(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0005546
(43) 공개일자 2025년01월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/713* (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/1136 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7042979(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년04월13일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2017-7032320
원출원일자(국제) 2016년04월13일
심사청구일자 2021년04월13일
(85) 번역문제출일자 2024년12월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/027271
(87) 국제공개번호 WO 2016/168286
국제공개일자 2016년10월20일
(30) 우선권주장
62/146,604 2015년04월13일 미국(US)
62/261,361 2015년12월01일 미국(US)

(71) 출원인
알닐람 파마슈티칼스 인코포레이티드
미국 매사추세츠주 02142 캠브릿지 헨리 에이. 테르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675
(72) 발명자
퀘르베스 윌리엄
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300
피츠제럴드 케빈
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

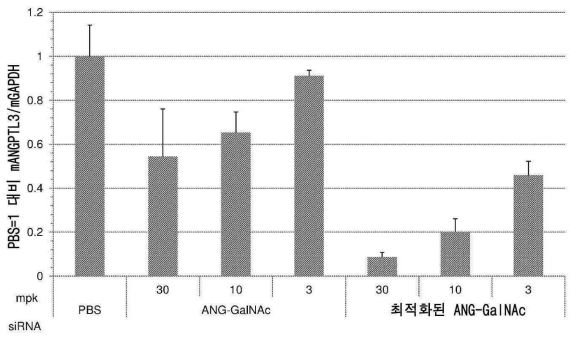
전체 청구항 수 : 총 65 항

(54) 발명의 명칭 **안지오포이에틴-유사 3(ANGPTL3) IRNA 조성물 및 이의 이용 방법**

(57) 요 약

본 발명은 ANGPTL3 유전자를 표적화하는 이중-가닥 리보핵산(dsRNA) 조성물뿐만 아니라 이러한 dsRNA 조성물을 이용하는 ANGPTL3의 발현 억제 방법 및 지질 대사 장애, 예컨대 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증을 갖는 대상체의 치료 방법에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 3/06 (2018.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/351 (2013.01)

(72) 발명자
버틀러 제임스
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300
윌리엄스 스테파니
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300
힌클 그레고리
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300
마이어 마틴
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 써드 플로어 써드 스트리트 300

명 세 서

청구범위

청구항 1

안지오포이에틴-유사 3(ANGPTL3)의 발현을 억제하기 위한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA)으로서, 상기 dsRNA가 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 표 2A, 표 2B, 표 4A, 표 4B, 표 5, 표 7A, 표 7B, 표 7C, 표 8A, 표 8B, 표 10A, 표 10B, 표 13A, 표 13B, 표 14, 표 15A, 및 표 15B 중 어느 하나에 기재된 안티센스 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나로부터 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 상보성 영역을 포함하는, dsRNA.

청구항 2

제1항에 있어서, 센스 및 안티센스 가닥이 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 dsRNA:

5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 14)

5' - UTGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 15),

5' - GAAUATGUGACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 16)

5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 17),

5' - AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU - 3'(SEQ ID NO: 18)

5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3'(SEQ ID NO: 19),

5' - ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU - 3'(SEQ ID NO: 20)

5' - AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG - 3'(SEQ ID NO: 21),

5' - UGUCACUUGAACUCAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 22)

5' - UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA - 3'(SEQ ID NO: 23),

5' - AACUAACUAACUUAAUUCAAA - 3'(SEQ ID NO: 24)

5' - UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC - 3'(SEQ ID NO: 25),

5' - UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 26)

5' - AAAGAAGGAGCUUAAUUGUGAAC - 3'(SEQ ID NO: 27),

5' - GAGCAACUAACUAACUUAAUU - 3'(SEQ ID NO: 28)

5' - AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU - 3'(SEQ ID NO: 29),

5' - UUAUUGUUCCUCUAGUUAUUU- 3'(SEQ ID NO: 30)

5' - AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA - 3'(SEQ ID NO: 31),

5' - AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU - 3'(SEQ ID NO: 32)

5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3'(SEQ ID NO: 33),

5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 34)

5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 35),

5' - CAACAUAUUUGAUCAGUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 36)

5' - AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG - 3'(SEQ ID NO: 37), 및

5' - CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA - 3'(SEQ ID NO: 38)

5' - UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA - 3'(SEQ ID NO: 39).

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, dsRNA가 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는 dsRNA.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥의 4개 이하의 뉴클레오티드가 변형되지 않은 뉴클레오티드인 dsRNA.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥의 6개 이하의 뉴클레오티드가 변형되지 않은 뉴클레오티드인 dsRNA.

청구항 6

제1항 내지 제3항 및 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥의 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 dsRNA.

청구항 7

제1항 내지 제3항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인 dsRNA.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 센스 및 안티센스 가닥이 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 dsRNA:

5' - ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu -- 3'(SEQ ID NO: 40)

5' - asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg-- 3'(SEQ ID NO: 41);

5' - usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96 -- 3'(SEQ ID NO: 42)

5' - usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa -- 3'(SEQ ID NO: 3);

5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 44)

5' - usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 45);

5' - gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa -- 3'(SEQ ID NO: 46)

5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 47);

5' - asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu -- 3'(SEQ ID NO: 48)

5' - asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg -- 3'(SEQ ID NO: 49);

5' - AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf -3' (SEQ ID NO: 50)

5' - asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg - 3'(SEQ ID NO: 51);

5' - UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf -3'(SEQ ID NO: 52

5' - usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa - 3'(SEQ ID NO: 53);

5' - asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa -3'(SEQ ID NO: 54)

5' - usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc - 3'(SEQ ID NO: 55);

5' - uscsacaaUfuAfAfGfcuccuucuuu -3'(SEQ ID NO: 56)

5' - asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc - 3'(SEQ ID NO: 57);

5' - gsasgcaaCfuAfAfCfuaacuuaauu -3'(SEQ ID NO: 58)

5' - asAfsuuaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu - 3'(SEQ ID NO: 59);

5' - ususauugUfuCfCfUfcuaguuauuu -3'(SEQ ID NO: 60)

5' - asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfaauaasasa - 3'(SEQ ID NO: 61);

5' - asususaagCfuCfCfUfucuuuuuauu -3'(SEQ ID NO: 62)

5' - asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg - 3'(SEQ ID NO: 53);

5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 64)

5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu - 3'(SEQ ID NO: 65);

5' - csasacauAfuUfUfGfaucagucuuu -3'(SEQ ID NO: 66)

5' - asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuguugsasg - 3'(SEQ ID NO: 67); 및

5' - csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa -3'(SEQ ID NO: 68)

5' - usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa - 3'(SEQ ID NO: 69).

청구항 9

제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 상기 변형된 뉴클레오티드가 데옥시-뉴클레오티드, 3'-말단 데옥시-티민(dT) 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오티드, 록킹된(locked) 뉴클레오티드, 언록킹된(unlocked) 뉴클레오티드, 입체형태적으로 제약된 뉴클레오티드, 구속된 에틸 뉴클레오티드, 무염기(abasic) 뉴클레오티드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알릴-변형된 뉴클레오티드, 2'-C-알킬-변형된 뉴클레오티드, 2'-하이드록실리-변형된 뉴클레오티드, 2'-메톡시에틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알킬-변형된 뉴클레오티드, 모르폴리노 뉴클레오티드, 포스포르아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오티드, 테트라하이드로피란 변형된 뉴클레오티드, 1,5-안하이드로헥시톨 변형된 뉴클레오티드, 사이클로헥세닐 변형된 뉴클레오티드, 5'-포스포로티오에이트기를 포함하는 뉴클레오티드, 5'-메틸포스포네이트기를 포함하는 뉴클레오티드, 5' 포스페이트 또는 5' 포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오티드, 비닐 포스페이트를 포함하는 뉴클레오티드, 아데노신-글리콜 핵산(GNA)을 포함하는 뉴클레오티드, 티미딘-글리콜 핵산(GNA) S-이성질체를 포함하는 뉴클레오티드, 2-하이드록시메틸-테트라하이드로푸란-5-포스페이트를 포함하는 뉴클레오티드, 2'-데옥시티미딘-3'포스페이트를 포함하는 뉴클레오티드, 2'-데옥시구아노신-3'-포스페이트를 포함하는 뉴클레오티드, 및 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스데실아미드기에 결합된 말단 뉴클레오티드로 구성된 군으로부터 선택되는 dsRNA.

청구항 10

제9항에 있어서, 뉴클레오티드 상의 변형이 2'-O-메틸 및 2'플루오로 변형인 dsRNA.

청구항 11

제8항 또는 제9항에 있어서, 적어도 하나의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합을 추가로 포함하는 dsRNA.

청구항 12

제11항에 있어서, dsRNA가 6개 내지 8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합을 포함하는 dsRNA.

청구항 13

제1항에 있어서, 상보성 영역이 적어도 17개 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 14

제1항에 있어서, 상보성 영역이 19개 내지 23개 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 15

제13항에 있어서, 상보성 영역이 19개 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 가닥이 30개 이하의 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 가닥이 적어도 1개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함하는 dsRNA.

청구항 18

제17항에 있어서, 적어도 하나의 가닥이 적어도 2개의 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함하는 dsRNA.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 리간드를 추가로 포함하는 dsRNA.

청구항 20

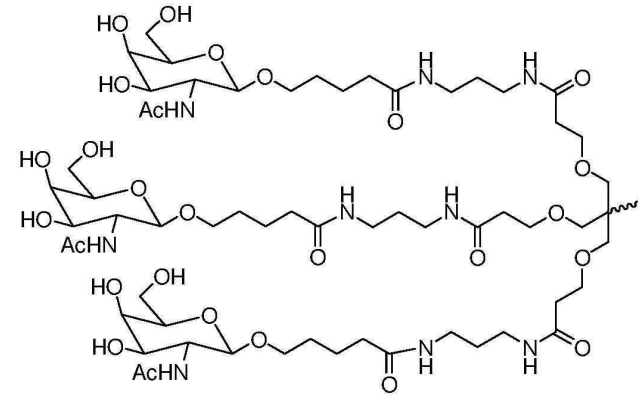
제19항에 있어서, 리간드가 dsRNA의 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트된 dsRNA.

청구항 21

제19항에 있어서, 리간드가 N-아세틸갈락토사민(GalNAc) 유도체인 dsRNA.

청구항 22

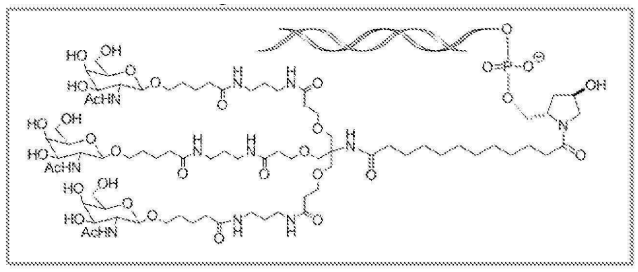
제21항에 있어서, 리간드가



인 dsRNA.

청구항 23

제20항에 있어서, dsRNA가 다음 도식에 나타낸 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트된 dsRNA:



청구항 24

세포에서 안지오포이에틴-유사 3(ANGPTL3)의 발현을 억제하기 위한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA)으로서, 상기 dsRNA가 안티센스 가닥과 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 상기 안티센스 가닥이 SEQ ID NO:2와 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드 길이이고, 상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 IIIe로 나타나는 dsRNA:

[화학식 IIIe]

센스: 5' - N_a -Y Y Y - N_b - 3'

안티센스: 3' - n_p'-N_a'- Y'Y'Y'- N_b'- 5'

상기 식에서,

n_p'은 2 뉴클레오티드 오버행이고 n_p' 내의 각각의 뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합하고;

각각의 N_a, N_b, N_a' 및 N_b'은 독립적으로 변형되거나 변형되지 않거나 이의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하고;

YYY 및 Y'Y'Y'은 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형을 갖는 하나의 모티프를 나타내고,

센스 가닥은 4개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하고;

안티센스 가닥은 6개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하고;

센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된 dsRNA.

청구항 25

제24항에 있어서, YYY 모티프가 센스 가닥의 절단 부위에서 또는 그 근처에서 생성되는 dsRNA.

청구항 26

제24항에 있어서, Y'Y'Y' 모티프가 5'-말단으로부터 안티센스 가닥의 11, 12 및 13 위치에서 생성되는 dsRNA.

청구항 27

제24항에 있어서, Y 뉴클레오티드가 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 28

제24항에 있어서, Y' 뉴클레오티드가 2'-O-메틸 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 29

제24항에 있어서, 이중-가닥 영역이 15개 내지 30개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 30

제29항에 있어서, 이중-가닥 영역이 17개 내지 23개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 31

제29항에 있어서, 이중-가닥 영역이 17개 내지 25개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 32

제29항에 있어서, 이중-가닥 영역이 23개 내지 27개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 33

제29항에 있어서, 이중-가닥 영역이 19개 내지 21개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 34

제24항에 있어서, 이중-가닥 영역이 21개 내지 23개 뉴클레오티드쌍 길이인 dsRNA.

청구항 35

제24항에 있어서, 각각의 가닥이 15개 내지 30개 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 36

제24항에 있어서, 각각의 가닥이 19개 내지 30개 뉴클레오티드 길이인 dsRNA.

청구항 37

제24항에 있어서, 뉴클레오티드 상의 변형이 데옥시-뉴클레오티드, 3'-말단 데옥시-티민(dT) 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오티드, 록킹된 뉴클레오티드, 언록킹된 뉴클레오티드, 입체형태적으로 제약된 뉴클레오티드, 구속된 에틸 뉴클레오티드, 무염기 뉴클레오티드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알릴-변형된 뉴클레오티드, 2'-C-알킬-변형된 뉴클레오티드, 2'-하이드록실리-변형된 뉴클레오티드, 2'-메톡시에틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알킬-변형된 뉴클레오티드, 모르폴리노 뉴클레오티드, 포스포르아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오티드, 테트라하이드로피란 변형된 뉴클레오티드, 1,5-안하이드로헥시톨 변형된 뉴클레오티드, 사이클로헥세닐 변형된 뉴클레오티드, 포스포로티오에이트기를 포함하는 뉴클레오티드, 메틸포스포네이트기를 포함하는 뉴클레오티드, 5'-포스페이트를 포함하는 뉴클레오티드, 및 5'-포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오티드, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 dsRNA.

청구항 38

제37항에 있어서, 뉴클레오티드 상의 변형이 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형인 dsRNA.

청구항 39

제24항에 있어서, 센스 가닥이 3개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 40

제24항에 있어서, 센스 가닥이 2개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 41

제24항에 있어서, 안티센스 가닥이 5개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 42

제24항에 있어서, 안티센스 가닥이 4개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 43

제24항에 있어서, 안티센스 가닥이 3개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 44

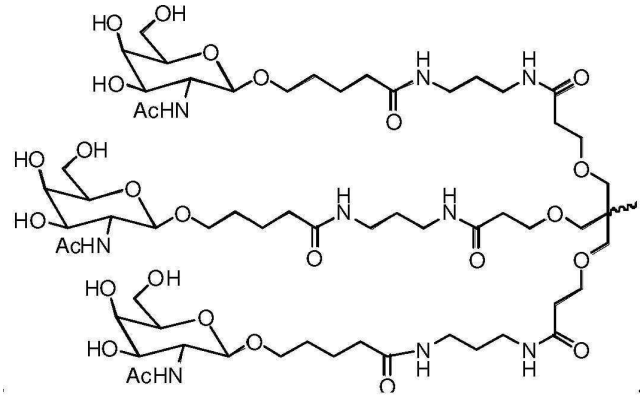
제24항에 있어서, 안티센스 가닥이 2개 이하의 2'-플루오로 변형을 포함하는 dsRNA.

청구항 45

제24항에 있어서, 리간드가 1가, 2가, 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체인 dsRNA.

청구항 46

제24항에 있어서, 리간드가



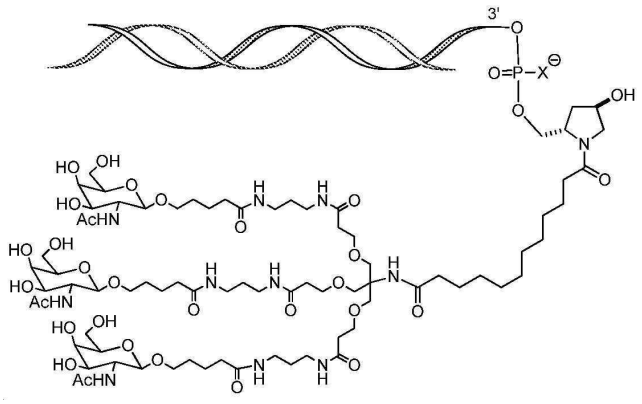
인 dsRNA.

청구항 47

제24항에 있어서, 리간드가 센스 가닥의 3' 말단에 부착되는 dsRNA.

청구항 48

제47항에 있어서, RNAi 작용제가 아래 도식에 나타낸 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트되는 dsRNA:



(상기 식에서, X는 O 또는 S임).

청구항 49

제24항에 있어서, 안티센스 가닥이 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 dsRNA:

5' - ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu -- 3'(SEQ ID NO: 40)

5' - asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg-- 3'(SEQ ID NO: 41);

5' - usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96 -- 3'(SEQ ID NO: 42)

5' - usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa -- 3'(SEQ ID NO: 43);

5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 44)

5' - usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 45);

5' - gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa -- 3'(SEQ ID NO: 46)

5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 47);

5' - asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu -- 3'(SEQ ID NO: 48)

5' - asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg -- 3'(SEQ ID NO: 49);

5' - AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf -3' (SEQ ID NO: 50)

5' - asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg - 3'(SEQ ID NO: 51);

5' - UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf -3' (SEQ ID NO: 52)

5' - usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa - 3'(SEQ ID NO: 53);

5' - asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa -3'(SEQ ID NO: 54)

5' - usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc - 3'(SEQ ID NO: 55);

5' - uscsacaaUfuAfAfGfcuccuucuuu -3'(SEQ ID NO: 56)

5' - asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc - 3'(SEQ ID NO: 57);

5' - gsasgcaaCfuAfAfCfuaacuuaauu -3'(SEQ ID NO: 58)

5' - asAfsuuaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu - 3'(SEQ ID NO: 59);

5' - ususauugUfuCfCfUfcuaguuauuu -3'(SEQ ID NO: 60)

5' - asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfaauaasasa - 3'(SEQ ID NO: 61);

5' - asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu -3'(SEQ ID NO: 62)

5' - asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg - 3'(SEQ ID NO: 63);

5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 64)

5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu - 3'(SEQ ID NO: 65);

5' - csasacauAfuUfUfGfaucagucuuu -3'(SEQ ID NO: 66)

5' - asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuguugsasg - 3'(SEQ ID NO: 67); 및

5' - csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa -3'(SEQ ID NO: 68)

5' - usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa - 3'(SEQ ID NO: 69),

(상기 식에서, A, C, G, 및 U는 리보스 A, C, G, 또는 U이며; a, c, g, 및 u는 2'-O-메틸(2'-OMe) A, C, G, 또는 U이고; Af, Cf, Gf, 및 Uf는 2'-플루오로 A, C, G, 또는 U이고; s는 포스포로티오에이트 결합임).

청구항 50

제24항에 있어서, 상기 RNAi 작용제가 표 2A, 표 2B, 표 4A, 표 4B, 표 5, 표 7A, 표 7B, 표 7C, 표 8A, 표 8B, 표 10A, 표 10B, 표 13A, 표 13B, 표 14, 표 15A, 및 표 15B 중 어느 하나에 기재된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택되는 dsRNA.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 dsRNA를 함유하는 세포.

청구항 52

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 dsRNA를 포함하는 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하기 위한 약학적 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 지질 제형을 추가로 포함하는 약학적 조성물.

청구항 54

세포에서 ANGPTL3 발현을 억제하는 방법으로서,

(a) 세포를 제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 dsRNA와 접촉시키는 단계; 및

(b) ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물을 분해하기에 충분한 시간 동안 단계 (a)에서 생성된 세포를 유지함으로써

세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 세포가 대상체 내에 존재하는 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 대상체가 인간인 방법.

청구항 57

제55항에 있어서, 대상체가 붉은털 원숭이, 게잡이 원숭이, 마우스 및 랫트로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 58

제56항에 있어서, 인간 대상체가 지질 대사 장애를 앓는 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 지질 대사 장애가 고지방혈증 또는 고트리글리세라이드혈증인 방법.

청구항 60

제54항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, ANGPTL3 발현이 적어도 약 30% 억제되는 방법.

청구항 61

ANGPTL3 발현의 감소로 효과를 얻을 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에 제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 dsRNA의 치료적 유효량을 투여함으로써 상기 대상체를 치료하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 장애가 지질 대사 장애인 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 지질 대사 장애가 고지방혈증 또는 고트리글리세라이드혈증인 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 대상체에 대한 dsRNA의 투여가 하나 이상의 혈청 지질 감소 및 ANGPTL3 단백질 축적 감소를 초래하는 방법.

청구항 65

대상체에서 ANGPTL3의 발현을 억제하는 방법으로서, 상기 대상체에 제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 dsRNA의 치료적 유효량을 투여함으로써 상기 대상체에서 ANGPTL3의 발현을 억제하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2015년 4월 13일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/146,604호, 및 2015년 12월 1일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/261,361호의 우선권을 주장한다. 상기 출원 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 포함하며, 본원에 그 전체 내용이 참조로 포함된다. 2016년 4월 12일에 생성된 상기 ASCII 사본은 121301-03320_SL.txt로 명명되며 213,246바이트 크기이다.

배 경 기 술

[0005] 안지오포이에틴-유사 3(ANGPTL3)은 지질 대사를 조절하며 주로 간에서 발현되는 분비 인자의 안지오포이에틴-유사 패밀리의 구성원이다(Koishi, R. *et al.*, (2002) *Nat. Genet.* 30(2):151-157). ANGPTL3은 트리글리세라이드의 가수분해를 촉매하는 지단백질 리파아제(LPL)의 및 고밀도 지단백질(HDL) 인지질을 가수분해하는 내피 리파아제(EL)의 촉매 활성을 이중 억제한다. 저지질혈증이지만 비만인 KK/Snk 마우스에서, ANGPTL3 발현의 감소는 트리글리세라이드의 제거를 촉진함으로써 고지질혈증 및 죽상동맥경화증에 대해 보호 효과를 갖는다(Ando *et al.*, (2003) *J. Lipid Res.*, 44:1216-1223). 인간 ANGPTL3 혈장 농도는 혈장 HDL 콜레스테롤 및 HDL 인지질 수준과 양으로 연관된다(Shimamura *et al.*, (2007) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27:366-372).

[0006] 지질 대사의 장애는 상승된 수준의 혈청 지질, 예컨대 트리글리세라이드 및/또는 콜레스테롤로 이어질 수 있다. 상승된 혈청 지질은 고혈압, 심혈관 질병, 당뇨병 및 다른 병리적 질환과 강력히 연관된다. 고트리글리세라이드혈증은 높은 혈중 트리글리세라이드 수준을 특징으로 하는 지질 대사 장애의 한 예이다. 이는 높은 콜레스테롤 수준(고콜레스테롤혈증)의 부재 하에서도, 죽상동맥경화증과 연관되었다. 트리글리세라이드 농도가 과도한 경우(즉, 1000 mg/dl 또는 12 mmol/l 초과), 고트리글리세라이드혈증은 또한 췌장염으로 이어질 수 있다. 고지질혈증은 혈중 임의의 하나의 또는 모든 지질 및/또는 지단백질의 상승된 수준을 특징으로 하는 지질 대사 장애의 또 다른 예이다. 식이, 운동 및 스타틴 및 다른 약물로의 치료를 포함하는 지질 대사 장애에 대한 현재 치료가 항상 효과적인 것은 아니다. 따라서, 지질 대사 장애를 갖는 대상체에 대한 대안적 치료를 위한 필요성이 당업계에 존재한다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 ANGPL3 유전자의 RNA 전사물의 RNA-유도 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 초래하는 iRNA 조성물을 제공한다. ANGPL3 유전자는 세포, 예를 들어, 인간과 같은 대상체 내의 세포 내에 존재할 수 있다. 또한, 본 발명은 ANGPL3 유전자의 발현을 억제하기 위한 및/또는 ANGPL3 유전자의 발현을 억제하거나 감소시키는 것으로 효과를 얻을 대상체, 예를 들어, 지질 대사 장애를 앓거나 앓기 쉬운 대상체, 예컨대 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증을 앓거나 앓기 쉬운 대상체를 치료하기 위한 본 발명의 iRNA 조성물의 이용 방법을 제공한다.

[0008] 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 ANGPTL3의 발현을 억제하기 위한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공한다. dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 센스 가닥은 SEQ ID NO: 1의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO: 5의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 센스 가닥은 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 임의의 하나에 기술된 안티센스 서열 중 임의의 하나와 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다.

[0009] 다른 양태에서, 본 발명은 ANGPTL3의 발현을 억제하기 위한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공한다. dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열 중 임의의 하나로부터 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 상보성 영역을 포함한다:

[0010] 5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 14)

[0011] 5' - UTGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 15),

[0012] 5' - GAAUATGUGACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 16)

[0013] 5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 17),

[0014] 5' - AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU - 3'(SEQ ID NO: 18)

[0015] 5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3'(SEQ ID NO: 19),

[0016] 5' - ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU - 3'(SEQ ID NO: 20)

[0017] 5' - AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG - 3'(SEQ ID NO: 21);

[0018] 5' - UGUCACUUGAACUCAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 22)

[0019] 5' - UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA - 3'(SEQ ID NO: 23);

[0020] 5' - AACUAACUAACUUAAUUCAAA - 3'(SEQ ID NO: 24)

[0021] 5' - UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC - 3'(SEQ ID NO: 25);

[0022] 5' - UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 26)

[0023] 5' - AAAGAAGGAGCUUAAUUGUGAAC - 3'(SEQ ID NO: 27);

[0024] 5' - GAGCAACUAACUAACUUAAUU - 3'(SEQ ID NO: 28)

[0025] 5' - AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU - 3'(SEQ ID NO: 29);

[0026] 5' - UUAUUGUUCCUCUAGUUAUUU- 3'(SEQ ID NO: 30)

[0027] 5' - AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA - 3'(SEQ ID NO: 31);

[0028] 5' - AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU - 3'(SEQ ID NO: 32)

[0029] 5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3'(SEQ ID NO: 33);

[0030] 5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 34)

[0031] 5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 35);

[0032] 5' - CAACAUAUUUGAUCAGUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 36)

[0033] 5' - AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG - 3'(SEQ ID NO: 37); 및

[0034] 5' - CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA - 3'(SEQ ID NO: 38)

[0035] 5' - UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA - 3'(SEQ ID NO: 39).

[0036] 소정 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함한다:

[0037] 5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 14)

[0038] 5' - UTGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 15),

[0039] 5' - GAAUATGUGACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 16)

[0040] 5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 17),

[0041] 5' - AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU - 3'(SEQ ID NO: 18)

[0042] 5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3'(SEQ ID NO: 19),

[0043] 5' - ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU - 3'(SEQ ID NO: 20)

[0044] 5' - AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG - 3'(SEQ ID NO: 21);

[0045] 5' - UGUCACUUGAACUCAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 22)

[0046] 5' - UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA - 3'(SEQ ID NO: 23);

[0047] 5' - AACUAACUAACUUAAUUCAAA - 3'(SEQ ID NO: 24)

[0048] 5' - UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC - 3'(SEQ ID NO: 25);

[0049] 5' - UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 26)

[0050] 5' - AAAGAAGGAGCUUAAUUGUGAAC - 3'(SEQ ID NO: 27);

[0051] 5' - GAGCAACUAACUAACUUAAUU - 3'(SEQ ID NO: 28)

[0052] 5' - AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU - 3'(SEQ ID NO: 29);

[0053] 5' - UUAUUGUUCCUCUAGUUAUUU- 3'(SEQ ID NO: 30)

[0054] 5' - AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA - 3'(SEQ ID NO: 31);

[0055] 5' - AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU - 3'(SEQ ID NO: 32)

[0056] 5' - AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG - 3(SEQ ID NO: 33)';

[0057] 5' - GAAUAUGUCACUUGAACUCAA - 3'(SEQ ID NO: 34)

[0058] 5' - UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU - 3'(SEQ ID NO: 35);

[0059] 5' - CAACAUAUUUGAUCAGUCUUU - 3'(SEQ ID NO: 36)

[0060] 5' - AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG - 3'(SEQ ID NO: 37); 및

[0061] 5' - CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA - 3'(SEQ ID NO: 38)

[0062] 5' - UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA - 3'(SEQ ID NO: 39).

[0063] 소정 구현예에서, dsRNA는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 센스 가닥에 4개 이하(즉, 4개, 3개, 2개, 1개, 또는 0개)의 변형되지 않은 뉴클레오티드를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 안티센스 가닥에 4개 이하(즉, 4개, 3개, 2개, 1개, 또는 0개)의 변형되지 않은 뉴클레오티드를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥에 모두 4개 이하(즉, 4개, 3개, 2개, 1개, 또는 0개)의 변형되지 않은 뉴클레오티드를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA의 센스 가닥에서의 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 소정 구현예에서, dsRNA의 안티센스 가닥에서의 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다. 소정 구현예에서, dsRNA의 센스 가닥에서의 모든 뉴클레오티드 및 안티센스 가닥에서의 모든 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드이다.

[0064] 소정 구현예에서, 변형된 뉴클레오티드는 독립적으로 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 5'-포스포로티오에이트기를 포함하는 뉴클레오티드, 및 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스데실아미드기에 연결된 말단 뉴클레오티드로 구성된 군으로부터 선택된다. 소정 구현예에서, 변형된 뉴클레오티드는 2'-데옥시-2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오티드, 록킹된(locked) 뉴클레오티드, 무염기 뉴클레오티드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오티드, 2'-알킬-변형된 뉴클레오티드, 모르폴리노 뉴클레오티드, 포스포르아미데이트, 및 비천연 염기 포함 뉴클레오티드로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0065] 소정 구현예에서, dsRNA는 적어도 17개 뉴클레오티드 길이의 상보성 영역을 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 19 및 23개 뉴클레오티드 길이의 상보성 영역을 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 19개 뉴클레오티드 길이의 상보성 영역을 포함한다.

[0066] 소정 구현예에서, dsRNA의 각각의 가닥은 30개 이하 뉴클레오티드 길이이다. 소정 구현예에서, dsRNA는 적어도 15개 뉴클레오티드 길이이다.

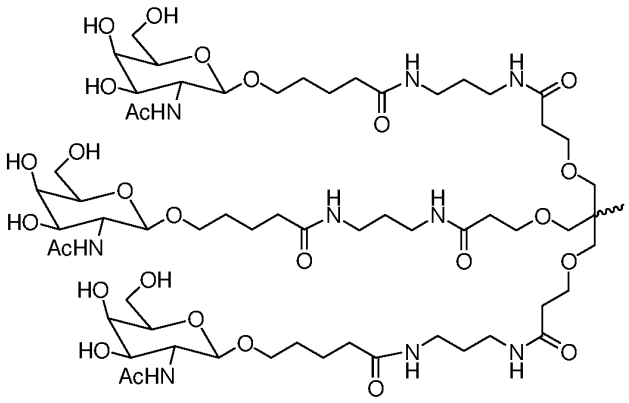
[0067] 다른 구현예에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제의 하나 또는 두 가닥은 최대 66개 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 36 내지 66, 26 내지 36, 25 내지 36, 31 내지 60, 22 내지 43, 27 내지 53개 뉴클레오티드 길이이며, INSR 유전자의 mRNA 전사물의 적어도 일부와 실질적으로 상보적인 적어도 19개 연속 뉴클레오티드 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 18 내지 30개 연속 뉴클레오티드의 듀플렉스를 형성한다.

[0068] 한 구현예에서, RNAi 작용제의 적어도 하나의 가닥은 적어도 1개 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 소정 구현예에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 2개 뉴클레오티드, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개 뉴클레오티드의 3' 오버행을 포함한다. 다른 구현예에서, RNAi 작용제의 적어도 하나의 가닥은 적어도 1 뉴클레오티드의 5' 오버행을 포함한다. 소정 구현예에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 2 뉴클레오티드, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15 뉴클레오티드의 5' 오버행을 포함한다. 다른 구현예에서, RNAi 작용제의 한 가닥의 3' 및 5' 말단은 모두 적어도 1개 뉴클레오티드의 오버행을 포함한다.

[0069] 소정 구현예에서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 리간드를 추가로 포함한다. 소정 구현예에서, 리간드는 N-아세틸갈락토사민(GalNAc)이다. 리간드는 1가, 2가, 또는 3가 분지형 링커를 통해 RNAi 작용제에 부착된 하나 이상의 GalNAc일 수 있다. 리간드는 이중 가닥 RNAi 작용제의 센스 가닥의 3' 말단, 이중 가닥 RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 말단, 이중 가닥 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 3' 말단, 또는 이중 가닥 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 5' 말단에 컨쥬게이트될 수 있다.

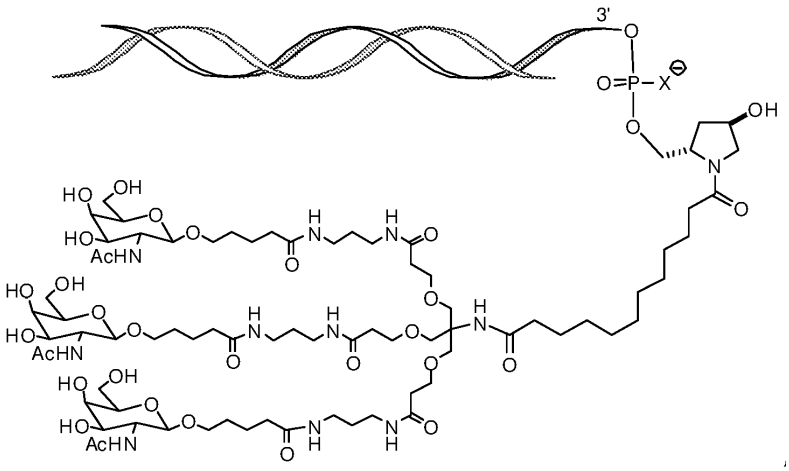
[0070] 일부 구현예에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 각각 독립적으로 복수의 1가 링커를 통해 이중 가닥 RNAi 작용제의 복수의 뉴클레오티드에 부착된, 복수의, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 GalNAc를 포함한다.

[0071] 소정 구현예에서, 리간드는



[0072] 이다.

[0073] 소정 구현예에서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 다음 모식도에 나타낸 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트된다:



[0074]

[0075] 상기 식에서, X는 O 또는 S이다. 한 구현예에서, X는 O이다.

[0076] 소정 구현예에서, dsRNA는 AD-57927.6, AD-63133.1, AD-63136.1, AD-63137.1, AD-63139.1, AD-63142.1, AD-63143.1, AD-63144.1, AD-63145.1, AD-63148.1, AD-63149.1, AD-63150.1, AD-63151.1, AD-63153.1, AD-63154.1, AD-63156.1, AD-63157.1, AD-63160.1, AD-63162.1, AD-63163.1, AD-63167.1, AD-63168.1, AD-63170.1, AD-63173.1, AD-63174.1, AD-63175.1, AD-63176.1, AD-63177.1, AD-63179.1, AD-63181.1, AD-66916, AD-66920, AD-66921, AD-66923, AD-66922, AD-66917, AD-66918, AD-66919, AD-66924, AD66925 및 AD-63185.1로 구성된 군으로부터 선택되는 듀플렉스를 포함한다. 소정 구현예에서, dsRNA는 AD-57927.6, AD-63136.1, AD-63137.1, AD-63142.1, D-63148.1, AD-63151.1, AD-63156.1, AD-63157.1, AD-63160.1, AD-63163.1, AD-63167.1, AD-63170.1, AD-63173.1, AD-63174.1, AD-63176.1, AD-66916, AD-66920, AD-66921, AD-66923, AD-66922, AD-66917, AD-66918, AD-66919, AD-66924, AD66925, AD-67173, AD-67174, AD-67007, 및 AD-63179.1로 구성된 군으로부터 선택되는 듀플렉스를 포함한다. 한 구현예에서, dsRNA의 센스 및 안티센스 가닥은 다음으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함한다:

[0077] 5' - ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu -- 3'(SEQ ID NO: 40)

[0078] 5' - asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg-- 3'(SEQ ID NO: 41);

[0079] 5' - usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96 -- 3'(SEQ ID NO: 42)

[0080] 5' - usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa -- 3'(SEQ ID NO: 43);

[0081] 5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 44)

[0082] 5' - usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 45);

[0083] 5' - gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa -- 3'(SEQ ID NO: 46)

[0084] 5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu -- 3'(SEQ ID NO: 47);

[0085] 5' - asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu -- 3'(SEQ ID NO: 48)

[0086] 5' - asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg -- 3'(SEQ ID NO: 49);

[0087] 5' - AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf -3' (SEQ ID NO: 50)

[0088] 5' - asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg - 3'(SEQ ID NO: 51);

[0089] 5' - UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf -3'(SEQ ID NO: 52)

[0090] 5' - usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa - 3'(SEQ ID NO: 53);

[0091] 5' - asascuaaCfuAfAfCfuuaaauucaaa -3'(SEQ ID NO: 54),

[0092] 5' - usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc - 3'(SEQ ID NO: 55);

[0093] 5' - uscsacaaUfuAfAfGfcuccuucuuu -3'(SEQ ID NO: 56)

[0094] 5' - asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc - 3'(SEQ ID NO: 57);

[0095] 5' - gsasgcaaCfuAfAfCfuaacuuaauu -3'(SEQ ID NO: 58)

[0096] 5' - asAfsuuaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu - 3'(SEQ ID NO: 59);

[0097] 5' - ususauugUfuCfCfUfcuaguuauuu -3'(SEQ ID NO: 60)

[0098] 5' - asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfaauaasasa - 3'(SEQ ID NO: 61);

[0099] 5' - asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu -3'(SEQ ID NO: 62)

[0100] 5' - asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg - 3'(SEQ ID NO: 63);

[0101] 5' - gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa -3'(SEQ ID NO: 64)

[0102] 5' - usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu - 3'(SEQ ID NO: 65);

[0103] 5' - csasacauAfuUfUfGfaucagucuuu -3'(SEQ ID NO: 66)

[0104] 5' - asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuguugsasg - 3'(SEQ ID NO: 67); 및

[0105] 5' - csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa -3'(SEQ ID NO: 68)

[0106] 5' - usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa - 3'(SEQ ID NO: 69).

[0107] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 dsRNA를 함유하는 세포를 제공한다.

[0108] 다른 양태에서, 본 발명은 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하기 위한 약제학적 조성물을 제공한다. 조성물은 본원에 제공되는 dsRNA 작용제를 포함한다. 소정 구현예에서, 약제학적 조성물은 지질 제형을 추가로 포함한다.

[0109] 본 발명은 또한 세포에서 ANGPTL3 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 방법은 세포를 본원에 기재된 dsRNA와 접촉시키는 단계; 및 ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물을 분해하기에 충분한 시간 동안 세포를 유지함으로써 세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0110] 소정 구현예에서, 세포는 대상체 내에 존재한다. 소정 구현예에서, 대상체는 인간이다. 소정 구현예에서, 인간 대상체는 지질 대사 장애를 앓는다. 소정 구현예에서, 지질 대사 장애는 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증이다. 소정 구현예에서, ANGPTL3 발현은 적어도 약 30% 억제된다.

[0111] 다른 양태에서, 본 발명은 ANGPTL3 발현의 감소로 효과를 얻을 장애를 갖는 대상체의 치료 방법을 제공한다. 방법은 대상체에 본원에 기재된 임의의 dsRNA의 치료적 유효량을 투여함으로써 대상체를 치료하는 단계를 포함한다. 소정 구현예에서, 장애는 지질 대사 장애이다. 소정 구현예에서, 지질 대사 장애는 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증이다. 소정 구현예에서, 대상체에 대한 dsRNA의 투여는 하나 이상의 혈청 지질 감소 및/또는

ANGPTL3 단백질 축적 감소를 유도한다.

[0112] 추가 양태에서, 본 발명은 대상체에서 ANGPTL3 발현을 억제하는 방법을 또한 제공한다. 방법은 대상체에 본원에 기재된 임의의 dsRNA의 치료적 유효량을 투여함으로서 대상체에서 ANGPTL3의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0113] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 방법을 수행하기 위한 키트를 제공한다. 한 구현예에서, 본 발명은 세포에서 ANGPTL3의 발현을 억제하기 효과적인 양으로 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제를 세포와 접촉시킴으로써 세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 방법을 수행하기 위한 키트를 제공한다. 키트는 RNAi 작용제 및 이용 지침, 및 선택적으로 대상체에 RNAi 작용제를 투여하기 위한 수단을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0114] 도 1은 나타낸 iRNA 작용제의 단회 30 mg/kg, 10 mg/kg, 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 ob/ob 암컷 마우스의 혈청 중 3일차에 남아있는 ANGPTL3 mRNA의 양을 나타내는 그래프이다. ANGPTL3 mRNA의 양은 대조군 샘플(PBS) 중 ANGPTL3 mRNA의 양 대 GAPDH mRNA의 양의 비 대비 샘플 중 ANGPTL3 mRNA의 양 대 GAPDH mRNA의 양의 비로 나타낸다.

