaact 16

<210> 496

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 496

cagtttctta tgatac 16

<210> 497

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 497

gcagtttctt atgata 16

<210> 498

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 498

tacaaatgtc tattaggtt 19

<210> 499

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 499

tgtacaaatg tctattag 18

<210> 500

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 500

agcatcacaa ttagta 16

<210> 501

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 501

ctaatgatag tgaagc 16

<210> 502

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 502

agctaatgat agtgaa 16

<210> 503

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 503

atgccttgac atatta 16

<210> 504

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 504

ctcaagatta ttgacac 17

<210> 505

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 505

acctcaagat tattga 16

<210> 506

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 506

aacctcaaga ttattg 16

<210> 507

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 507

cacaaacctc aagattatt 19

<210> 508

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 508

gtacttaatt agacct 16

<210> 509

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 509

agtacttaat tagacc 16

<210> 510

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 510

gtatgaggtg gtaaac 16

<210> 511

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 511

aggaaacagc agaagtg 17

<210> 512

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 512

gcacaaccca gaggaa 16

<210> 513

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 513

caagcacaac ccagag 16

<210> 514

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 514

ttcaagcaca acccag 16

<210> 515

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 515

aattcaagca caaccc 16

<210> 516

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 516

taataattca agcacaacc 19

<210> 517

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 517

actaataatt caagcac 17

<210> 518

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 518

ataatactaa taattcaagc 20

<210> 519

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 519

tagatttgtg aggtaa 16

<210> 520

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 520

agccttaatt ctccat 16

<210> 521

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 521

aatgatctag agcctta 17

<210> 522

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 522

ctaatgatct agagcc 16

<210> 523

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 523

actaatgatc tagagc 16

<210> 524

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 524

cattaacatg ttcttatt 18

<210> 525

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 525

acaagtacat taacatgttc 20

<210> 526

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 526

ttacaagtac attaacatg 19

<210> 527

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 527

gctttattca tgtttat 17

<210> 528

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 528

gctttattca tgttta 16

<210> 529

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 529

agagctttat tcatgttt 18

<210> 530

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 530

ataagagctt tattcatg 18

<210> 531

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 531

cataagagct ttattca 17

<210> 532

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 532

agcataagag ctttat 16

<210> 533

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 533

tagattgttt agtgca 16

<210> 534

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 534

gtagattgtt tagtgc 16

<210> 535

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 535

gacaattcta gtagatt 17

<210> 536

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 536

ctgacaattc tagtag 16

<210> 537

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 537

gctgacaatt ctagta 16

<210> 538

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 538

aggattaaga tacgta 16

<210> 539

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 539

caggattaag atacgt 16

<210> 540

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 540

tcaggattaa gatacg 16

<210> 541

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 541

ttcaggatta agatac 16

<210> 542

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 542

aggaagaaag tttgattc 18

<210> 543

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 543

tcaaggaaga aagtttga 18

<210> 544

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 544

ctcaaggaag aaagtttg 18

<210> 545

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 545

tgctcaagga agaaagt 17

<210> 546

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 546

aattatgctc aaggaaga 18

<210> 547

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 547

taggatacca cattatga 18

<210> 548

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 548

cataatttat tccattcctc 20

<210> 549

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 549

tgcataattt attccat 17

<210> 550

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 550

actgcataat ttattcc 17

<210> 551

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 551

ctaaactgca taatttatt 19

<210> 552

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 552

ataactaaac tgcata 16

<210> 553

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 553

ttattaataa ctaaactgc 19

<210> 554

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 554

tagtacatta ttaataact 19

<210> 555

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 555

cataactaag gacgtt 16

<210> 556

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 556

tcataactaa ggacgt 16

<210> 557

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 557

cgtcataact aaggac 16

<210> 558

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 558

tcgtcataac taagga 16

<210> 559

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 559

atcgtcataa ctaagg 16

<210> 560

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 560

gttagtatct tacatt 16

<210> 561

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 561

ctctattgtt agtatc 16

<210> 562

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 562

agtatagagt tactgt 16

<210> 563

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 563

ttcctggtga tacttt 16

<210> 564

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 564

gttcctggtg atactt 16

<210> 565

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 565

tgttcctggt gatact 16

<210> 566

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 566

ataaacatga atctctcc 18

<210> 567

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 567

ctttataaac atgaatctc 19

<210> 568

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 568

ctgtctttat aaacatg 17

<210> 569

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 569

ttgttataaa tctgtctt 18

<210> 570