도 2는 ob/ob 암컷 마우스에서 혈청 ANGPTL3 단백질 수준에 대한 AD-57927의 다회-용량 투여(1주차에 5일 동안 매일 3 mg/kg, 이어서 2 내지 4주차에 주 당 2회 3 mg/kg(3.0 mg/kg qd x 5; qw x 6))의 효과를 나타내는 그래프이다. 나타낸 ANGPTL3 단백질의 양은 AD-57927의 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 3은 ob/ob 암컷 마우스에서 트리글리세라이드(TG) 수준에 대한 AD-57927의 다회-용량 투여(1주차에 5일 동안 매일 3 mg/kg, 이어서 2 내지 4주차에 주 당 2회 3 mg/kg(3.0 mg/kg qd x 5; qw x 6))의 효과를 나타내는 그래프이다. 나타낸 TG의 양은 AD-57927의 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 TG의 양에 대비한 것이다.

도 4는 ob/ob 암컷 마우스에서 LDL 콜레스테롤(LDLc) 수준에 대한 AD-57927의 다회-용량 투여(1주차에 5일 동안 매일 3 mg/kg, 이어서 2 내지 4주차에 주 당 2회 3 mg/kg(3.0 mg/kg qd x 5; qw x 6))의 효과를 나타내는 그래프이다. 나타낸 LDLc의 양은 AD-57927의 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 LDLc의 양에 대비한 것이다.

도 5는 ob/ob 암컷 마우스에서 총 콜레스테롤(Tc) 수준에 대한 AD-57927의 다회-용량 투여(1주차에 5일 동안 매일 3 mg/kg, 이어서 2 내지 4주차에 주 당 2회 3 mg/kg(3.0 mg/kg qd x 5; qw x 6))의 효과를 나타내는 그래프이다. 나타낸 Tc의 양은 AD-57927의 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 Tc의 양에 대비한 것이다.

도 6a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 야생형 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 6b는 투여 후 10일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 야생형 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 7a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 야생형 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 7b는 투여 후 5일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 야생형 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 8a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 *ob/ob* 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 8b는 투여 후 5일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 *ob/ob* 마우스의 혈청에서 마우스 ANGPTL3 단백질의 침묵화 백분율을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 침묵화 백분율은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 수준에 대비한 것이다.

도 9는 투여 후 5일차에 AD-65695의 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg 피하 투여 후 *ob/ob* 마

우스의 혈청에서 마우스 ANGPTL3 단백질의 침묵화 백분율을 나타내는 그래프이다. 마우스 ANGPTL3 단백질의 침묵화 백분율은 투여 전에 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 수준에 대비한 것이다.

도 10a는 *ob/ob* 마우스에서 트리글리세라이드(TG) 수준에 대한 AD-65695(ALN-ANG)의 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg 피하 투여 효과를 나타내는 그래프이다. TG의 양은 PBS가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 TG의 양 대비 AD-65695가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 TG의 양의 비로서 나타낸다.

도 10b는 *ob/ob* 마우스에서 총 콜레스테롤(TC) 수준에 대한 AD-65695(ALN-ANG)의 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg 피하 투여 효과를 나타내는 그래프이다. TC의 양은 PBS가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 TC의 양 대비 AD-65695가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 TC의 양의 비로서 나타낸다.

도 10c는 *ob/ob* 마우스에서 저밀도 지단백질 콜레스테롤(LDLc) 수준에 대한 AD-65695(ALN-ANG)의 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg 피하 투여 효과를 나타내는 그래프이다. LDLc의 양은 PBS가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 LDLc의 양 대비 AD-65695가 투여된 마우스로부터의 혈청 샘플에서 LDLc의 양의 비로서 나타낸다.

도 10d는 *ob/ob* 마우스에서 고밀도 지단백질 콜레스테롤(HDL) 수준 대 총 콜레스테롤(TC) 수준의 비에 대한 AD-65695(ALN-ANG)의 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg 피하 투여 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11은 간-특이적 티록신-결합 글로불린(TBG) 프로모터에 의해 유도된 인간 ANGPTL3 유전자(코딩 영역)를 인코딩하는 아데노-연관 바이러스(AAV8) 벡터(AAV8-TBG-ANGPTL3)의 1×10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염된 야생형 마우스(C57BL/6)에서 나타낸 iRNA 작용제의 지속성 결정을 위한 투여 일정 및 연구 설계를 도시한다.

도 12a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 12b는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 13은 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스에서 나타낸 iRNA 작용제의 용량 적정 및 지속성 결정을 위한 투여 일정 및 연구 설계를 도시한다.

도 14a는 투여-후 11일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 0.3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 나타내는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 14b는 투여-후 11일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 0.3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 15a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 0.3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 15b는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 0.3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 마우스 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 16은 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제에 대한 반응 기간을 나타내는 그래프이

다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 17a는 투여-후 14일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 17b는 투여-후 28일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 18a는 투여-후 14일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 18b는 투여-후 28일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 19a는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 용량이 투여된 마른 게잡이원숭이의 혈청에 남아있는 게잡이원숭이 ANGPTL3 단백질의 양으로 나타내는, 나타낸 iRNA 작용제의 반응 기간을 나타내는 그래프이다. 나타낸 게잡이원숭이 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 19b는 경시적으로 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 피하 용량이 투여된 게잡이원숭이의 혈청에 남아있는 트리글리세라이드의 백분율을 나타내는 그래프이다. 나타낸 트리글리세라이드의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 게잡이원숭이 트리글리세라이드의 양에 대비한 것이다.

도 20은 투여-후 28일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 21a는 투여-후 28일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 인간 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

도 21b는 투여-후 28일차에 나타낸 iRNA 작용제의 단회 1 mg/kg 피하 투여 후 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염 마우스의 혈청에 남아있는 마우스 ANGPTL3 단백질의 양을 도시하는 그래프이다. 나타낸 인간 ANGPTL3 단백질의 양은 투여 전에(투여-전) 혈청 샘플에 존재하는 인간 ANGPTL3 단백질의 양에 대비한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0115] 본 발명은 ANGPTL3 유전자의 RNA 전사물의 RNA-유도 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 초래하는 iRNA 조성물을 제공한다. ANGPTL3 유전자는 세포, 예를 들어, 인간과 같은 대상체 내의 세포 내에 존재할 수 있다. 또한, 본 발명은 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하고/하거나 ANGPTL3 유전자의 발현의 억제 또는 감소로 효과를 얻을 장애, 예를 들어, 지질 대사 장애, 예를 들어, 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 본 발명의 iRNA 조성물의 이용 방법을 제공한다.

[0116] 본 발명의 iRNA는 약 30개 이하의 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 15 내지 30, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24,20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23, 또는 21 내지 22개 뉴클레오티드 길이인 영역을 갖는 RNA 가닥(안티센스 가닥)을 포함할 수 있으며, 이 영역은 ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물 중 적어도 일부에 실질적으로 상보적이다.

[0117] 다른 구현예에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제의 하나 또는 두 가닥은 최대 66개 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 36 내지 66, 26 내지 36, 25 내지 36, 31 내지 60, 22 내지 43, 27 내지 53개 뉴클레오티드 길이이며, ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물의 적어도 일부와 실질적으로 상보적인 적어도 19개 연속 뉴클레오티드 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 및 안티센스 가닥은 18 내지 30개 연속 뉴클레오티드의 듀플렉스를 형성한다.

[0118] 본원에 기재된 이러한 iRNA 작용제의 이용은 포유동물에서 ANGPTL3 유전자 mRNA의 표적화된 분해를 가능케 한다. 매우 낮은 투여량의 ANGPTL3 iRNA는 특히, RNA 간섭(RNAi)을 특이적이고 효율적으로 매개하여 ANGPTL3 유전자 발현의 유의미한 억제를 일으킬 수 있다. 세포-기반 및 생체내 검정을 이용하여, 본 발명자들은 ANGPTL3을 표적화하는 iRNA가 RNAi를 매개하여, ANGPTL3 유전자 발현의 유의미한 억제를 일으킬 수 있음을 나타내었다. 따라서, 이러한 iRNA를 포함하는 방법 및 조성물은 ANGPTL3 단백질의 수준 및/또는 활성 감소로 효과를 얻을 대상체, 예컨대 지질 대사 장애, 예컨대 고지질혈증 또는 고트리글리세라이드혈증을 갖는 대상체를 치료하기 위해 유용하다.

[0119] 일부 구현예에서, 본 발명의 iRNA 작용제는 최대 66개 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 36 내지 66, 26 내지 36, 25 내지 36, 31 내지 60, 22 내지 43, 27 내지 53개 뉴클레오티드 길이일 수 있는 RNA 가닥(안티센스 가닥)을 포함하며, ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물의 적어도 일부와 실질적으로 상보적인 적어도 19개 연속 뉴클레오티드의 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 더 긴 길이의 안티센스 가닥을 갖는 이러한 iRNA 작용제는 20 내지 60개 뉴클레오티드 길이의 제2 RNA 가닥(센스 가닥)을 포함할 수 있으며, 여기서 센스 및 안티센스 가닥은 18 내지 30개 연속 뉴클레오티드의 듀플렉스를 형성한다.

[0120] 하기의 상세한 설명에는 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하기 위한 iRNA를 함유하는 조성물의 제조 및 이용 방법뿐만 아니라 이러한 유전자의 발현의 억제 및/또는 감소로 효과를 얻을 질병 및 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한 조성물 및 방법이 개시되어 있다.

[0121] **I. 정의**

[0122] 본 발명을 보다 용이하게 이해할 수 있도록, 소정의 용어가 먼저 정의된다. 또한, 파라미터의 값 또는 값의 범위가 언급될 때는 언제나, 언급된 값의 중간의 값 및 범위도 또한 본 발명의 일부인 것으로 의도되는 것을 주목해야 한다.

[0123] 관사("a" 및 "an")는 관사의 문법상 대상이 1개 또는 1개 초과(즉, 적어도 1개)인 것을 의미하기 위해 본원에 사용된다. 예로서, "하나의 요소"는 하나의 요소 또는 1개 초과의 요소, 예를 들어, 복수의 요소를 의미한다.

[0124] 용어 "포함하는"은 어구 "포함하나 그에 한정되지 않는"을 의미하는 것으로 본원에 사용되며, 이와 상호교환가능하게 사용된다. 용어 "또는"은 문맥에서 명백하게 다르게 나타내지 않는 한, 용어 "및/또는"을 의미하는 것으로 본원에 사용되며, 이와 상호교환가능하게 사용된다.

[0125] 용어 "ANGPTL3"은 달리 명시되지 않는 한, 비제한적으로, 인간, 소, 닭, 설치류, 마우스, 랫트, 돼지, 양, 영장류, 원숭이 및 기니아픽을 포함하는 임의의 척추동물 또는 포유동물 원천으로부터의 아미노산 서열을 갖는 안지오포이에틴 유사 단백질 3을 나타낸다. 용어는 또한 원상태 ANGPTL3의 적어도 하나의 생체내 또는 시험관내 활성을 유지하는 원상태 ANGPTL3의 단편 및 변이체를 나타낸다. 용어는 ANGPTL3의 전장 미가공 전구체 형태뿐만 아니라 신호 펩티드의 번역-후 절단으로 생성되는 성숙 형태 및 피브리노겐-유사 도메인의 단백분해 가공으로 생성되는 형태를 포괄한다. 인간 ANGPTL3 mRNA 전사물의 서열은, 예를 들어, GenBank Accession No. GI: 452408443(NM_ 014495.3; SEQ ID NO:1)에서 확인될 수 있다. 붉은털원숭이 ANGPTL3 mRNA의 예측 서열은, 예를 들어, GenBank Accession No. GI: 297278846(XM_001086114.2; SEQ ID NO:2)에서 확인될 수 있다. 마우스 ANGPTL3 mRNA의 서열은, 예를 들어, GenBank Accession No. GI: 142388354(NM_ 013913.3; SEQ ID NO:3)에서 확인될 수 있다. 랫트 ANGPTL3 mRNA의 서열은, 예를 들어, GenBank Accession No. GI: 68163568(NM_001025065.1; SEQ ID NO:4)에서 확인될 수 있다. ANGPTL3 mRNA 서열의 추가 예는 공개적으로 이용 가능한 데이터베이스, 예를 들어, GenBank, UniProt, 및 OMIM을 이용하여 쉽게 이용 가능하다.

[0126] 본원에서 이용되는 용어 "ANGPTL3"은 또한 ANGPTL3 유전자의 자연 발생 DNA 서열 변이, 예컨대 ANGPTL3 유전자에서의 단일 뉴클레오티드 다형성에 의해 세포에서 발현되는 특정한 폴리펩티드를 나타낸다. ANGPTL3 유전자 내의 여러 SNP가 확인되었으며, 예를 들어, NCBI dbSNP(예를 들어, www.ncbi.nlm.nih.gov/snp 참고)에서 확인될 수 있다. ANGPTL3 유전자 내의 SNP의 비제한적 예는 NCBI dbSNP Accession Nos. rs193064039; rs192778191; rs192764027; rs192528948; rs191931953; rs191293319; rs191171206; rs191145608; rs191086880; rs191012841; 또는 rs190255403에서 확인될 수 있다.

[0127] 본원에서 이용되는 "표적 서열"은 일차 전사 산물의 RNA 가공 산물인 mRNA를 포함하는, ANGPTL3 유전자의 전사 동안 형성되는 mRNA 분자 뉴클레오티드 서열의 인접 부분을 나타낸다. 한 구현예에서, 서열의 표적 부분은 적어도 ANGPTL3 유전자의 전사 동안 형성되는 mRNA 분자 뉴클레오티드의 서열 부분 또는 그 근처에서 iRNA-유도 절단을 위한 기질로서 작용하기 충분하게 길 것이다.

[0128] 표적 서열은 약 9 내지 36개 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 약 15 내지 30개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 예를 들어, 표적 서열은 약 15 내지 30개 뉴클레오티드, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24,20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23 또는 21 내지 22개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 상기 언급된 범위 및 길이에 대한 중간의 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.

[0129] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "서열을 포함하는 가닥"은 표준 뉴클레오티드 명명법을 사용하여 언급된 서열로 기재되는 뉴클레오티드의 사슬을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 말한다.

[0130] 각각의 "G", "C", "A", "T" 및 "U"는 일반적으로 각각 염기로서 구아닌, 시토신, 아데닌, 티미딘 및 우라실을 포함하는 뉴클레오티드를 나타낸다. 그러나 "리보뉴클레오티드" 또는 "뉴클레오티드"라는 용어가 하기에서 더 상세히 다루어질 변형 뉴클레오티드 또는 대용 대체 모이어티도 또한 나타낼 수 있다는 것이 이해될 것이다(예를 들어, 표 1 참조). 당업자는 구아닌, 시토신, 아데닌 및 우라실이 이러한 대체 모이어티를 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드의 염기쌍 형성 특성을 실질적으로 변경하지 않으면서 다른 부분으로 대체될 수 있다는 것을 잘 인지하고 있다. 비제한적으로 예를 들어, 그의 염기로서 이노신을 포함하는 뉴클레오티드는 아데닌, 시토신 또는 우라실을 포함하는 뉴클레오티드와 염기쌍을 형성할 수 있다. 따라서, 본 발명에서 특성화된 dsRNA의 뉴클레오티드 서열에서 우라실, 구아닌 또는 아데닌을 포함하는 뉴클레오티드는 예를 들어 이노신을 포함하는 뉴클레오티드에 의해 대체될 수 있다. 다른 예에서, 올리고뉴클레오티드 내의 어디든 아데닌 및 시토신은 각각 구아닌 및 우라실로 대체되어, 표적 mRNA와 G-U 동요(Wobble) 염기쌍을 형성할 수 있다. 이러한 대체 모이어티를 포함하는 서열은 본 발명에 특성화된 조성물 및 방법에 적절하다.

[0131] 본원에 상호교환가능하게 사용되는 용어 "iRNA", "RNAi 작용제", "iRNA 작용제", "RNA 간섭 작용제"는 그 용어가 본원에 정의된 바와 같은 RNA를 함유하며, RNA-유도 침묵화 복합체(RISC) 경로를 통한 RNA 전사물의 표적화된 절단을 매개하는 작용제를 말한다. iRNA는 RNA 간섭(RNAi)으로 공지된 과정을 통하여 mRNA의 서열-특이적 분해를 유도한다. iRNA는 세포, 예를 들어, 포유동물 대상체와 같은 대상체 내의 세포에서의 ANGPTL3의 발현을 조절, 예를 들어, 억제한다.

[0132] 한 구현예에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA 서열, 예를 들어, ANGPTL3 표적 mRNA 서열과 상호작용하여, 표적 RNA의 절단을 유도하는 단일 가닥 RNA를 포함한다. 이론에 의해 제한하고자 하지 않고, 세포로 도입된 긴 이중 가닥 RNA는 Dicer로 공지되어 있는 III형 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해되는 것으로 여겨진다(문헌[Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485]). Dicer, 리보뉴클레아제-III-유사 효소는 dsRNA를 특징적인 2개 염기 3' 오버행을 갖는 19 내지 23개 염기쌍의 짧은 간섭 RNA로 처리한다(문헌[Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363]). 그 다음, siRNA는 RNA-유도 침묵화 복합체(RISC)로 통합되고, 여기서, 하나 이상의 헬리카제(helicase)는 siRNA 듀플렉스를 풀어 내고, 상보적 안티센스 가닥이 표적을 인지하게 한다(문헌[Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309). RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제는 적절한 표적 mRNA로의 결합 시에, 표적을 분해하여, 침묵화를 유도한다(문헌[Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188]). 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 세포 내에 생성되며, RISC 복합체의 형성을 조장하여, 표적 유전자, 즉, ANGPTL3 유전자의 침묵화를 초래하는 단일 가닥의 RNA(sssiRNA)에 관한 것이다. 따라서, 용어 "siRNA"는 또한, 상술된 바와 같은 RNAi를 지칭하기 위해 본원에 사용된다.

[0133] 다른 구현예에서, RNAi 작용제는 표적 mRNA를 억제하기 위해 세포 또는 유기체 내로 도입되는 단일-가닥 RNAi 작용제일 수 있다. 단일-가닥 RNAi 작용제(ssRNAi)는 RISC 엔도뉴클레아제, Argonaute 2에 결합한 후, 표적 mRNA를 절단한다. 단일-가닥 siRNA는 일반적으로 15 내지 30개 뉴클레오티드이며 화학적으로 변형된다. 단일-가닥 RNAi 작용제의 설계 및 평가는 문헌[U.S. 특허 번호 8,101,348호 및 Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150: 883-

894]에 기재되어 있으며, 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 본원에 기재된 임의의 안티센스 뉴클레오티드 서열은 본원에 기재된 바와 같이 단일-가닥 siRNA로서 또는 문헌[Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150;:883-894]에 기재된 방법에 의해 화학적으로 변형되어 이용될 수 있다.

[0134] 다른 구현예에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 "iRNA"는 이중-가닥 RNA이며, 본원에 "이중 가닥 RNAi 작용제", "이중-가닥 RNA(dsRNA) 분자", "dsRNA 작용제" 또는 "dsRNA"로 지칭된다. 용어 "dsRNA"는 표적 RNA, 즉, ANGPTL3 유전자에 대하여 "센스" 및 "안티센스" 배향을 갖는 것으로 언급되는 2개의 역평행이며, 실질적으로 상보성인 핵산 가닥을 포함하는 듀플렉스 구조를 갖는 리보핵산 분자의 복합체를 말한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 이중-가닥 RNA(dsRNA)는 본원에서 RNA 간섭 또는 RNAi로 지칭되는 전사후 유전자-침묵화 메카니즘을 통하여 표적 RNA, 예를 들어, mRNA의 분해를 촉발시킨다.

[0135] 일반적으로, dsRNA 분자의 각 가닥의 뉴클레오티드의 대부분은 리보뉴클레오티드이지만, 본원에 상세히 기재된 바와 같이, 각각의 또는 두 가닥은 또한 하나 이상의 비-리보뉴클레오티드, 예를 들어, 데옥시리보뉴클레오티드 및/또는 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "RNAi 작용제"는 화학적 변형을 갖는 리보뉴클레오티드를 포함할 수 있다; RNAi 작용제는 여러 뉴클레오티드에서 실질적인 변형을 포함할 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "변형된 뉴클레오티드"는 독립적으로, 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오티드간 결합, 및/또는 변형된 뉴클레오염기를 갖는 뉴클레오티드를 나타낸다. 따라서, 용어 변형된 뉴클레오티드는 뉴클레오시드간 결합, 당 모이어티, 또는 뉴클레오염기에 대한 작용기 또는 원자의 치환, 부가 또는 제거를 포괄한다. 본 발명의 제제에서 이용하기 적합한 변형은 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 모든 유형의 변형을 포함한다. siRNA 유형 분자에서 이용되는 임의의 이러한 변형은 본 명세서 및 청구범위의 목적을 위해 "RNAi 작용제"에 의해 포괄된다.

[0136] 듀플렉스 영역은 RISC 경로를 통하여 요망되는 표적 RNA의 특이적 분해를 허용하는 임의의 길이의 것일 수 있으며, 약 9 내지 36개 염기쌍 길이의 범위, 예를 들어, 약 15 내지 30개 염기쌍 길이, 예를 들어, 약 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 또는 36개 염기쌍 길이, 예를 들어, 약 15 내지 30, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23 또는 21 내지 22개 염기쌍 길이일 수 있다. 상기 언급된 범위 및 길이에 대한 중간의 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 여겨진다.

[0137] 듀플렉스 구조를 형성하는 두 가닥은 하나의 보다 더 큰 RNA 분자의 상이한 부분일 수 있거나, 그들은 개별 RNA 분자일 수 있다. 두 가닥이 하나의 더 큰 분자의 일부이고 이에 따라 한 가닥의 3'-말단과 다른 가닥의 5'-말단 간의 뉴클레오티드의 비단절(uninterrupted) 사슬에 의해 결합되어 듀플렉스 구조를 형성하여, 연결 RNA 사슬은 "헤어핀 루프"로 지칭된다. 헤어핀 루프는 쌍을 형성하지 않은 적어도 하나의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 헤어핀 루프는 쌍을 형성하지 않은 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 20개, 적어도 23개 또는 그 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0138] dsRNA의 2개의 실질적으로 상보적인 가닥이 개별 RNA 분자에 포함되는 경우, 그들 분자는 공유 결합될 필요는 없지만, 공유 결합될 수 있다. 두 가닥이 한 가닥의 3'-말단과 각각의 다른 가닥의 5'-말단 간의 뉴클레오티드의 비단절 사슬 이외의 수단에 의해 공유 결합되어, 듀플렉스 구조를 형성하는 경우, 그 연결 구조는 "링커"로 지칭된다. RNA 가닥은 동일하거나 상이한 수의 뉴클레오티드를 가질 수 있다. 최대 염기쌍 개수는 dsRNA의 가장 짧은 가닥 내 뉴클레오티드에서 듀플렉스에 존재하는 임의의 오버행을 제한 개수이다. RNAi는 듀플렉스 구조에 더하여, 하나 이상의 뉴클레오티드 오버행을 포함할 수 있다.

[0139] 한 구현예에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 dsRNA이며, 그 각각의 가닥은 표적 RNA 서열, 예를 들어, ANGPTL3 표적 mRNA 서열과 상호작용하여 표적 RNA의 절단을 유도하는 19 내지 23개 뉴클레오티드를 포함한다. 이론에 구애받고자 하지 않고, 세포 내로 도입되는 긴 이중 가닥 RNA는 Dicer로 알려진 III형 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해된다(Sharp *et al*. (2001) *Genes Dev*. 15:485). 리보뉴클레아제-III-유사 효소, Dicer는 dsRNA를 특징적인 2 염기 3' 오버행을 갖는 19 내지 23개 염기쌍의 짧은 간섭 RNA로 가공한다(Bernstein, *et al.*, (2001)

Nature 409:363). 이어서 siRNA는 RNA-유도 침묵화 복합체(RISC) 내로 도입되며, 여기서 하나 이상의 헬리카제가 siRNA 듀플렉스를 풀어서 상보적 안티센스 가닥이 표적 인식을 가이드할 수 있게 한다(Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309). 적절한 표적 mRNA에 결합 시, RISC 내에서 하나 이상의 엔도뉴클레아제가 표적을 절단하여 침묵화를 유도한다(Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188).

[0140] 본원에서 사용되는 용어 "뉴클레오티드 오버행"은 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 듀플렉스 구조로부터 돌출하는 적어도 하나의 쌍을 형성하지 않은 뉴클레오티드를 지칭한다. 예를 들어, dsRNA의 한 가닥의 3'-말단이 다른 가닥의 5'-말단을 넘어서서 연장되는 경우 또는 반대의 경우에, 뉴클레오티드 오버행이 존재한다. dsRNA는 적어도 하나의 뉴클레오티드의 오버행을 포함할 수 있으며; 대안적으로 오버행은 적어도 2개의 뉴클레오티드, 적어도 3개의 뉴클레오티드, 적어도 4개의 뉴클레오티드, 적어도 5개 또는 그 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 오버행은 데옥시뉴클레오티드/뉴클레오시드를 포함하는 뉴클레오티드/뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 그들의 임의의 조합에 존재할 수 있다. 또한, 오버행의 뉴클레오티드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥 중 어느 하나의 5'-말단, 3'-말단 또는 둘 모두의 말단에 존재할 수 있다.

[0141] 한 구현예에서, dsRNA의 안티센스 가닥은 3'-말단 및/또는 5'-말단에서 1 내지 10개 뉴클레오티드, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드의 오버행을 갖는다. 한 구현예에서, dsRNA의 센스 가닥은 3'-말단 및/또는 5'-말단에서 1 내지 10개 뉴클레오티드, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드의 오버행을 갖는다. 다른 구현예에서, 오버행 내의 하나 이상의 뉴클레오티드는 뉴클레오시드 티오포스페이트로 대체된다.

[0142] 소정 구현예에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥, 또는 둘 다에서의 오버행은 10개 초과 뉴클레오티드의 연장된 길이, 예를 들어, 10 내지 30개 뉴클레오티드, 10 내지 25개 뉴클레오티드, 10 내지 20개 뉴클레오티드 또는 10 내지 15개 뉴클레오티드 길이를 포함할 수 있다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 센스 가닥 상에 있다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 센스 가닥의 3' 말단 상에 존재한다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 센스 가닥의 5' 말단 상에 존재한다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 안티센스 가닥 상에 있다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 안티센스 가닥의 3' 말단 상에 존재한다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행은 듀플렉스의 안티센스 가닥의 5' 말단 상에 존재한다. 소정 구현예에서, 연장된 오버행에서 하나 이상의 뉴클레오티드는 뉴클레오시드 티오포스페이트로 대체된다.

[0143] dsRNA를 참조로 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "블런트(blunt)" 또는 "블런트 말단"은 주어진 dsRNA의 말단에 쌍을 형성하지 않은 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유사체가 존재하지 않음, 즉 뉴클레오티드 오버행이 존재하지 않음을 의미한다. dsRNA의 하나 또는 둘 모두의 말단은 블런트일 수 있다. dsRNA의 둘 모두의 말단이 블런트인 경우, dsRNA는 블런트 말단인 것으로 일컬어진다. 명확히 하기 위해, "블런트 말단" dsRNA는 둘 모두의 말단에서 블런트인, 즉, 분자의 어느 하나의 말단에 뉴클레오티드 오버행이 존재하지 않는 dsRNA이다. 가장 흔하게는, 이러한 분자는 그의 전체 길이에 걸쳐 이중-가닥일 것이다.

[0144] 용어 "안티센스 가닥" 또는 "가이드(가이드) 가닥"은 표적 서열, 예를 들어, ANGPTL3 mRNA에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 가닥을 말한다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "상보성 영역"은 서열, 예를 들어, 표적 서열, 예를 들어, 본원에 정의된 바와 같은 ANGPTL3 뉴클레오티드 서열에 실질적으로 상보적인 안티센스 가닥 상의 영역을 말한다. 상보성 영역이 표적 서열에 완전히 상보적이지 않은 경우, 미스매치(mismatch)가 분자의 내부 또는 말단 영역에 존재할 수 있다. 일반적으로, 대부분의 허용되는 미스매치는 iRNA의 5'- 및/또는 3'-말단의 말단 영역, 예를 들어, 5, 4, 3 또는 2개 뉴클레오티드 내에 존재한다.

[0145] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "센스 가닥" 또는 "패신저(패신저) 가닥"은 그 용어가 본원에 정의된 바와 같은 안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA의 가닥을 말한다.

[0146] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "절단 영역"은 절단 부위에 바로 인접해서 위치하는 영역을 나타낸다. 절단 부위는 절단이 일어나는 표적 상 부위이다. 일부 구현예에서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 한 말단 상의, 및 이에 바로 인접한 3개 염기를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 한 말단 상의, 및 이에 바로 인접한 2개 염기를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단 부위는 안티센스 가닥의 뉴클레오티드 10 및 11에 의해 결합된 부위에서 특이적으로 일어나며, 절단 영역은 뉴클레오티드 11, 12 및 13을 포함한다.

[0147] 본원에 사용되며 달리 나타내지 않는 한, 용어 "상보적인"은 제2 뉴클레오티드 서열에 대해 제1 뉴클레오티드 서열을 설명하기 위해 사용되는 경우에, 당업자가 이해하는 바와 같이, 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리

고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드가 특정 조건 하에서 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드와 혼성화하여 듀플렉스 구조를 형성하는 능력을 말한다. 이러한 조건은, 예를 들어 엄격한 조건일 수 있으며, 여기서, 엄격한 조건은 다음을 포함할 수 있다: 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA로 50 또는 70에서 12 내지 16시간 처리 후 세척(예를 들어, 문헌["Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, *et al.* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press"] 참조). 유기체 내에서 겪을 수 있는 생리학적으로 적절한 조건과 같은 다른 조건도 적용할 수 있다. 당업자는 혼성화된 뉴클레오티드의 궁극적인 응용에 따라 두 서열의 상보성 시험에 가장 적절한 조건 세트를 결정할 수 있을 것이다.

[0148] iRNA 내의, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 dsRNA 내의 상보성 서열은 하나의 또는 둘 모두의 뉴클레오티드 서열의 전장에 걸쳐 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드에 대한 염기쌍 형성을 포함한다. 이러한 서열은 본원에서 서로에 대해 "완전 상보적인" 것으로 지칭될 수 있다. 그러나, 제1 서열이 본원에서 제2 서열에 대해 "실질적으로 상보적인" 것으로 지칭되는 경우, 두 서열은 완전히 상보적일 수도 있고, 또는 그들은 최대 30개의 염기쌍의 듀플렉스에 대하여, 혼성화 시에 1개 이상의, 그러나 일반적으로는 5, 4, 3 또는 2개 이하의 미스매치 염기쌍을 형성하면서 그들의 궁극적 응용에 가장 적절한 조건 하에서 혼성화하는 능력, 예를 들어, RISC 복합체를 통한 유전자 발현의 억제를 보유할 수 있다. 그러나, 2개의 올리고뉴클레오티드가 혼성화 시에 1개 이상의 단일 사슬 오버행을 형성하도록 고안되는 경우, 이러한 오버행은 상보성 결정에 관해 미스매치로 간주되어서는 안된다. 예를 들어, 21개 뉴클레오티드 길이인 하나의 올리고뉴클레오티드 및 23개 뉴클레오티드 길이인 또 다른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 dsRNA에서, 더 긴 올리고뉴클레오티드가 더 짧은 올리고뉴클레오티드에 대해 완전히 상보적인 21개 뉴클레오티드 서열을 포함하는 경우, 본원에 기재된 목적을 위해 여전히 "완전히 상보적인" 것으로 부를 수 있다.

[0149] 본원에 사용되는 "상보적인" 서열은 또한 그들의 혼성화 능력에 대한 상기 요건이 충족되는 한, 비-왓슨-크릭(Watson-Crick)형 염기쌍 및/또는 비자연 및 변형 뉴클레오티드로 형성되는 염기쌍을 포함하거나 또는 전체가 이것으로 형성될 수 있다. 이러한 비-왓슨-크릭형 염기쌍에는 비제한적으로 G:U 유동 또는 후그스테인(Hoogstein) 염기쌍 형성이 포함된다.

[0150] 본원에서 용어 "상보적인", "완전히 상보적인" 및 "실질적으로 상보적인"은 그들이 사용되는 문맥에서 이해되는 바와 같이, dsRNA의 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이, 또는 iRNA 작용제의 안티센스 가닥과 표적 서열 사이의 염기 매칭에 대해 사용할 수 있다.

[0151] 본원에서 사용되는 메신저 RNA(mRNA)의 "적어도 일부에 실질적으로 상보적인" 폴리뉴클레오티드는 대상 mRNA(예를 들어, ANGPTL3을 인코딩하는 mRNA)의 인접 부분에 실질적으로 상보적인 폴리뉴클레오티드를 말한다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는 서열이 ANGPTL3을 인코딩하는 mRNA의 비-단절 부분에 실질적으로 상보적이라면, ANGPTL3 mRNA의 적어도 일부와 상보적이다.

[0152] 따라서 일부 구현예에서, 본원에 개시된 안티센스 가닥 폴리뉴클레오티드는 표적 ANGPTL3 서열과 완전 상보적이다. 다른 구현예에서, 본원에 개시된 안티센스 가닥 폴리뉴클레오티드는 표적 ANGPTL3 서열과 실질적으로 상보적이며 SEQ ID NO:1, 또는 SEQ ID NO:1의 단편의 뉴클레오티드 서열과 동등한 영역에 대해 그 전체 길이에 걸쳐 적어도 약 80% 상보적인, 예컨대 약 85%, 약 86%, 약 87%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상보적인 연속 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0153] 한 구현예에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 안티센스 폴리뉴클레오티드와 실질적으로 상보적인 센스 가닥을 포함하고, 이는 다시 표적 ANGPTL3 서열과 상보적이며, 센스 가닥 폴리뉴클레오티드는 SEQ ID NO:5, 또는 임의의 하나의 SEQ ID NO:5의 단편의 뉴클레오티드 서열과 동등한 영역에 대해 그 전체 길이에 걸쳐 적어도 약 80% 상보적인, 예컨대 약 85%, 약 86%, 약 87%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 상보적인 연속 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "억제하는"은 "감소시키는", "침묵시키는", "하향조절하는", "저해하는" 및 기타 유사 용어와 상호교환가능하게 사용되며, 임의의 수준의 억제를 포함한다.

[0154] 본원에 사용되는 바와 같은 어구 "ANGPTL3의 발현의 억제"는 임의의 ANGPTL3 유전자(예를 들어, 마우스 ANGPTL3 유전자, 랫트 ANGPTL3 유전자, 원숭이 ANGPTL3 유전자 또는 인간 ANGPTL3 유전자), 및 ANGPTL3 단백질을 인코딩하는 ANGPTL3 유전자의 변이체 또는 돌연변이체의 발현의 억제를 포함한다.

[0155] "ANGPTL3 유전자의 발현의 억제"는 ANGPTL3 유전자의 임의의 수준의 억제, 예를 들어, ANGPTL3 유전자의 발현의

적어도 부분적인 억제, 예컨대 적어도 약 20% 억제를 포함한다. 소정 구현예에서, 억제는 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%이다.

[0156] ANGPTL3 유전자의 발현은 ANGPTL3 유전자 발현과 관련된 임의의 변수의 수준, 예를 들어, ANGPTL3 mRNA 수준 또는 ANGPTL3 단백질 수준에 기초하여 평가될 수 있다. ANGPTL3의 발현은 또한 혈청 지질, 트리글리세라이드, 콜레스테롤(LDL-C, HDL-C, VLDL-C, IDL-C 및 총 콜레스테롤), 또는 자유 지방산의 수준에 기초하여 평가될 수 있다. 억제는 대조군 수준에 비한 이들 변수 중 하나 이상의 절대 또는 상대 수준의 감소에 의해 평가될 수 있다. 대조군 수준은 당업계에 사용되는 임의의 유형의 대조군 수준, 예를 들어, 사전-투여 기준선 수준, 또는 처리되지 않거나 대조군(예를 들어, 단독의 완충제 대조군 또는 불활성 제제 대조군)으로 처리된 유사한 대상체, 세포 또는 샘플로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0157] 한 구현예에서, ANGPTL3 유전자의 발현의 적어도 부분적 저해는 ANGPTL3 유전자가 전사되며, 제1 세포 또는 세포의 그룹과 실질적으로 동일하지만, 그렇게 처리되지 않은 제2 세포 또는 세포의 그룹(대조군 세포)에 비하여, ANGPTL3 유전자의 발현이 억제되도록 처리된 제1 세포 또는 세포의 그룹으로부터 분리되거나 그에서 검출될 수 있는 ANGPTL3 mRNA의 양의 감소에 의해 평가된다. 억제의 정도는 다음과 같이 표현될 수 있다:

[0158] $$\frac{(\text{대조군 세포에서의 mRNA}) - (\text{처리된 세포에서의 mRNA})}{(\text{대조군 세포에서의 mRNA})} \bullet 100\%$$

[0159] 본원에 사용되는 바와 같은 어구, dsRNA와 같은 "RNAi 작용제와 세포를 접촉시키는"은 임의의 가능한 수단에 의해 세포를 접촉시키는 것을 포함한다. 세포를 RNAi 작용제와 접촉시키는 것은 시험관내에서 세포를 iRNA와 접촉시키는 것, 또는 생체내에서 세포를 iRNA와 접촉시키는 것을 포함한다. 접촉은 직접적으로 또는 간접적으로 행해질 수 있다. 따라서, 예를 들어, RNAi 작용제는 개별적인 수행 방법에 의해 세포와 물리적으로 접촉하게 될 수 있고, 또는 대안적으로, RNAi 작용제는 그것이 결과적으로 세포와 접촉하게 허용하거나, 그와 접촉하게 할 상황에 놓일 수 있다.

[0160] 시험관내에서의 세포의 접촉은 예를 들어, 세포를 RNAi 작용제와 인큐베이션시킴으로써 행해질 수 있다. 생체내에서의 세포의 접촉은 예를 들어, 세포가 위치한 조직으로 또는 그 근처로의 RNAi 작용제의 주입에 의해, 또는 작용제가 이후에 접촉될 세포가 위치하는 조직에 도달하도록, 기타 영역, 예를 들어, 혈류 또는 피하 공간으로의 RNAi 작용제의 주입에 의해 행해질 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는 리간드, 예를 들어, RNAi 작용제를 대상 위치, 예를 들어, 간으로 지향시키는 GalNAc3를 함유하고/거나 그에 커플링될 수 있다. 시험관내 및 생체내 접촉 방법의 병용도 또한 가능하다. 예를 들어, 세포는 또한 시험관내에서 RNAi 작용제와 접촉되고, 이후에 대상체 내로 이식될 수 있다.

[0161] 한 구현예에서, 세포와 iRNA의 접촉은 세포로의 흡수(uptake 또는 absorption)를 용이하게 하거나 초래함에 의한 "iRNA의 세포 내로의 전달" 또는 "도입"을 포함한다. iRNA의 흡수는 비보조 확산 또는 능동 세포 과정을 통해, 또는 보조제 또는 보조 장치에 의해 발생할 수 있다. iRNA의 세포로의 도입은 시험관내 및/또는 생체내에서 이루어질 수 있다. 예를 들어, 생체내 도입을 위하여, iRNA는 조직 부위 내로 주입되거나 전신 투여될 수 있다. 생체내 전달은 또한 베타-글루칸 전달 시스템, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,032,401호 및 5,607,677호, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0281781호에 기재된 것들에 의해 행해질 수 있으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다. 세포 내로의 시험관내 도입은 당업계에 공지되어 있는 방법, 예를 들어, 전기천공(electroporation) 및 리포펙션(lipofection)을 포함한다. 추가의 방법은 본원에서 하기에 기재되고/거나 당업계에 공지되어 있다.

[0162] 용어 "지질 나노입자" 또는 "LNP"는 약제학적 활성 분자, 예를 들어, 핵산 분자, 예를 들어, iRNA 또는 iRNA가 전사되는 플라스미드를 피막화하는 지질층을 포함하는 소낭(vesicle)이다. LNP는 예를 들어, 미국 특허 번호 6,858,225호, 6,815,432호, 8,158,601호 및 8,058,069호에 기재되며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0163] 본원에 사용되는 바와 같이, "대상체"는 동물, 예를 들어, 영장류(예를 들어, 인간, 비인간 영장류, 예를 들어, 원숭이 및 침팬지), 비-영장류(예를 들어, 소, 돼지, 낙타, 라마, 말, 염소, 토끼, 양, 햄스터, 기니피그(guinea pig), 고양이, 개, 랫트, 마우스, 말 및 고래) 또는 조류(예를 들어, 오리 또는 거위)를 포함하는 포유동물이다. 한 구현예에서, 대상체는 인간, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 ANGPTL3 발현의 감소로 효과를

얻을 질병, 장애 또는 질환을 위해 치료 중이거나 이에 대해 평가된 인간; ANGPTL3 발현의 감소로 효과를 얻을 질병, 장애 또는 질환의 위험이 있는 인간; ANGPTL3 발현의 감소로 효과를 얻을 질병, 장애 또는 질환이 있는 인간; 및/또는 ANGPTL3 발현의 감소로 효과를 얻을 질병, 장애 또는 질환에 대하여 치료 중인 인간이다.