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 570

ttaaatttat tcttggata 19

<210> 571

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 571

cttaaattta ttcttgga 18

<210> 572

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 572

cttcttaaat ttattcttg 19

<210> 573

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 573

tatgtttctc agtaaag 17

<210> 574

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 574

gaattatctt taaacca 17

<210> 575

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 575

cccttaaatt tctaca 16

<210> 576

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 576

acactgctct tgtacc 16

<210> 577

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 577

tgacaacact gctctt 16

<210> 578

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 578

tacatttatt gggctc 16

<210> 579

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 579

gtacatttat tgggct 16

<210> 580

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 580

ttggtacatt tattgg 16

<210> 581

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 581

catgttggta catttat 17

<210> 582

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 582

aatcatgttg gtacat 16

<210> 583

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 583

aaatcatgtt ggtaca 16

<210> 584

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 584

gacaagtttg gattaa 16

<210> 585

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 585

aatgttcaga tgcctc 16

<210> 586

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 586

gcttaatgtt cagatg 16

<210> 587

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 587

cgtacatagc ttgatg 16

<210> 588

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 588

gtgaggaatt aggata 16

<210> 589

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 589

gtaacaatat ggtttg 16

<210> 590

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 590

gaaatattgt agacta 16

<210> 591

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 591

ttgaaatatt gtagac 16

<210> 592

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 592

aagtctagta atttgc 16

<210> 593

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 593

gctcagtaga ttataa 16

<210> 594

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 594

catacactgt tgctaa 16

<210> 595

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 595

atggtctcaa atcatt 16

<210> 596

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 596

caatggtctc aaatca 16

<210> 597

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 597

ttcctattga ttgact 16

<210> 598

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 598

tttctgttca caacac 16

<210> 599

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 599

aggaacccac taatct 16

<210> 600

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 600

taaatggcag gaaccc 16

<210> 601

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 601

gtaaatggca ggaacc 16

<210> 602

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 602

ttgtaaatgg caggaa 16

<210> 603

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 603

ttatgagtta ggcatg 16

<210> 604

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 604

ccaggtgaaa ctttaa 16

<210> 605

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 605

cccttagtca gctcct 16

<210> 606

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 606

acccttagtc agctcc 16

<210> 607

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 607

cacccttagt cagctc 16

<210> 608

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 608

tctcttacta ggctcc 16

<210> 609

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 609

cctatctgtc atcatg 16

<210> 610

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 610

tcctatctgt catcat 16

<210> 611

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 611

gagaagtgtg agaagc 16

<210> 612

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 612

catccttgaa gtttag 16

<210> 613

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 613

taataagatg gctccc 16

<210> 614

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 614

caaggcataa taagat 16

<210> 615

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 615

ccaaggcata ataaga 16

<210> 616

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 616

tgatccaatt ctcacc 16

<210> 617

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 617

atgatccaat tctcac 16

<210> 618

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 618

cgcttcatct tcaccc 16

<210> 619

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 619

tatgacactg catctt 16

<210> 620

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 620

gtatgacact gcatct 16

<210> 621

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 621

tgtatgacac tgcatc 16

<210> 622

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 622

ttctcttctg taagtc 16

<210> 623

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 623

ttctacagag gaacta 16

<210> 624

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 624

actacagttc tacaga 16

<210> 625

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 625

ttcccacagg taaatg 16

<210> 626

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 626

attatttgaa tatactcatt 20

<210> 627

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 627

tgggaggaaa ttatttg 17

<210> 628

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 628

tgactcatct taaatg 16

<210> 629

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 629

ctgactcatc ttaaat 16

<210> 630

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 630

tttactctga ctcatc 16

<210> 631

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 631

tattggagga attatt 16

<210> 632

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 632

gtattggagg aattat 16

<210> 633

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 633

tggtatactt ctctaagtat 20

<210> 634

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 634

gatctcttgg tatact 16

<210> 635

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 635

cagacaactc tatacc 16

<210> 636

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 636

aacatcagac aactcta 17

<210> 637

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 637

tttaacatca gacaactc 18

<210> 638

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 638

taacatcaga caactc 16

<210> 639

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 639

atttaacatc agacaa 16

<210> 640

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 640

cctatttaac atcagac 17

<210> 641

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 641

tccctattta acatca 16

<210> 642

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 642

tcaacgacta ttggaat 17

<210> 643

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 643

cttatattct ggctat 16

<210> 644

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 644

atccttatat tctggc 16

<210> 645