[0164] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 대상체에서 트리글리세라이드의 수준 저하를 포함하는 유익하거나 요망되는 결과를 나타낸다. 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 비제한적으로 지질 대사 장애의 하나 이상의 증상의 경감 또는 완화, 예컨대 발진 황색종의 크기 감소를 또한 포함한다. 또한, "치료"는 치료의 부재하의 예상되는 생존에 대비한 생존 연장을 의미할 수 있다.

[0165] 질병 마커 또는 증상의 맥락에서 "저하한다"는 이러한 수준의 통계적으로 유의미한 감소를 의미한다. 감소는 예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 그 이상일 수 있으며, 바람직하게는 이러한 장애가 없는 개체에 대한 정상 범위 내와 같이 허용되는 수준까지 감소된다.

[0166] 본원에 사용되는 바와 같이, ANGPTL3 유전자의 발현의 감소로부터 효과를 얻을 질병, 장애 또는 이의 질환에 관하여 사용되는 경우, "예방" 또는 "예방하는"은 대상체에서의 이러한 질병, 장애 또는 질환과 연련된 증상, 예를 들어, 높은 트리글리세라이드 수준 또는 발진 황색종이 발생할 가능성의 감소를 말한다. 예를 들어, 높은 트리글리세라이드 수준 또는 발진 황색종에 대해 하나 이상의 위험 인자를 갖는 개체에서 높은 트리글리세라이드 수준 또는 발진 황색종이 발생하지 않거나, 동일한 위험 인자를 갖고 본원에 기재된 바와 같은 치료를 제공받지 않는 개체군에 비하여 더 낮은 중증도로 높은 트리글리세라이드 수준 또는 발진 황색종이 발생하는 경우, 높은 트리글리세라이드 수준 또는 발진 황색종의 발생 가능성은 감소된다. 질병, 장애 또는 질환의 발생 실패, 또는 이러한 질병, 장애 또는 질환과 연련된 증상의 발생 감소(예를 들어, 그 질병 또는 장애에 대하여 임상적으로 허용되는 척도 상에서 적어도 약 10%), 또는 지연된(예를 들어, 수 일, 수 주, 수 개월 또는 수 년) 증상의 표시는 효과적인 예방으로 여겨진다.

[0167] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "혈청 지질"은 혈중 존재하는 임의의 주요 지질을 나타낸다. 혈청 지질은 자유 형태로 또는 단백질 복합체, 예를 들어, 지단백질 복합체의 일부로서 혈중 존재할 수 있다. 혈청 지질의 비제한적 예는 트리글리세라이드 및 콜레스테롤, 예컨대 총 콜레스테롤(TG), 저밀도 지단백질 콜레스테롤(LDL-C), 고밀도 지단백질 콜레스테롤(HDL-C), 초저밀도 지단백질 콜레스테롤(VLDL-C) 및 중밀도 지단백질 콜레스테롤(IDL-C)을 포함할 수 있다.

[0168] 본원에 사용되는 바와 같은, "지질 대사 장애"는 지질 대사 교란과 연관되거나 이에 의해 유도되는 임의의 장애를 나타낸다. 예를 들어, 상기 용어는 고지질혈증, 또는 혈중 임의의 또는 모든 지질 및/또는 지단백질 수준의 비정상적 상승을 특징으로 하는 질환으로 이어질 수 있는 임의의 장애, 질병 또는 질환을 포함한다. 상기 용어는 유전 장애, 예컨대 선천성 고트리글리세라이드혈증, 선천성 부분 지방이상증 1형(FPLD1), 또는 유도된 또는 후천성 장애, 예컨대 질병, 장애 또는 질환(예를 들어, 신부전), 식이, 또는 소정 약물의 섭취 결과(예를 들어, AIDS 또는 HIV를 치료하기 위해 이용된 고활성 항-레트로바이러스 치료법(HAART) 결과) 유도된 또는 후천성 장애를 나타낸다. 지질 대사의 예시적 장애는 비제한적으로 죽상동맥경화증, 이상지질혈증, 고트리글리세라이드혈증(약물-유도 고트리글리세라이드혈증, 이뇨제-유도 고트리글리세라이드혈증, 알코올-유도 고트리글리세라이드혈증, β-아드레날린성 차단제-유도 고트리글리세라이드혈증, 에스트로겐-유도 고트리글리세라이드혈증, 글루코코르티코이드-유도 고트리글리세라이드혈증, 레티노이드-유도 고트리글리세라이드혈증, 시메티딘-유도 고트리글리세라이드혈증, 및 선천성 고트리글리세라이드혈증 포함), 고트리글리세라이드혈증과 연관된 급성 췌장염, 암죽미립 증후군, 선천성 암죽미립혈증, Apo-E 결핍증 또는 내성, LPL 결핍증 또는 저활성, 고지질혈증(선천성 복합 고지질혈증 포함), 고콜레스테롤혈증, 고콜레스테롤혈증과 연관된 통풍, 황색종증(피하 콜레스테롤 침적), 이질성 LPL 결핍증을 갖는 고지질혈증, 및 고 LDL 및 이질성 LPL 결핍증을 갖는 고지질혈증을 포함한다.

[0169] 지질 대사 장애와 연관된 심혈관 질병도 본원에서 정의된 바와 같은 "지질 대사 장애"로 간주된다. 이러한 질병은 관상 동맥 질병(허혈성 심장병으로도 불림), 관상 동맥 질병과 연관된 염증, 재협착, 말초 혈관 질병, 및 뇌졸중을 포함할 수 있다.

[0170] 체중에 관련된 장애도 본원에서 정의된 바와 같은 "지질 대사 장애"로 간주된다. 이러한 장애는 비만, 대사 증후군의 독립적 성분(예를 들어, 중추 비만, FBG/전-당뇨병/당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 고트리글리세라이드혈증, 및 고혈압)을 포함하는 대사 증후군, 갑상선저하증, 요독증, 및 체중 증가와 연관된 다른 질환(급격한 체중 증가 포함), 체중 감소, 체중 감소의 유지, 또는 체중 감소 후 체중 재증가 위험을 포함할 수 있다.

[0171] 혈당 장애가 본원에서 정의된 바와 같은 "지질 대사 장애"로 추가 간주된다. 이러한 장애는 당뇨병, 고혈압, 및

인슐린 내성과 관련된 다낭 난소 증후군을 포함할 수 있다. 다른 예시적 지질 대사 장애는 또한 신장 이식, 신장 증후군, 쿠싱 증후군, 말단비대증, 전신 홍반성 루푸스, 이상글로불린혈증, 지방이상증, 글리코겐증 I형, 및 애디슨병을 포함할 수 있다.

[0172] 본원에 사용되는 바와 같은 "치료적 유효량"은 지질 대사 장애를 갖는 대상체에게 투여되는 경우,(예를 들어, 존재하는 질병 또는 질병의 하나 이상의 증상을 감소시키거나, 개선하거나, 유지함으로써) 질병의 치료를 야기하기에 충분한 RNAi 작용제의 양을 포함하는 것으로 의도된다. "치료적 유효량"은 RNAi 작용제, 작용제가 투여되는 방법, 질병 그의 중증도 및 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전자 구성, 선행 또는 동반 치료의 유형, 필요에 따라 치료할 대상체의 다른 개별 특징에 따라 달라질 수 있다.

[0173] 본원에 사용되는 바와 같은 "예방적 유효량"은 지질 대사 장애를 갖는 대상체에게 투여되는 경우, 질병 또는 질병의 하나 이상의 증상을 예방하거나 개선하기에 충분한 iRNA의 양을 포함하는 것으로 의도된다. 질병의 개선은 질병의 전개를 늦추거나 이후에 발생하는 질병의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. "예방적 유효량"은 iRNA, 작용제가 투여되는 방법, 질병의 위험도 및 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전자 구성, 선행 또는 동반 치료의 유형, 필요에 따라, 치료할 환자의 다른 개별적 특징에 따라 달라질 수 있다.

[0174] "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"은 또한, 임의의 치료에 적용가능한 합리적인 이익/위험 비율로 일부 요망되는 국소 또는 전신 효과를 생성하는 RNAi 작용제의 양을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용되는 iRNA는 이러한 치료에 적용가능한 합리적인 이익/위험 비율을 생성하기에 충분한 양으로 투여될 수 있다.

[0175] 어구 "약제학적으로 허용되는"은 타당한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 이익/위험 비율에 상응하여 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 대상체 및 동물 대상체의 조직과 접촉시켜 사용하기에 적합한 이들 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 언급하기 위해서 본원에서 사용된다.

[0176] 본원에 사용되는 바와 같은 어구 "약제학적으로 허용되는 담체"는 대상 화합물을 한 기관 또는 신체의 부분으로부터 또다른 기관 또는 신체의 부분으로 운반하거나 수송하는데 관여하는 약제학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 제조 보조제(예컨대, 윤활제, 활석 마그네슘, 칼슘 또는 아연 스테아레이트, 또는 스테아르산), 또는 물질 피막화 용매를 의미한다. 각각의 담체는 제형의 다른 성분과의 상용성의 의미에서 "허용되는" 것임이 분명하며, 치료할 대상체에게 유해하지 않다. 약제학적으로 허용되는 담체로서 작용할 수 있는 물질의 몇몇 예는 (1) 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; (2) 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; (3) 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; (4) 분말화된 트라가칸트; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 윤활제, 예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 라우릴 설페이트 및 활석; (8) 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제 왁스; (9) 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 홍화씨유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; (10) 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; (11) 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; (12) 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및 에틸 라우레이트; (13) 한천; (14) 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; (15) 알긴산; (16) 피로겐-무함유 수; (17) 등장성 염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알콜; (20) pH 완충 용액; (21) 폴리에스테르, 폴리카르보네이트 및/또는 폴리무수물; 및 (22) 증량제, 예를 들어, 폴리펩티드 및 아미노산; (23) 혈청 성분, 예를 들어, 혈청 알부민, HDL 및 LDL; 및 (22) 약제학적 제형에 사용되는 다른 무독성 상용성 물질을 포함한다.

[0177] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "샘플"은 대상체로부터 분리된 유사한 유체, 세포 또는 조직의 집합물, 및 대상체 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직을 포함한다. 생물학적 유체의 예에는 혈액, 혈청 및 장액, 혈장, 뇌척수액, 안구 유체, 림프액, 소변, 타액 등이 포함된다. 조직 샘플은 조직, 기관 또는 국소화 영역 유래의 샘플을 포함할 수 있다. 예를 들어, 샘플은 특정 기관, 기관의 부분 또는 그들 기관 내의 유체 또는 세포로부터 유래될 수 있다. 특정 구현예에서, 샘플은 간으로부터 유래될 수 있다(예를 들어, 전체 간 또는 간의 특정 세그먼트 또는 간 내의 특정 유형의 세포, 예를 들어, 간세포). 일부 구현예에서, "대상체로부터 유래된 샘플"은 대상체로부터 빼낸 혈액 또는 혈장을 말한다.

[0178] **II. 본 발명의 iRNA**

[0179] ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 iRNA가 본원에 기재된다. 한 구현예에서, iRNA 작용제는 세포, 예를 들어, 대상체, 예를 들어, 포유동물, 예를 들어, 지질 대사 장애, 예를 들어, 선천성 고지질혈증을 갖는 인간 내의 세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하기 위한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA) 분자를 포함한다. dsRNA는 ANGPTL3 유전자의 발현에서 형성되는 mRNA의 적어도 일부와 상보적인 상보성 영역을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 상

보성 영역은 약 30개 이하의 뉴클레오티드 길이(예를 들어, 약 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19 또는 18개 이하의 뉴클레오티드 길이)이다. iRNA는 ANGPTL3 유전자를 발현하는 세포와의 접촉시에, 예를 들어, PCR 또는 분지형 DNA(bDNA)-기반의 방법에 의해 또는 단백질-기반의 방법에 의해, 예를 들어, 웨스턴 블로팅(Western Blotting) 또는 유세포측정 기술을 사용하는 면역형광 분석에 의해 검정시 ANGPTL3 유전자(예를 들어, 인간, 영장류, 비-영장류 또는 조류 ANGPTL3 유전자)의 발현을 적어도 약 10% 억제한다.

[0180] dsRNA는, 상보적이며 혼성화되어, dsRNA가 사용될 조건 하에서 듀플렉스 구조를 형성하는 2개의 RNA 가닥을 포함한다. dsRNA의 한 가닥(안티센스 가닥)은 표적 서열에 실질적으로 상보적이며, 일반적으로 완전히 상보적인 상보성 영역을 포함한다. 표적 서열은 ANGPTL3 유전자의 발현 동안 형성되는 mRNA의 서열로부터 유래될 수 있다. 다른 가닥(센스 가닥)은 안티센스 가닥과 상보적인 영역을 포함하여, 적절한 조건 하에서 조합되는 경우, 두 가닥이 혼성화하고 듀플렉스 구조를 형성하게 한다. 본원에서 다른 곳에 기재되고 당업계에 공지된 바와 같이, dsRNA의 상보성 서열은 또한 개별 올리고뉴클레오티드 상에 존재하는 것과 대조적으로 단일의 핵산 분자의 자가-상보성 영역으로서 포함될 수 있다.

[0181] 일반적으로, 듀플렉스 구조는 15 내지 30개 염기쌍 길이, 예를 들어, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24,20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23 또는 21 내지 22개 염기쌍 길이이다. 상기 언급된 범위 및 길이에 대한 중간의 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.

[0182] 유사하게, 표적 서열의 상보성 영역은 15 내지 30개 뉴클레오티드 길이, 예를 들어, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23 또는 21 내지 22개 뉴클레오티드 길이이다. 상기 언급된 범위 및 길이의 중간의 범위 및 길이도 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.

[0183] 일부 구현예에서, dsRNA는 약 15 내지 약 23개 뉴클레오티드 길이, 또는 약 25 내지 약 30개 뉴클레오티드 길이이다. 일반적으로, dsRNA는 Dicer 효소를 위한 기질로 삼기에 충분히 길다. 예를 들어, 약 21 내지 23개 뉴클레오티드 길이보다 더 긴 dsRNA가 Dicer를 위한 기질로 작용할 수 있음이 당업계에 널리 공지되어 있다. 또한, 당업자가 인식할 것처럼, 절단을 위해 표적화된 RNA의 영역은 흔하게는 보다 큰 RNA 분자, 종종 mRNA 분자의 부분일 것이다. 적절한 경우, mRNA 표적의 "부분"은 RNAi-유도 절단(즉, RISC 경로를 통한 절단)을 위한 기질이 되기에 충분한 길이의 mRNA 표적의 연속 서열이다.

[0184] 또한, 당업자는 듀플렉스 영역이 dsRNA의 일차 기능성 부분, 예를 들어, 약 9 내지 36개 염기쌍, 예를 들어, 약 10 내지 36, 11 내지 36, 12 내지 36, 13 내지 36, 14 내지 36, 15 내지 36, 9 내지 35, 10 내지 35, 11 내지 35, 12 내지 35, 13 내지 35, 14 내지 35, 15 내지 35, 9 내지 34, 10 내지 34, 11 내지 34, 12 내지 34, 13 내지 34, 14 내지 34, 15 내지 34, 9 내지 33, 10 내지 33, 11 내지 33, 12 내지 33, 13 내지 33, 14 내지 33, 15 내지 33, 9 내지 32, 10 내지 32, 11 내지 32, 12 내지 32, 13 내지 32, 14 내지 32, 15 내지 32, 9 내지 31, 10 내지 31, 11 내지 31, 12 내지 31, 13 내지 32, 14 내지 31, 15 내지 31, 15 내지 30, 15 내지 29, 15 내지 28, 15 내지 27, 15 내지 26, 15 내지 25, 15 내지 24, 15 내지 23, 15 내지 22, 15 내지 21, 15 내지 20, 15 내지 19, 15 내지 18, 15 내지 17, 18 내지 30, 18 내지 29, 18 내지 28, 18 내지 27, 18 내지 26, 18 내지 25, 18 내지 24, 18 내지 23, 18 내지 22, 18 내지 21, 18 내지 20, 19 내지 30, 19 내지 29, 19 내지 28, 19 내지 27, 19 내지 26, 19 내지 25, 19 내지 24, 19 내지 23, 19 내지 22, 19 내지 21, 19 내지 20, 20 내지 30, 20 내지 29, 20 내지 28, 20 내지 27, 20 내지 26, 20 내지 25, 20 내지 24, 20 내지 23, 20 내지 22, 20 내지 21, 21 내지 30, 21 내지 29, 21 내지 28, 21 내지 27, 21 내지 26, 21 내지 25, 21 내지 24, 21 내지 23 또는 21 내지 22개 염기쌍의 듀플렉스 영역임을 인식할 것이다. 따라서, 한 구현예에서, 예를 들어, 15

내지 30개 염기쌍의 기능성 듀플렉스로 처리되고, 절단을 위해 요망되는 RNA를 표적으로 하는 한, 30개 초과의 염기쌍의 듀플렉스 영역을 갖는 RNA 분자 또는 RNA 분자의 복합체는 dsRNA이다. 따라서, 당업자는 한 구현예에서, miRNA가 dsRNA임을 인식할 것이다. 다른 구현예에서, dsRNA는 자연 발생 miRNA가 아니다. 다른 구현예에서, ANGPTL3 발현을 표적으로 하는데 유용한 iRNA 작용제는 보다 큰 dsRNA의 절단에 의해 표적 세포에서 생성되지 않는다.

[0185] 본원에 기재된 바와 같은 dsRNA는 하나 이상의 단일 가닥 뉴클레오티드 오버행, 예를 들어, 1, 2, 3 또는 4개 뉴클레오티드를 추가로 포함할 수 있다. 적어도 하나의 뉴클레오티드 오버행을 갖는 dsRNA는 그들의 블런트-말단 대응부에 비하여 예상치 않게 뛰어난 억제 특성을 가질 수 있다. 뉴클레오티드 오버행은 데옥시뉴클레오티드/뉴클레오시드를 포함하는 뉴클레오티드/뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 그들의 임의의 조합 상에 존재할 수 있다. 추가로, 오버행의 뉴클레오티드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥 중 어느 하나의 5'-말단, 3'-말단 또는 둘 모두의 말단에 존재할 수 있다.

[0186] dsRNA는 하기에 추가로 논의된 바와 같이, 예를 들어, Biosearch, Applied Biosystems, Inc로부터 상업적으로 입수가능한 자동화 DNA 합성기의 사용에 의해 당업계에 공지되어 있는 표준 방법에 의해 합성될 수 있다.

[0187] 본 발명의 iRNA 화합물은 2-단계 절차를 사용하여 제조될 수 있다. 먼저, 이중 가닥 RNA 분자의 개별 가닥을 따로 제조한다. 그 다음, 컴포넌트(component) 가닥을 어닐링시킨다. siRNA 화합물의 개별 가닥은 용액-상 또는 고체-상 유기 합성 또는 둘 모두를 사용하여 제조될 수 있다. 유기 합성은 비자연 또는 변형 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 가닥이 용이하게 제조될 수 있는 이점을 제공한다. 본 발명의 단일 가닥 올리고뉴클레오티드는 용액-상 또는 고체-상 유기 합성 또는 둘 모두를 사용하여 제조될 수 있다.

[0188] 한 양태에서, 본 발명의 dsRNA는 적어도 2개 뉴클레오티드 서열, 센스 서열 및 안티-센스 서열을 포함한다. 센스 가닥 서열은 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 임의의 하나에 제공되는 서열 군으로부터 선택되며 센스 가닥의 안티센스 가닥의 대응하는 뉴클레오티드 서열은 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 어느 하나의 서열 군으로부터 선택된다. 상기 양태에서, 두 서열 중 하나는 두 서열 중 다른 하나와 상보적이며, 서열 중 하나는 ANGPTL3 유전자의 발현에서 생성되는 mRNA 서열과 실질적으로 상보적이다. 이와 같이, 상기 양태에서, dsRNA는 두 올리고뉴클레오티드를 포함할 것이며, 여기서 하나의 올리고뉴클레오티드는 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 임의의 하나에서 센스 가닥(패신저 가닥)으로 기재되고 제2 올리고뉴클레오티드는 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 임의의 하나에서 센스 가닥의 대응하는 안티센스 가닥(가이드 가닥)으로 기재된다. 한 구현예에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열은 별도의 올리고뉴클레오티드 상에 함유된다. 다른 구현예에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열은 단일 올리고뉴클레오티드 상에 함유된다.

[0189] 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B에서의 서열이 변형된, 변형되지 않은, 컨쥬게이트되지 않은 및/또는 컨쥬게이트된 서열로 기재되더라도, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예를 들어, 본 발명의 dsRNA는 여기에 기재된 것과 상이하게 변형되지 않은, 컨쥬게이트되지 않은, 및/또는 변형된 및/또는 컨쥬게이트된 표 2A, 2B, 4A, 4B, 5, 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10A, 10B, 13A, 13B, 14, 15A, 및 15B 중 임의의 하나에 나타낸 서열 중 임의의 하나를 포함할 수 있다.

[0190] 다른 양태에서, ANGPTL3의 발현을 억제하기 위한 본 발명의 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되며, 여기서 센스 가닥은 뉴클레오티드 서열 5'-usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96-3'을 포함하고, 안티센스 가닥은 뉴클레오티드 서열 5'-asusUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa-3'을 포함하거나; 센스 가닥은 뉴클레오티드 서열 5'-gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96-3'을 포함하고, 안티센스 가닥은 뉴클레오티드 서열 usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu를 포함한다.

[0191] 당업자는 약 20 내지 23개 염기쌍, 예를 들어, 21개 염기쌍의 듀플렉스 구조를 갖는 dsRNA가 RNA 간섭을 유도하는데 특히 효율적인 것으로 설명되는 것을 잘 알고 있다(문헌[Elbashir *et al.*, (2001) *EMBO J.*, 20:6877-6888]). 그러나, 다른 이들은 보다 짧거나 보다 긴 RNA 듀플렉스 구조도 또한 효율적인 것을 발견하였다(문헌[Chu and Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719]; 문헌[Kim *et al.* (2005) *Nat Biotech* 23:222-226]). 상기 기재된 구현예에서, 본원에 제공된 올리고뉴클레오티드 서열의 성질 때문에, 본원에 기재된 dsRNA는 최소 21개 뉴클레오티드의 길이의 적어도 하나의 가닥을 포함할 수 있다. 하나 또는 둘 모두의 말단 상의 소수의 뉴클레오티드만을 제한 보다 짧은 듀플렉스가 상기 기재된 dsRNA와 비교하여 유사하게 효율적인 것이 타당하게 예상될 수

있다. 따라서, 본원에 제공된 서열 중 하나로부터 유래된 적어도 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의 연속 뉴클레오티드의 서열을 가지며, ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 그들의 능력이 완전한 서열을 포함하는 dsRNA와 약 5, 10, 15, 20, 25 또는 30% 이하의 억제만큼 상이한 dsRNA가 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 고려된다.

[0192] 또한, 본원에 기재된 RNA에서 RISC-매개의 절단에 감수성인 ANGPTL3 전사물 내의 부위(들)를 확인한다. 이와 같이, 본 발명은 상기 부위(들) 내에서 표적화되는 iRNA를 추가로 특징으로 한다. 본원에 사용된 바와 같이, iRNA는 iRNA가 특정 부위 내의 어디든 전사물의 절단을 조장한다면, RNA 전사물의 특정 부위 내에서 표적화되는 것으로 불린다. 이러한 iRNA는 일반적으로 ANGPTL3 유전자 내의 선택된 서열과 인접한 영역으로부터 취한 추가의 뉴클레오티드 서열에 커플링된 본원에 제공되는 서열 중 하나로부터의 적어도 약 15개 연속 뉴클레오티드를 포함할 것이다.

[0193] 표적 서열은 일반적으로 약 15 내지 30개의 뉴클레오티드 길이이나, 임의의 제공된 표적 RNA의 절단을 유도하기 위한 상기 범위 내의 특정 서열의 적합성에서의 광범위한 변화가 존재한다. 본원에 나열된 다양한 소프트웨어 패키지 및 지침이 임의의 제공된 유전자 표적에 대한 최적의 표적 서열의 확인을 위한 안내를 제공하나, 제공된 크기(비제한적인 예로, 21개의 뉴클레오티드)의 "윈도우(window)" 또는 "마스크(mask)"를 표적 RNA 서열 상에 글자 그대로 또는 상징적으로(예를 들어, 인 실리코(in silico)를 포함함) 위치시켜, 표적 서열로 작용할 수 있는 크기 범위 내의 서열을 확인하는 경험적 방법이 또한 수행될 수 있다. 서열 "윈도우"를 최초 표적 서열 위치에서 하나의 뉴클레오티드만큼 업스트림 또는 다운스트림으로 점진적으로 이동시킴으로써, 선택된 임의의 제공된 표적 크기에 대해 가능한 서열의 완전한 세트가 확인될 때까지 다음의(next) 잠재적 표적 서열이 확인될 수 있다. 최적으로 작용하는 상기 서열을 확인하기 위한 확인된 서열(본원에 기재되어 있거나 당 분야에 공지된 바와 같은 검정을 이용함)의 체계적 합성 및 시험과 커플링된 상기 과정은 iRNA 작용제로 표적화되는 경우 표적 유전자 발현의 최적 억제를 매개하는 RNA 서열을 확인할 수 있다. 따라서, 본원에서 확인된 서열이 효과적인 표적 서열이나, 동등하거나 보다 나은 억제 특징을 갖는 서열을 확인하기 위해 하나의 뉴클레오티드만큼 제공된 서열의 업스트림 또는 다운스트림으로 점진적으로 "윈도우를 보행(walking the window)"시킴으로써 억제 효능의 추가 최적화가 달성될 수 있음이 고려된다.

[0194] 추가로, 본원에서 확인된 임의의 서열에 대해 보다 길거나 보다 짧은 서열을 생성시키기 위해 뉴클레오티드를 체계적으로 추가하거나 제거하고, 상기 지점으로부터 표적 RNA 위 또는 아래로 상기보다 길거나 짧은 크기의 윈도우를 보행시킴으로써 생성된 서열을 시험함으로써 추가 최적화가 달성될 수 있음이 고려된다. 또한, 새로운 후보 표적을 생성시키기 위한 상기 방법과 당 분야에 공지되어 있고/거나 본원에 기재된 바와 같은 억제 검정에서의 표적 서열에 기초하는 iRNA의 효과에 대한 시험을 커플링시키는 것은 억제의 효율에서의 추가의 개선을 발생시킬 수 있다. 추가로 또한, 상기 최적화된 서열은, 예를 들어, 본원에 기재되고/거나 당 분야에 공지된 바와 같은 변형된 뉴클레오티드의 도입, 오버행 내의 추가 또는 변화, 또는 발현 억제제로서 분자를 추가로 최적화(예를 들어, 혈청 안정성 또는 순환 반감기 증가, 열 안정성 증가, 막횡단 전달 향상, 특정 위치 또는 세포 유형으로의 표적화, 침묵화 경로 효소와의 상호작용 증가, 엔도솜으로부터의 방출 증가)시키기 위한 당 분야에 공지되고/되거나 본원에 논의된 바와 같은 다른 변형에 의해 조정될 수 있다.

[0195] 본원에 기재된 바와 같은 iRNA 작용제는 표적 서열에 대한 하나 이상의 미스매치를 함유할 수 있다. 한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 iRNA는 3개 이하의 미스매치를 함유한다. iRNA의 안티센스 가닥이 표적 서열에 대한 미스매치를 함유하는 경우, 미스매치의 영역이 상보성 영역의 중심에 위치되지 않는 것이 바람직하다. iRNA의 안티센스 가닥이 표적 서열에 대한 미스매치를 함유하는 경우, 미스매치가 상보성 영역의 5' 또는 3' 말단으로부터 마지막 5개의 뉴클레오티드 내에 존재하도록 제한되는 것이 바람직하다. 예를 들어, 23개 뉴클레오티드 iRNA 작용제에 있어서, ANGPTL3 유전자의 영역과 상보적인 가닥은 일반적으로 중심 13개의 뉴클레오티드 내에 어떠한 미스매치를 함유하지 않는다. 본원에 기재된 방법 또는 당 분야에 공지된 방법은 표적 서열에 대한 미스매치를 함유하는 iRNA가 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제시키는데 효과적인지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 특히, ANGPTL3 유전자 내의 특정 상보성 영역이 집단 내의 다형 서열 변화를 갖는 것으로 공지된 경우에 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는데 있어서 미스매치를 갖는 iRNA의 효능의 고려가 중요하다.

[0196] **III. 본 발명의 변형된 iRNA**

[0197] 한 구현예에서, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예를 들어, dsRNA는 변형되지 않으며, 예를 들어, 당업계에 공지되어 있고 본원에 기재되어 있는 화학적 변형 및/또는 컨쥬게이션을 포함하지 않는다. 다른 구현예에서, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예를 들어, dsRNA는 안정성 또는 다른 유익한 특징을 증진시키기 위해 화학적으로 변형된다. 본 발

명의 소정 구현예에서, 본 발명의 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 변형된다. 본 발명의 다른 구현예에서, 본 발명의 iRNA의 모든 뉴클레오티드는 변형된다. "실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된" 본 발명의 iRNA는 대부분이 변형되지만 전체 변형된 것은 아니며, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 변형되지 않은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0198] 본 발명에서 특성화된 핵산은 참조로서 본원에 포함되는 문헌["Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. *et al.* (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA]에 기재된 것과 같은 당 분야에서 널리 확립된 방법에 의해 합성되고/되거나 변형될 수 있다. 변형은, 예를 들어, 말단 변형, 예를 들어, 5' 말단 변형(인산화, 컨쥬게이션, 역전된 결합 등), 3' 말단 변형(컨쥬게이션, DNA 뉴클레오티드, 역전된 결합 등); 염기 변형, 예를 들어, 안정화 염기, 불안정화 염기, 또는 파트너의 연장된 레퍼토리, 염기의 제거(무염기 뉴클레오티드), 또는 컨쥬게이트된 염기와 염기쌍을 형성하는 염기를 이용한 대체; 당 변형(예를 들어, 2' 위치 또는 4' 위치에서의 변형) 또는 당의 대체; 및/또는 포스포디에스테르 결합의 변형 또는 대체를 포함하는 백본 변형을 포함한다. 본원에 기재된 구현예에서 유용한 iRNA 화합물의 특이적 예는 변형된 백본 또는 비-자연 뉴클레오시드간 결합을 함유하는 RNA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 변형된 백본을 갖는 RNA는 특히 백본 내에 인 원자를 갖지 않는 것을 포함한다. 본원의 목적상, 당 분야에 때때로 언급되는 바와 같이, 뉴클레오시드간 백본에서 인 원자를 갖지 않는 변형된 RNA가 또한 올리고뉴클레오시드인 것으로 간주될 수 있다. 일부 구현예에서, 변형된 iRNA는 그의 뉴클레오시드간 백본에서 인 원자를 가질 것이다.

[0199] 변형된 RNA 백본은, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 메틸 및 다른 알킬 포스포네이트, 예를 들어, 3'-알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트, 포스피네이트, 포스포르아미데이트, 예를 들어, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상 3'-5' 결합을 갖는 보라노포스페이트, 이들의 2'-5' 연결된 유사체, 및 역전된 극성을 갖는 것을 포함하며, 여기서 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍은 3'-5' 대 5'-3' 또는 2'-5' 대 5'-2'로 연결된다. 다양한 염, 혼합된 염 및 자유산 형태가 또한 포함된다.

[0200] 상기 인-함유 결합의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 각각의 전문이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 3,687,808호; 4,469,863호; 4,476,301호; 5,023,243호; 5,177,195호; 5,188,897호; 5,264,423호; 5,276,019호; 5,278,302호; 5,286,717호; 5,321,131호; 5,399,676호; 5,405,939호; 5,453,496호; 5,455,233호; 5,466,677호; 5,476,925호; 5,519,126호; 5,536,821호; 5,541,316호; 5,550,111호; 5,563,253호; 5,571,799호; 5,587,361호; 5,625,050호; 6,028,188호; 6,124,445호; 6,160,109호; 6,169,170호; 6,172,209호; 6,239,265호; 6,277,603호; 6,326,199호; 6,346,614호; 6,444,423호; 6,531,590호; 6,534,639호; 6,608,035호; 6,683,167호; 6,858,715호; 6,867,294호; 6,878,805호; 7,015,315호; 7,041,816호; 7,273,933호; 7,321,029호; 및 미국 특허 RE39464호를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0201] 인 원자를 포함하지 않는 변형된 RNA 백본은 짧은 사슬 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오시드간 결합, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오시드간 결합, 또는 하나 이상의 짧은 사슬 헤테로원자 또는 헤테로사이클릭 뉴클레오시드간 결합에 의해 형성되는 백본을 갖는다. 이들은 모르폴리노 결합(뉴클레오시드의 당 부분으로부터 부분적으로 형성됨)을 갖는 백본; 실록산 백본; 설피드, 설폭시드 및 설폰 백본; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본; 알켄 함유 백본; 설파메이트 백본; 메틸렌이미노 및 메틸렌히드라지노 백본; 설포네이트 및 설폰아미드 백본; 아미드 백본; 및 혼합된 N, O, S 및 CH_2 구성요소 부분을 갖는 다른 백본을 포함한다.

[0202] 상기 올리고뉴클레오시드의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 각각의 전문이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 5,034,506호; 5,166,315호; 5,185,444호; 5,214,134호; 5,216,141호; 5,235,033호; 5,64,562호; 5,264,564호; 5,405,938호; 5,434,257호; 5,466,677호; 5,470,967호; 5,489,677호; 5,541,307호; 5,561,225호; 5,596,086호; 5,602,240호; 5,608,046호; 5,610,289호; 5,618,704호; 5,623,070호; 5,663,312호; 5,633,360호; 5,677,437호; 및 5,677,439호를 포함하나, 이로 제한되지는 않는다.

[0203] 다른 구현예에서, iRNA에서 사용하는 것으로 고려되는 적절한 RNA 모방체(mimetic)에서, 당 및 뉴클레오시드간 결합, 즉, 뉴클레오티드 단위의 백본은 신규한 기로 대체된다. 염기 단위는 적절한 핵산 표적 화합물과의 혼성화를 위해 유지된다. 한 상기 올리고머 화합물인 우수한 혼성화 특성을 갖는 것으로 밝혀진 RNA 모방체는 펩티드 핵산(PNA)으로 언급된다. PNA 화합물에서, RNA의 당 백본은 아미드 함유 백본, 특히 아미노에틸글리신 백본

으로 대체된다. 핵염기는 유지되고, 백본의 아미드 부분의 아자 질소 원자에 직접적 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 각각의 전문이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 5,539,082호; 5,714,331호; 및 5,719,262호를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 iRNA에 사용하기에 적합한 추가의 PNA 화합물은, 예를 들어, 문헌[Nielsen *et al.*, Science, 1991, 254, 1497-1500]에 기재된다.

[0204] 본 발명에서 특정된 일부 구현예는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 RNA 및 헤테로원자 백본, 특히 상기 언급된 미국 특허 번호 5,489,677호의 --CH_2--NH--CH_2-, --CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--[메틸렌(메틸이미노) 또는 MMI 백본으로 공지됨], --CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--, --CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2-- 및 --N(CH_3)--CH_2--CH_2--[여기서, 자연 포스포디에스테르 백본은 --O--P--O--CH_2--로 표시됨], 및 상기 언급된 미국 특허 번호 5,602,240호의 아미드 백본을 갖는 올리고뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 특정된 RNA는 상기 언급된 미국 특허 번호 5,034,506호의 모르폴리노 백본 구조를 갖는다.

[0205] 변형된 RNA는 또한 하나 이상의 치환된 당 모이어티를 함유할 수 있다. 본원에 특정된 iRNA, 예를 들어, dsRNA는 2' 위치에 OH; F; O-, S-, 또는 N-알킬; O-, S-, 또는 N-알케닐; O-, S- 또는 N-알키닐; 또는 O-알킬-O-알킬 중 하나를 포함할 수 있고, 상기 알킬, 알케닐 및 알키닐은 치환되거나 비치환된 C_1 내지 C_{10} 알킬 또는 C_2 내지 C_{10} 알케닐 및 알키닐일 수 있다. 예시적인 적합한 변형은 O[(CH_2)$_n$O]$_m$$CH_3$, O($CH_2$)$_n$$OCH_3$, O($CH_2$)$_n$$NH_2$, O($CH_2$)$_n$$CH_3$, O($CH_2$)$_n$$ONH_2$, 및 O($CH_2$)$_n$ON[($CH_2$)$_n$$CH_3$)]$_2$를 포함하고, 여기서 n 및 m은 1 내지 약 10이다. 다른 구현예에서, dsRNA는 2' 위치에 C_1 내지 C_{10} 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 알크아릴, 아르알킬, O-알크아릴 또는 O-아르알킬, SH, SCH_3, OCN, Cl, Br, CN, CF_3, OCF_3, $SOCH_3$, SO_2CH_3, ONO_2, NO_2, N_3, NH_2, 헤테로사이클로알킬, 헤테로사이클로알크아릴, 아미노알킬아미노, 폴리알킬아미노, 치환된 실릴, RNA 절단 기, 리포터 기, 인터켈레이터(intercalator), iRNA의 약동학적 특성을 개선시키기 위한 기, 또는 iRNA의 약력학적 특성을 개선시키기 위한 기, 및 유사한 특성을 갖는 다른 치환기 중 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 변형은 2'-메톡시에톡시(2'-O--$CH_2CH_2OCH_3$, 2'-O-(2-메톡시에틸) 또는 2'-MOE로도 공지됨)(문헌[Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504]), 즉, 알콕시-알콕시기를 포함한다. 또 다른 예시적 변형은 2'-디메틸아미노옥시에톡시, 즉, 하기 본원의 실시예에 기재된 바와 같은 2'-DMAOE로도 공지된 O(CH_2)$_2$ON(CH_3)$_2$ 기, 및 2'-디메틸아미노에톡시에톡시(2'-O-디메틸아미노에톡시에틸 또는 2'-DMAEOE로도 당 분야에 공지됨), 즉, 2'-O--CH_2--O--CH_2--N(CH_2)$_2$이다. 추가적인 예시적 변형은 5'-Me-2'-F 뉴클레오티드, 5'-Me-2'-OMe 뉴클레오티드, 5'-Me-2'-데옥시뉴클레오티드, (이들 3 패밀리에서의 R 및 S 이성질체 모두); 2'-알콕시알킬; 및 2'-NMA(N-메틸아세트아미드)를 포함한다.

[0206] 다른 변형은 2'-메톡시(2'-OCH_3), 2'-아미노프로폭시(2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$) 및 2'-플루오로(2'-F)를 포함한다. 유사한 변형이 또한 iRNA의 RNA 상의 다른 위치, 특히 3' 말단 뉴클레오티드 상 또는 2'-5' 연결된 dsRNA 내의 당의 3' 위치 및 5' 말단 뉴클레오티드의 5' 위치에서 이루어질 수 있다. iRNA는 또한 펜토푸라노실 당 대신에 사이클로부틸 모이어티와 같은 당 모방체를 가질 수 있다. 상기 변형된 당 구조의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 미국 특허 번호 4,981,957호; 5,118,800호; 5,319,080호; 5,359,044호; 5,393,878호; 5,446,137호; 5,466,786호; 5,514,785호; 5,519,134호; 5,567,811호; 5,576,427호; 5,591,722호; 5,597,909호; 5,610,300호; 5,627,053호; 5,639,873호; 5,646,265호; 5,658,873호; 5,670,633호; 및 5,700,920호를 포함하나, 이에 제한되지는 않고, 상기 특허 중 특정 특허는 본 출원과 함께 공동으로 소유된다. 상기 특허 각각의 전문은 참조로서 본원에 포함된다.

[0207] 본 발명의 iRNA는 또한 핵염기(종종, 당 분야에서 "염기"로 간단히 언급됨) 변형 또는 치환을 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 "변형되지 않은" 또는 "자연" 핵염기는 퓨린 염기 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 염기 티민(T), 시토신(C) 및 우라실(U)을 포함한다. 변형된 핵염기는 다른 합성 및 자연 핵염기, 예를 들어, 5-메틸시토신(5-me-C), 5-하이드록시메틸 시토신, 크산틴, 하이포크산틴, 2-아미노아데닌, 6-메틸 및 아데닌 및 구아닌의 다른 알킬 유도체, 2-프로필 및 아데닌 및 구아닌의 다른 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 다른 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-다아자아데닌 및 3-데아자구아닌 및 3-데아자아데닌을 포함한다. 추가 핵염기는 미국 특허 번호 3,687,808호에 개시된 것, 문헌[Modified

Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008]에 개시된 것, 문헌[The Concise Encyclopedia Of Polymer Science and Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990]에 개시된 것, 문헌[Englisch *et al.*, (1991) Angewandte Chemie, International Edition, 30: 613]에 개시된 것, 및 문헌[Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. 및 Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993]에 개시된 것을 포함한다. 상기 핵염기 중 특정 핵염기가 본 발명에서 특정된 올리고머 화합물의 결합 친화성을 증가시키는데 특히 유용하다. 이들은 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린, 예를 들어, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐시토신을 포함한다. 5-메틸시토신 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6 내지 1.2까지 증가시키는 것으로 밝혀졌고(문헌[Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278]), 이는 더욱 더 특히 2'-O-메톡시에틸 당 변형과 조합되는 경우에 예시적인 염기 치환이다.

[0208] 상기 언급된 변형된 핵염기 뿐만 아니라 다른 변형된 핵염기 중 특정 핵염기의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 각각의 전문이 참조로서 본원에 포함되는 상기 언급된 미국 특허 번호 3,687,808호; 5,750,692호; 4,845,205호; 5,130,30호; 5,134,066호; 5,175,273호; 5,367,066호; 5,432,272호; 5,457,187호; 5,459,255호; 5,484,908호; 5,502,177호; 5,525,711호; 5,552,540호; 5,587,469호; 5,594,121호, 5,596,091호; 5,614,617호; 5,681,941호; 6,015,886호; 6,147,200호; 6,166,197호; 6,222,025호; 6,235,887호; 6,380,368호; 6,528,640호; 6,639,062호; 6,617,438호; 7,045,610호; 7,427,672호; 및 7,495,088호를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0209] 본 발명의 iRNA는 또한 하나 이상의 록킹된 핵산(LNA)을 포함하도록 변형될 수 있다. 록킹된 핵산은 리보스 모이어티가 2' 및 4' 탄소를 연결시키는 여분의 브릿지(가교)를 포함하는 변형된 리보스 모이어티를 갖는 뉴클레오티드이다. 이러한 구조는 3'-엔도 구조적 형태 내의 리보스를 효과적으로 "록킹한다". siRNA에 대한 록킹된 핵산의 추가는 혈청 내에서의 siRNA 안정성을 증가시키고, 표적외(off-target) 효과를 감소시키는 것으로 밝혀졌다(문헌[Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447]; 문헌[Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843]; 문헌[Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193]).

[0210] 본 발명의 iRNA는 또한 하나 이상의 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. "바이사이클릭 당"은 두 원자의 가교에 의해 변형된 푸라노실 고리이다. "바이사이클릭 뉴클레오시드"("BNA")는 당 고리의 2개 탄소 원자를 연결하는 가교를 포함함으로써 바이사이클릭 고리계를 형성하는 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드이다. 소정 구현예에서, 가교는 당 고리의 4'-탄소 및 2'-탄소를 연결한다. 따라서 일부 구현예에서, 본 발명의 작용제는 하나 이상의 록킹된 핵산(LNA)을 포함할 수 있다. 록킹된 핵산은 리보스 모이어티가 2' 및 4' 탄소를 연결하는 추가 가교를 포함하는 변형된 리보스 모이어티를 갖는 뉴클레오티드이다. 다시 말하면, LNA는 4'-CH2-O-2' 가교를 포함하는 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오티드이다. 상기 구조는 3'-엔도 구조 입체형태에서 리보스를 효과적으로 "록킹한다". siRNA에 대한 록킹된 핵산의 부가는 혈청에서 siRNA 안정성을 증가시키고, 표적을 벗어난 효과를 감소시키는 것으로 나타났다(Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193). 본 발명의 폴리뉴클레오티드에서 이용하기 위한 바이사이클릭 뉴클레오시드의 예는 비제한적으로 4' 및 2' 리보실 고리 원자 간 가교를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 소정 구현예에서, 본 발명의 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제는 4'에서 2'으로의 가교를 포함하는 하나 이상의 바이사이클릭 뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 4'에서 2'으로 가교된 바이사이클릭 뉴클레오시드의 예는 비제한적으로 4'-(CH2)-O-2'(LNA); 4'-(CH2)-S-2'; 4'-(CH2)2-O-2'(ENA); 4'-CH(CH3)-O-2'("구속된 에틸" 또는 "cEt"로도 불림) 및 4'-CH(CH2OCH3)-O-2'(및 이의 유사체; 예를 들어, U.S. 특허 번호 7,399,845호 참고); 4'-C(CH3)(CH3)-O-2'(및 이의 유사체; 예를 들어, US 특허 번호 8,278,283호 참고); 4'-CH2-N(OCH3)-2'(및 이의 유사체; 예를 들어, US 특허 번호 8,278,425호 참고); 4'-CH2-O-N(CH3)-2'(예를 들어, U.S. 특허 공개 번호 2004/0171570호 참고); 4'-CH2-N(R)-O-2'(여기서 R은 H, C1-C12 알킬, 또는 보호기임)(예를 들어, U.S. 특허 번호 7,427,672호 참고); 4'-CH2-C(H)(CH3)-2'(예를 들어, 문헌[Chattopadhyaya *et al., J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134] 참고); 및 4'-CH2-C(=CH2)-2'(및 이의 유사체; 예를 들어, US 특허 번호 8,278,426호 참고)을 포함한다. 각각의 상기 문헌의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0211] 록킹된 핵산 뉴클레오티드의 제조를 교시하는 추가의 대표적 U.S. 특허 및 US 특허 공개는 비제한적으로 U.S. 특허 번호 6,268,490호; 6,525,191호; 6,670,461호; 6,770,748호; 6,794,499호; 6,998,484호; 7,053,207호;

7,034,133호; 7,084,125호; 7,399,845호; 7,427,672호; 7,569,686호; 7,741,457호; 8,022,193호; 8,030,467호; 8,278,425호; 8,278,426호; 8,278,283호; US 2008/0039618호 및 US 2009/0012281호를 포함하며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0212] 임의의 상기 바이사이클릭 뉴클레오시드는, 예를 들어 α-L-리보푸라노스 및 β-D-리보푸라노스를 포함하는 하나 이상의 입체화학 당 배치를 갖고 제조될 수 있다(WO 99/14226호 참고).

[0213] 본 발명의 iRNA는 또한 하나 이상의 구속된 에틸 뉴클레오티드를 포함하도록 변형될 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같은 "구속된 에틸 뉴클레오티드" 또는 "cEt"는 4'-CH(CH3)-O-2' 가교를 포함하는 바이사이클릭 당 모이어티를 포함하는 록킹된 핵산이다. 한 구현예에서, 구속된 에틸 뉴클레오티드는 본원에서 "S-cEt"로 불리는 S 입체형태이다.

[0214] 본 발명의 iRNA는 또한 하나 이상의 "입체형태적으로 제약된 뉴클레오티드"("CRN")를 포함할 수 있다. CRN은 리보스의 C2' 및 C4' 탄소 및 리보스의 C3 및 C5' 탄소를 연결하는 링커를 갖는 뉴클레오티드 유사체이다. CRN은 리보스 고리를 안정한 입체형태로 잠그며 mRNA에 대한 혼성화 친화도를 증가시킨다. 링커는 산소를 안정성 및 친화도를 위한 최적 위치로 배치하여 리보스 고리 주름을 줄이는 충분한 길이를 갖기에 충분한 길이이다.

[0215] 소정의 상기 주지된 CRN의 제조를 교시하는 대표적 공개는 비제한적으로 US 특허 공개 번호 2013/0190383호; 및 PCT 공개 WO 2013/036868호를 포함하며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0216] 일부 구현예에서, 본 발명의 iRNA는 UNA(언록킹된(unlocked) 핵산) 뉴클레오티드인 하나 이상의 단량체를 포함한다. UNA는 언록킹된 비고리형 핵산이며, 여기서 임의의 당 결합이 제거되어 언록킹된 "당" 잔기를 형성한다. 한 예에서, UNA는 또한 C1'-C4' 간 결합(즉 C1' 및 C4' 탄소 간 공유 탄소-산소-탄소 결합)이 제거된 단량체를 포괄한다. 다른 예에서, 당의 C2'-C3' 결합(즉 C2' 및 C3' 탄소 간 공유 탄소-탄소 결합)이 제거되었다(본원에 참조로 포함되는 문헌[*Nuc. Acids Symp. Series,* 52, 133-134(2008) 및 Fluiter et al., *Mol. Biosyst.,* 2009, 10, 1039] 참고).

[0217] UNA의 제조를 교시하는 대표적 U.S. 공개는 비제한적으로 US 특허 번호 8,314,227호; 및 US 특허 공개 번호 2013/0096289호; 2013/0011922호; 및 2011/0313020호를 포함하며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0218] RNA 분자의 말단에 대한 잠재적인 안정화 변형은 N-(아세틸아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-C6-NHAc), N-(카프로일-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-C6), N-(아세틸-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-NHAc), 티미딘-2'-O-데옥시티미딘(에테르), N-(아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-C6-아미노), 2-도코사노일-우리딘-3"-포스페이트, 전환 염기 dT(idT) 등을 포함할 수 있다. 이러한 변형의 개시내용은 PCT 공개 WO 2011/005861호에서 관찰될 수 있다.

[0219] 본 발명의 iRNA의 다른 변형은 5' 포스페이트 또는 5' 포스페이트 모방체, 예를 들어, RNAi 작용제의 안티센스 가닥 상의 5'-말단 포스페이트 또는 포스페이트 모방체를 포함한다. 적합한 포스페이트 모방체는, 예를 들어 US 특허 공개 번호 2012/0157511호에 개시되어 있으며, 그 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0220] **IV. 리간드에 컨쥬게이트된 iRNA**

[0221] 본 발명의 iRNA의 RNA의 또 다른 변형은 RNA에 iRNA의 활성, 세포 분포, 또는 세포 흡수를 향상시키는 하나 이상의 리간드, 모이어티 또는 컨쥬게이트를 화학적으로 연결시키는 것을 포함한다. 이러한 모이어티는 지질 모이어티, 예를 들어, 콜레스테롤 모이어티(문헌[Letsinger *et al.*, (1989) *Proc. Natl. Acid. Sci. USA,* 86: 6553-6556]), 콜산(문헌[Manoharan *et al.*, (1994) *Biorg. Med. Chem. Let.*, 4:1053-1060]), 티오에테르, 예를 들어, 베릴-S-트리틸티올(문헌[Manoharan *et al.*, (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 660:306-309]; 문헌[Manoharan *et al.*, (1993) *Biorg. Med. Chem. Let.*, 3:2765-2770]), 티오콜레스테롤(문헌[Oberhauser *et al.*, (1992) *Nucl. Acids Res.*, 20:533-538]), 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras *et al.*, (1991) *EMBO J,* 10:1111-1118]; 문헌[Kabanov *et al.*, (1990) *FEBS Lett,* 259:327-330]; 문헌[Svinarchuk *et al.*, (1993) *Biochimie*, 75:49-54]), 인지질, 예를 들어, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸-암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세로-3-포스포네이트(문헌[Manoharan *et al.*, (1995) *Tetrahedron Lett.*, 36:3651-3654]; 문헌[Shea *et al.*, (1990) *Nucl. Acids Res.*, 18:3777-3783]), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan *et al.*, (1995) *Neucleosides & Nucleotides*, 14:969-973]), 또는 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan *et al.*, (1995) *Tetrahedron Lett.*, 36:3651-3654]), 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra *et al.*, (1995) Biochim. Biophys. Acta, 1264:229-237]), 또는 옥타데실아민 또는 헥실

아미노-카르보닐옥시콜레스테롤 모이어티(문헌[Crooke *et al.*, (1996) J. Pharmacol. Exp. Ther., 277:923-937])를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0222] 한 구현예에서, 리간드는 통합되는 iRNA 작용제의 분포, 표적화 또는 수명을 변경시킨다. 바람직한 구현예에서, 리간드는, 예를 들어, 이러한 리간드가 부재하는 종에 비해 선택된 표적, 예를 들어, 분자, 세포 또는 세포 유형, 구획, 예를 들어, 세포 또는 기관 구획, 조직, 기관 또는 신체의 영역에 대한 향상된 친화성을 제공한다. 바람직한 리간드는 듀플렉스화된 핵산 내의 듀플렉스 쌍 형성에 참여하지 않을 것이다.

[0223] 리간드는 자연 발생 물질, 예를 들어, 단백질(예를 들어, 인간 혈청 알부민(HSA), 저밀도 지질단백질(LDL), 또는 글로불린); 탄수화물(예를 들어, 덱스트란, 풀루란(pullulan), 키틴, 키토산, 이눌린, 사이클로덱스트린, N-아세틸글루코사민, N-아세틸갈락토사민 또는 히알루론산); 또는 지질을 포함할 수 있다. 리간드는 또한 재조합 또는 합성 분자, 예를 들어, 합성 중합체, 예를 들어, 합성 폴리아미노산일 수 있다. 폴리아미노산의 예는 폴리라이신(PLL), 폴리 L-아스파르트산, 폴리 L-글루탐산, 스티렌-말레산 무수물 공중합체, 폴리(L-락티드-코-글리콜리드) 공중합체, 디비닐 에테르-말레산 무수물 공중합체, N-(2-하이드록시프로필)메타크릴아미드 공중합체(HMPA), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리비닐 알콜(PVA), 폴리우레탄, 폴리(2-에틸아크릴산), N-이소프로필아크릴아미드 중합체, 또는 폴리포스파진인 폴리아미노산을 포함한다. 폴리아민의 예는 폴리에틸렌이민, 폴리라이신(PLL), 스페르민, 스페르미딘, 폴리아민, 슈도펩티드-폴리아민, 펩티드모방체(peptidomimetic) 폴리아민, 덴드리머 폴리아민, 아르기닌, 아미딘, 프로타민, 양이온성 지질, 양이온성 포르피린, 폴리아민의 4차염, 또는 α 헬리칼 펩티드를 포함한다.

[0224] 리간드는 또한 표적화 기, 예를 들어, 세포 또는 조직 표적화 제제, 예를 들어, 렉틴, 당단백질, 지질 또는 단백질, 예를 들어, 신장 세포와 같은 특정 세포 유형에 결합하는 항체를 포함할 수 있다. 표적화 기는 갑상샘자극호르몬, 멜라노트로핀, 렉틴, 당단백질, 계면활성제 단백질 A, 뮤신 탄수화물, 다가 락토스, 다가 갈락토스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다가 만노스, 다가 푸코스, 당화된 폴리아미노산, 다가 갈락토스, 트랜스페린, 비스포스포네이트, 폴리글루타메이트, 폴리아스파테이트, 지질, 콜레스테롤, 스테로이드, 담즙산, 폴레이트, 비타민 B12, 비타민 A, 비오틴, 또는 RGD 펩티드 또는 RGD 펩티드 모방체일 수 있다.

[0225] 리간드의 다른 예는 염료, 중격제(예를 들어, 아크리딘), 가교제(예를 들어, 소랄렌(psoralene), 미토마이신 C), 포르피린(TPPC4, 텍사피린(texaphyrin), 사피린(Sapphyrin)), 폴리사이클릭 방향족 탄화수소(예를 들어, 페나진(phenazine), 디하이드로페나진(dihydrophenazine)), 인공 엔도뉴클레아제(예를 들어, EDTA), 친유성 분자, 예를 들어, 콜레스테롤, 콜산, 아다만탄 아세트산, 1-피렌 부티르산, 디하이드로테스토스테론, 1,3-비스-O(헥사데실)글리세롤, 제라닐옥시헥실기, 헥사데실글리세롤, 보르네올, 멘톨, 1,3-프로판디올, 헵타데실기, 팔미트산, 미리스트산, O3-(올레오일)리토콜산, O3-(올레오일)콜렌산, 디메톡시트리틸, 또는 페녹사진) 및 펩티드 컨쥬게이트(예를 들어, 안테나페디아(antennapedia) 펩티드, Tat 펩티드), 알킬화제, 포스페이트, 아미노, 머캅토, PEG(예를 들어, PEG-40K), MPEG, $[MPEG]_2$, 폴리아미노, 알킬, 치환된 알킬, 방사성 표지된 마커, 효소, 합텐(예를 들어, 비오틴), 운반/흡수 촉진제(예를 들어, 아스피린, 비타민 E, 폴산), 합성 리보뉴클레아제(예를 들어, 이미다졸, 비스이미다졸, 히스타민, 이미다졸 클러스터, 아크리딘-이미다졸 컨쥬게이트, 테트라아자마크로사이클의 Eu3+ 복합체), 디니트로페닐, HRP, 또는 AP를 포함한다.

[0226] 리간드는 단백질, 예를 들어, 당단백질, 또는 펩티드, 예를 들어, 공동-리간드에 대한 특이적 친화성을 갖는 분자, 또는 항체, 예를 들어, 간 세포와 같은 특정 세포 유형에 결합하는 항체일 수 있다. 리간드는 또한 호르몬 및 호르몬 수용체를 포함할 수 있다. 이들은 또한 비-펩티드 종, 예를 들어, 지질, 렉틴, 탄수화물, 비타민, 보조인자, 다가 락토스, 다가 갈락토스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다가 만노스, 또는 다가 푸코스를 포함할 수 있다. 리간드는, 예를 들어, 지질다당류, p38 MAP 키나제의 활성제, 또는 NF-κB의 활성제일 수 있다.

[0227] 리간드는 물질, 예를 들어, 세포의 미세관, 미세섬유, 및/또는 중간세사를 붕괴시킴으로써 예를 들어, 세포의 세포골격을 붕괴시켜, 세포로의 iRNA 작용제의 흡수를 증가시킬 수 있는 약물일 수 있다. 약물은, 예를 들어, 탁손(taxon), 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 사이토카라신(cytochalasin), 노코다졸(nocodazole), 자플라키놀리드(japlakinolide), 라트룬쿨린 A(latrunculin A), 팔로이딘(phalloidin), 스윈홀리드 A(swinholide A), 인다노신(indanocine), 또는 미오서빈(myoservin)일 수 있다.

[0228] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 iRNA에 부착된 리간드는 약동학 조정자(PK 조정자)로 작용한다. PK 조정자는 리포파일(lipophile), 담즙산, 스테로이드, 인지질 유사체, 펩티드, 단백질 결합 제제, PEG, 비타민 등을 포함한다. 예시적 PK 조정자는 콜레스테롤, 지방산, 콜산, 리토콜산, 디알킬글리세라이드, 디아실글리세라

이드, 인지질, 스핑고지질, 나프록센, 이부프로펜, 비타민 E, 비오틴 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다수의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 또한 혈청 단백질에 결합하는 것으로 공지되어 있고, 이에 따라 짧은 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, 백본 내에 다수의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 약 5개의 염기, 10개의 염기, 15개의 염기 또는 20개의 염기의 올리고뉴클레오티드가 또한 리간드(예를 들어, PK 조절 리간드)로서 본 발명에 적용가능하다. 또한, 혈청 성분(예를 들어, 혈청 단백질)에 결합하는 압타머가 또한 본원에 기재된 구현예에서 PK 조절 리간드로 사용하기에 적합하다.

[0229] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드(하기 기재)로의 연결 분자의 부착으로부터 유래되는 것과 같은 펜던트 반응성 작용기를 지니는 올리고뉴클레오티드의 사용에 의해 합성될 수 있다. 이러한 반응성 올리고뉴클레오티드는 상업적으로 입수가능한 리간드, 다양한 보호기 중 어느 하나를 갖는 합성된 리간드 또는 그에 부착된 연결 모이어티를 갖는 리간드와 직접 반응할 수 있다.

[0230] 본 발명의 컨쥬게이트에 사용되는 올리고뉴클레오티드는 널리 공지되어 있는 고체상 합성 기술을 통하여 편리하게 그리고 통상적으로 제조될 수 있다. 이러한 합성을 위한 장비는 예를 들어, Applied Biosystems(Foster City, Calif.)를 포함하는 몇몇 판매처에 의해 시판된다. 당업계에 공지되어 있는 이러한 합성을 위한 임의의 다른 수단이 추가로 또는 대안적으로 사용될 수 있다. 또한, 다른 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, 포스포로티오에이트 및 알킬화 유도체를 제조하기 위해 유사한 기술을 사용하는 것이 공지되어 있다.

[0231] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오티드 및 서열-특이적 연결 뉴클레오티드를 갖는 리간드-분자에서, 올리고뉴클레오티드 및 올리고뉴클레오시드는 표준 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 전구체, 또는 연결 모이어티를 이미 갖고 있는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드 컨쥬게이트 전구체, 리간드 분자를 이미 갖고 있는 리간드-뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드-컨쥬게이트 전구체, 또는 비-뉴클레오시드 리간드-함유 빌딩 블록(building block)을 사용하여 적합한 DNA 합성기에서 조립될 수 있다.

[0232] 연결 모이어티를 이미 갖고 있는 뉴클레오티드-컨쥬게이트 전구체를 사용하는 경우, 서열-특이적 연결 뉴클레오시드의 합성이 전형적으로 완료된 다음, 리간드 분자는 연결 모이어티와 반응하여, 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오티드를 형성한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 또는 연결된 뉴클레오시드는 표준 포스포르아미디트 및 상업적으로 입수가능하며 올리고뉴클레오티드 합성에서 통상적으로 사용되는 비-표준 포스포르아미디트에 더하여, 리간드-뉴클레오시드 컨쥬게이트로부터 유래된 포스포르아미디트를 사용하여 자동화 합성기에 의해 합성된다.

[0233] *A. 지질 컨쥬게이트*

[0234] 한 구현예에서, 리간드 또는 컨쥬게이트는 지질 또는 지질-기반 분자이다. 이러한 지질 또는 지질-기반 분자는 바람직하게는 혈청 단백질, 예를 들어, 인간 혈청 알부민(HSA)에 결합한다. HSA 결합 리간드는 표적 조직, 예를 들어, 신체의 비-신장 표적 조직으로의 컨쥬게이트의 분포를 가능케 한다. 예를 들어, 표적 조직은 간의 실질 세포를 포함하는 간일 수 있다. HSA에 결합할 수 있는 다른 분자가 또한 리간드로 사용될 수 있다. 예를 들어, 네프록신(neproxin) 또는 아스피린이 사용될 수 있다. 지질 또는 지질-기반 리간드는 (a) 컨쥬게이트의 분해에 대한 내성을 증가시킬 수 있고/있거나, (b) 표적 세포 또는 세포막으로의 표적화 또는 운반을 증가시킬 수 있고/있거나, (c) 혈청 단백질, 예를 들어, HSA에 대한 결합을 조절하기 위해 사용될 수 있다.

[0235] 지질 기반 리간드는 표적 조직으로의 컨쥬게이트의 결합을 억제, 예를 들어, 조절하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, HSA에 더욱 강하게 결합하는 지질 또는 지질-기반 리간드는 신장으로 표적화될 가능성이 적고, 따라서 신체로부터 청소될 가능성이 적을 것이다. HSA에 덜 강하게 결합하는 지질 또는 지질-기반 리간드는 신장으로 컨쥬게이트를 표적화시키기 위해 사용될 수 있다.

[0236] 한 바람직한 구현예에서, 지질 기반 리간드는 HSA에 결합한다. 바람직하게는, 이는 컨쥬게이트가 바람직하게는 비-신장 조직으로 분포되도록 하기에 충분한 친화성으로 HSA에 결합한다. 그러나, 친화성은 HSA-리간드 결합이 역전될 수 없을 만큼 너무 강하지 않은 것이 바람직하다.

[0237] 또 다른 바람직한 구현예에서, 지질 기반 리간드는 HSA에 약하게 결합하거나 전혀 결합하지 않아, 컨쥬게이트는 바람직하게는 신장에 분포될 것이다. 신장 세포로 표적화되는 다른 모이어티가 또한 지질 기반 리간드 대신 또는 지질 기반 리간드에 더하여 사용될 수 있다.

[0238] 또 다른 양태에서, 리간드는 표적 세포, 예를 들어, 증식하는 세포에 의해 흡수되는 모이어티, 예를 들어, 비타민이다. 이들은, 예를 들어, 악성 또는 비-악성 유형, 예를 들어, 암세포의 원치 않는 세포 증식을 특징으로 하는 장애를 치료하는데 특히 유용하다. 예시적 비타민은 비타민 A, E, 및 K를 포함한다. 다른 예시적 비타민은

비타민 B, 예를 들어, 엽산, B12, 리보플라빈, 비오틴, 피리독살 또는 표적 세포, 예를 들어, 간 세포에 의해 흡수되는 다른 비타민 또는 영양소를 포함한다. 또한, HSA 및 저밀도 지질단백질(LDL)이 포함된다.

[0239] *B. 세포 투과 제제*

[0240] 또 다른 양태에서, 리간드는 세포-투과 제제, 바람직하게는 헬리칼 세포-투과 작용제이다. 바람직하게는, 상기 제제는 양친매성이다. 예시적 제제는 펩티드, 예를 들어, tat 또는 안테노페디아(antennopedia)이다. 상기 제제가 펩티드인 경우, 이는 펩티딜모방체(peptidylmimetic), 인버토머(invertomer), 비-펩티드 또는 슈도-펩티드 결합, 및 D-아미노산의 사용을 포함하는 바와 같이 변형될 수 있다. 바람직하게는, 헬리칼 제제는 바람직하게는 친유성 및 소유성(lipophobic) 상을 갖는 α-헬리칼 제제이다.

[0241] 리간드는 펩티드 또는 펩티드모방체일 수 있다. 펩티드모방체(본원에서 올리고펩티드모방체로도 지칭)는 자연 펩티드와 유사한 규정된 3-차원 구조로 폴딩될 수 있는 분자이다. iRNA 작용제로의 펩티드 및 펩티드모방체의 부착은, 예를 들어, 세포 인지 및 흡수를 향상시킴으로써 iRNA의 약동학 분포에 영향을 미칠 수 있다. 펩티드 또는 펩티드모방체 모이어티는 약 5 내지 50개의 아미노산 길이, 예를 들어, 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50개의 아미노산 길이일 수 있다.

[0242] 펩티드 또는 펩티드모방체는, 예를 들어, 세포 투과 펩티드, 양이온성 펩티드, 양친매성 펩티드, 또는 소수성 펩티드(예를 들어, 주로 Tyr, Trp 또는 Phe로 구성됨)일 수 있다. 펩티드 모이어티는 덴드리머 펩티드, 결속성 펩티드(구속된 peptide) 또는 가교된 펩티드일 수 있다. 또 다른 대안에서, 펩티드 모이어티는 소수성 막 전위 서열(MTS)을 포함할 수 있다. 예시적 소수성 MTS-함유 펩티드는 아미노산 서열 AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO: 13)를 갖는 RFGF이다. 소수성 MTS를 함유하는 RFGF 유사체(예를 들어, 아미노산 서열 AALLPVLLAAP(SEQ ID NO: 10))가 또한 표적화 모이어티일 수 있다. 펩티드 모이어티는 세포막을 가로지르는 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 및 단백질을 포함하는 큰 극성 분자를 가질 수 있는 "전달" 펩티드일 수 있다. 예를 들어, HIV Tat 단백질(GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO: 11)) 및 드로소필라(Drosophila) 안테나페디아 단백질(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO: 12))로부터의 서열은 전달 펩티드로서 작용할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 파지-디스플레이 라이브러리, 또는 1-비드-1-화합물(OBOC) 조합 라이브러리로부터 확인된 펩티드와 같은 펩티드 또는 펩티드모방체는 DNA의 무작위 서열에 의해 인코딩될 수 있다(문헌[Lam *et al.*, Nature, 354:82-84, 1991]). 세포 표적화 목적을 위해 통합된 단량체 단위를 통하여 dsRNA 작용제에 결속된 펩티드 또는 펩티드모방체의 예는 아르기닌-글리신-아스파르트산(RGD)-펩티드, 또는 RGD 모방체이다. 펩티드 모이어티는 약 5개의 아미노산 내지 약 40개의 아미노산 길이의 범위일 수 있다. 펩티드 모이어티는, 예를 들어, 안정성을 증가시키거나 형태적 특성을 유도하기 위해 구조적 변형을 가질 수 있다. 하기 기재되는 구조적 변형 중 임의의 변형이 이용될 수 있다.

[0243] 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 RGD 펩티드는 선형 또는 환형일 수 있으며, 변형되어, 예를 들어, 글리코이실화 또는 메틸화되어, 특정 조직(들)으로의 표적화를 용이하게 할 수 있다. RGD-함유 펩티드 및 펩티드모방체는 D-아미노산 및 합성 RGD 모방체를 포함할 수 있다. RGD에 더하여, 인테그린 리간드를 표적으로 하는 다른 모이어티를 사용할 수 있다. 이러한 리간드의 바람직한 컨쥬게이트는 PECAM-1 또는 VEGF를 표적으로 한다.

[0244] "세포 투과 펩티드"는 세포, 예를 들어, 미생물 세포, 예를 들어, 박테리아 또는 진균 세포, 또는 포유동물 세포, 예를 들어, 인간 세포를 투과할 수 있다. 미생물 세포-투과 펩티드는, 예를 들어, α-나선 선형 펩티드(예를 들어, LL-37 또는 세로핀 P1(Ceropin P1)), 이황화결합-함유 펩티드(예를 들어, α-디펜신(α-defensin), β-디펜신 또는 박테네신(bactenecin)), 또는 단지 1개 또는 2개의 우세 아미노산을 함유하는 펩티드(예를 들어, PR-39 또는 인돌리시딘(indolicidin))일 수 있다. 세포 투과 펩티드는 또한 핵 위치 신호(NLS)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 세포 투과 펩티드는 HIV-1 gp41 및 SV40 큰 T 항원의 NLS의 융합 펩티드 도메인으로부터 유래되는 MPG와 같은 양분된 양친매성 펩티드일 수 있다(문헌[Simeoni *et al.*, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003]).

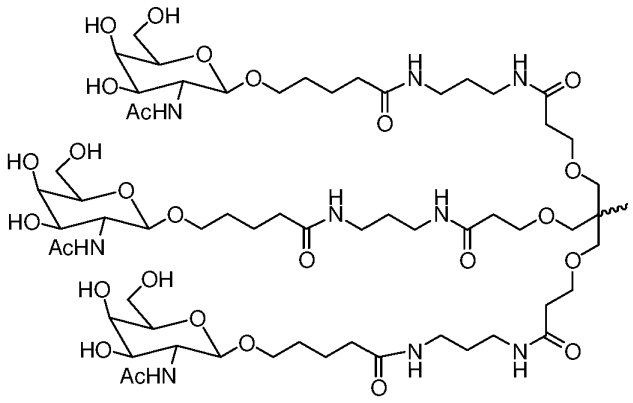
[0245] *C. 탄수화물 컨쥬게이트*

[0246] 본 발명의 조성물 및 방법의 일부 구현예에서, iRNA 올리고뉴클레오티드는 탄수화물을 추가로 포함한다. 탄수화물 컨쥬게이트된 iRNA는 핵산 및 본원에 기재된 바와 같은 생체내 치료 용도에 적합한 조성물의 생체내 전달에 유리하다. 본원에서 사용되는 바와 같은 "탄수화물"은 그 자체로 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 적어도 6개의 탄소 원자(선형이거나, 분지형이거나, 고리형일 수 있음)를 갖는 하나 이상의 단당류 단위로 구성되는 탄수화물인 화합물, 또는 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 적어도 6개의 탄소 원자(선형이거나, 분지형이거나, 고리형일 수 있음)를 각각 갖는 하나 이상의 단당류 단위로

구성되는 탄수화물 모이어티를 일부로서 갖는 화합물을 나타낸다. 대표적 탄수화물은 당(단당류, 이당류, 삼당류 및 약 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 단당류 단위를 함유하는 올리고당류), 및 다당류, 예를 들어, 전분, 글리코겐, 셀룰로스 및 다당류 검을 포함한다. 특이적 단당류는 C5 및 이 이상(예를 들어, C5, C6, C7 또는 C8)의 당을 포함하고; 이당류 및 삼당류는 2개 또는 3개의 단당류 단위(예를 들어, C5, C6, C7 또는 C8)를 갖는 당을 포함한다.

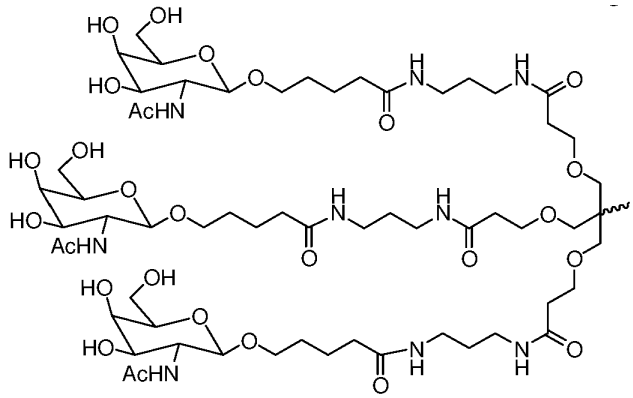
[0247] 한 구현예에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 단당류이다. 한 구현예에서, 단당류는 N-아세틸갈락토사민, 예를 들어, 화학식 II이다:

[0248] [화학식 II]

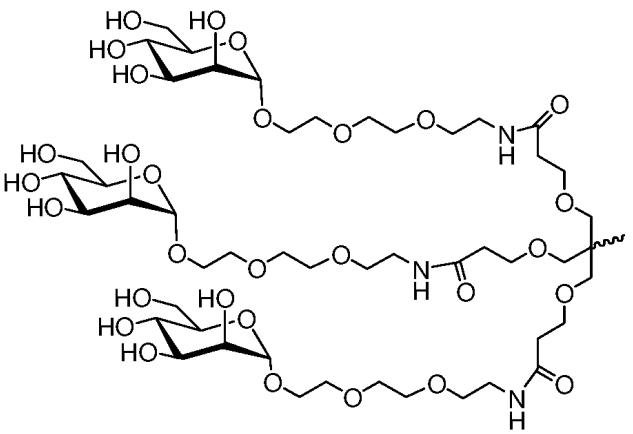
[0249] 

[0250] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 사용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된다:

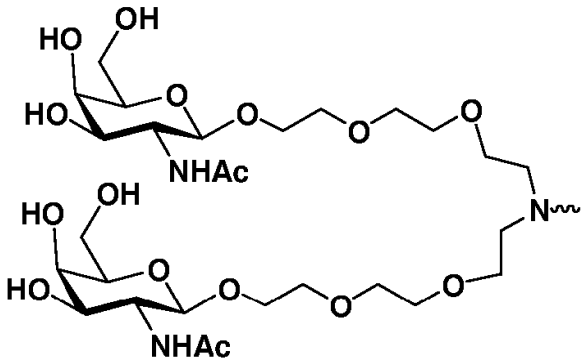
[0251] [화학식 II]

[0252] 

[0253] [화학식 III]

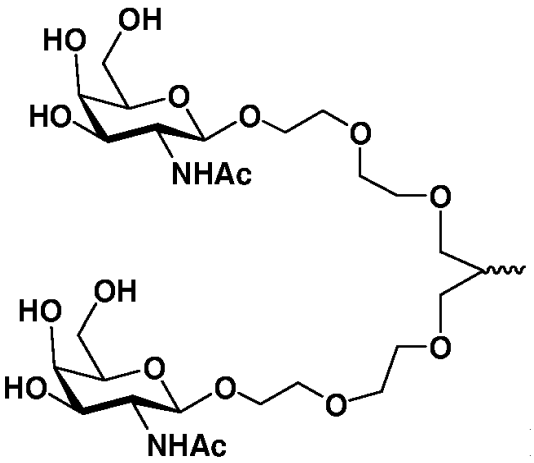
[0254] 

[0255] [화학식 IV]



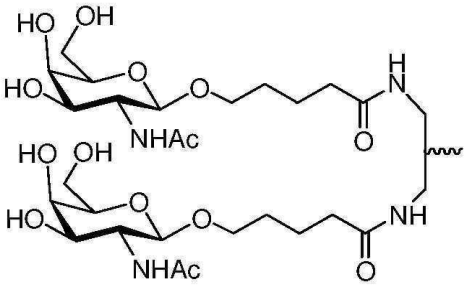
[0256]

[0257] [화학식 V]



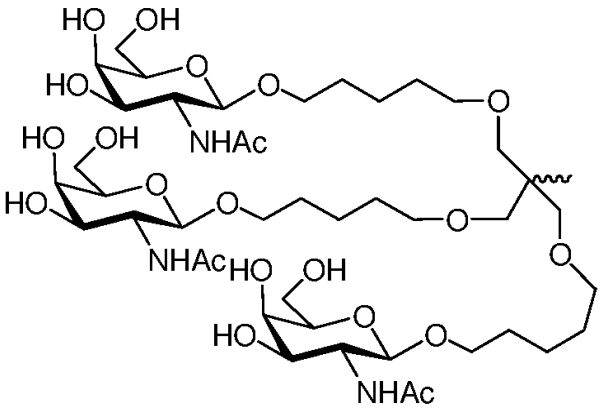
[0258]

[0259] [화학식 VI]



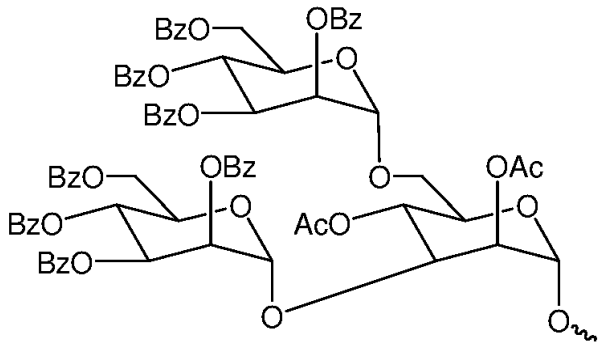
[0260]

[0261] [화학식 VII]



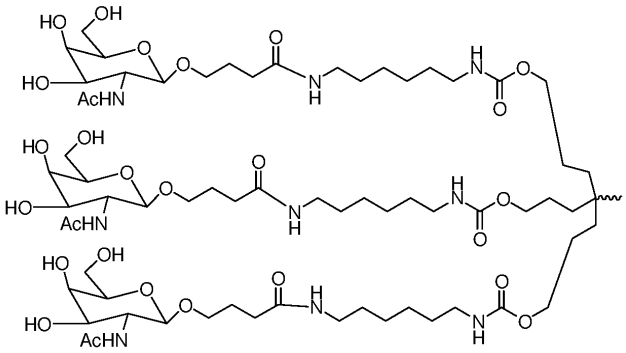
[0262]

[0263] [화학식 VIII]



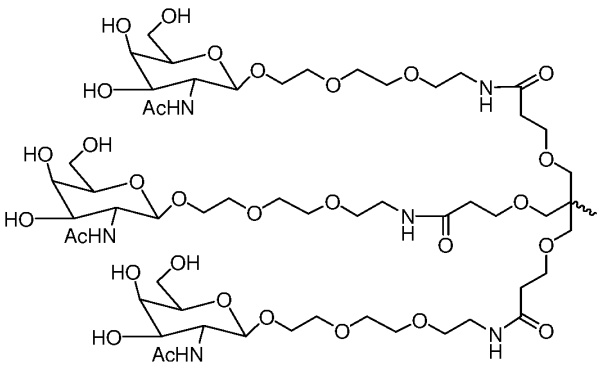
[0264]

[0265] [화학식 IX]



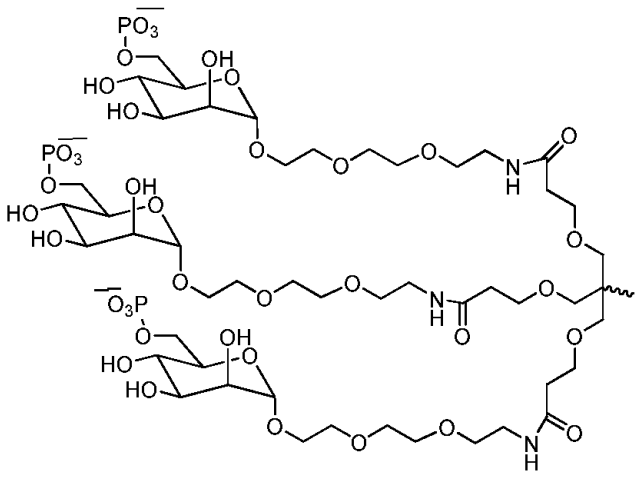
[0266]

[0267] [화학식 X]



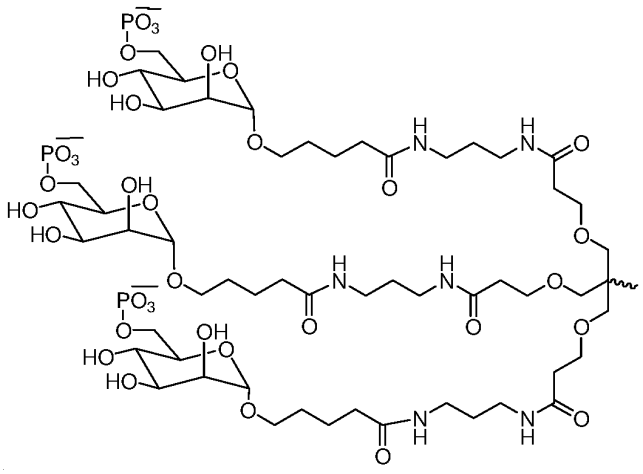
[0268]