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 645

gatccttata ttctgg 16

<210> 646

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 646

tgatccttat attctg 16

<210> 647

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 647

attgaaactt gatcct 16

<210> 648

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 648

actgtcattg aaactt 16

<210> 649

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 649

tcttactgtc attgaa 16

<210> 650

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 650

aggatcttac tgtcatt 17

<210> 651

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 651

gcaaatcaac tccatc 16

<210> 652

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 652

gtgcaaatca actcca 16

<210> 653

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 653

caattatttc tttgtgc 17

<210> 654

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 654

tggcaacaat tatttctt 18

<210> 655

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 655

gctggcaaca attatt 16

<210> 656

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 656

atccatttct actgcc 16

<210> 657

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 657

taatatctat tgatttcta 19

<210> 658

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 658

tcaatagtgt agggca 16

<210> 659

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 659

ttcaatagtg tagggc 16

<210> 660

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 660

aggttaatta attcaatag 19

<210> 661

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 661

catttgtaat ccctag 16

<210> 662

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 662

acatttgtaa tcccta 16

<210> 663

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 663

aacatttgta atccct 16

<210> 664

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 664

taaatttcaa gttctg 16

<210> 665

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 665

gtttaaattt caagttct 18

<210> 666

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 666

ccaagtttaa atttcaag 18

<210> 667

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 667

acccaagttt aaatttc 17

<210> 668

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 668

catacagtga cccaagttt 19

<210> 669

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 669

acatcccata cagtga 16

<210> 670

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 670

agcacagctc tacatc 16

<210> 671

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 671

atatagcaca gctcta 16

<210> 672

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 672

tccatatagc acagct 16

<210> 673

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 673

atttccatat agcaca 16

<210> 674

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 674

tttatttcca tatagca 17

<210> 675

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 675

tttatttcca tatagc 16

<210> 676

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 676

aaggagagga gattatg 17

<210> 677

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 677

agttcttgtg ttagct 16

<210> 678

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 678

gagttcttgt gttagc 16

<210> 679

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 679

attaattatc catccac 17

<210> 680

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 680

atcaattaat tatccatc 18

<210> 681

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 681

agaatcaatt aattatcc 18

<210> 682

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 682

tgagataccg tgcatg 16

<210> 683

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 683

aatgagatac cgtgca 16

<210> 684

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 684

ctgtggttag gctaat 16

<210> 685

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 685

aagagtaagg gtctgtggtt 20

<210> 686

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 686

gatgggttaa gagtaa 16

<210> 687

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 687

agcagatggg ttaaga 16

<210> 688

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 688

tgtaaacatt tgtagc 16

<210> 689

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 689

cctgcttata aatgta 16

<210> 690

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 690

tgccctgctt ataaat 16

<210> 691

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 691

tcttcttagt tcaata 16

<210> 692

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 692

tggtttctaa ctacat 16

<210> 693

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 693

agtttggttt ctaacta 17

<210> 694

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 694

gaatgaaact tgcctg 16

<210> 695

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 695

attatcctta catgat 16

<210> 696

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 696

gtacccaatt atcctt 16

<210> 697

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 697

tgtacccaat tatcct 16

<210> 698

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 698

ttgtacccaa ttatcc 16

<210> 699

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 699

tttgtaccca attatc 16

<210> 700

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 700

agcagcaggt tatatt 16

<210> 701

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 701

tgggaagtgg tctggg 16

<210> 702

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 702

ctggagagtg ataata 16

<210> 703

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 703

aatgctggat tacgtc 16

<210> 704

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 704

caatgctgga ttacgt 16

<210> 705

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 705

ttgttcagaa gtatcc 16

<210> 706

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 706

gatgatttgc ttggag 16

<210> 707

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 707

gaaatcattc acaacc 16

<210> 708

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 708

ttgtaacatc tactac 16

<210> 709

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 709

cattaagcag caagtt 16

<210> 710

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 710

ttactagatg tgagca 16

<210> 711

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 711

tttactagat gtgagc 16

<210> 712

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 712

gaccaagcac cttaca 16

<210> 713

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 713

agaccaagca ccttac 16

<210> 714

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 714

atgggttaaa taaagg 16

<210> 715

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 715

tcaaccagag tattaa 16

<210> 716

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 716

gtcaaccaga gtatta 16

<210> 717

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 717

attgtaaagc tgatat 16

<210> 718

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 718

cacataattg taaagc 16

<210> 719

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 719