[0269] [화학식 XI]



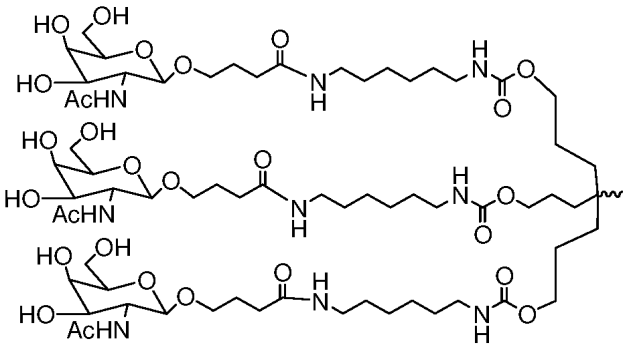
[0270]

[0271] [화학식 XII]



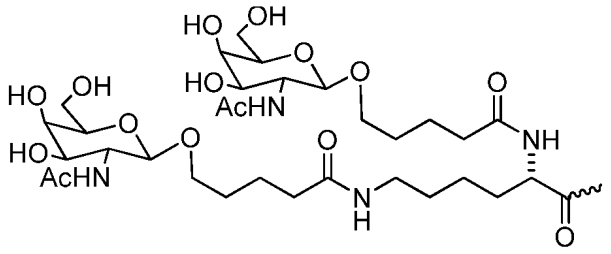
[0272]

[0273] [화학식 XIII]



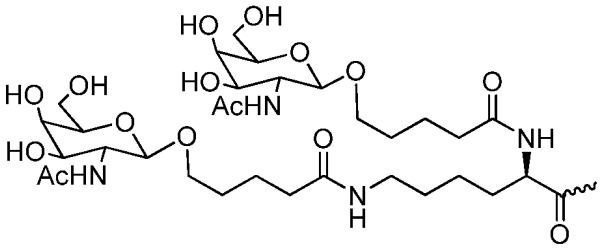
[0274]

[0275] [화학식 XIV]



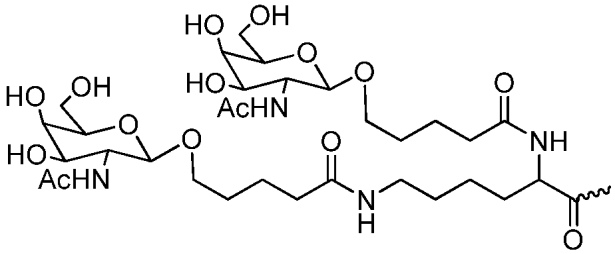
[0276]

[0277] [화학식 XV]



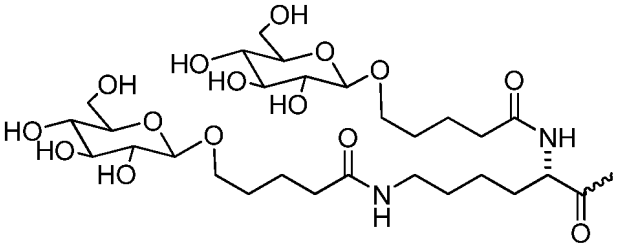
[0278]

[0279] [화학식 XVI]



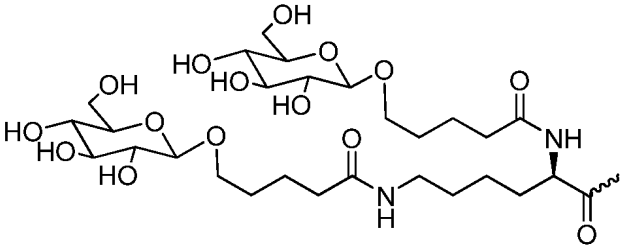
[0280]

[0281] [화학식 XVII]



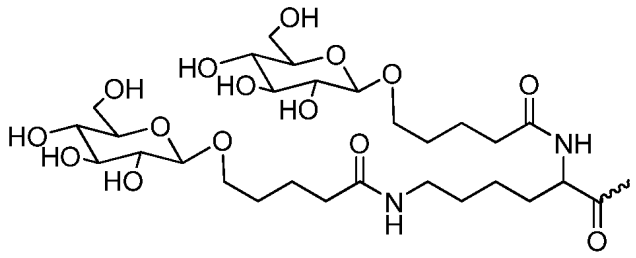
[0282]

[0283] [화학식 XVIII]



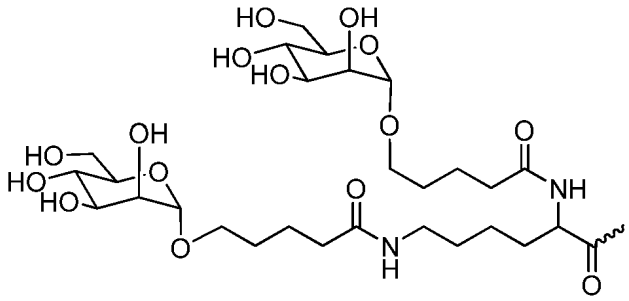
[0284]

[0285] [화학식 XIX]



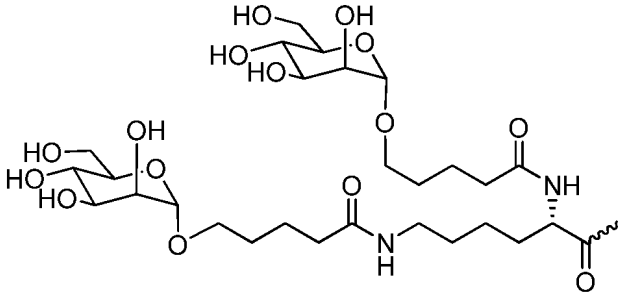
[0286]

[0287] [화학식 XX]



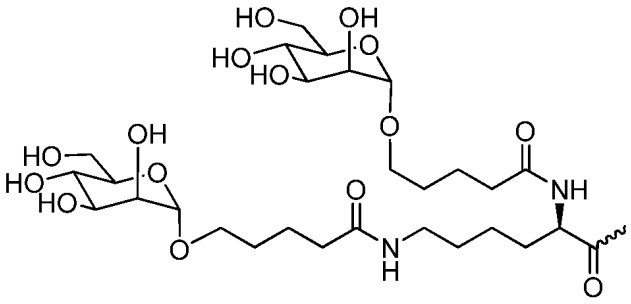
[0288]

[0289] [화학식 XXI]



[0290]

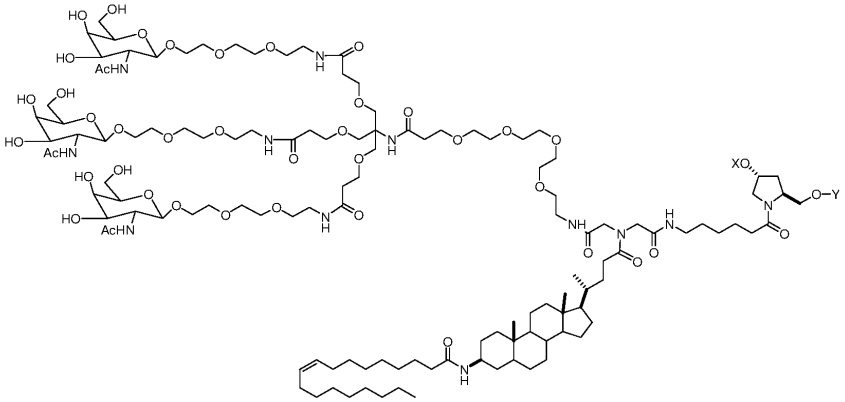
[0291] [화학식 XXII]



[0292]

[0293] 본원에 기재된 구현예에 사용하기 위한 다른 대표적인 탄수화물 컨쥬게이트는 다음 화학식을 포함하나 이에 제한되지 않는다:

[0294] [화학식 XXIII]



[0295]

[0296] 상기 식에서, X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오티드인 경우, 다른 것은 수소이다.

[0297] 본 발명의 소정 구현예에서, GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 1가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다. 일부 구현예에서, GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 2가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다. 본 발명의 다른 구현예에서, GalNAc 또는 GalNAc 유도체는 3가 링커를 통해 본 발명의 iRNA 작용제에 부착된다.

[0298] 한 구현예에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 iRNA 작용제에 부착된 하나의 GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 포함한다. 다른 구현예에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 복수의(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의) GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 포함하며, 각각 독립적으로 복수의 1가 링커를 통해 이중 가닥 RNAi 작용제의 복수의 뉴클레오티드에 부착된다.

[0299] 일부 구현예에서, 예를 들어, 본 발명의 iRNA 작용제의 2 가닥은 한 가닥의 3'-말단 및 각각의 다른 가닥의 5'-말단 간 뉴클레오티드의 단속되지 않은 사슬에 의해 연결되어, 복수의 페어링되지 않은 뉴클레오티드를 포함하는 헤어핀 루프를 형성하는 하나의 더 큰 분자의 일부이며, 헤어핀 루프 내의 각각의 페어링되지 않은 뉴클레오티드는 독립적으로 1가 링커를 통해 부착된 GalNAc 또는 GalNAc 유도체를 포함할 수 있다.

[0300] 일부 구현예에서, 탄수화물 컨쥬게이트는 상술된 바와 같은 하나 이상의 추가적인 리간드, 예컨대 비제한적으로, PK 조정인자 및/또는 세포 투과 펩티드를 추가로 포함한다.

[0301] 본 발명에서 이용하기 적합한 추가적인 탄수화물 컨쥬게이트(및 링커)는 PCT 공개 번호 WO 2014/179620호 및 WO 2014/179627호에 기재된 것들을 포함하며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0302] *D. 링커*

[0303] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 컨쥬게이트 또는 리간드는 절단가능한 또는 절단가능하지 않은 다양한 링커를 사용하여 iRNA 올리고뉴클레오티드에 부착될 수 있다.

[0304] 용어 "링커" 또는 "연결기"는 화합물의 2개의 부분을 연결시키는, 예를 들어, 화합물의 2개 부분을 공유적으로 부착시키는 유기 모이어티를 의미한다. 링커는 통상적으로 직접 결합 또는 원자, 예를 들어, 산소 또는 황, 단위, 예를 들어, NR8, C(O), C(O)NH, SO, SO_2, SO_2NH 또는 원자의 사슬, 비제한적인 예로, 치환되거나 비치환된 알킬, 치환되거나 비치환된 알케닐, 치환되거나 비치환된 알키닐, 아릴알킬, 아릴알케닐, 아릴알키닐, 헤테로아릴알킬, 헤테로아릴알케닐, 헤테로아릴알키닐, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로사이클릴알케닐, 헤테로사이클릴알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알킬아릴알킬, 알킬아릴알케닐, 알킬아릴알키닐, 알케닐아릴알킬, 알케닐아릴알케닐, 알케닐아릴알키닐, 알키닐아릴알킬, 알키닐아릴알케닐, 알키닐아릴알키닐, 알킬헤테로아릴알킬, 알킬헤테로아릴알케닐, 알킬헤테로아릴알키닐, 알케닐헤테로아릴알킬, 알케닐헤테로아릴알케닐, 알케닐헤테로아릴알키닐, 알키닐헤테로아릴알킬, 알키닐헤테로아릴알케닐, 알키닐헤테로아릴알키닐, 알킬헤테로사이클릴알킬, 알킬헤테로사이클릴알케닐, 알킬헤테로사이클릴알키닐, 알케닐헤테로사이클릴알킬, 알케닐헤테로사이클릴알케닐, 알케닐헤테로사이클릴알키닐, 알키닐헤테로사이클릴알킬, 알키닐헤테로사이클릴알케닐, 알키닐헤테로사이클릴알키닐, 알킬아릴, 알케닐아릴, 알키닐아릴, 알킬헤테로아릴, 알케닐헤테로아릴, 알키닐헤테로아릴을 포함하며, 상기 화합물에서 하나 이상의 메틸렌은 O, S, S(O), SO_2, $N(R^8)$, C(O), 치환되거나 비치환된 아릴, 치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 치환되거나 비치환된 헤테로사이클

릭에 의해 단절되거나 종결될 수 있고, R^8은 수소, 아실, 지방족 또는 치환된 지방족이다. 한 구현예에서, 링커는 약 1 내지 24개의 원자, 2 내지 24개, 3 내지 24개, 4 내지 24개, 5 내지 24개, 6 내지 24개, 6 내지 18개, 7 내지 18개, 8 내지 18개의 원자, 7 내지 17개, 8 내지 17개, 6 내지 16개, 7 내지 17개 또는 8 내지 16개의 원자이다.

[0305] 절단가능한 연결기는 세포 외부에서 충분히 안정적이나, 표적 세포로의 진입시 절단되어 링커가 함께 고정시킨 2개의 부분을 방출시키는 것이다. 한 바람직한 구현예에서, 절단가능한 연결기는 대상체의 혈액 내, 또는 제2 참조 조건(예를 들어, 혈액 또는 혈청에서 발견되는 조건을 모방하거나 나타내도록 선택될 수 있음)하에서 보다 표적 세포 내 또는 제1 참조 조건(예를 들어, 세포내 조건을 모방하거나 나타내도록 선택될 수 있음)하에서 적어도 약 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 그 이상 또는 적어도 약 100배 더 신속히 절단된다.

[0306] 절단가능한 연결기는 절단 제제, 예를 들어, pH, 산화환원 전위 또는 분해성 분자의 존재에 민감하다. 일반적으로, 절단 제제는 혈청 또는 혈액 내에서보다 세포 내부에서 더욱 우세하거나, 더 높은 수준 또는 활성으로 발견된다. 이러한 분해성 제제의 예는 환원에 의해 산화환원 절단가능한 연결기를 분해시킬 수 있는, 세포 내에 존재하는, 예를 들어, 머캅탄과 같은 산화 또는 환원 효소 또는 환원제를 포함하는, 특정 기질에 대해 선택되거나 기질 특이성을 갖지 않는 산화환원 제제; 에스테라제; 산성 환경을 발생시킬 수 있는 엔도솜 또는 제제, 예를 들어, 5의 pH 또는 그 보다 낮은 pH를 발생시키는 엔도솜 또는 제제; 일반적인 산으로 작용함으로써 산 절단가능한 연결기를 가수분해시키거나 분해시킬 수 있는 효소인 펩티다제(기질 특이적일 수 있음), 및 포스파타제를 포함한다.

[0307] 절단가능한 연결기, 예를 들어, 이황화결합은 pH에 민감할 수 있다. 인간 혈청의 pH는 7.4인 한편, 평균 세포내 pH는 약 7.1 내지 7.3의 범위로 약간 낮다. 엔도솜은 5.5 내지 6.0의 범위의 더욱 산성인 pH를 갖고, 리소솜은 약 5.0으로 더욱 더 산성인 pH를 갖는다. 일부 링커는 바람직한 pH에서 절단됨으로써, 세포 내부의 리간드로부터, 또는 세포의 요망되는 구획으로 양이온성 지질을 방출시키는 절단가능한 연결기를 가질 것이다.

[0308] 링커는 특정 효소에 의해 절단될 수 있는 절단가능한 연결기를 포함할 수 있다. 링커로 통합된 절단가능한 연결기의 유형은 표적화되는 세포에 좌우될 수 있다. 예를 들어, 간 표적화 리간드는 에스테르기를 포함하는 링커를 통해 양이온성 지질에 연결될 수 있다. 간 세포에는 에스테라제가 풍부하고, 이에 따라, 링커는 에스테라제가 풍부하지 않은 세포 유형보다 간 세포에서 더욱 효과적으로 절단될 것이다. 다른 에스테라제가 풍부한 세포-유형은 폐, 신장 피질, 및 고환의 세포를 포함한다.

[0309] 펩티드 결합을 함유하는 링커는 펩티다제가 풍부한 세포 유형, 예를 들어, 간 세포 및 윤활막세포를 표적으로 하는 경우에 사용될 수 있다.

[0310] 일반적으로, 절단가능한 후보 연결기의 적합도는 후보 연결기를 절단시키는 분해성 제제(또는 조건)의 능력을 시험함으로써 평가될 수 있다. 또한, 혈액 내에서 또는 다른 비-표적 조직과 접촉시 절단에 저항하는 능력에 대해 절단가능한 후보 연결기를 시험하는 것이 또한 요망될 것이다. 따라서, 제1 조건과 제2 조건 사이의 절단에 대한 상대 감수성을 결정할 수 있으며, 제1 조건은 표적 세포 내에서의 절단을 나타내도록 선택되고, 제2 조건은 다른 조직 또는 생물학적 유체, 예를 들어, 혈액 또는 혈청에서의 절단을 나타내도록 선택된다. 평가는 세포 비함유 시스템, 세포, 세포 배양물, 기관 또는 조직 배양물, 또는 전체 동물에서 수행될 수 있다. 세포 비함유 또는 배양물 조건에서 최초 평가를 수행하고, 전체 동물에서 추가 평가에 의해 확인하는 것이 유용할 수 있다. 바람직한 구현예에서, 유용한 후보 화합물은 혈액 또는 혈청(또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하)에 비해 세포(또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하)에서 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 약 100배 더 신속히 절단된다.

[0311] *i. 절단가능한 산화환원 연결기*

[0312] 한 구현예에서, 절단가능한 연결기는 환원 또는 산화 시에 절단되는 산화환원 절단가능한 연결기이다. 환원적 절단가능한 연결기의 예는 디설피드 연결기(-S-S-)이다. 절단가능한 후보 연결기가 적합한 "환원적 절단가능한 연결기"이거나, 예를 들어, 특정 iRNA 모이어티 또는 특정 표적화 작용제와 함께 사용하기에 적합한지 결정하기 위해, 본원에 기재된 방법을 참조할 수 있다. 예를 들어, 후보자는 세포, 예를 들어, 표적 세포에서 관찰되는 절단 속도를 모방하는 당 분야에 공지된 시약을 이용하여 디티오트레이톨(DTT), 또는 다른 환원제와의 인큐베이션에 의해 평가될 수 있다. 후보자는 또한 혈액 또는 혈청 조건을 모방하도록 선택되는 조건하에서 평가될 수 있다. 한 구현예에서, 후보 화합물은 혈액 내에서 많아야 약 10%까지 절단된다. 다른 구현예에서, 유용한 후보

화합물은 혈액(또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하)에 비해 세포(또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건하)에서 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 약 100배 더 신속히 분해된다. 후보 화합물의 절단 속도는 세포내 매질을 모방하도록 선택된 조건하에서 표준 효소 동역학 검정을 이용하여 결정될 수 있고, 세포외 매질을 모방하도록 선택된 조건과 비교될 수 있다.

[0313] *ii. 포스페이트-기반의 절단가능한 연결기*

[0314] 다른 구현예에서, 절단가능한 링커는 포스페이트-기반의 절단가능한 연결기를 포함한다. 포스페이트-기반의 절단가능한 연결기는 포스페이트기를 분해하거나 가수분해시키는 제제에 의해 절단된다. 세포 내에서 포스페이트기를 절단시키는 제제의 예는 세포 내의 포스파타제와 같은 효소이다. 포스페이트-기반 연결기의 예는 -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-이다. 바람직한 구현예는 -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S-, -O-P(S)(H)-S-이다. 한 바람직한 구현예는 -O-P(O)(OH)-O-이다. 이들 후보자는 상기 기재된 것과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0315] *iii. 산 절단가능한 연결기*

[0316] 다른 구현예에서, 절단가능한 링커는 절단가능한 연결기를 포함한다. 산 절단가능한 연결기는 산성 조건하에서 절단되는 연결기이다. 바람직한 구현예에서, 산 절단가능한 연결기는 약 6.5의 pH 또는 이보다 낮은 pH(예를 들어, 약 6.0, 5.75, 5.5, 5.25, 5.0, 또는 이보다 낮은 pH)를 갖는 산성 환경 내에서, 또는 일반적인 산으로 작용할 수 있는 효소와 같은 제제에 의해 절단된다. 세포 내에서, 특이적인 낮은 pH 소기관, 예를 들어, 엔도솜 및 리소솜이 산 절단가능한 연결기에 대한 절단 환경을 제공할 수 있다. 산 분해성 연결기의 예는 하이드라존, 에스테르, 및 아미노산의 에스테르를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 산 절단가능한 기는 일반식 -C=NN-, C(O)O, 또는 -OC(O)를 가질 수 있다. 에스테르(알콕시기)의 산소에 부착된 탄소가 아릴기, 치환된 알킬기, 또는 3차 알킬기, 예를 들어, 디메틸 펜틸 또는 t-부틸인 경우가 바람직한 구현예이다. 이들 후보자는 상기 기재된 것과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0317] *iv. 에스테르-기반 연결기*

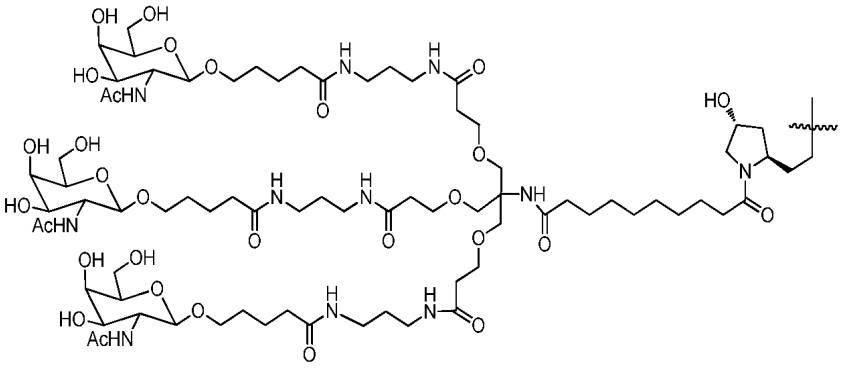
[0318] 다른 구현예에서, 절단가능한 링커는 에스테르-기반 절단가능한 연결기를 포함한다. 에스테르-기반 절단가능한 연결기는 세포 내의 에스테라제 및 아미다제와 같은 효소에 의해 절단된다. 에스테르-기반 절단가능한 연결기의 예는 알킬렌, 알케닐렌 및 알키닐렌기의 에스테르를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 에스테르 절단가능한 연결기는 일반식 -C(O)O-, 또는 -OC(O)-를 갖는다. 이들 후보자는 상기 기재된 것과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0319] *v. 펩티드-기반 절단가능한 기*

[0320] 또 다른 구현예에서, 절단가능한 링커는 펩티드-기반 절단가능한 연결기를 포함한다. 펩티드-기반 절단가능한 연결기는 세포 내의 펩티다제 및 프로테아제와 같은 효소에 의해 절단된다. 펩티드-기반 절단가능한 연결기는 올리고펩티드(예를 들어, 디펩티드, 트리펩티드 등) 및 폴리펩티드를 생성시키기 위해 아미노산 사이에 형성되는 펩티드 결합이다. 펩티드-기반 절단가능한 기는 아미드기(-C(O)NH-)를 포함하지 않는다. 아미드기는 임의의 알킬렌, 알케닐렌 또는 알키넬렌 사이에 형성될 수 있다. 펩티드 결합은 펩티드 및 단백질을 생성시키기 위해 아미노산 사이에 형성되는 아미드 결합의 특별한 유형이다. 펩티드 기반 절단가능한 기는 일반적으로 펩티드 및 단백질을 발생시키는 아미노산 사이에 형성된 펩티드 결합(즉, 아미드 결합)으로 제한되고, 전체 아미드 작용기를 포함하지 않는다. 펩티드-기반 절단가능한 연결기는 일반식 -NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-를 가지며, 여기서 RA 및 RB는 2개의 인접한 아미노산의 R 기이다. 이들 후보자는 상기 기재된 것과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

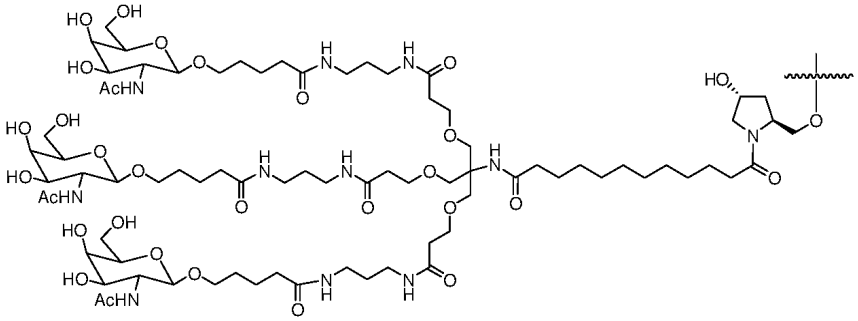
[0321] 한 구현예에서, 본 발명의 iRNA는 링커를 통해 탄수화물에 컨쥬게이트된다. 본 발명의 조성물 및 방법의 링커를 갖는 iRNA 탄수화물 컨쥬게이트의 비제한적인 예에는 다음 화학식이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다:

[0322] [화학식 XXIV]



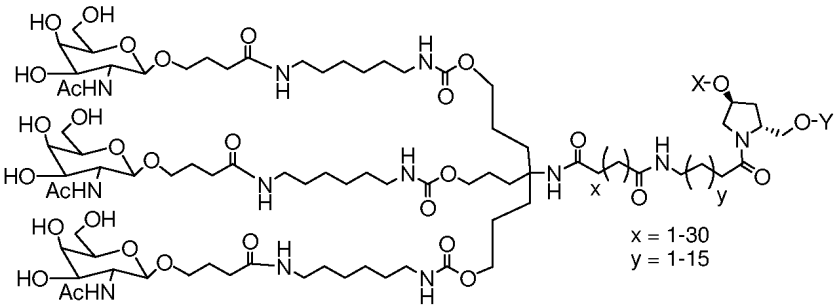
[0323]

[0324] [화학식 XXV]



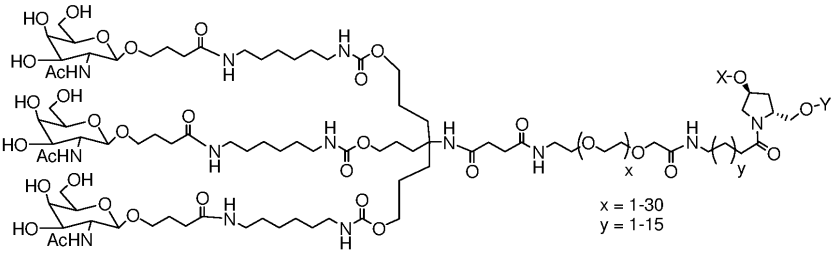
[0325]

[0326] [화학식 XXVI]



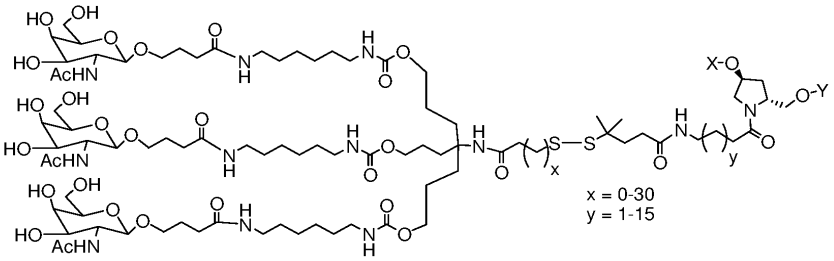
[0327]

[0328] [화학식 XXVII]



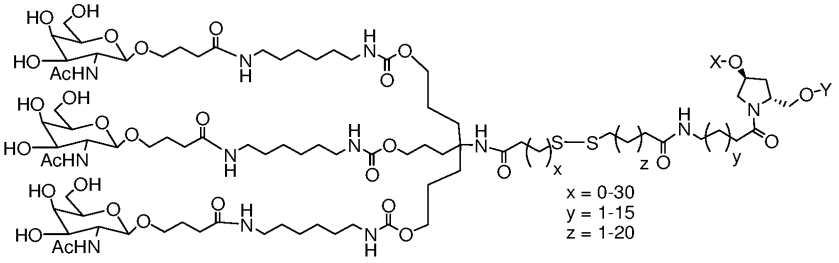
[0329]

[0330] [화학식 XXVIII]



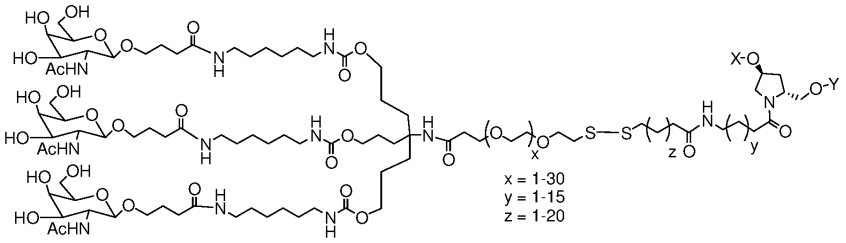
[0331]

[0332] [화학식 XXVIX]



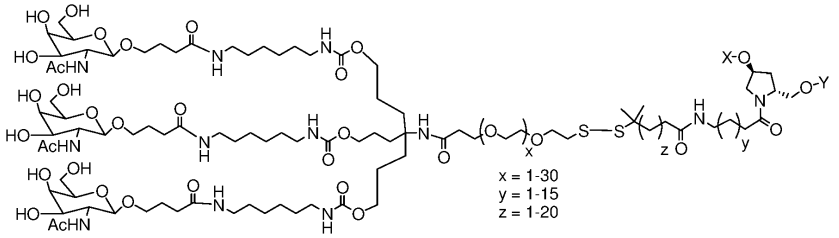
[0333]

[0334] [화학식 XXX]



[0335] 및

[0336] [화학식 XXXI]



[0337]

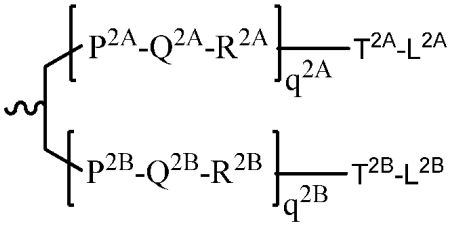
[0338] 상기 식에서,

[0339] X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오티드인 경우, 다른 것은 수소이다.

[0340] 본 발명의 조성물 및 방법의 특정 실시형태에서, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통하여 부착된 하나 이상의 GalNAc(N-아세틸갈락토사민) 유도체이다.

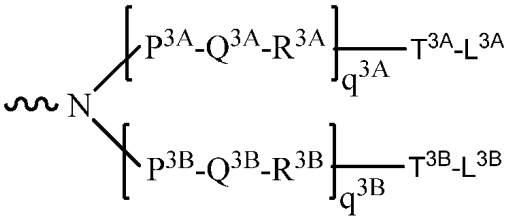
[0341] 한 구현예에서, 본 발명의 dsRNA는 화학식 XXXII 내지 XXXV 중 어느 하나에 나타낸 구조의 군으로부터 선택되는 2가 또는 3가 분지형 링커에 컨쥬게이트된다:

[0342] [화학식 XXXII]



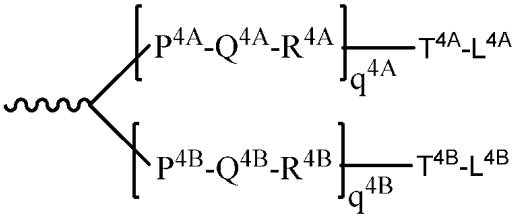
[0343]

[0344] [화학식 XXXIII]



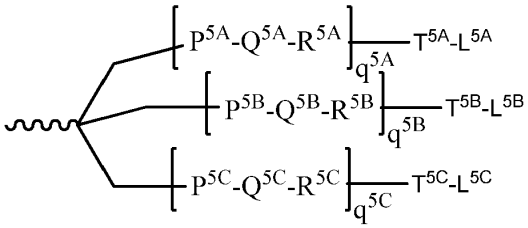
[0345]

[0346] [화학식 XXXIV]



[0347]

[0348] [화학식 XXXV]



[0349]

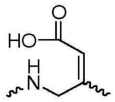
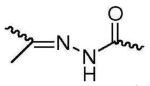
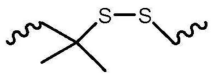
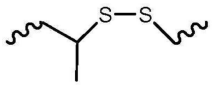
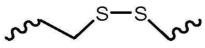
[0350] 상기 식에서,

[0351] q2A, q2B, q3A, q3B, q4A, q4B, q5A, q5B 및 q5C는 서로 독립적으로 0 내지 20을 나타내며, 여기서, 반복 단위는 동일하거나 상이할 수 있으며;

[0352] P^{2A}, P^{2B}, P^{3A}, P^{3B}, P^{4A}, P^{4B}, P^{5A}, P^{5B}, P^{5C}, T^{2A}, T^{2B}, T^{3A}, T^{3B}, T^{4A}, T^{4B}, T^{4A}, T^{5B}, T^{5C}는 각각 서로 독립적으로, 부재, CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH_2, CH_2NH 또는 CH_2O이고;

[0353] Q^{2A}, Q^{2B}, Q^{3A}, Q^{3B}, Q^{4A}, Q^{4B}, Q^{5A}, Q^{5B}, Q^{5C}는 서로 독립적으로, 부재, 알킬렌, 치환된 알킬렌이며, 여기서, 하나 이상의 메틸렌은 O, S, S(O), SO_2, $N(R^N)$, C(R')=C(R''), C=C 또는 C(O) 중 하나 이상에 의해 단절되거나, 종결될 수 있고;

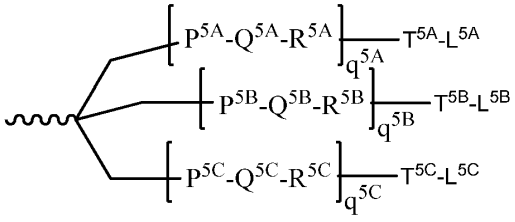
[0354] R^{2A}, R^{2B}, R^{3A}, R^{3B}, R^{4A}, R^{4B}, R^{5A}, R^{5B}, R^{5C}는 각각 서로 독립적으로, 부재, NH, O, S, CH_2, C(O)O, C(O)NH,

NHCH(R^a)C(O), -C(O)-CH(R^a)-NH-, CO, CH=N-O, , , , ,  또는 헤테로사이클릴이며;

[0355] L^{2A}, L^{2B}, L^{3A}, L^{3B}, L^{4A}, L^{4B}, L^{5A}, L^{5B} 및 L^{5C}는 리간드; 즉, 각각 서로 독립적으로, 단당류(예를 들어, GalNAc), 이당류, 삼당류, 사당류, 올리고당류 또는 다당류를 나타내고;

[0356] R^a는 H 또는 아미노산 측쇄이다. 3가 컨쥬게이팅 GalNAc 유도체, 예를 들어 화학식(XXXV)의 것들은 표적 유전자의 발현을 억제하기 위한 RNAi 작용제와 함께 사용하기에 특히 유용하다:

[0357] [화학식 XXXVI]



[0358] ,

[0359] 상기 식에서,

[0360] L^{5A}, L^{5B} 및 L^{5C}는 단당류, 예를 들어, GalNAc 유도체를 나타낸다.

[0361] GalNAc 유도체를 컨쥬게이트시키는 적합한 2가 및 3가 분지형 링커 기의 예에는 화학식 II, VII, XI, X 및 XIII로서 상기에 언급된 구조가 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0362] RNA 컨쥬게이트의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허는 미국 특허 번호 4,828,979호; 4,948,882호; 5,218,105호; 5,525,465호; 5,541,313호; 5,545,730호; 5,552,538호; 5,578,717호; 5,580,731호; 5,591,584호; 5,109,124호; 5,118,802호; 5,138,045호; 5,414,077호; 5,486,603호; 5,512,439호; 5,578,718호; 5,608,046호; 4,587,044호; 4,605,735호; 4,667,025호; 4,762,779호; 4,789,737호; 4,824,941호; 4,835,263호; 4,876,335호; 4,904,582호; 4,958,013호; 5,082,830호; 5,112,963호; 5,214,136호; 5,082,830호; 5,112,963호; 5,214,136호; 5,245,022호; 5,254,469호; 5,258,506호; 5,262,536호; 5,272,250호; 5,292,873호; 5,317,098호; 5,371,241호; 5,391,723호; 5,416,203호; 5,451,463호; 5,510,475호; 5,512,667호; 5,514,785호; 5,565,552호; 5,567,810호; 5,574,142호; 5,585,481호; 5,587,371호; 5,595,726호; 5,597,696호; 5,599,923호; 5,599,928호 및 5,688,941호; 6,294,664호; 6,320,017호; 6,576,752호; 6,783,931호; 6,900,297호; 7,037,646호; 8,106,022호를 포함하나, 이에 제한되지 않으며, 각가의 전문은 참조로서 본원에 포함된다.

[0363] 제공된 화합물 내의 모든 위치가 균일하게 변형될 필요는 없고, 사실, 상기 언급된 변형 중 하나보다 많은 변형은 단일 화합물 내 또는 심지어 iRNA 내의 단일한 뉴클레오시드에 통합될 수 있다. 본 발명은 또한 키메라 화합물인 iRNA 화합물을 포함한다.

[0364] 본 발명의 문맥에서 "키메라" iRNA 화합물 또는 "키메라"는 dsRNA 화합물의 경우에 뉴클레오티드와 같은 적어도 하나의 단량체 단위로 각각 구성된 2개 이상의 화학적으로 별개의 영역을 함유하는 iRNA 화합물, 바람직하게는 dsRNA이다. 이들 iRNA는 통상적으로, 뉴클레아제 분해에 대한 증가된 내성, 증가된 세포 흡수, 및/또는 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화성을 iRNA에 부여하도록 RNA가 변형된 적어도 하나의 영역을 함유한다. iRNA의 추가 영역은 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 혼성물을 절단시킬 수 있는 효소에 대한 기질로 작용할 수 있다. 예를 들어, RNase H는 RNA:DNA 듀플렉스의 RNA 가닥을 절단시키는 세포 엔도뉴클레아제이다. 따라서, RNase H의 활성화는 RNA 표적의 절단을 발생시키고, 이에 의해 유전자 발현의 iRNA 억제의 효능을 크게 향상시킨다. 결과로서, 동일 표적 영역에 혼성화되는 포스포로티오에이트 데옥시 dsRNA에 비해 키메라 dsRNA가 사용되는 경우 보다 짧은 iRNA를 이용하여 동등한 결과가 종종 수득될 수 있다. RNA 표적의 절단은 통상적으로 겔 전기영동 및, 필요시, 당 분야에 공지된 관련된 핵산 혼성화 기술에 의해 검출될 수 있다.

[0365] 특정 예에서, iRNA의 RNA는 비-리간드 기에 의해 변형될 수 있다. iRNA의 활성, 세포 분포 또는 세포 흡수를 향상시키기 위해 다수의 비-리간드 분자가 iRNA에 컨쥬게이션되었고, 상기 컨쥬게이션을 수행하기 위한 절차는 과학 문헌에서 이용 가능하다. 상기 비-리간드 모이어티는 지질 모이어티, 예를 들어, 콜레스테롤(문헌[Kubo, T. *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Comm., 2007, 365(1):54-61]; 문헌[Letsinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86:6553]), 콜산(문헌[Manoharan *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053]), 티오에테르, 예를 들어, 헥실-S-트리틸티오(문헌[Manoharan *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306]; 문헌[Manoharan *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3:2765]), 티오콜레스테롤(문헌[Oberhauser *et al.*, Nucl. Acids Res., 1992, 20:533]), 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras *et al.*, EMBO J., 1991, 10:111]; 문헌[Kabanov *et al.*, FEBS Lett, 1990, 259:327]; 문헌[Svinarchuk *et al.*, Biochimie, 1993, 75:49]), 인지질, 예를 들어, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세로-3-H-포스포네이트(문헌[Manoharan *et al.*, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651]; 문헌[Shea *et al.*, Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777]), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan *et al.*, Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969]), 또는 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan *et al.*, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651]), 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra *et al.*, Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229]), 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(문헌[Crooke *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923])를 포함하였다. 상기 RNA 컨쥬게이트의 제조를 교시하는 대표적 미국 특허가 상기에 나열되어 있다. 통상적 컨쥬게이션 프로토콜은 서열의 하나 이상의 위치에 아미노 링커를 갖는 RNA의 합성을 포함한다. 이후, 아미노기는 적절한 커플링 또는 활성화 시약을 이용하여 컨쥬게이션되는 분자와 반응된다. 컨쥬게이션 반응은 용액 상에서 고체 지지체에 여전히 고정된 RNA와 함께 수행될 수 있거나, RNA의 분해 후에 수행될 수 있다. HPLC에 의한 RNA 컨쥬게이트의 정제는 통상적으로 순수한 컨쥬게이트를 발생시킨다.

[0366] **IV. 본 발명의 iRNA의 전달**

[0367] 세포, 예를 들어, 인간 대상체(예를 들어, 지질 대사 장애를 갖는 대상체와 같이 본 발명의 iRNA의 전달을 필요로 하는 대상체)와 같은 대상체 내의 세포로의 본 발명의 iRNA의 전달은 다수의 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 예를 들어, 전달은 시험관내 또는 생체내에서 세포를 본 발명의 iRNA와 접촉시킴으로써 수행될 수 있다. 또한, 생체내 전달은 iRNA, 예를 들어, dsRNA를 포함하는 조성물을 대상체에 투여함으로써 직접 수행될 수 있다. 대안적으로, iRNA를 인코딩하고 이의 발현을 유도하는 하나 이상의 벡터를 투여함으로써 생체내 전달은 간접적으로 수행될 수 있다. 이들 대안은 하기에 추가로 논의된다.

[0368] 일반적으로, 핵산 분자를 전달하는(시험관내 또는 생체내) 임의의 방법이 본 발명의 iRNA와의 사용을 위해 조정될 수 있다(예를 들어, 전체 내용이 참조로서 본원에 포함되는, 문헌[Akhtar S. and Julian RL., (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144] 및 WO94/02595호 참조). 생체내 전달을 위하여, iRNA 분자를 전달하기 위해 고려해야 할 요인에는 예를 들어, 전달된 분자의 생물학적 안정성, 비특이적 효과의 방지, 및 표적 조직 내의 전달된 분자의 축적이 포함된다. iRNA의 비특이적 효과는, 예를 들어, 조직으로의 직접적인 주사 또는 이식에 의한 또는 작용제를 국소 투여함에 의한 국소 투여에 의해 최소화될 수 있다. 치료 부위로의 국소 투여는 작용제의 국소 농도를 최대화시키고, 작용제에 의해 달리 손상될 수 있거나, 작용제를 분해시킬 수 있는 전신 조직으로의 작용제의 노출을 제한하고, iRNA 분자의 보다 적은 전체 용량이 투여되게 한다. 여러 연구에서 iRNA가 국소 투여되는 경우 유전자 생성물의 성공적인 넉다운이 밝혀졌다. 예를 들어, 사이노몰구스(cynomolgus) 원숭이에서의 유리체내 주사(문헌[Tolentino, MJ., *et al.,* (2004) *Retina* 24:132-138]) 및 마우스에서의 망막하 주사(문헌[Reich, SJ. *et al.* (2003) *Mol. Vis.* 9:210-216])에 의한 VEGF dsRNA의 안구내 전달은 둘 모두가 연령-관련 황반변성의 실험 모델에서 신생혈관증식을 방지하는 것으로 밝혀졌다. 또한, 마우스에서의 dsRNA의 직접적 종양내 주사는 종양 부피를 감소시키고(문헌[Pille, J. *et al.* (2005) *Mol. Ther.* 11:267-274]), 종양을 갖는 마우스의 생존을 연장시킬 수 있다(문헌[Kim, WJ. *et al.,* (2006) *Mol. Ther.* 14:343-350]; 문헌[Li, S. *et al.,* (2007) *Mol. Ther.* 15:515-523]). RNA 간섭은 또한 직접 주사에 의한 CNS로의 국소 전달(문헌[Dorn, G. *et al.,* (2004) *Nucleic Acids* 32:e49]; 문헌[Tan, PH. *et al.* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66]; 문헌[Makimura, H. *et al.* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18]; 문헌[Shishkina, GT., *et al.* (2004) *Neuroscience* 129:521-528]; 문헌[Thakker, ER., *et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275]; 문헌[Akaneya,Y., *et al.* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602]) 및 비내 투여에 의한 폐로의 국소 전달(문헌[Howard, KA. *et al.,* (2006) *Mol. Ther.* 14:476-484]; 문헌[Zhang, X. *et al.,* (2004) *J. Biol. Chem.* 279:10677-10684]; 문헌[Bitko, V, *et al.,* (2005) *Nat. Med.* 11:50-55])을 이용하여 성공적인 것으로 밝혀졌

다. 질병의 치료를 위해 iRNA를 전신 투여하기 위해, RNA는 변형되거나 약물 전달 시스템을 이용하여 대안적으로 전달될 수 있고, 이러한 둘 모두의 방법은 생체내에서 엔도뉴클레아제 및 엑소뉴클레아제에 의한 dsRNA의 신속한 분해를 방지하는 작용을 한다. RNA 또는 약제학적 담체의 변형은 또한 표적 조직으로의 iRNA 조성물의 표적화 및 요망되지 않는 표적외 효과의 회피를 가능케 할 수 있다. iRNA 분자는 세포 흡수를 향상시키고 분해를 방지하기 위해 콜레스테롤과 같은 친유성 기로의 화학적 컨쥬게이션에 의해 변형될 수 있다. 예를 들어, 친유성 콜레스테롤 모이어티에 컨쥬게이트된 ApoB에 대해 유도된 iRNA가 마우스에 전신 주사되었고, 간 및 공장 둘 모두에서 apoB mRNA의 녹다운을 발생시켰다(문헌[Soutschek, J. *et al.*, (2004) *Nature* 432:173-178]). 압타머로의 iRNA의 컨쥬게이션은 전립선암의 마우스 모델에서 종양 성장을 억제하고, 종양 회귀를 매개하는 것으로 밝혀졌다(문헌[McNamara, JO. *et al.*, (2006) *Nat. Biotechnol.* 24: 1005-1015]). 한 대안적 구현예에서, iRNA는 약물 전달 시스템, 예를 들어, 나노입자, 덴드리머, 중합체, 리포솜, 또는 양이온성 전달 시스템을 이용하여 전달될 수 있다. 양성으로 하전된 양이온성 전달 시스템은 iRNA 분자(음성으로 하전됨)의 결합을 촉진시키고, 또한 음성으로 하전된 세포막에서의 상호작용을 향상시켜, 세포에 의한 iRNA의 효과적인 흡수를 가능케 한다. 양이온성 지질, 덴드리머, 또는 중합체는 iRNA에 결합될 수 있거나, 유도되어 iRNA를 둘러싸는 소포 또는 미셀(마우스lle)을 형성할 수 있다(예를 들어, 문헌[Kim SH. *et al.*, (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116] 참조). 소포 또는 미셀의 형성은 전신 투여되는 경우 iRNA의 분해를 추가로 방지한다. 양이온성-iRNA 복합체를 제조하고 투여하는 방법은 충분히 당업자의 능력 내이다(예를 들어, 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Sorensen, DR., *et al.* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766]; 문헌[Verma, UN. *et al.*, (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300]; 문헌[Arnold, AS *et al.*, (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205] 참조). iRNA의 전신 전달에 유용한 약물 전달 시스템의 일부 비제한적인 예는 DOTAP(상기 문헌[Sorensen, DR., et al (2003)]; 상기 문헌[Verma, UN, *et al.*, (2003)]), Oligofectamine, "고체 핵산 지질 입자"(문헌[Zimmermann, TS. *et al.*, (2006) *Nature* 441:111-114]), 카디오리핀(문헌[Chien, PY. *et al.*, (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328]; 문헌[Pal, A. *et al.*, (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091]), 폴리에틸렌이민(문헌[Bonnet ME. *et al.*, (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print]; 문헌[Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659]), Arg-Gly-Asp(RGD) 펩티드(문헌[Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487]), 및 폴리아미도아민(문헌[Tomalia, DA. *et al.*, (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67]; 문헌[Yoo, H. *et al.*, (1999) *Pharm. Res.* 16: 1799-1804])을 포함한다. 일부 구현예에서, iRNA는 전신 투여를 위해 사이클로덱스트린과 복합체를 형성한다. iRNA 및 사이클로덱스트린의 투여 방법 및 약제학적 조성물은 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 7,427,605호에서 발견될 수 있다.

[0369] A. *벡터에 의해 인코딩된 본 발명의 iRNA*

[0370] ANGPTL3 유전자를 표적으로 하는 iRNA는 DNA 또는 RNA 벡터로 삽입된 전사 단위로부터 발현될 수 있다(예를 들어, 문헌[Couture, A, *et al.*, *TIG.* (1996), 12:5-10]; PCT 공개 WO 00/22113호(Skillern, A., *et al.*), PCT 공개 WO 00/22114호(Conrad) 및 미국 특허 번호 6,054,299호(Conrad) 참조). 발현은 사용되는 특정 작제물(construct) 및 표적 조직 또는 세포 유형에 따라 일시적(약 몇시간 내지 몇주)이거나 지속적(몇주 내지 몇개월 또는 그 이상의 기간)일 수 있다. 이들 트랜스유전자(transgene)는 선형 작제물, 원형 플라스미드, 또는 바이러스 벡터로 도입될 수 있고, 이는 통합 벡터 또는 통합되지 않는 벡터일 수 있다. 트랜스유전자는 또한 염색체외 플라스미드로서 유전되는 것을 가능케 하도록 작제될 수 있다(문헌[Gassmann, *et al.*, (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 92: 1292]).

[0371] iRNA의 개별적 가닥 또는 가닥들은 발현 벡터 상의 프로모터로부터 전사될 수 있다. 2개의 별개의 가닥이, 예를 들어, dsRNA를 발생시키도록 발현되어야 하는 경우, 2개의 별개의 발현 벡터가 표적 세포로 공동 도입(예를 들어, 트랜스펙션(전달감염) 또는 감염에 의함)될 수 있다. 대안적으로, dsRNA의 각각의 개별적 가닥은 동일 발현 플라스미드에 위치되는 두 프로모터 모두에 의해 전사될 수 있다. 한 구현예에서, dsRNA는 링커 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 연결된 역위된 반복 폴리뉴클레오티드로 발현되어, dsRNA는 스템 및 루프 구조를 갖는다.

[0372] iRNA 발현 벡터는 일반적으로 DNA 플라스미드 또는 바이러스 벡터이다. 진핵생물 세포와 상용성인 발현 벡터, 바람직하게는 척추동물 세포와 상용성인 발현 벡터가 본원에 기재된 바와 같은 iRNA의 발현을 위한 재조합 작제물을 생성시키는데 사용될 수 있다. 진핵생물 세포 발현 벡터는 당 분야에 널리 공지되어 있고, 이는 다수의 상업적 공급원으로부터 이용 가능하다. 통상적으로, 요망되는 핵산 세그먼트의 삽입을 위한 편리한 제한 부위를 함유하는 상기 벡터가 제공된다. iRNA 발현 벡터의 전달은 정맥내 또는 근내 투여, 환자로부터 체외이식된 표적 세포로의 투여 후 환자로의 재도입, 또는 요망되는 표적 세포로의 도입을 가능케 하는 임의의 다른 수단에 의한 전달과 같이 전신 전달일 수 있다.

[0373] 본원에 기재된 방법 및 조성물과 함께 이용될 수 있는 바이러스 벡터 시스템은 (a) 아데노바이러스 벡터; (b) 렌티바이러스 벡터, 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 레트로바이러스 벡터; (c) 아데노-관련 바이러스 벡터; (d) 단순헤르페스 바이러스 벡터; (e) SV40 벡터; (f) 폴리오마 바이러스 벡터; (g) 유두종 바이러스 벡터; (h) 피코나바이러스 벡터; (i) 폭스바이러스 벡터, 예를 들어, 오르토폭스, 예를 들어, 우두 바이러스 벡터 또는 조류폭스, 예를 들어, 카나리아 발진병 또는 수두; 및 (j) 보조-의존성 또는 무기력 아데노바이러스를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 복제-불능 바이러스가 또한 유리할 수 있다. 다양한 벡터가 세포의 게놈에 통합되거나 통합되지 않을 것이다. 작제물은 요망시 트랜스펙션을 위한 바이러스 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, 작제물은 에피솜 복제가 가능한 벡터, 예를 들어, EPV 및 EBV 벡터로 통합될 수 있다. iRNA의 재조합 발현을 위한 작제물은 표적 세포에서의 iRNA의 발현을 보장하기 위해 일반적으로 조절 성분, 예를 들어, 프로모터, 인핸서 등을 필요로 할 것이다. 벡터 및 작제물을 고려하는 다른 양태는 당업계에 공지되어 있다.

[0374] **V. 본 발명의 약제학적 조성물**

[0375] 본 발명은 또한 본 발명의 iRNA를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형을 포함한다. 한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 iRNA, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물이 본원에 제공된다. iRNA를 함유하는 약제학적 조성물은 ANGPTL3 유전자의 발현 또는 활성과 연관된 질병 또는 장애, 예를 들어, 지질 대사 장애, 예를 들어, 유전 장애, 예컨대 선천성 고트리글리세라이드혈증, 선천성 부분 지방이상증 1형(FPLD1), 또는 유도된 또는 후천성 장애, 예컨대 질병, 장애 또는 질환(예를 들어, 신부전), 식이, 또는 소정 약물의 섭취 결과(예를 들어, AIDS 또는 HIV의 치료를 위해 이용되는 고활성 항-레트로바이러스 치료법(HAART)의 결과) 유도된 또는 후천성 장애의 치료를 위해 유용하다.

[0376] 이러한 약제학적 조성물은 전달 방식에 기초하여 제형화된다. 한 예는 비경구 전달을 통한 전신 투여를 위해, 예를 들어 정맥내(IV) 또는 피하 전달을 위해 제형화된 조성물이다. 다른 예는 간 내로의 직접 전달을 위해, 예를 들어, 간 내로의 주입에 의해, 예컨대 연속 펌프 주입에 의해 제형화된 조성물이다.

[0377] 본 발명의 약제학적 조성물은 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하기 충분한 투여량으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 iRNA의 적합한 용량은 일 당 수신체의 체중 kg 당 약 0.001 mg 내지 약 200.0 mg 범위, 일반적으로 일 당 체중 kg 당 약 1 mg 내지 약 50 mg의 범위일 것이다. 전형적으로, 본 발명의 iRNA의 적합한 용량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 5.0 mg/kg, 바람직하게는 약 0.3 mg/kg 내지 약 3.0 mg/kg의 범위일 것이다.

[0378] 반복-투여 방식은 정기적 기준으로, 예컨대 2일마다 내지 1년마다 iRNA의 치료량의 투여를 포함할 수 있다. 소정 구현예에서, iRNA는 약 1개월마다 내지 약 1분기 마다(즉, 약 3개월 마다) 투여된다.

[0379] 초기 치료 방식 후, 치료는 덜 빈번한 기준으로 투여될 수 있다.

[0380] 당업자는 질병 또는 장애의 중증도, 이전의 치료, 대상체의 전반적 건강 및/또는 연령, 및 존재하는 다른 질병을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 특정 요인이 대상체를 효과적으로 치료하는데 필요한 투여량 및 시기에 영향을 미칠 수 있음을 인지할 것이다. 또한, 치료적 유효량의 조성물을 이용한 대상체의 치료는 단일 치료 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 본 발명에 의해 포함되는 개별적 iRNA에 대한 유효 투여량 및 생체내 반감기의 측정은 통상적인 방법을 이용하거나, 본원 다른 곳에 기재된 바와 같은 적절한 동물 모델을 이용한 생체내 시험에 기초하여 이루어질 수 있다.

[0381] 마우스 유전학에서의 진보는 다양한 인간 질병, 예컨대 ANGPTL3의 발현 감소로 효과를 얻을 지질 대사 장애의 연구를 위한 여러 마우스 모델을 생성하였다. 이러한 모델은 iRNA의 생체내 평가를 위해서 뿐만 아니라 치료적 유효 용량의 결정을 위해 이용될 수 있다. 적합한 마우스 모델은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 비만(ob) 유전자에 돌연변이를 함유하는 비만(ob/ob) 마우스(Wiegman *et al.*, (2003) *Diabetes*, 52:1081-1089); LDL 수용체의 동종접합성 녹아웃을 함유하는 마우스(LDLR -/- 마우스; Ishibashi *et al.*, (1993) *J Clin Invest* 92(2):883-893); 식이-유도 죽상동맥경화증 마우스 모델(Ishida *et al.*, (1991) *J. Lipid. Res.*, 32:559-568); 및 이종접합성 지단백질 리파제 녹아웃 마우스 모델(Weistock et al., (1995) J. Clin. Invest. 96(6):2555-2568)을 포함한다.

[0382] 본 발명의 약제학적 조성물은 국소 또는 전신 치료가 요망되는지의 여부 및 치료되는 영역에 따라 다수의 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 국소(예를 들어, 경피 패치에 의함), 예를 들어, 분무기에 의한 흡입 또는 통기를 포함하는 분말 또는 에어로졸의 흡입 또는 통기에 의한 폐내; 기관내, 비내, 표피 및 경피, 경구 또는 비경구 투여일 수 있다. 비경구 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 복막내 또는 근내 주사 또는 주입; 예를 들어, 이식된

장치를 통한 피하; 또는, 예를 들어, 실질내, 수막강내 또는 뇌실내 투여에 의한 두개내 투여일 수 있다.

[0383] iRNA는 간(예를 들어, 간의 간세포)과 같은 특정 조직을 표적으로 하는 방식으로 전달될 수 있다.

[0384] 국소 투여를 위한 약제학적 조성물 및 제형은 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점적, 좌약, 스프레이, 액체 및 분말을 포함할 수 있다. 통상적인 약제학적 담체, 수성, 분말, 또는 유성 베이스(염기), 증점제 등이 필요하거나 요망될 수 있다. 코팅된 콘돔, 장갑 등이 또한 유용할 수 있다. 적합한 국소 제형은 본 발명에서 특정된 iRNA가 국소 전달제, 예를 들어, 지질, 리포솜, 지방산, 지방산 에스테르, 스테로이드, 킬레이트제 및 계면활성제와 혼합되어 있는 제형을 포함한다. 적합한 지질 및 리포솜은 중성(예를 들어, 디올레오일포스파티딜 DOPE 에탄올아민, 디미리스토일포스파티딜 콜린 DMPC, 디스테아로일포스파티딜 콜린), 음성(예를 들어, 디미리스토일포스파티딜 글리세롤 DMPG) 및 양이온성(예를 들어, 디올레오일테트라메틸아미노프로필 DOTAP 및 디올레오일포스파티딜 에탄올아민 DOTMA)을 포함한다. 본 발명에서 특정된 iRNA는 리포솜 내에서 피막화될 수 있거나, 리포솜, 특히 양이온성 리포솜에 대해 복합체를 형성할 수 있다. 대안적으로, iRNA는 지질, 특히, 양이온성 지질에 대해 복합체화될 수 있다. 적합한 지방산 및 에스테르는 아라키돈산, 올레산, 에이코산산, 라우르산, 카프릴산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인, 디라우린, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헵탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 C_{1-20} 알킬 에스테르(예를 들어, 이소프로필미리스테이트 IPM), 모노글리세라이드, 디글리세라이드 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 국소 제형은 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 6,747,014호에 상세히 기재되어 있다.

[0385] 경구 투여를 위한 조성물 및 제형은 분말 또는 과립, 미립자, 나노입자, 물 또는 비수성 매질 중 현탁액 또는 용액, 캡슐, 젤 캡슐, 샤세(sachet), 정제 또는 소형 정제(minitablet)를 포함한다. 증점제, 착향제, 희석제, 유화제, 분산 보조제 또는 결합체가 요망될 수 있다. 일부 구현예에서, 경구 제형은 본 발명에서 특정된 dsRNA가 하나 이상의 침투 향상제 계면활성제 및 킬레이트제와 함께 투여되는 것이다. 적합한 계면활성제는 지방산 및/또는 이의 에스테르 또는 염, 담즙산 및/또는 이의 염을 포함한다. 적합한 담즙산/염은 케노데옥시콜산(CDCA) 및 우르소데옥시케노데옥시콜산(UDCA), 콜산, 데하이드로콜산, 데옥시콜산, 글루콜산(glucholic acid), 글리콜산(glycholic acid), 글리코데옥시콜산, 타우로콜산, 타우로데옥시콜산, 소듐 타우로-24,25-디하이드로-푸시데이트 및 소듐 글리코디하이드로푸시데이트를 포함한다. 적합한 지방산은 아라키돈산, 운데칸산, 올레산, 라우르산, 카프릴산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인, 디라우린, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헵탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 모노글리세라이드, 디글리세라이드 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염(예를 들어, 소듐)을 포함한다. 일부 구현예에서, 침투 향상제의 조합물, 예를 들어, 담즙산/염과 조합된 지방산/염이 사용된다. 한 예시적 조합물은 라우르산, 카프르산 및 UDCA의 소듐 염이다. 추가 침투 향상제는 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르를 포함한다. 본 발명에서 특정된 dsRNA는 분무되는 건조 입자를 포함하는 과립 형태로 경구 전달될 수 있거나, 복합체화되어 미립자 또는 나노입자를 형성할 수 있다. dsRNA 복합체화 제제는 폴리-아미노산; 폴리이민; 폴리아크릴레이트; 폴리알킬아크릴레이트, 폴리옥세탄, 폴리알킬시아노아크릴레이트; 양이온화된 젤라틴, 알부민, 전분, 아크릴레이트, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 및 전분; 폴리알킬시아노아크릴레이트; DEAE-유도체화된 폴리이민, 폴룰란(pollulan), 셀룰로스 및 전분을 포함한다. 적합한 복합체화 제제는 키토산, N-트리메틸키토산, 폴리-L-라이신, 폴리히스티딘, 폴리오르니틴, 폴리스페르민, 프로타민, 폴리비닐피리딘, 폴리티오디에틸아미노메틸에틸렌 P(TDAE), 폴리아미노스티렌(예를 들어, p-아미노), 폴리(메틸시아노아크릴레이트), 폴리(에틸시아노아크릴레이트), 폴리(부틸시아노아크릴레이트), 폴리(이소부틸시아노아크릴레이트), 폴리(이소헥실시아노아크릴레이트), DEAE-메타크릴레이트, DEAE-헥실아크릴레이트, DEAE-아크릴아미드, DEAE-알부민 및 DEAE-덱스트란, 폴리메틸아크릴레이트, 폴리헥실아크릴레이트, 폴리(D,L-락트산), 폴리(DL-락틱-코-글리콜산(PLGA)), 알기네이트, 및 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 포함한다. dsRNA에 대한 경구 제형 및 이의 제조는 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 6,887,906호, 미국 공개 번호 20030027780호, 및 미국 특허 번호 6,747,014호에 상세히 기재되어 있다.

[0386] 비경구, 실질내(뇌로의 투여), 수막강내, 뇌실내 또는 간내 투여를 위한 조성물 및 제형은 완충제, 희석제 및 다른 적합한 첨가제, 비제한적인 예로, 침투 향상제, 담체 화합물 및 다른 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 또한 함유할 수 있는 멸균 수용액을 포함할 수 있다.

[0387] 본 발명의 약제학적 조성물은, 비제한적인 예로, 용액, 에멀젼, 및 리포솜-함유 제형을 포함한다. 이들 조성물은 미리형성된 액체, 자가-유화 고체 및 자가-유화 반고체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는 다양한 성분으로

부터 생성될 수 있다. 간 장애, 예를 들어, 간 암종을 치료하는 경우 간을 표적으로 하는 제형이 특히 바람직하다.

[0388] 단위 투여 형태로 편리하게 제공될 수 있는 본 발명의 약제학적 제형은 약학 산업에서 널리 공지된 통상적인 기술에 따라 제조될 수 있다. 이러한 기술은 활성 성분과 약제학적 담체(들) 또는 부형제(들)를 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 성분과 액체 담체 또는 미세하게 나누어진 고체 담체 또는 둘 모두를 균일하고 충분하게 회합시킨 후, 필요시 제품을 성형시킴으로써 제조된다.

[0389] 본 발명의 조성물은 많은 가능한 투여 형태, 비제한적인 예로, 정제, 캡슐, 겔 캡슐, 액체 시럽, 연성 겔, 좌약, 및 관장제 중 임의의 투여 형태로 제형화될 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 수성, 비수성 또는 혼합된 매질의 현탁액으로 제형화될 수 있다. 수성 현탁액은, 예를 들어, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 소르비톨 및/또는 덱스트란을 포함하는 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 추가로 함유할 수 있다. 현탁액은 또한 안정화제를 함유할 수 있다.

[0390] *A. 추가 제형*

[0391] *i. 에멀젼*

[0392] 본 발명의 조성물은 에멀젼으로 제조되고 제형화될 수 있다. 에멀젼은 통상적으로 0.1 ㎛ 직경을 보통 초과하는 비말 형태의 또 다른 액체에 분산된 한 액체의 이종성 시스템이다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199]; 문헌[Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245]; 문헌[Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335]; 문헌[Higuchi *et al.*, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301] 참조). 에멀젼은 종종 서로 충분히 혼합되고 분산된 2개의 비혼화성 액체 상을 포함하는 2상 시스템이다. 일반적으로, 에멀젼은 유중수(w/o) 또는 수중유(o/w) 종류일 수 있다. 수성상이 벌크 유성상으로의 미세한 비말로 미세하게 나누어지고 분산되는 경우, 생성된 조성물은 유중수(w/o) 에멀젼으로 언급된다. 대안적으로, 유성상이 벌크 수성상으로의 미세한 비말로 미세하게 나누어지고 분산되는 경우, 생성된 조성물은 수중유(o/w) 에멀젼으로 언급된다. 에멀젼은 분산된 상에 더하여 추가 성분, 및 수성상, 유성상 중 용액으로 또는 별개의 상으로 자체로 제공될 수 있는 활성 약물을 함유할 수 있다. 약제학적 부형제, 예를 들어, 유화제, 안정화제, 염료, 및 항산화제가 또한 필요시 에멀젼에 제공될 수 있다. 약제학적 에멀젼은 또한, 예를 들어, 유중수중유(o/w/o) 및 수중유중수(w/o/w) 에멀젼의 경우에서와 같이 2개보다 많은 상으로 구성되는 다중 에멀젼일 수 있다. 상기 복합체 제형은 종종 간단한 2원 에멀젼이 제공하지 않는 특정한 장점을 제공한다. o/w 에멀젼의 개별적 오일 비말이 작은 물 비말을 둘러싸는 다중 에멀젼이 w/o/w 에멀젼을 구성한다. 마찬가지로, 유성 연속 상 내에서 안정화된 물의 소구체 내에서 둘러싸인 오일 비말의 시스템이 o/w/o 에멀젼을 제공한다.

[0393] 에멀젼은 열역학적 안정성이 거의 없거나 없는 것을 특징으로 한다. 종종, 에멀젼의 분산되거나 불연속적인 상이 외부 또는 연속 상으로 잘 분산되고, 유화제의 사용 또는 제형의 점도를 통해 상기 형태로 유지된다. 에멀젼의 상 중 어느 상이든 에멀젼-유형 연고 베이스 및 크림의 경우에서와 같이 반고체 또는 고체일 수 있다. 에멀젼을 안정화시키는 다른 수단은 에멀젼의 어느 상으로 통합될 수 있는 유화제의 사용을 수반한다. 유화제는 합성 계면활성제, 자연 발생 유화제, 흡수 베이스, 및 미세하게 분산된 고체의 4개의 부류로 넓게 분류될 수 있다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199] 참조).

[0394] 표면활성제로도 공지된 합성 계면활성제는 에멀젼의 제형에서 광범위하게 적용되며, 이는 문헌에 개관되어 있다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199] 참조). 계면활성제는 통상적으

로 양친매성이고, 친수성 및 소수성 부분을 포함한다. 계면활성제의 친수성 대 소수성 특성의 비는 친수성/친유성 균형(HLB)으로 명명되었으며, 이는 제형의 제조에서 계면활성제를 분류하고 선택하는데 있어서 가치있는 도구이다. 계면활성제는 친수성 기의 특성에 기초하여 비이온성, 음이온성, 양이온성 및 양쪽성으로 상이한 부류로 분류될 수 있다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285] 참조).

[0395] 에멀젼 제형에서 사용되는 자연 발생 유화제는 라놀린, 밀랍, 포스파티드, 레시틴 및 아카시아를 포함한다. 흡수 베이스는 무수 라놀린 및 친수성 페트로라텀(petrolatum)과 같이 이들이 이들의 반고체 경도를 유지하면서 w/o 에멀젼을 형성시키기 위해 물을 흡수할 수 있도록 하는 친수성 특성을 갖는다. 미세하게 나누어진 고체가 또한, 특히 계면활성제와 조합되고, 점성 제제 내에서 우수한 유화제로 사용되어 왔다. 이들은 극성 무기 고체, 예를 들어, 중금속 하이드록사이드, 비팽윤 점토, 예를 들어, 벤토나이트, 애타풀자이트(attapulgite), 헥토라이트, 카올린, 몬모릴로나이트, 콜로이드 알루미늄 실리케이트 및 콜로이드 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 안료 및 비극성 고체, 예를 들어, 탄소 또는 글리세릴 트리스테아레이트를 포함한다.

[0396] 매우 다양한 비-유화 물질이 또한 에멀젼 제형에 포함되며, 이들은 에멀젼의 특성에 기여한다. 이들은 지방, 오일, 왁스, 지방산, 지방 알콜, 지방 에스테르, 보습제, 친수성 콜로이드, 보존제 및 항산화제를 포함한다(문헌[Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199]).

[0397] 친수성 콜로이드 또는 하이드로콜로이드는 자연 발생 검(gum) 및 합성 중합체, 예를 들어, 다당류(예를 들어, 아카시아, 아가, 알긴산, 카라기난(carrageenan), 구아 검, 카라야 검(karaya gum), 및 트래거캔쓰(tragacanth)), 셀룰로스 유도체(예를 들어, 카르복시메틸셀룰로스 및 카르복시프로필셀룰로스), 및 합성 중합체(예를 들어, 카르보머, 셀룰로스 에테르, 및 카르복시비닐 중합체)를 포함한다. 이들은 물 내에서 분산되거나 팽창하여, 분산된-상 비말 주위에 강한 계면 필름을 형성시키고, 외부 상의 점도를 증가시킴으로써 에멀젼을 안정화시키는 콜로이드 용액을 형성시킨다.

[0398] 에멀젼은 종종 미생물의 성장을 용이하게 도울 수 있는 다수의 성분, 예를 들어, 탄수화물, 단백질, 스테롤 및 포스파티드를 함유하므로, 이들 제형은 종종 보존제를 포함한다. 에멀젼 제형에 포함되는 일반적으로 사용되는 보존제는 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 4차 암모늄 염, 벤즈알코늄 클로라이드, p-하이드록시벤조산의 에스테르, 및 붕산을 포함한다. 제형의 변패를 방지하기 위해 항산화제가 또한 에멀젼 제형에 일반적으로 첨가된다. 사용되는 항산화제는 자유 라디칼 제거제, 예를 들어, 토코페롤, 알킬 갈레이트, 부틸화된 하이드록시아니솔, 부틸화된 하이드록시톨루엔, 또는 환원제, 예를 들어, 아스코르브산 및 소듐 메타비설피트, 및 항산화제 상승작용제, 예를 들어, 시트르산, 타르타르산, 및 레시틴일 수 있다.

[0399] 피부, 경구 및 비경구 경로를 통한 에멀젼 제형의 적용 및 이들의 제조 방법은 문헌에 개관되어 있다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199] 참조). 제형화의 용이성, 뿐만 아니라 흡수로부터의 효능 및 생체이용률의 입장으로 인해, 경구 전달을 위한 에멀젼 제형이 매우 다양하게 사용되어 왔다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245]; 문헌[Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199] 참조). 광유 베이스 설사제, 지용성 비타민 및 고지방 영양 제제가 특히 o/w 에멀젼으로서 일반적으로 경구로 투여되는 물질이다.

[0400] *ii. 마이크로에멀젼*

[0401] 본 발명의 한 구현예에서, iRNA 및 핵산의 조성물은 마이크로에멀젼으로 제형화된다. 마이크로에멀젼은 단일 광학적으로 등방성이고, 열역학적으로 안정적인 액체 용액인 물, 오일 및 양친매성의 시스템으로 정의될 수 있다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich

NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245] 참조). 통상적으로, 마이크로에멀젼은 먼저 계면활성제 수용액에 오일을 분산시킨 후, 충분한 양의 네번째 성분, 일반적으로 중간 사슬-길이 알콜을 첨가하여 투명한 시스템을 형성시킴으로써 제조되는 시스템이다. 따라서, 마이크로에멀젼은 또한 표면-활성 분자의 계면 필름에 의해 안정화되는 2개의 비혼화성 액체의 열역학적으로 안정적이고, 등방성의 투명한 분산액으로 기재되어 왔다(문헌[Leung and Shah, in: Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215]). 마이크로에멀젼은 일반적으로 오일, 물, 계면활성제, 보조계면활성제 및 전해질을 포함하는 3 내지 5개의 성분의 조합을 통해 제조된다. 마이크로에멀젼이 유중수(w/o) 또는 수중유(o/w) 유형인지의 여부는 사용되는 오일 및 계면활성제의 특성, 및 계면활성제 분자의 극성 헤드 및 탄화수소 꼬리의 구조 및 기하학적 패킹에 좌우된다(문헌[Schott, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271]).

[0402] 상태도(phase diagram)를 이용한 현상학적 방법이 광범위하게 연구되었고, 마이크로에멀젼을 제형화시키는 방법의 당업자에 대한 광범위한 지식을 발생시켰다(예를 들어, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC, 2004, Lippincott Williams & Wilkins(8th ed.), New York, NY]; 문헌[Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245]; 문헌[Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker(Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335] 참조). 통상적인 에멀젼에 비해, 마이크로에멀젼은 자발적으로 형성되는 열역학적으로 안정적인 비말의 형성에서 수-불용성 약물을 용해화시키는 장점을 제공한다.

[0403] 마이크로에멀젼의 제조에서 사용되는 계면활성제는 단독이거나 보조계면활성제와 조합된 이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, Brij 96, 폴리옥시에틸렌 올레일 에테르, 폴리글리세롤 지방산 에스테르, 테트라글리세롤 모노라우레이트(ML310), 테트라글리세롤 모노올레에이트(MO310), 헥사글리세롤 모노올레에이트(PO310), 헥사글리세롤 펜타올레에이트(PO500), 데카글리세롤 모노카프레이트(MCA750), 데카글리세롤 모노올레에이트(MO750), 데카글리세롤 세퀴올레에이트(SO750), 데카글리세롤 데카올레에이트(DAO750)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 보조계면활성제, 보통 단쇄 알콜, 예를 들어, 에탄올, 1-프로판올, 및 1-부탄올은 계면활성제 필름으로 침투하고, 그 결과로서 계면활성제 분자 사이에서 생성된 빈 공간으로 인해 무질서한 필름을 생성시킴으로써 계면 유동성을 증가시키는 작용을 한다. 그러나, 마이크로에멀젼은 보조계면활성제의 사용 없이 제조될 수 있고, 알콜을 함유하지 않는 자가-유화 마이크로에멀젼 시스템이 당 분야에 공지되어 있다. 수성상은 통상적으로 물, 약물의 수용액, 글리세롤, PEG300, PEG400, 폴리글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 에틸렌 글리콜의 유도체일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 오일상은 물질, 예를 들어, Captex 300, Captex 355, Capmul MCM, 지방산 에스테르, 중간 사슬(C8-C12) 모노, 디, 및 트리-글리세라이드, 폴리옥시에틸화된 글리세릴 지방산 에스테르, 지방 알콜, 폴리글리콜화된 글리세라이드, 포화 폴리글리콜화된 C8-C10 글리세라이드, 식물성 오일 및 실리콘 오일을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0404] 마이크로에멀젼은 약물 용해화 및 약물의 향상된 흡수의 관점으로부터 특히 흥미롭다. 펩티드를 포함하는 약물의 경구 생체이용률을 향상시키기 위해 지질 기반 마이크로에멀젼(o/w 및 w/o 둘 모두)이 제안되었다(예를 들어, 미국 특허 번호 6,191,105호; 7,063,860호; 7,070,802호; 7,157,099호; 문헌[Constantinides *et al.*, Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385-1390]; 문헌[Ritschel, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205] 참조). 마이크로에멀젼은 개선된 약물 용해화, 효소 가수분해로부터 약물의 보호, 막 유동성 및 투과성에서의 계면활성제-유도 변화로 인한 약물 흡수의 가능한 향상, 제조의 용이성, 고체 투여 형태에 비한 경구 투여의 용이성, 개선된 임상 효능, 및 감소된 독성의 장점을 제공한다(예를 들어, 미국 특허 번호 6,191,105호; 7,063,860호; 7,070,802호; 7,157,099호; 문헌[Constantinides *et al.*, Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385]; 문헌[Ho *et al.*, J. Pharm. Sci., 1996, 85, 138-143] 참조). 종종, 마이크로에멀젼은, 이들의 성분이 주위 온도에서 함께 모이는 경우에 자발적으로 형성될 수 있다. 이는 열불안정성 약물, 펩티드 또는 iRNA를 제형화하는 경우에 특히 유리할 수 있다. 마이크로에멀젼은 미용 및 약제학적 적용 둘 모두에서 활성 성분의 경피 전달에서 효과적이다. 본 발명의 마이크로에멀젼 조성물 및 제형이 위장관으로부터의 iRNA 및 핵산의 증가된 전신 흡수를 촉진할 뿐만 아니라, iRNA 및 핵산의 국소 세포 흡수를 개선시킬 것이 예상된다.

[0405] 본 발명의 마이크로에멀젼은 또한 제형의 특성을 개선시키고, 본 발명의 iRNA 및 핵산의 흡수를 향상시키기 위해, 추가 성분 및 첨가제, 예를 들어, 소르비탄 모노스테아레이트(Grill 3), 라브라솔(Labrasol), 및 침투 향상

제를 함유할 수 있다. 본 발명의 마이크로에멀젼에서 사용되는 침투 향상제는 5개의 광범위한 부류인 계면활성제, 지방산, 담즙산염, 킬레이트제, 및 비-킬레이트화 비-계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92]). 상기 부류 각각은 하기에 논의된다.

[0406] *iii. 미립자*

[0407] 본 발명의 RNAi 작용제는 입자, 예를 들어, 미립자에 통합될 수 있다. 미립자는 분무-건조에 의해 생성될 수 있으나, 또한 동결건조, 증발, 유동층 건조, 진공 건조 또는 이들 기술의 조합을 포함하는 다른 방법에 의해 생성될 수도 있다.

[0408] *iv. 침투 향상제*

[0409] 한 구현예에서, 본 발명은 동물의 피부로의 핵산, 특히 iRNA의 효과적인 전달을 달성하기 위해 다양한 침투 향상제를 이용한다. 대부분의 약물은 이온화된 형태 및 비이온화된 형태 둘 모두로 용액 중에 존재한다. 그러나, 보통 지질 용해성 또는 친지성 약물만이 세포막을 용이하게 가로지른다. 가로질러지는 막이 침투 향상제로 처리되는 경우 비-친지성 약물도 세포막을 가로지를 수 있는 것으로 밝혀졌다. 세포막을 가로지르는 비-친지성 약물의 확산을 돕는 것에 더하여, 침투 향상제는 또한 친지질성 약물의 침투성을 향상시킨다.

[0410] 침투 향상제는 5개의 광범위한 부류, 즉, 계면활성제, 지방산, 담즙산염, 킬레이트제, 및 비-킬레이트화 비-계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(예를 들어, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002]; 문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92] 참조). 침투 향상제의 상기 언급된 부류 각각은 하기에 매우 상세히 기재된다.

[0411] 계면활성제(또는 "표면-활성제")는 수용액에 용해되는 경우, 점막을 통한 iRNA의 흡수가 향상되는 결과와 함께 용액의 표면 장력 또는 수용액과 또 다른 액체 사이의 계면 장력을 감소시키는 화학적 엔티티(entity)이다. 담즙산 염 및 지방산에 더하여, 상기 침투 향상제는, 예를 들어, 소듐 라우릴 설페이트, 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르 및 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르(예를 들어, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002]; 문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92] 참조); 및 퍼플루오계 에멀젼, 예를 들어, FC-43(문헌[Takahashi *et al.*, J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252] 참조)을 포함한다.

[0412] 침투 향상제로 작용하는 다양한 지방산 및 이들의 유도체는, 예를 들어, 올레산, 라우르산, 카프르산(n-데칸산), 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인(1-모노올레오일-rac-글리세롤), 디라우린, 카프릴산, 아라키돈산, 글리세롤 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헵탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 이들의 C_{1-20} 알킬 에스테르(예를 들어, 메틸, 이소프로필 및 t-부틸), 및 이들의 모노- 및 디-글리세라이드(즉, 올레에이트, 라우레이트, 카프레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 리놀레에이트 등)을 포함한다(예를 들어, 문헌[Touitou, E., *et al.* Enhancement in Drug Delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006]; 문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92]; 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33]; 문헌[El Hariri *et al.*, J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654] 참조).