gaggtctgct atttac 16

<210> 720

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 720

tgtagattca atgcct 16

<210> 721

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 721

cctcattata ctatga 16

<210> 722

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 722

ccttatgcta tgacac 16

<210> 723

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 723

tccttatgct atgaca 16

<210> 724

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 724

aagatgttta agtata 16

<210> 725

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 725

ctgattatta agatgt 16

<210> 726

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 726

tggaaaggta tgaatt 16

<210> 727

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 727

acttgaatgg cttgga 16

<210> 728

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 728

aacttgaatg gcttgg 16

<210> 729

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 729

caatgtgtta ctattt 16

<210> 730

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 730

acaatgtgtt actatt 16

<210> 731

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 731

catctgctat ataaga 16

<210> 732

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 732

cctagagcaa atactt 16

<210> 733

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 733

cagagttaat aataag 16

<210> 734

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 734

gttcaagcac aacgaa 16

<210> 735

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 735

agggttcaag cacaac 16

<210> 736

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 736

tgttggagac actgtt 16

<210> 737

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 737

aaggaggagt taggac 16

<210> 738

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 738

ctatgccatt tacgat 16

<210> 739

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 739

tcaaatgcag aattag 16

<210> 740

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 740

agtgacaatc aaatgc 16

<210> 741

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 741

aagtgacaat caaatg 16

<210> 742

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 742

gtgtaccaag taacaa 16

<210> 743

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 743

tgggatgtta aactga 16

<210> 744

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 744

agtttacatt ttctgc 16

<210> 745

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 745

tatgtgaaga ggagag 16

<210> 746

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 746

caccttaaa acccca 16

<210> 747

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 747

tcctttataa tcacac 16

<210> 748

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 748

acggtatttt cacagg 16

<210> 749

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 749

gacactacaa tgagga 16

<210> 750

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 750

tggtttttag gactgt 16

<210> 751

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 751

cgacaaattc tatcct 16

<210> 752

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 752

tgatatacaa tgctac 16

<210> 753

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 753

tcgttgggta aattta 16

<210> 754

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 754

tgctttataa atggtg 16

<210> 755

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 755

caagtttaca ttttctgc 18

<210> 756

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 756

catatgtgaa gaggagag 18

<210> 757

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 757

caccttaaa acccca 16

<210> 758

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 758

catcctttat aatcacac 18

<210> 759

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 759

caacggtatt ttcacagg 18

<210> 760

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 760

cagacactac aatgagga 18

<210> 761

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 761

catggttttt aggactgt 18

<210> 762

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 762

cacgacaaat tctatcct 18

<210> 763

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 763

catgatatac aatgctac 18

<210> 764

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 764

catcgttggg taaattta 18

<210> 765

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 765

catgctttat aaatggtg 18

<210> 766

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 766

caacaaataa tggttactct 20

<210> 767

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 767

cacagattga tggtagtt 18

<210> 768

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 768

cacctattta acatcagac 19

<210> 769

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 769

cactaattgt agtagtactc 20

<210> 770

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 770

caataaacat gaatctctcc 20

<210> 771

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligonucleotide motif

<400> 771

tgatttaatt ctagtca 17

<210> 772

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> Target sequence

<400> 772

gcagtagagc caatta 16

<210> 773

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 773

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val

1 5 10

<210> 774

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 774

Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp

1 5 10 15

<210> 775

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 775

Thr Thr Phe His Gln Thr Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu

1 5 10 15

<210> 776

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 776

Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser

1 5 10 15

<210> 777

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 777

Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile

1 5

<210> 778

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 778

Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln

1 5 10 15

<210> 779

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 779

Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu

1 5

<210> 780

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 780

Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val

1 5

<210

> 781

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 781

Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr

1 5 10 15

Val Trp Leu Ser Val

20

<210> 782

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> HBV epitope

<400> 782

Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val

1 5 10

<210> 783

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220

><223> HBV epitope

<400> 783

Ser Ile Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu

1 5 10

<210> 784

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Primer

<400> 784

ctgtgccttg ggtggcttt 19

<210> 785

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Primer

<400> 785

aaggaaagaa gtcagaaggc aaaa 24

<210> 786

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> primer

<400> 786

ttctttataa gggtcgatgt ccatg 25