[0413] 담즙의 생리학적 역할은 지질 및 지용성 비타민의 분산 및 흡수의 촉진을 포함한다(예를 들어, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002]; 문헌[Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Oilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman *et al.* Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935] 참조). 다양한 자연 담즙산 염, 및 이들의 합성 유도체가 침투 향상제로 작용한다. 따라서, 용어 "담즙산 염"은 담즙의 자연 발생 성분 중 임의의 성분 뿐만 아니라 이들의 합성 유도체 중 임의의 유도체를 포함한다. 적합한 담즙산 염은, 예를 들어, 콜산(또는 이의 약제학적으로 허용되는 소듐 염, 소듐 콜레이트), 데하이드로콜산(소듐 데하이드로콜레이트), 데옥시콜산(소듐 데옥시콜레이트), 글루콜산(소듐 글루콜레이트), 글리콜산(소듐 글리코콜레이트), 글리코데옥시콜산(소듐 글리코데옥시콜레이트), 타우로콜산(소듐 타우로콜레이트), 타우로데옥시콜산(소듐 타우로데옥시콜레이트), 케노데옥시콜산(소듐 케노데옥시콜레이트), 우르소데옥시콜산(UDCA), 소듐 타우로-24,25-디하이드로-푸시데이트(STDHF), 소듐 글리코 디하이드로푸시데이트 및 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르(POE)를 포함한다(예를 들어, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002]; 문헌[Lee *et al.*,

Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92]; 문헌[Swinyard, Chapter 39 In: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, pages 782-783]; 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33]; 문헌[Yamamoto *et al.*, J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25]; 문헌[Yamashita *et al.*, J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583] 참조).

[0414] 본 발명과 관련하여 사용되는 킬레이트제는 점막을 통한 iRNA의 흡수가 향상되는 결과와 함께, 용액으로부터의 금속 이온과 함께 복합체를 형성함으로써 용액으로부터의 금속 이온을 제거하는 화합물로 정의될 수 있다. 본 발명에서 침투 향상제로서의 용도와 관련하여, 킬레이트제는 대부분의 특성규명된 DNA 뉴클레아제가 촉매작용을 위해 2가 금속 이온을 필요로 하고, 이에 따라 킬레이트제에 의해 억제됨에 따라 DNase 억제제로서 또한 작용하는 추가 장점을 갖는다(문헌[Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339]). 적합한 킬레이트제는 디소듐 에틸렌디아민테트라아세테이트(EDTA), 시트르산, 살리실레이트(예를 들어, 소듐 살리실레이트, 5-메톡시살리실레이트 및 호모바닐레이트), 콜라겐의 N-아실 유도체, 라우레트-9 및 베타-디케톤의 N-아미노 아실 유도체(에나민)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다(예를 들어, 문헌[Katdare, A. *et al.*, Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006]; 문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92]; 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33]; 문헌[Buur *et al.*, J. Control Rel., 1990, 14, 43-51] 참조).

[0415] 본원에서 사용되는 바와 같은, 비-킬레이트화 비-계면활성제 침투 향상제 화합물은 킬레이트제 또는 계면활성제로서 무의미한 활성을 나타내지만, 그럼에도 불구하고 소화관 점막(alimentary mucosa)을 통해 iRNA의 흡수를 향상시키는 화합물로 정의될 수 있다(예를 들어, 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33] 참조). 이러한 부류의 침투 향상제는, 예를 들어, 불포화 사이클릭 우레아, 1-알킬- 및 1-알케닐아자사이클로-알카논 유도체(문헌[Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92]); 및 비-스테로이드 항-염증제, 예를 들어, 디클로페낙 소듐, 인도메타신 및 페닐부타존(문헌[Yamashita *et al.*, J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626])을 포함한다.

[0416] 세포 수준에서 iRNA의 흡수를 향상시키는 작용제가 또한 본 발명의 약제학적 조성물 및 다른 조성물에 첨가될 수 있다. 예를 들어, 양이온성 지질, 예를 들어, 리포펙틴(미국 특허 번호 5,705,188호(Junichi *et al.*)), 양이온성 글리세롤 유도체, 및 다가양이온성 분자, 예를 들어, 폴리라이신(PCT 출원 WO 97/30731호(Lollo *et al.*)) 이 또한 dsRNA의 세포 흡수를 향상시키는 것으로 공지되어 있다. 시판되는 트랜스펙션 시약의 예는, 예를 들어, 특히 Lipofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine 2000™(Invitrogen; Carlsbad, CA), 293fectin™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Cellfectin™(Invitrogen; Carlsbad, CA), DMRIE-C™(Invitrogen; Carlsbad, CA), FreeStyle™ MAX(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™ 2000 CD(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), RNAiMAX(Invitrogen; Carlsbad, CA), Oligofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Optifect™(Invitrogen; Carlsbad, CA), X-tremeGENE Q2 트랜스펙션 시약(Roche; Grenzacherstrasse, Switzerland), DOTAP 리포솜 트랜스펙션 시약(Grenzacherstrasse, Switzerland), DOSPER 리포솜 트랜스펙션 시약(Grenzacherstrasse, Switzerland), 또는 Fugene(Grenzacherstrasse, Switzerland), Transfectam® 시약(Promega; Madison, WI), TransFast™ 트랜스펙션 시약(Promega; Madison, WI), Tfx™-20 시약(Promega; Madison, WI), Tfx™-50 시약(Promega; Madison, WI), DreamFect™(OZ Biosciences; Marseille, France), EcoTransfect(OZ Biosciences; Marseille, France), TransPass[a] D1 트랜스펙션 시약(New England Biolabs; Ipswich, MA, USA), LyoVec™/LipoGen™(Invivogen; San Diego, CA, USA), PerFectin 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), NeuroPORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), GenePORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), GenePORTER 2 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), Cytofectin 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), BaculoPORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), TroganPORTER™ 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), 리보Fect(Bioline; Taunton, MA, USA), PlasFect(Bioline; Taunton, MA, USA), UniFECTOR(B-Bridge International; Mountain View, CA, USA), SureFECTOR(B-Bridge International; Mountain View, CA, USA), 또는 HiFect™(B-Bridge International, Mountain View, CA, USA)을 포함한다.

[0417] 투여된 핵산의 침투를 향상시키기 위해 글리콜, 예를 들어, 에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜, 피롤, 예를 들어, 2-피롤, 아존, 및 테르펜, 예를 들어, 리모넨 및 멘톤을 포함하는 다른 제제가 사용될 수 있다.

[0418] *v. 담체*

[0419] 본 발명의 특정 조성물은 또한 제형 내에 담체 화합물을 포함한다. 본원에서 사용되는 "담체 화합물" 또는 "담체"는 비활성(즉, 그 자체로 생물학적 활성을 갖지 않음)이지만, 예를 들어, 생물학적 활성 핵산을 분해시키거나, 순환으로부터 이의 제거를 촉진시킴으로써 생물학적 활성을 갖는 핵산의 생체이용률을 감소시키는 생체내 방법에 의해 핵산으로 인지되는 핵산 또는 이의 유사체를 나타낼 수 있다. 핵산 및 담체 화합물(통상적으로, 담체 화합물은 과량)의 공동투여는 추정상 공통의 수용체에 대한 담체 화합물과 핵산 사이의 경쟁으로 인해 간, 신장 또는 다른 순환외 저장소에서 회수되는 핵산의 양의 실질적 감소를 발생시킬 수 있다. 예를 들어, 간 조직에서의 부분적인 포스포로티오에이트 dsRNA의 회수는, 폴리이노신산, 덱스트란 설페이트, 폴리시티드산(polycytidic acid) 또는 4-아세트아미도-4'이소티오시아노-스틸벤-2,2'-디설폰산과 함께 공동투여되는 경우에 감소될 수 있다(문헌[Miyao *et al.*, DsRNA Res. Dev., 1995, 5, 115-121]; 문헌[Takakura *et al.*, DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183]).

[0420] *vi. 부형제*

[0421] 담체 화합물과 대조적으로, "약제학적 담체" 또는 "부형제"는 동물에게 하나 이상의 핵산을 전달하기 위한 약제학적으로 허용되는 용매, 현탁제 또는 임의의 다른 약제학적으로 비활성인 비히클이다. 부형제는 액체이거나 고체일 수 있고, 핵산 및 제공된 약제학적 조성물의 다른 성분과 조합되는 경우에 요망되는 벌크, 경도 등을 제공하기 위해 의도하는 계획된 투여 방식에 따라 선택된다. 통상적인 약제학적 담체는 결합제(예를 들어, 전호화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 등); 충전제(예를 들어, 락토스 및 다른 당, 미정질 셀룰로스, 펙틴, 젤라틴, 칼슘 설페이트, 에틸 셀룰로스, 폴리아크릴레이트 또는 칼슘 하이드로겐 포스페이트 등); 윤활제(예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 활석, 실리카, 콜로이드 이산화규소, 스테아르산, 금속 스테아레이트, 수소처리된 식물성 오일, 옥수수 전분, 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트 등); 붕해제(예를 들어, 전분, 소듐 전분 글리콜레이트 등); 및 습윤제(예를 들어, 소듐 라우릴 설페이트 등)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0422] 핵산과 유해하게 반응하지 않는 비-비경구 투여에 적합한 약제학적으로 허용되는 유기 또는 무기 부형제가 또한 본 발명의 조성물을 제형화하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체는 물, 염 용액, 알콜, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토스, 아밀로스, 마그네슘 스테아레이트, 활석, 규산, 점성 파라핀, 하이드록시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0423] 핵산의 국소 투여를 위한 제형은 멸균 및 비-멸균 수용액, 통상적인 용매, 예를 들어, 알콜 중 비-수성 용액, 또는 액체 또는 고체 오일 베이스 중 핵산의 용액을 포함할 수 있다. 용액은 또한 완충제, 희석제 및 다른 적합한 첨가제를 함유할 수 있다. 핵산과 유해하게 반응하지 않는 비-비경구 투여에 적합한 약제학적으로 허용되는 유기 또는 무기 부형제가 사용될 수 있다.

[0424] 적합한 약제학적으로 허용되는 부형제는 물, 염 용액, 알콜, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토스, 아밀로스, 마그네슘 스테아레이트, 활석, 규산, 점성 파라핀, 하이드록시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0425] *vii. 기타 성분*

[0426] 본 발명의 조성물은 당 분야에서 확립된 사용 수준으로 약제학적 조성물에서 통상적으로 발견되는 다른 보조 성분을 추가로 함유할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 추가의 상용성인 약제학적으로 활성인 물질, 예를 들어, 항소양제, 수렴제, 국소 마취제 또는 항염증제를 함유할 수 있거나, 본 발명의 조성물의 다양한 투여 형태를 물리적으로 제형화시키는데 유용한 추가 물질, 예를 들어, 염료, 착향제, 보존제, 항산화제, 유백제, 증점제 및 안정화제를 함유할 수 있다. 그러나, 상기 물질은 첨가되는 경우 본 발명의 조성물의 성분의 생물학적 활성을 과도하게 방해하지 않아야 한다. 상기 제형은 멸균될 수 있고, 요망시, 제형의 핵산(들)과 유해하게 상호작용하지 않는 보조제, 예를 들어, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 미치는 염, 완충제, 착색제, 착향제 및/또는 방향성 물질 등과 혼합될 수 있다.

[0427] 수성 현탁액은, 예를 들어, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 소르비톨 및/또는 덱스트란을 포함하는 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수 있다. 현탁액은 또한 안정화제를 함유할 수 있다.

[0428] 일부 구현예에서, 본 발명에서 특정된 약제학적 조성물은 (a) 하나 이상의 iRNA 화합물 및 (b) 비-RNAi 메커니즘에 의해 작용하며, 지질 대사 장애를 치료하는데 유용한 하나 이상의 제제를 포함한다. 상기 제제의 예는 항

염증제, 지방증 방지제(anti-steatosis agent), 항바이러스제 및/또는 항섬유증제를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 또한, 간을 보호하기 위해 통상적으로 사용되는 다른 물질, 예를 들어, 실리마린(silymarin)도 또한 *본원에 기재된 iRNA*와 함께 사용될 수 있다. 간 질환을 치료하는데 유용한 다른 제제에는 텔비부딘(telbivudine), 엔테카비르(entecavir) 및 프로테아제 억제제, 예를 들어, 텔라프레비르(telaprevir) 및 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0148548호, 2004/0167116호 및 2003/0144217호(Tung *et al.*); 및 미국 특허 출원 공개 번호 2004/0127488호(Hale *et al.*)에 기재된 다른 것들이 포함된다.

[0429] 상기 화합물의 독성 및 치료 효능은, 예를 들어, LD_{50}(집단의 50%에 치사성인 용량) 및 ED_{50}(집단의 50%에서 치료적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위해 세포 배양물 또는 실험 동물에서의 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량 비는 치료 지수이고, 이는 LD_{50}/ED_{50} 비로 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다.

[0430] 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터가 인간에서 사용하기 위한 일정한 범위의 투여량을 제형화시키는데 사용될 수 있다. 본원에 특정된 조성물의 투여량은 일반적으로 독성이 거의 없거나 없이 ED_{50}을 포함하는 일정 범위의 순환 농도 내에 속한다. 투여량은 이용되는 투여 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 상기 범위 내에서 다양할 수 있다. 본 발명에서 특정된 방법에서 사용되는 임의의 화합물에 대해, 치료적 유효 용량은 세포 배양 검정으로부터 먼저 평가될 수 있다. 용량은 세포 배양물에서 결정되는 바와 같은 IC_{50}(즉, 증상의 최대의 절반의 억제를 달성하는 시험 화합물의 농도)을 포함하는 화합물 또는, 적절한 경우, 표적 서열의 폴리펩티드 생성물의 순환 혈장 농도 범위를 달성(예를 들어, 폴리펩티드의 감소된 농도를 달성)시키도록 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 상기 정보는 인간에서 유용한 용량을 더욱 정확히 결정하기 위해 이용될 수 있다. 혈장에서의 수준은, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다.

[0431] 투여에 더하여, 상기 논의된 바와 같이, 본 발명에 특정된 iRNA는 ANGPTL3 발현에 의해 매개되는 병리학적 과정의 치료에 효과적인 다른 공지된 제제와 병용 투여될 수 있다. 임의의 사건에서, 투여 의사는 당 분야에 공지되거나 본원에 기재된 표준 효능 측정을 이용하여 관찰된 결과에 기초하여 iRNA 투여의 양 및 시기를 조정할 수 있다.

[0432] **VI. 본 발명의 방법**

[0433] 또한, 본 발명은 세포에서 ANGPTL3 발현을 감소시키고/거나 억제하기 위한 본 발명의 iRNA의 이용 방법 및/또는 본 발명의 iRNA를 함유하는 조성물을 제공한다. 방법에는 세포를 본 발명의 dsRNA와 접촉시키는 단계 및 ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물을 분해하기에 충분한 시간 동안 세포를 유지함으로써 세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함한다. 유전자 발현의 감소는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, ANGPTL3의 발현 감소는 당업자에 일상적인 방법, 예를 들어, 노던 블롯, qRT-PCR을 이용하여 ANGPTL3의 mRNA 발현 수준을 결정함으로써; 당업자에 일상적인 방법, 예를 들어, 웨스턴 블로팅, 면역학적 기법을 이용하여 ANGPTL3의 단백질 수준을 결정함으로써 결정될 수 있다. ANGPTL3의 발현 감소는 또한 ANGPTL3의 생물학적 활성 감소, 예를 들어, 혈청 지질, 트리글리세라이드, 콜레스테롤 및/또는 자유 지방산 수준의 감소를 측정함으로써 간접적으로 평가될 수 있다.

[0434] 본 발명의 방법에서, 세포는 시험관내 또는 생체내에서 접촉될 수 있으며, 다시 말하면, 세포는 대상체 내에 존재할 수 있다.

[0435] 본 발명의 방법을 사용한 치료에 적합한 세포는 ANGPTL3 유전자를 발현하는 임의의 세포일 수 있다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 세포는 포유동물 세포, 예를 들어, 영장류 세포(예를 들어, 인간 세포 또는 비-인간 영장류 세포, 예를 들어, 원숭이 세포 또는 침팬지 세포), 비-영장류 세포(예를 들어, 소 세포, 돼지 세포, 낙타 세포, 라마 세포, 말 세포, 염소 세포, 토끼 세포, 양 세포, 햄스터, 기니피그 세포, 고양이 세포, 개 세포, 랫트 세포, 마우스 세포, 사자 세포, 호랑이 세포, 곰 세포 또는 물소 세포), 조류 세포(예를 들어, 오리 세포 또는 거위 세포) 또는 고래 세포일 수 있다. 한 구현예에서, 세포는 인간 세포, 예를 들어, 인간 간 세포이다.

[0436] ANGPTL3 발현은 세포에서 적어도 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 약 100% 억제될 수 있다. 바람직한 구현예에서, ANGPTL3 발현은 적어도 20% 억제된다.

[0437] 본 발명의 생체내 방법은 iRNA를 함유하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서, iRNA는 치료할 포유동물의 ANGPTL3 유전자의 RNA 전사물의 적어도 일부와 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 치료할 유기체가 포유동물, 예를 들어, 인간인 경우, 조성물은 비제한적으로 경구, 복강내, 또는 두개내(예를 들어, 뇌실내, 실질내 및 수막강내), 정맥내, 근내, 피하, 경피, 기도(에어로졸), 비내, 직장내, 및 국소(협측 및 설하를 포함함) 투여를 포함하는 비경구 경로를 포함하는 당업계에 공지되어 있는 임의의 수단에 의해 투여될 수 있다. 소정 구현예에서, 조성물은 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다. 소정 구현예에서, 조성물은 피하 주사에 의해 투여된다.

[0438] 일부 구현예에서, 투여는 데포(depot) 주사를 통해 이루어진다. 데포 주사는 연장된 기간에 걸쳐 일관적인 방식으로 iRNA를 방출할 수 있다. 따라서, 데포 주사는 요망되는 효과, 예를 들어, 요망되는 ANGPTL3의 억제 또는 치료 또는 예방 효과를 얻는데 필요한 투여의 빈도를 감소시킬 수 있다. 또한, 데포 주사는 보다 일관적인 혈청 농도를 제공할 수 있다. 데포 주사는 피하 주사 또는 근내 주사를 포함할 수 있다. 바람직한 구현예에서, 데포 주사는 피하 주사이다.

[0439] 일부 구현예에서, 투여는 펌프를 통해 이루어진다. 펌프는 외부 펌프 또는 외과 이식 펌프일 수 있다. 특정 구현예에서, 펌프는 피하 이식된 삼투 펌프이다. 다른 구현예에서, 펌프는 주입 펌프이다. 주입 펌프는 정맥내, 피하, 동맥 또는 경막외 주입을 위해 사용될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 주입 펌프는 피하 주입 펌프이다. 다른 구현예에서, 펌프는 iRNA를 간에 전달하는 외과 이식 펌프이다.

[0440] 투여 방식은 국소 또는 전신 치료가 요망되는지 여부에 기초하여, 그리고 치료할 영역에 기초하여 선택될 수 있다. 투여 경로 및 투여 부위는 표적화를 향상시키도록 선택될 수 있다.

[0441] 한 양태에서, 본 발명은 또한 포유동물에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 방법은 포유동물의 세포에서 ANGPTL3 유전자를 표적화하는 dsRNA를 포함하는 조성물을 포유동물에 투여하는 단계, 및 ANGPTL3 유전자의 mRNA 전사물을 분해하기에 충분한 시간 동안 포유동물을 유지함으로써 세포에서 ANGPTL3 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함한다. 유전자 발현의 감소는 당업계에 공지된 임의의 방법 및 예를 들어, 본원에 기재된 qRT-PCR 방법에 의해 평가될 수 있다. 단백질 생성의 감소는 당업계에 공지된 임의의 방법 및 예를 들어, 본원에 기재된 ELISA 방법에 의해 평가될 수 있다. 한 구현예에서, 천자 간 생검 샘플은 ANGPTL3 유전자 및/또는 단백질 발현 감소의 모니터링을 위한 조직 물질로 작용한다.

[0442] 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체의 치료 방법을 추가로 제공한다. 본 발명의 치료 방법은 대상체, 예로 ANGPTL3 발현의 감소 및/또는 억제로 효과를 얻을 대상체에 ANGPTL3 유전자를 표적화하는 iRNA 또는 ANGPTL3 유전자를 표적화하는 iRNA를 포함하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량으로 iRNA를 투여하는 단계를 포함한다.

[0443] 본 발명의 iRNA는 "자유 iRNA"로 투여될 수 있다. 자유 iRNA는 약제학적 조성물의 부재 하에 투여된다. 네이키드 iRNA는 적합한 완충 용액에 존재할 수 있다. 완충 용액은 아세테이트, 시트레이트, 프롤라민, 카보네이트, 또는 포스페이트, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 한 구현예에서, 완충 용액은 인산염 완충 식염수(PBS)이다. iRNA 함유 완충 용액의 pH 및 삼투압은 이것이 대상체에 투여하기 적합하도록 조정될 수 있다.

[0444] 대안적으로, 본 발명의 iRNA는 약제학적 조성물, 예컨대 dsRNA 리포좀 제형으로 투여될 수 있다.

[0445] ANGPTL3 유전자 발현의 감소 및/또는 억제로 효과를 얻을 대상체는 지질 대사 장애, 예를 들어, 유전 지질 대사 장애 또는 후천성 지질 대사 장애를 갖는 대상체일 수 있다. 한 구현예에서, 지질 대사 장애를 갖는 대상체는 고지질혈증을 갖는다. 다른 구현예에서, 지질 대사 장애를 갖는 대상체는 고트리글리세라이드혈증을 갖는다. ANGPTL3 유전자 발현의 감소 및/또는 억제로 효과를 얻을 대상체의 치료는 치료적 처치(예를 들어, 대상체가 발진 황색종을 갖고 있음) 및 예방적 처치(예를 들어, 대상체가 발진 황색종을 갖고 있지 않거나 대상체가 발진 황색종의 발생 위험을 가질 수 있음)를 포함한다.

[0446] 본 발명은, 예를 들어, 다른 약제 및/또는 다른 치료 방법, 예를 들어, 공지된 약제 및/또는 공지된 치료 방법, 예를 들어, 이러한 장애의 치료를 위해 현재 채택되는 방법과 조합되어, ANGPTL3 발현의 감소 및/또는 억제로 효과를 얻을 대상체, 예를 들어, 지질 대사 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한, iRNA 또는 이의 약제학적 조성물의 이용 방법을 추가로 제공한다. 예를 들어, 소정 구현예에서, ANGPTL3을 표적화하는 iRNA는, 예를 들어, 본원에서 다른 곳에 기재된 지질 대사 장애의 치료에 유용한 제제와 조합되어 투여된다. 예를 들어, ANGPTL3 발현 감소로 효과를 얻을 대상체, 예를 들어, 지질 대사 장애를 갖는 대상체의 치료에 적합한 추가 제제는 하나 이상의 혈청 지질을 저하하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 제제의 비제한적 예는 콜레스테롤 합성 억제제, 예컨대 HMG-CoA 환원효소 억제제, 예를 들어, 스타틴을 포함할 수 있다. 스타틴은 아토바스타틴(Lipitor), 플루

바스타틴(Lescol), 로바스타틴(Mevacor), 로바스타틴 연장-방출(Altoprev), 피타바스타틴(Livalo), 프라바스타틴(Pravachol), 로수바스타틴(Crestor), 및 심바스타틴(Zocor)을 포함할 수 있다. 지질 대사 장애의 치료에 유용한 다른 제제는 담즙 격리제, 예컨대 콜레스티라민 및 다른 수지; VLDL 분비 억제제, 예컨대 니아신; 친지성 항산화제, 예컨대 Probucol; 아실-CoA 콜레스테롤 아실 전달효소 억제인자; 파르네소이드 X 수용체 길항제; 스테롤 조절 결합 단백질 절단 활성화 단백질(SCAP) 활성화제; 마이크로좀 트리글리세라이드 전달 단백질(MTP) 억제제; ApoE-관련 펩티드; 및 ANGPTL3에 대한 치료 항체를 포함할 수 있다. 추가 치료제는 또한 고밀도 지단백질(HDL)을 생성하는 제제, 예컨대 콜레스테릴 에스테르 전달 단백질(CETP) 억제제를 포함할 수 있다. 또한, 추가적 치료제는 또한 식이 보충제, 예를 들어, 어유를 포함할 수 있다. iRNA 및 추가 치료제는 동시에 및/또는 동일한 조합으로, 예를 들어 비경구로 투여될 수 있거나, 추가 치료제는 별도 조성물의 일부로 또는 별도 시간에 및/또는 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 다른 방법에 의해 투여될 수 있다.

[0447] 한 구현예에서, 방법은 본원에 특정된 조성물을 투여하여, 표적 ANGPTL3 유전자의 발현이 예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 18, 24시간, 28, 32, 또는 36시간 동안 감소되게 하는 것을 포함한다. 한 구현예에서, 표적 ANGPTL3 유전자의 발현은 연장된 기간, 예를 들어, 적어도 약 2, 3, 4일 또는 그 이상, 예를 들어, 약 1주, 2주, 3주 또는 약 4주 또는 그 이상 동안 감소된다.

[0448] 바람직하게는, 본원에 특정된 방법 및 조성물에 유용한 iRNA는 표적 ANGPTL3 유전자의 표적 RNA(일차 또는 가공형)를 특이적으로 표적으로 한다. iRNA를 사용하여 이들 유전자의 발현을 억제하기 위한 조성물 및 방법은 본원에 기재된 바와 같이 제조되고 수행될 수 있다.

[0449] 본 발명의 방법에 따른 dsRNA의 투여는 지질 대사 장애가 있는 환자에서 이러한 질병 또는 장애의 중증도, 징후, 증상 및/또는 마커의 감소를 야기할 수 있다. 이러한 문맥에서 "감소"는 이러한 수준의 통계적으로 유의미한 감소를 의미한다. 감소는 예를 들어, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 약 100%일 수 있다.

[0450] 질병의 치료 또는 예방의 효능은 예를 들어, 질병 진행, 질병의 차도, 증상 중증도, 통증 감소, 삶의 질, 치료 효과를 유지하는데 필요한 약제의 용량, 질병 마커 또는 치료 중이거나 예방을 위해 표적화된 주어진 질병에 적절한 임의의 기타 측정가능한 파라미터의 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 이러한 파라미터 또는 파라미터의 임의의 조합을 측정함으로써 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것이 당업자의 능력 내에 있다. 예를 들어, 지질 대사 장애의 치료 효능은 예를 들어, 하나 이상의 혈청 지질 수준의 모니터링에 의해 평가될 수 있다. 이후의 판독치와 초기의 판독치의 비교는 임상의에게 치료가 효과적인지 여부의 지침을 제공한다. 이러한 파라미터 또는 파라미터의 임의의 조합 중 어느 하나를 측정함으로써 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것이 당업자의 능력 내에 있다. ANGPTL3을 표적으로 하는 iRNA 또는 그의 약제학적 조성물의 투여와 관련하여, 지질 대사 장애에 "대해 효과적인"은 임상적으로 적절한 방식의 투여가 적어도 통계적으로 유의미한 환자의 부분에 대하여 유리한 효과, 예를 들어, 증상의 개선, 치유, 질병의 감소, 삶의 연장, 삶의 질의 향상, 또는 지질 대사 장애 및 관련 원인을 치료하는 것에 친숙한 의사에 의해 일반적으로 긍정적인 것으로 인지되는 기타 효과를 야기하는 것을 나타낸다.

[0451] 치료 또는 예방 효과는 병태의 하나 이상의 파라미터의 통계적으로 유의미한 개선이 존재하는 경우에 또는 다르게는 그들이 예상될 증상을 악화시키거나 발생시키지 못함에 의해 분명해진다. 일 예로서, 질병의 측정가능한 파라미터의 적어도 10%의 바람직한 변화, 바람직하게는 적어도 20%, 30%, 40%, 50% 또는 그 이상은 효과적인 치료를 나타낼 수 있다. 주어진 iRNA 약물 또는 그 약물의 제형에 대한 효능도 또한 당업계에 공지되어 있는 주어진 질병에 대한 실험 동물 모델을 사용하여 판단할 수 있다. 실험 동물 모델을 사용하는 경우, 통계적으로 유의미한 마커 또는 증상의 감소가 관찰되는 경우에 치료 효능이 입증된다.

[0452] 대안적으로, 효능은 임상 허용 질병 중증도 등급화 척도, 일 예로서, Child-Pugh 점수(때때로 Child-Turcotte-Pugh 점수)에 기초한 진단 분야의 당업자에 의해 결정시, 질병의 중증도의 감소에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 적절한 척도를 사용하여 측정되는 질병의 중증도의 감소를 야기하는 임의의 긍정적인 변화는 본원에 기재된 바와 같은 iRNA 또는 iRNA 제형을 사용한 적당한 치료를 나타낸다.

[0453] 대상체에는 dsRNA의 치료량, 예컨대 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg이 투여될 수 있다. 전형적으로, 본 발명의 iRNA의 적합한 용량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 5.0 mg/kg, 바람직하게는 약 0.3 mg/kg 내지 약 3.0 mg/kg의 범위일 것이다.

[0454] iRNA는 정기적 기준으로, 일정 시기에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 소정 구현예에서, 초기 치료

방식 이후, 치료는 덜 빈번한 기준으로 투여될 수 있다. iRNA의 투여는, 예를 들어, 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 환자의 다른 구획에서, ANGPTL3 수준을 적어도 약 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 39%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 적어도 약 99% 이상 감소시킬 수 있다. 바람직한 구현예에서, iRNA의 투여는, 예를 들어, 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 환자의 다른 구획에서, ANGPTL3 수준을 적어도 20% 감소시킬 수 있다.

[0455] iRNA의 전체 용량의 투여 전에, 환자에는 더 작은 용량, 예컨대 5% 주입 반응물을 투여하고, 부작용, 예를 들어, 알러지 반응에 대하여 모니터링할 수 있다. 다른 예에서, 환자를 원치않는 면역자극 효과, 예를 들어, 증가된 사이토카인(예를 들어, TNF-알파 또는 INF-알파) 수준에 대하여 모니터링할 수 있다.

[0456] 대안적으로, iRNA는 피하로, 즉 피하 주사에 의해 투여될 수 있다. 하나 이상의 주사를 이용하여 iRNA의 요망되는 일일 용량을 대상체에 전달할 수 있다. 주사는 일정 시기에 걸쳐 반복될 수 있다. 투여는 정기적 기준으로 반복될 수 있다. 소정 구현예에서, 초기 치료 방식 이후, 치료는 덜 빈번한 기준으로 투여될 수 있다. 반복-투여 방식은 정기적 기준으로, 예컨대 2일마다 또는 1년마다 iRNA의 치료량 투여를 포함할 수 있다. 소정 구현예에서, iRNA는 약 1달마다 내지 약 1분기마다(즉, 약 3달마다) 투여된다.

[0457] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명에서 특정된 iRNA 및 방법의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있으나, 적합한 방법 및 재료가 하기 기재된다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 및 다른 참조문헌은 전체내용이 참조로서 포함된다. 미스매치의 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 우선할 것이다. 또한, 재료, 방법, 및 예는 단지 예시이며, 이로 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0458] **실시예**

[0459] **실시예 1. iRNA 설계, 합성, 선택 및 시험관내 평가**

[0460] 본 실시예는 ANGPTL3 iRNA 작용제의 설계, 합성, 선택 및 시험관내 평가 방법을 기재한다(또한, 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 PCT 공개, WO 2012/177784호를 참고한다).

[0461] *시약의 공급처*

[0462] 시약의 공급처가 본원에서 특정되지 않는 경우, 상기 시약은 분자 생물학에 적용하기 위한 품질/순도 표준의 분자 생물학용 시약의 임의의 공급처로부터 수득될 수 있다.

[0463] 인간 ANGPTL3, "안지오포이에틴-유사 3"(인간: NCBI refseqID NM_014995; NCBI GeneID: 27329)뿐만 아니라 독성학-종 ANGPTL3 오르소로그(게잡이 원숭이: XM_005543185; 마우스: NM_013913; 랫트, NM_001025065)를 표적화하는 siRNA 세트를 사제 R 및 파이선(Python) 스크립트를 이용하여 설계하였다. 인간 ANGPTL3 REFSEQ mRNA는 2951 염기 길이를 갖는다. siRNA 세트 설계에 대한 이론 및 방법은 다음과 같다: 다수의 척추동물 유전자를 표적화하는 20,000개 초과의 개별 siRNA 설계로부터 mRNA 녹다운의 직접 측정에서 유래되는 선형 모델로 위치 81부터 위치 2951까지(코딩 영역 및 3' UTR) 모든 가능한 19머 siRNA에 대한 예측 유효성을 결정하였다. 인간, 게잡이 원숭이 및 붉은털 원숭이 간 완벽한 또는 거의-완벽한 매치를 갖는 ANGPTL3 siRNA 하위세트를 설계하였다. 마우스 및 랫트 ANGPTL3 오르소로그와 완벽한 또는 거의-완벽한 매치를 갖는 추가 하위세트를 설계하였다. 각 가닥의 siRNA에 대해, 사제 파이선 스크립트를 brute force 검색에서 이용하여 표적 종 트랜스크립톰에서의 siRNA 및 모든 잠재적 정렬 간 미스매치의 수 및 위치를 측정하였다. 안티센스 올리고뉴클레오티드의 위치 2 내지 9로 본원에서 정의되는 씨드 영역뿐만 아니라 안티센스 올리고뉴클레오티드의 위치 10 내지 11로 본원에서 정의되는 siRNA의 절단 부위 내에서 매스매치에 추가 가중치를 주었다. 미스매치의 상대 가중치는 씨드 미스매치, 절단 부위, 및 안티센스 위치 19까지의 다른 위치에 대해 2.8:1.2:1이었다. 첫 번째 위치에서의 미스매치는 무시하였다. 각각의 가중치가 부여된 미스매치 값을 합산하여 각 가닥에 대한 특이성 스코어를 계산하였다. 인간 및 게잡이 원숭이에서 안티센스 스코어가 3.0 이상이고 예측 유효성이 ANPTL3 전사물의 70% 이상 녹다운인 siRNA가 선호되었다.

[0464] *ANGPTL3 서열의 합성*

[0465] ANGPTL3 단일 가닥 및 듀플렉스의 합성

[0466] 고체 지지체 매개 포스포르아미다이트 화학을 이용하여 Mermade 192 합성장치(BioAutomation) 상에서 1 umol 규모로 ANGPTL3 siRNA 서열을 합성하였다. 고체 지지체는 사제 GalNAc 리간드가 로딩된 제어된 포어 글래스(500° A) 또는 범용 고체 지지체(AM biochemical)였다. 보조 합성 시약, 2'-F 및 2'-O-메틸 RNA 및 데옥시 포스포르아미다이트는 Thermo-Fisher(Milwaukee, WI) 및 Hongene(China)에서 입수하였다. 2'F, 2'-O-메틸, RNA, DNA 및 다른 변형된 뉴클레오시드는 대응하는 포스포르아미다이트를 이용하여 서열에 도입하였다. GalNAc 변형된 CPG 지지체 상에서 3' GalNAc 컨쥬게이트된 단일 가닥의 합성을 수행하였다. 사제 CPG 범용 고체 지지체를 안티센스 단일 가닥의 합성을 위해 이용하였다. 5-에틸티오-1H-테트라졸(ETT)을 활성화제(아세트니트릴 중 0.6 M)로 채택하며 모든 포스포르아미다이트(아세토니트릴 중 100 mM)에 대한 커플링 시간은 5분이었다. 무수 아세토니트릴/피리딘(1:1 v/v) 중 Chemgenes(Wilmington, MA, USA)에서 입수한 3-((디메틸아미노-메틸리덴)아미노)-3H-1,2,4-디티아졸-3-티온(DDTT),의 50 mM 용액을 이용하여 포스포로티오에이트 결합을 생성하였다. 산화 시간은 3분이었다. 최종 DMT기를 제거하며("DMT 제거") 모든 서열을 합성하였다.

[0467] 고상 합성의 종료 시, 단일 가닥을 고체 지지체로부터 절단하고 20분 동안 60℃에서 200 ㎕ 수성 메틸아민 시약을 이용해서 밀봉된 96 깊은형 웰 플레이트에서 탈보호하였다. tert-부틸 디메틸 실릴(TBDMS)기로 보호된 2' 리보 잔기(2'-OH) 함유 서열에 대해, TEA.3HF(트리에틸아민 트리하이드로 플루오라이드) 시약을 이용해서 제2 단계 탈보호를 수행하였다. 메틸아민 탈보호 용액에, 200 uL의 디메틸 설폭사이드(DMSO) 및 300 ul TEA.3HF 시약을 첨가하고 용액을 60℃에서 추가 20분 동안 인큐베이션하였다. 절단 및 탈보호 단계 말기에, 합성 플레이트를 실온이 되도록 두고 1 mL의 아세토니트릴/에탄올 혼합물(9:1)의 첨가에 의해 침전시켰다. 플레이트를 2 hr 동안 -80℃까지 냉각하고 상청액을 멀티-채널 피펫의 도움을 받아 조심스럽게 경사분리하였다. 올리고뉴클레오티드 펠렛을 20 mM NaOAc 완충액 중 재현탁하고 A905 자동샘플 수집장치 및 Frac 950 분획 수집장치가 장착된 AKTA Purifier System 상에서 5 mL HiTrap 크기 배제 컬럼(GE Healthcare)을 이용하여 탈염하였다. 탈염된 샘플을 96웰 플레이트에 수집하였다. 각 서열로부터의 샘플을 LC-MS에 의해 분석하여 정체를 확인하고, 정량을 위해 UV(260 nm) 분석하고, 선택된 샘플 세트를 IEX 크로마토그래피 분석하여 순도를 결정하였다.

[0468] ANGPTL3 단일 가닥의 어닐링을 Tecan 액체 취급 로봇 상에서 수행하였다. 센스 및 안티센스 단일 가닥 등몰 혼합물을 조합하고 96웰 플레이트에서 어닐링하였다. 상보적 단일 가닥의 조합 후, 96웰 플레이트를 단단히 밀봉하고 10분 동안 100℃에서 오븐에서 가열하고 2 내지 3시간의 기간에 걸쳐 천천히 실온까지 되도록 방치하였다. 각각의 듀플렉스의 농도를 1X PBS 중 10 uM까지 정상화한 후 시험관내 스크리닝 검정을 위해 제출하였다.

[0469] [표 1]

[0470] **핵산 서열 표시에서 이용된 뉴클레오티드 단량체의 약어.**

[0471] 이들 단량체는 올리고뉴클레오티드에 존재하는 경우, 5'-3'-포스포디에스테르 결합에 의해 상호 연결됨이 이해될 것이다.

약어	뉴클레오티드(들)
A	아데노신-3'-포스페이트
Af	2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트
Afs	2'-플루오로아데노신-3'-포스포로티오에이트
As	아데노신-3'-포스포로티오에이트
C	시티딘-3'-포스페이트
Cf	2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트
Cfs	2'-플루오로시티딘-3'-포스포로티오에이트
Cs	시티딘-3'-포스포로티오에이트
G	구아노신-3'-포스페이트
Gf	2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트
Gfs	2'-플루오로구아노신-3'-포스포로티오에이트
Gs	구아노신-3'-포스포로티오에이트
T	5'-메틸유리딘-3'-포스페이트
Tf	2'-플루오로-5-메틸유리딘-3'-포스페이트
Tfs	2'-플루오로-5-메틸유리딘-3'-포스포로티오에이트
Ts	5-메틸유리딘-3'-포스포로티오에이트
U	유리딘-3'-포스페이트
Uf	2'-플루오로유리딘-3'-포스페이트
Ufs	2'-플루오로유리딘-3'-포스포로티오에이트
Us	유리딘-3'-포스포로티오에이트
N	임의의 뉴클레오티드(G, A, C, T 또는 U)
a	2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트
as	2'-O-메틸아데노신-3'-포스포로티오에이트
c	2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트
cs	2'-O-메틸시티딘-3'-포스포로티오에이트
g	2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트
gs	2'-O-메틸구아노신-3'-포스포로티오에이트
t	2'-O-메틸-5-메틸유리딘-3'-포스페이트
ts	2'-O-메틸-5-메틸유리딘-3'-포스포로티오에이트
u	2'-O-메틸유리딘-3'-포스페이트
us	2'-O-메틸유리딘-3'-포스포로티오에이트
s	포스포로티오에이트 결합
L96	N-[트리스(GalNAc-알킬)-아마이도데카노일)]-4-하이드록시프롤린올 Hyp-(GalNAc-알킬)3
dT	2'-데옥시티미딘-3'-포스페이트
dC	2'-데옥시시티딘-3'-포스페이트
Y44	전위 무염기 DNA(2-하이드록시메틸-테트라하이드로푸란-5-포스페이트)
(Tgn)	티미딘-글리콜 핵산(GNA) S-이성질체
P	포스페이트
VP	비닐-포스페이트
(Aam)	2'-O-(N-메틸아세트아미드)아데노신-3'-포스페이트
(Aams)	2'-O-(N-메틸아세트아미드)아데노신-3'-포스포로티오에이트
(Cgn)	시티딘-글리콜 핵산(GNA)

[0472]

[0473] **실시예 2. 선도물질 선택 및 평가**

[0474] 다양한 시험관내 및 생체내 분석 결과(그 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 PCT 공개, WO 2012/177784호 참고)에 기초하여, AD-52981의 모체 서열(센스 서열: ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU(SEQ ID NO: 20); 안티센스 서열: AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG)(SEQ ID NO: 21)을 변형 및 생체내 추가 평가를 위해 선택하였다.

[0475] 따라서, AD-52981의 모체 서열을 이용하여, AD-57927(센스 서열: AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96(SEQ ID NO: 70); 안티센스 서열: asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg)(SEQ ID NO: 71)을 상술된 바와 같이 합성하였다.

[0476] 단회 30, 10, 또는 3 mg/kg 용량의 AD-52981(센스 서열: AfcAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96(SEQ ID NO: 72); 안티센스 서열: aAfaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfusUfsg)(SEQ ID NO: 73), AD-57927, 또는 PBS 대조군을 C57BL/6 암컷 마우스에 피하 투여하여 생체내 AD-57927의 효과를 평가하였다. 투여 72시간 후, 동물을 희생시키고 간 ANGPTL3 mRNA 수준을 결정하였다. 놀랍게도 그리고 도 1에 나타낸 바와 같이, AD-57927("최적화된 ANG-GalNAc")은 ANGPTL3 mRNA 수준을 모체 iRNA 작용제, AD-52981("ANG-GalNAc")에 비해 약 10배 더 감소시켰다.

[0477] AD-57927이 ANGPTL3 단백질 발현을 억제하고 생체내 트리글리세라이드, LDL 콜레스테롤, 및 총 콜레스테롤 수준을 감소시키는 능력을 또한 다회-투여 방식을 이용하여 평가하였다. ob/ob 암컷 마우스에 1주차에 5일 동안 매일 3 mg/kg에 이어 2 내지 4주차에 매주 2회 3 mg/kg 용량의 AD-57927을 피하 투여하였다(qd x 5; qw x 6). 동

물을 0일, 4일, 8일, 11일, 15일, 18일, 22일, 및 25일에 채혈하고, 29일에 희생시켰다. ANPTL3 단백질 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. 트리글리세라이드, LDL 콜레스테롤, 및 총 콜레스테롤을 Olympus 혈청 분석장치를 이용하여 측정하였다. 도 2에 나타낸 바와 같이, AD-57927에 의한 ANGPTL3 단백질의 최대 녹다운은 99%였다. AD-57927에 의한 트리글리세라이드 저하의 최대 수준은 98%였고(도 3), AD-57927에 의한 최대 LDL 저하는 88%였고(도 4), AD-57927에 의한 최대 총 콜레스테롤 저하는 64%였다(도 5). 도 2 내지 도 5에 나타낸 모든 데이터는 투여 전 수준에 대비한 것이다.

[0478] 요약하면, AD-57927은 ANGPTL3 mRNA 수준을 모체 서열에 비해 약 10배 더 감소시키는 것으로 나타났다. AD-57927은 ANGPTL3을 용량 반응성 방식으로 감소시키는 것으로 나타났으며(도 1 참고) AD-57927의 유효성은 다회-용량 투여 시 추가 개선되어 복합 고지질혈증의 ob/ob 마우스 모델에서 혈청 ANPTL3 단백질의 95% 초과 감소를 일으켰다. 또한, 3 mg/kg에서 AD-57927의 다회-용량 투여는 ANGPTL3 특이적 ELISA 검정에 의해 측정되는 순환 혈청 ANGPLT3 단백질을 제거했으며, 이는 고지질혈증의 ob/ob 마우스 모델에서 TG의 95% 초과 감소, LDL 콜레스테롤의 85% 초과 감소, 및 총 콜레스테롤의 60% 초과 감소를 일으켰다.

[0479] **실시예 3. iRNA 설계, 합성, 선택, 및 시험관내 평가**

[0480] 본 실시예는 추가적인 ANGPTL3 iRNA 작용제의 설계, 합성, 선택 및 시험관내 평가 방법을 기재한다.

[0481] 시험관내 스크리닝:

[0482] 세포 배양 및 전달감염:

[0483] Hep3b 세포(ATCC, Manassas, VA)를 10% FBS(ATCC)가 보강된 Eagle's Minimum Essential 배지(Gibco) 중 5% CO_2 분위기에서 37℃에서 거의 융합성으로 성장시킨 후 트립신 처리에 의해 플레이트로부터 방출시켰다. 384웰 플레이트의 개별 웰로 5 ㎕의 각각의 siRNA 듀플렉스에 웰 당 4.9 ㎕의 Opti-MEM + 0.1 ㎕의 Lipofectamine RNAiMax(Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150)를 첨가하여 전달감염을 수행하였다. 이어서 혼합물을 20분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이어서 5,000 Hep3b 세포를 함유하는 40 ㎕의 완전 성장 배지를 siRNA 혼합물에 첨가하였다. 세포를 24 hr 동안 인큐베이션한 후 RNA 정제하였다. 단회 투여 실험을 10 nM 및 0.1 nM 최종 듀플렉스 농도에서 수행하였다.

[0484] DYNABEADS mRNA 단리 키트(Invitrogen, part #: 610-12)를 이용한 총 RNA 단리:

[0485] 웰 당 3 ㎕의 비드를 함유하는 75 ㎕의 용해/결합 완충액 중에 세포를 용해시키고 정전기적 진탕장치 상에서 10분 동안 혼합하였다. 세척 단계는 자기 플레이트 지지체를 이용하여 Biotek EL406 상에서 자동화되었다. 비드를 (90 ㎕) 완충액 A 중에 1회, 완충액 B 중에 1회, 및 완충액 E 중에 2회 세척하고, 그 사이에 흡입 단계를 포함시켰다. 최종 흡입 후, 전체 10 ㎕ RT 혼합물을 후술된 바와 같이 각각의 웰에 첨가하였다.

[0486] ABI High capacity cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)를 이용한 cDNA 합성:

[0487] 반응 당 1 ㎕ 10X 완충액, 0.4 ㎕ 25X dNTP, 1 ㎕ 무작위 프라이머, 0.5 ㎕ 역전사효소, 0.5 ㎕ RNase 억제제 및 6.6 ㎕ H2O의 마스터 믹스를 웰 당 첨가하였다. 플레이트를 밀봉하고, 정전기적 진탕장치 상에서 10분 동안 진탕한 후 2시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 여기에 이어서, 플레이트를 8분 동안 80℃에서 진탕하였다.

[0488] 실시간 PCR:

[0489] 2 ㎕의 cDNA를 384웰 플레이트(Roche cat # 04887301001)에서 웰 당 0.5 ㎕의 인간 GAPDH TaqMan 탐침(4326317E), 0.5 ㎕의 인간 AngPTL3(Hs00205581_m1), 2 ㎕의 뉴클레아제-비함유수 및 5 ㎕의 Lightcycler 480 탐침 마스터 믹스(Roche Cat # 04887301001)를 함유하는 마스터 믹스에 첨가하였다. 실시간 PCR을 ΔΔCt(RQ) 검정을 이용하여 Lightcycler480 Real Time PCR 시스템(Roche)에서 수행하였다. 요약 표에서 달리 주지되지 않는 한, 각각의 듀플렉스를 적어도 2회 독립 전달감염에서 평가하였다.

[0490] 상대 배율 변화를 계산하기 위해, ΔΔCt 방법을 이용하여 실시간 데이터를 분석하고 10 nM 비특이적 siRNA로 전달감염된 세포 또는 모의 전달감염된 세포로 수행한 검정에 대해 정상화하였다.

[0491] 센스 서열 5'-ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU-3'(SEQ ID NO: 20) 및 안티센스 서열 5'-AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG-3'(SEQ ID NO: 21)에 기초한 다양한 화학적 변형을 함유하는 일련의 ANGPLT3 iRNA를 평가하였다. 서열의 화학적 변형을 표 2A 및 2B에 나타낸다. 검정 결과를 표 3에 나타낸다.

[0492] ANGPTL3 유전자를 표적화하는 추가적인 iRNA 작용제를 상술된 바와 같이 합성하였다. 추가적인 변형된 ANGPTL3 센스 및 안티센스 가닥 서열의 상세 목록을 표 4A, 4B, 7A, 및 7B에 나타내며 변형되지 않은 ANGPTL3 센스 및 안티센스 가닥 서열의 상세 목록을 표 5 및 7C에 나타낸다.

[0493] [표 2A]

[0494] ANGPTL3 변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로'	SEQ ID NO
AD-57927	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	74	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	170
AD-63131	ascsauauuugaUfCfagucuuuuuL96	75	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	171
AD-63132	ascsauauuugadTdCagucuuuuuL96	76	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	172
AD-63133	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	77	asAfsaAfagaCfuGfaucAfaAfuAfugususg	173
AD-63134	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuuuuuL96	78	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	174
AD-63136	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	79	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	175
AD-63137	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuudTuuL96	80	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	176
AD-63138	ascsauauuugadTcagucuuuuuL96	81	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	177
AD-63139	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	82	asAfsaAfagaCfugaucAfaAfuAfugususg	178
AD-63140	ascsauaUfuugaUfcagucuuuuuL96	83	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	179
AD-63142	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	84	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	180
AD-63143	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfdTuuuuL96	85	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	181
AD-63144	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	86	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	182
AD-63145	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	87	asAfsaAfagacuGfaucAfaAfuAfugususg	183
AD-63146	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuudTuuL96	88	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	184
AD-63148	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	89	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	185
AD-63149	ascsauauUfuGfAfdTcaguCfuuuuuL96	90	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	186
AD-63150	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	91	asAfsaAfaGfacuGfaucAfaAfuAfuGfususg	187
AD-63151	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	92	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	188
AD-63152	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfdTuuuuL96	93	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	189
AD-63153	asusAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	94	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfusgsu	190
AD-63154	ascsauaUfuugAfUfcAfguCfuuuuuL96	95	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	191
AD-63155	ascsauaUfuugaUfcagucuudTuuL96	96	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	192

[0495]

[0496]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로 '	SEQ ID NO
AD-63156	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	97	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuauGfususg	193
AD-63157	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	98	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	194
AD-63158	ascsauaUfuuGfadTCfagUfCfuuuuuL96	99	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	195
AD-63160	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuuuuuL96	100	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	196
AD-63161	ascsauaUfuugaUfcagucdTuuuuL96	101	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	197
AD-63162	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	102	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuaugususg	198
AD-63163	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	103	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	199
AD-63164	ascsauaUfuugaUfcagucuudTuuL96	104	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	200
AD-63165	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuuuuuL96	105	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	201
AD-63166	ascsauaUfuugaUfdCagucuuuuuL96	106	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	202
AD-63167	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	107	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauGfususg	203
AD-63168	ascsauaUfuugAfUfcAfguCfuuuuuL96	108	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	204
AD-63169	ascsauaUfuugaUfcagucdTuuuuL96	109	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	205
AD-63170	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuuL96	110	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfususg	206
AD-63171	ascsauaUfuugaUfcagucuuuuuL96	111	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	207
AD-63172	ascsauauuugaUfdCagucuuuuuL96	112	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	208
AD-63173	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	113	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuaugususg	209
AD-63174	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuuuuuL96	114	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	210
AD-63175	ascsauaUfuugaUfdCagucuuuuuL96	115	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	211
AD-63176	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuuL96	116	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfususg	212
AD-63177	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	117	asAfsa(Aam)aGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	213
AD-63179	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuuL96	118	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfugususg	214
AD-63180	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	119	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfususg	215
AD-63181	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuuL96	120	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfugususg	216
AD-63182	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	121	asAfsa(Aam)aGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfususg	217

[0497]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-63183	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	122	asasaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	218
AD-63185	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	123	asAfsaAfagaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	219
AD-63186	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	124	asAfsaAfaGfaCfuGfaucaaAfuAfuGfususg	220
AD-63187	AfscsAfuAfuUfuGfAfucAfgUfcUfuUfuUfL96	125	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	221
AD-63188	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	126	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	222
AD-64744	ascsauauuugadTcagucdTuuuuL96	127	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	223
AD-64745	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	128	asAfsaaaGfacuGfaucAfaauaugususg	224
AD-64746	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	129	asdAsaaagacugaucdAadAuaugususg	225
AD-64747	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuuL96	130	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	226
AD-64748	ascsauauuuugadTcagucdAuuuuL96	131	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	227
AD-64749	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuuL96	132	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	228
AD-64750	ascsauauuuugadTdCagucdTuuuuL96	133	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	229
AD-64751	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	134	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	230
AD-64752	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuuuuL96	135	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	231
AD-64753	ascsauauuuugadTcagucdAuuuuL96	136	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	232
AD-64754	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuuuuL96	137	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	233
AD-64755	ascsauauuuugadTdCagucdCuuuuL96	138	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	234
AD-64756	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	139	asAfsaaagacugaucAfaauaugususg	235
AD-64757	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	140	asAsaaagacudGaucdAaauaugususg	236
AD-64758	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuuL96	141	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuaugususg	237
AD-64759	ascsauauuuugadTcagucdAuuuuL96	142	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	238
AD-64760	ascsauauuuuadTcagucuuuuuL96	143	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	239
AD-64761	ascsauauuuugadTcagucdGuuuuL96	144	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	240
AD-64762	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	145	asdAsaaagacugaucdAaauaugususg	241
AD-64763	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	146	asdAsaaagacudGaucAaauaugususg	242

[0498]

[0499] [표 2B]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-64764	ascsauauuuuGfaUfcagUfcuuuuuL96	147	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuaugususg	243
AD-64765	ascsauauuuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	148	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	244
AD-64766	ascsauauuuugadTcagu(Cgn)uuuuuL96	149	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	245
AD-64767	ascsauauuuugadTcagucdCuuuuL96	150	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	246
AD-64768	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	151	asasaaagacudGaucdAaauaugususg	247
AD-64769	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	152	asAsaaagacudGaucAaauaugususg	248
AD-64770	ascsauauuuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	153	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	249
AD-64771	ascsauauuuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	154	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	250
AD-64772	ascsauauuuugadTcagucdAuuuuL96	155	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	251
AD-64773	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	156	asasaaadGacugaucdAaauaugususg	252
AD-64774	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	157	asAsaaadGacugaucAaauaugususg	253
AD-64775	ascsauauuuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	158	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	254
AD-64776	ascsauauuuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	159	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	255
AD-64777	ascsauauuuugadTcagucu(Tgn)uuuL96	160	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	256
AD-64778	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	161	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	257
AD-64779	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	162	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	258
AD-64780	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	163	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	259
AD-64781	ascsauauuuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	164	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	260
AD-64782	ascsauauuuugaUcaguc(Tgn)uuuuL96	165	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	261
AD-64783	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	166	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuaugususg	262
AD-64784	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	167	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	263
AD-64785	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUfL96	168	Pasasaaagacud Gaucd Aaauaugususg	264
AD-64786	ascsauauuuugadTcaguc(Tgn)uuuuL96	169	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	265

[0500] ANGPTL3 변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-57927	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	74	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	170
AD-63131	ascsauauuugaUfCfagucuuuuu	75	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	171
AD-63132	ascsauauuugadTdCagucuuuuu	76	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	172
AD-63133	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	77	asAfsaAfagaCfuGfaucAfaAfuAfugususg	173
AD-63134	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuuuuu	78	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	174
AD-63136	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	79	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	175
AD-63137	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuudTuu	80	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	176
AD-63138	ascsauauuugadTcagucuuuuu	81	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	177
AD-63139	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	82	asAfsaAfagaCfugaucAfaAfuAfugususg	178
AD-63140	ascsauaUfuugaUfcagucuuuuu	83	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	179
AD-63142	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	84	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	180
AD-63143	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfdTuuuu	85	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	181
AD-63144	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	86	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	182
AD-63145	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	87	asAfsaAfagacuGfaucAfaAfuAfugususg	183
AD-63146	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuudTuu	88	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	184
AD-63148	Y44AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	89	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	185
AD-63149	ascsauauUfuGfAfdTcaguCfuuuuu	90	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	186
AD-63150	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	91	asAfsaAfaGfacuGfaucAfaAfuAfuGfususg	187
AD-63151	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	92	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	188
AD-63152	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfdTuuuu	93	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	189
AD-63153	asusAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	94	PasAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfusgsu	190
AD-63154	ascsauaUfuugAfUfcAfguCfuuuuu	95	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	191

[0501]

[0502]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로 '	SEQ ID NO
AD-63155	ascsauaUfuugaUfcagucuudTuu	96	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	192
AD-63156	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	97	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuauGfususg	193
AD-63157	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	98	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	194
AD-63158	ascsauaUfuuGfadTCfagUfCfuuuuu	99	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	195
AD-63160	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuuuuu	100	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	196
AD-63161	ascsauaUfuugaUfcagucdTuuuu	101	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	197
AD-63162	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	102	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuaugususg	198
AD-63163	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	103	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	199
AD-63164	ascsauaUfuugaUfcagucuudTuu	104	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	200
AD-63165	ascsauaUfuuGfaUfCfagUfCfuuuuu	105	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	201
AD-63166	ascsauaUfuugaUfdCagucuuuuu	106	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	202
AD-63167	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	107	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuauGfususg	203
AD-63168	ascsauaUfuugAfUfcAfguCfuuuuu	108	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	204
AD-63169	ascsauaUfuugaUfcagucdTuuuu	109	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	205
AD-63170	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuu	110	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfususg	206
AD-63171	ascsauaUfuugaUfcagucuuuuuu	111	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	207
AD-63172	ascsauauuuugaUfdCagucuuuuuu	112	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	208
AD-63173	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	113	asAfsaaaGfaCfuGfaucAfaAfuaugususg	209
AD-63174	ascsauauUfuGfAfUfcaguCfuuuuu	114	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	210
AD-63175	ascsauaUfuugaUfdCagucuuuuuu	115	asAfsaaaGfacUfgaucAfaAfuaugususg	211
AD-63176	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuu	116	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfuGfususg	212
AD-63177	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	117	asAfsa(Aam)aGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	213
AD-63179	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuu	118	asAfsAfaaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfugususg	214
AD-63180	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	119	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfususg	215
AD-63181	ascsAfuAfuuuGfAfUfcAfguCfUfuuuu	120	asAfsAfAfaGfaCfuGfaucAfAfAfuAfugususg	216

[0503]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로 '	SEQ ID NO
AD-63182	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	121	asAfsa(Aam)gGfaCfuGfaucAfaAfu(Aam)uGfususg	217
AD-63183	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	122	asasaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	218
AD-63185	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	123	asAfsaAfagaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	219
AD-63186	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	124	asAfsaAfaGfaCfuGfaucaaAfuAfuGfususg	220
AD-63187	AfscsAfuAfuUfuGfAfucAfgUfcUfuUfuUf	125	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	221
AD-63188	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	126	as(Aams)aAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	222
AD-64744	ascsauauuugadTcagucdTuuuu	127	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	223
AD-64745	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	128	asAfsaaaGfacuGfaucAfaauaugususg	224
AD-64746	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	129	asdAsaaagacugaucdAadAuaugususg	225
AD-64747	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuu	130	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	226
AD-64748	ascsauauuugadTcagucdAuuuu	131	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	227
AD-64749	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuu	132	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	228
AD-64750	ascsauauuugadTdCagucdTuuuu	133	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	229
AD-64751	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	134	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	230
AD-64752	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuuuu	135	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	231
AD-64753	ascsauauuugadTcagucdAuuuu	136	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	232
AD-64754	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuuuu	137	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	233
AD-64755	ascsauauuugadTdCagucdCuuuu	138	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	234
AD-64756	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	139	asAfsaaagacugaucAfaauaugususg	235
AD-64757	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	140	asAsaaagacudGaucdAaauaugususg	236
AD-64758	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuUfuu	141	asAfsaaaGfacUfcGfaucAfaAfuaugususg	237
AD-64759	ascsauauuugadTcagucdAuuuu	142	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	238
AD-64760	ascsauauuuuadTcagucuuuuu	143	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	239
AD-64761	ascsauauuugadTcagucdGuuuu	144	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	240
AD-64762	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	145	asdAsaaagacugaucdAaauaugususg	241

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로 '	SEQ ID NO
AD-64763	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	146	asdAsaaagacudGaucAaauaugususg	242
AD-64764	ascsauauuuGfaUfcagUfcuuuuu	147	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuaugususg	243
AD-64765	ascsauauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	148	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	244
AD-64766	ascsauauuugadTcagu(Cgn)uuuuu	149	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	245
AD-64767	ascsauauuugadTcagucdCuuuu	150	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	246
AD-64768	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	151	asasaaagacudGaucdAaauaugususg	247
AD-64769	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	152	asAsaaagacudGaucAaauaugususg	248
AD-64770	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	153	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	249
AD-64771	ascsauauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	154	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	250
AD-64772	ascsauauuugadTcagucdAuuuu	155	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	251
AD-64773	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	156	asasaaadGacugaucdAaauaugususg	252
AD-64774	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	157	asAsaaadGacugaucAaauaugususg	253
AD-64775	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	158	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	254
AD-64776	ascsauauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	159	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	255
AD-64777	ascsauauuugadTcagucu(Tgn)uuu	160	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	256
AD-64778	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	161	asAfsaaaGfacuGfaucAfaAfuaugususg	257
AD-64779	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	162	asdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	258
AD-64780	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	163	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	259
AD-64781	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	164	asdAsaaadGacudGaucdAaauaugususg	260
AD-64782	ascsauauuugaUcaguc(Tgn)uuuu	165	asAfsaAfaGfaCfuGfaucAfaAfuAfuGfususg	261
AD-64783	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	166	asAfsaaaGfacUfGfaucAfaAfuaugususg	262
AD-64784	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	167	asdAsaaadGacugaucdAaauaugususg	263
AD-64785	AfscsAfuAfuUfuGfAfUfcAfgUfcUfuUfuUf	168	Pasasaaagacu dGaucdAaauaugususg	264
AD-64786	ascsauauuugadTcaguc(Tgn)uuuu	169	PasdAsaaagacudGaucdAaauaugususg	265

[0504]

[0505] [표 3]

[0506] **Hep3B 세포에서 AngPTL3 단회 투여 스크리닝.**

[0507] 데이터는 AD-1955 비-표적화 대조군 대비 유지되는 메시지의 백분율로 표현된다.

듀플렉스 명칭	10nM AVG	0.1nM AVG	10nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-57927	3.9	4.3	1.9	1.0
AD-63131	14.3	15.6	7.7	6.0
AD-63132	12.5	10.6	2.3	3.0
AD-63133	8.6	7.5	1.4	1.9
AD-63134	17.3	15.9	2.8	1.9
AD-63136	2.7	4.3	0.9	1.4
AD-63137	2.9	3.4	0.9	0.7
AD-63138	13.6	18.8	3.9	3.9
AD-63139	7.5	9.0	2.6	1.7
AD-63140	13.0	15.0	8.6	6.7
AD-63142	3.2	3.9	0.7	0.4
AD-63143	5.3	4.6	2.3	2.2
AD-63144	5.6	6.6	2.9	3.0
AD-63145	7.3	6.6	1.8	0.9
AD-63146	17.5	14.5	2.5	4.6
AD-63148	2.9	3.1	1.4	2.2
AD-63149	6.3	7.2	2.1	1.4
AD-63150	4.8	6.5	1.9	2.5
AD-63151	4.7	4.7	2.3	2.9
AD-63152	10.3	12.2	2.0	1.5
AD-63153	5.1	4.9	1.9	2.4
AD-63154	9.4	7.9	3.7	3.0
AD-63155	13.4	13.2	5.1	4.3
AD-63156	3.3	4.4	1.1	1.4
AD-63157	2.6	4.4	2.1	1.8
AD-63158	16.7	23.9	8.7	7.2
AD-63160	3.5	3.7	1.9	1.2
AD-63161	11.7	12.6	5.7	1.2
AD-63162	3.9	6.2	1.2	1.5
AD-63163	3.7	3.6	2.5	1.7
AD-63164	11.3	13.6	8.2	5.0
AD-63165	12.5	13.3	3.7	5.2
AD-63166	8.8	13.6	5.2	9.4
AD-63167	3.3	2.8	1.2	0.9
AD-63168	7.3	9.0	6.0	5.0

[0508]

듀플렉스 명칭	10nM AVG	0.1nM AVG	10nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-63169	10.8	12.1	8.7	7.2
AD-63170	3.7	3.8	1.1	0.9
AD-63171	12.5	16.4	6.9	2.6
AD-63172	8.7	10.1	7.2	4.7
AD-63173	3.0	3.6	1.3	2.5
AD-63174	2.8	3.7	1.5	1.6
AD-63175	5.2	3.4	2.8	2.6
AD-63176	3.3	4.2	0.9	0.4
AD-63177	5.3	7.3	2.3	0.6
AD-63179	3.0	4.0	0.9	0.9
AD-63180	66.8	92.2	22.2	13.5
AD-63181	4.8	5.4	1.9	1.0
AD-63182	14.7	23.1	4.7	6.4
AD-63183	11.8	14.3	5.5	4.7
AD-63185	7.9	8.8	0.7	2.8
AD-63186	57.6	72.0	12.1	15.7
AD-63187	9.8	14.1	4.8	2.8
AD-63188	30.9	49.8	20.7	8.3
AD-64744	16.6	57.4	1.4	9.8
AD-64745	12.0	58.3	2.2	17.5
AD-64746	67.3	99.4	6.1	14.5
AD-64747	18.0	65.1	2.5	2.2
AD-64748	69.0	87.2	5.2	5.6
AD-64749	16.4	70.5	5.0	11.2
AD-64750	12.3	44.3	4.6	7.0
AD-64751	57.9	87.5	7.5	7.4
AD-64752	18.7	54.1	4.0	16.1
AD-64753	57.6	81.9	5.1	4.4
AD-64754	21.2	72.3	2.4	6.7
AD-64755	9.0	32.7	2.3	9.1
AD-64756	17.2	53.7	3.9	7.9
AD-64757	89.0	92.0	4.4	5.8
AD-64758	23.5	66.1	10.9	4.9
AD-64759	61.6	80.3	6.9	5.7
AD-64760	8.7	50.0	3.6	5.7
AD-64761	12.7	36.7	5.7	6.4
AD-64762	107.7	98.0	9.1	10.9
AD-64763	72.8	84.8	6.0	9.7
AD-64764	21.7	57.5	7.8	6.3
AD-64765	67.9	80.2	7.5	3.0

[0509]

듀플렉스 명칭	10nM AVG	0.1nM AVG	10nM STDEV	0.1nM STDEV
AD-64766	11.3	38.8	5.4	11.3
AD-64767	13.2	39.0	5.8	9.5
AD-64768	74.3	102.3	6.5	9.2
AD-64769	57.1	86.9	5.4	1.1
AD-64770	68.5	78.2	3.2	9.0
AD-64771	45.4	68.5	2.0	8.3
AD-64772	11.8	50.0	2.7	1.7
AD-64773	53.8	98.1	1.3	8.6
AD-64774	43.2	82.4	7.2	8.1
AD-64775	42.9	78.7	1.4	13.8
AD-64776	52.6	70.1	2.9	4.3
AD-64777	19.8	65.8	3.7	6.8
AD-64778	7.9	34.7	2.2	9.6
AD-64779	66.9	86.3	7.3	7.9
AD-64780	78.8	89.0	7.8	5.1
AD-64781	54.6	82.1	12.9	11.2
AD-64782	9.2	56.1	5.0	18.3
AD-64783	8.0	35.7	1.4	8.5
AD-64784	52.6	80.3	4.4	6.1
AD-64785	92.4	93.9	9.8	4.3
AD-64786	83.4	85.4	8.4	7.5

[0510]

[0511] [표 4A]

[0512] 추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.

[0513]

[0514] [표 4B]

듀플렉스 명칭	변형된 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형된 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-62865	UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAfL96	266	usUfsgAfgUfuGfaGfuucAfaGfuGfaCfasusa	278
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaaL96	267	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	279
AD-66917	uscsacaaUfuAfAfGfcucuucuuuL96	268	asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc	280
AD-66918	gsasgcaaCfuAfAfCfuaacuuaauuL96	269	asAfsuuaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu	281
AD-66919	usususugUfuCfCfUfcuaguuauuuL96	270	asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfauuasasa	282
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	271	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	283
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96	272	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa	284
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	273	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	285
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	274	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	286
AD-66924	csasacauAfuUfUfGfaucagucuuuL96	275	asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuguugsasg	287
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaaL96	276	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	288
AD-65695	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	277	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	289

[0515] 추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.

듀플렉스 명칭	변형된 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형된 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-62865	UfsgsUfcAfcUfuGfAfAfcUfcAfaCfuCfaAf	266	usUfsgAfgUfuGfaCfuucAfaGfuGfaCfasusa	278
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa	267	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	279
AD-66917	uscsacaaUfuAfAfGfcuccuucuuu	268	asAfsagaAfgGfAfgcuuAfaUfugugasasc	280
AD-66918	gsasgcaaCfuAfAfCfuaacuuaauu	269	asAfsuuaAfgUfUfaguuaGfuUfgcucsusu	281
AD-66919	usususugUfuCfCfUfcuaguuauuuu	270	asAfsauaAfcUfAfgaggAfaCfaauaasasa	282
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	271	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	283
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaa	272	usUfsgagUfuGfAfgucuAfaGfugacasusa	284
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	273	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	285
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	274	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	286
AD-66924	csasacauAfuUfUfGfaucagucuuu	275	asAfsagaCfuGfAfucaaAfuAfuguugsasg	287
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa	276	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	288
AD-65695	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	277	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	289

[0516]

[0517] [표 5]

[0518] 추가적인 변형되지 않은 ANGPTL3 RNAi 작용제.

듀플렉스 명칭	변형되지 않은 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형되지 않은 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	NM_014495.3 에서 안티센스 가닥의 5' 위치
AD-62865	UGUCACUUGAACUCAACUCAA	290	UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA	302	425
AD-66916	AACUAACUAACUUAAUUCAAA	291	UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC	303	509
AD-66917	UCACAAUUAAGCUCCUUCUUU	292	AAAGAAGGAGCUUAAUUGUGAAC	304	83
AD-66918	GAGCAACUAACUAACUUAAUU	293	AAUUAAGUUAGUUAGUUGCUCUU	305	505
AD-66919	UUAUUGUUCCUCUAGUUAUUU	294	AAAUAACUAGAGGAACAAUAAAA	306	104
AD-66920	AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU	295	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	307	88
AD-66921	UGUCACUUGAACUCAACUCAA	296	UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA	308	424
AD-66922	GAAUAUGUCACUUGAACUCAA	297	UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	309	420
AD-66923	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	298	AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG	310	305
AD-66924	CAACAUAUUUGAUCAGUCUUU	299	AAAGACUGAUCAAAUAUGUUGAG	311	303
AD-66925	CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA	300	UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA	312	1041
AD-65695	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	301	AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG	313	305

[0519]

[0520] **실시예 4. 야생형 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0521] 상술된 추가 작용제 하위세트의 생체내 유효성 및 기간을 야생형(C57BL/6) 마우스에서 평가하였다. 6주령 내지 8주령 암컷 마우스에 단회 3 mg/kg 용량의 작용제를 피하 투여하고 마우스 ANGPTL3 수준을 투여 전, 0일 및 투여 후 4일, 10일, 17일, 27일, 38일 및 52일에 동물의 혈청에서 결정하였다. 군 당 3마리 마우스를 이들 검정을 위해 이용하였다. ELISA 검정, R&D Systems 마우스 안지오포이에틴-유사 3 Quantikine ELISA 키트(카탈로그 번호 MANL30)를 이용하여 ANGPTL3 수준을 검정하였다.

[0522] 이들 검정 결과를 도 6a 및 도 6b에 제공한다. 도 6a에 나타낸 바와 같이, 모든 작용제는 ANGPTL3 발현을 강력하게 그리고 지속적으로 억제하며, 투여 약 4일 후 최저에 도달한다. 도 6b에 나타낸 바와 같이, 투여 10일 후 ANGPTL3 수준은 검정된 다른 작용제에 비해 AD-63174 및 AD-63175가 투여된 동물에서 최저이다.

[0523] 상술된 추가 작용제의 제2 하위세트를 또한 야생형(C57BL/6) 마우스에서 평가하였다. 6주령 내지 8주령 암컷 마우스에 단회 1 mg/kg 용량 또는 단회 3 mg/kg 용량의 작용제를 피하 투여하고 마우스 ANGPTL3 수준을 투여 전, 0일 및 투여 후 5일, 14일, 21일, 28일, 및 42일에 동물의 혈청에서 결정하였다. (AD-65695가 투여된 동물 군에 있어서, 평가된 다른 작용제에 대한 반응에 비해 상기 작용제에 대한 증가된 반응 기간으로 인해, 마우스 ANGPTL3 수준을 또한 투여 55일 후 AD-65695가 투여된 동물의 혈청에서 결정하였다). 군 당 3마리 마우스를 이들 검정을 위해 이용하였다. 상술된 바와 같이, ELISA 검정을 이용하여 ANGPTL3 수준을 검정하였다.

[0524] 이들 검정 결과가 도 7a 및 도 7b에 제공되며 모든 작용제가 ANGPTL3 발현을 강력하게 그리고 지속적으로 억제

하며, 투여 약 5일 후 최저에 도달하고(도 7a) 검정된 다른 작용제에 비해, AD-65695가 투여된 동물이 1 mg/kg 및 3 mg/kg 용량에서 최저 ANGPTL3 수준을 가졌음을 나타낸다(도 7b).

[0525] **실시예 5. *Ob/Ob* 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0526] 상술된 추가 작용제 하위세트의 생체내 유효성 및 기간을 *ob/ob* 마우스에서 평가하였다. 6주령 내지 8주령 암컷 *ob/ob* 마우스에 단회 3 mg/kg 용량의 작용제를 피하 투여하고 마우스 ANGPTL3 수준을 투여 전, 0일 및 투여 후 5일, 13일, 24일, 및 38일에 동물의 혈청에서 결정하였다. 군 당 4마리 마우스를 이들 검정을 위해 이용하였다. 상술된 바와 같이 ELISA 검정을 이용하여 ANGPTL3 수준을 검정하였다.

[0527] 이들 검정 결과가 도 8a 및 도 8b에 제공되며 모든 작용제가 ANGPTL3 발현을 강력하게 그리고 지속적으로 억제하고, 투여 약 5일 후 최저에 도달하고(도 8a), 검정된 다른 작용제에 비해 AD-63175 또는 AD-65695가 투여된 동물이 3 mg/kg 용량에서 ANGPTL3 수준이 가장 높게 침묵됨을 나타낸다(도 8b).

[0528] AD-65695의 용량 반응을 또한 단회 용량의 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 9 mg/kg을 동물에 피하 투여하여 *ob/ob* 마우스에서 검정하고 마우스 ANGPTL3 수준을 투여 전 및 투여 후 5일 및 13일에 동물의 혈청에서 결정하였다. 상술된 바와 같이 ELISA 검정을 이용하여 ANGPTL3 수준을 검정하고, 혈청 트리글리세라이드(TG), 저밀도 지단백질 콜레스테롤(LDLc), 고밀도 지단백질 콜레스테롤(HDLc) 및 총 콜레스테롤(TC) 수준을 또한 Olympus 분석장치를 이용하여 측정하였다.

[0529] 도 9는 5일차에 0.3 mg/kg 용량의 AD-65695가 투여된 동물의 혈청에서 ANGPTL3 단백질이 58% 침묵화되며, 1 mg/kg 용량의 AD-65695가 투여된 동물의 혈청에서 ANGPTL3 단백질이 82% 침묵화되고, 3 mg/kg 용량의 AD-65695가 투여된 동물의 혈청에서 ANGPTL3 단백질이 98% 침묵화되고, 및 9 mg/kg 용량의 AD-65695가 투여된 동물의 혈청에서 ANGPTL3 단백질이 99% 침묵화됨을 나타낸다.

[0530] 도 10a에 PBS 대조군 또는 AD-65695의 투여 후 *ob/ob* 마우스에서 TG 수준을 나타내며; 도 10b에 PBS 대조군 또는 AD-65695의 투여 후 *ob/ob* 마우스에서 TC 수준을 나타내고; 도 10c에 PBS 대조군 또는 AD-65695의 투여 후 *ob/ob* 마우스에서 LDLc 수준을 나타내고; 도 10d에 PBS 대조군 또는 AD-65695의 투여 후 *ob/ob* 마우스에서 HDLc 대 TC의 비를 나타낸다. 데이터는 AD-65695의 투여가 평가된 모든 용량에서 대조군 대비 *ob/ob* 마우스에서 TG, LDLc, 및 TC를 저하시킴을 나타낸다(단회 3 mg/kg 용량의 AD_65695을 이용해서 혈청 LDLc 및 TG에서 80% 감소가 관찰되었음).

[0531] **실시예 6. AAV-TBG-ANGPTL3 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0532] 인간 ANGPTL3 단백질 수준을 감소시키는 상술된 추가 작용제 하위세트의 단회 용량의 지속성을 결정하기 위해, 투여 전 -14일차에 야생형 마우스(C57BL/6)를 200 $\mu\ell$ 중 간-특이적 티록신-결합 글로불린(TBG) 프로모터에 의해 유도된 인간 ANGPTL3 유전자(코딩 영역)를 인코딩하는 아데노-연관 바이러스 8(AAV8) 벡터(AAV8-TBG-ANGPTL3) 1 x 10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염시켰다. 0일차에, 마우스에 단회 3 mg/kg의 작용제를 투여하고 ANGPTL3 수준을 투여 전 및 투여 후 5일, 14일, 28일 및 42일에 동물의 혈청에서 결정하였다(도 11 참고). 혈청 샘플에서 마우스 ANGPTL3의 수준을 상술된 ELISA 검정을 이용하여 결정하고, 인간 및 게잡이 원숭이 ANGPTL3을 검출하지만 마우스 ANGPTL3과 교차 반응하지 않는 항체를 이용하는 ELISA 검정(R&D Systems 인간 안지오포이에틴-유사 3 Quantikine ELISA 키트)]에 의해 혈청 샘플에서 인간 ANGPTL3 수준을 결정하였다. 나이브 마우스(AAV에 노출되지 않은 마우스)로부터의 혈청이 이들 검정에 대한 음성 대조군으로 작용하였다. 투여된 두 작용제, AD-57927 및 AD-65695은 마우스, 랫트, 게잡이원숭이 및 인간(m/r/cy/h) ANGPTL3 mRNA와 교차 반응한다. 투여된 다른 두 작용제, AD-62865 및 AD-62866은 게잡이 원숭이 및 인간(cy/h) ANGPTL3 mRNA와만 교차 반응한다.

[0533] 작용제 또는 PBS 대조군의 투여 후 인간 ANGPTL3 단백질의 수준을 도 12a에 나타내고 작용제 또는 PBS 대조군의 투여 후 마우스 ANGPTL3의 수준을 도 12b에 나타내며, 예상되는 바와 같이, cy/h 작용제, AD-62865 및 AD-62866의 투여 후 마우스 ANGPTL3의 침묵화는 없었다. 결과는 인간 ANGPTL3의 최대 80% 녹다운이 작용제 투여 후 달성되며, ANGPTL3의 약 60% 녹다운이 적어도 4주 동안 지속되었음을 나타낸다. 데이터는 또한 교차 반응성 m/r/cy/h 작용제, AD-65695의 투여 후 마우스 ANGPTL3의 90% 초과 녹다운이 존재하며, 단회 3 mg/kg 용량의 AD-65695 투여 후 적어도 4주 동안 ANGPTL3의 약 75% 녹다운이 지속됨을 나타낸다. 또한, 데이터는 m/r/cy/h 작용제, AD-65695, 및 cy/h 작용제, AD-62865의 투여 후 필적하는 ANGPTL3 녹다운 유효성 및 기간이 존재하였음을 나타낸다.

[0534] 단회 용량 지속성 분석을 또한 AD-65695, AD-62865 및 AD-62866으로 수행하였다. 도 13에 나타낸 바와 같이, AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 3 mg/kg 용량의 AD-65695를 투여하거나, AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 용량의 AD-62865를 투여하거나, 또는 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에 단회 0.3 mg/kg 용량의 AD-62866을 투여하였다. 혈청을 투여 전 및 투여 후 11일, 25일 및 39일에 동물로부터 수집하고 마우스 및 인간 ANGPTL3의 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다.

[0535] 이들 분석으로부터의 데이터를 도 14a, 도 14b, 도 15a, 및 도 15b에 나타낸다. 도 14a 및 도 14b는 작용제 투여 11일 후 인간 및 마우스 ANGPTL3 수준을 각각 제공한다. 도 15a 및 도 15b는 투여 전 및 투여 후 11일, 25일 및 39일에 단회 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 또는 3 mg/kg 용량의 AD-65695 투여 후 인간 및 마우스 ANGPTL3 수준을 각각 제공한다. 데이터는 AD-65695(m/r/cy/h 작용제)가 인간 ANGPTL3에 대해 3 mg/kg의 동물의 80%에서의 유효 용량(ED_{80}) 및 1 mg/kg의 ED_{40}을 가짐을 나타낸다. 데이터는 또한 AD-65695가 마우스 ANGPTL3에 대해 3 mg/kg의 ED_{90}, 1 mg/kg의 ED_{70} 및 0.3 mg/kg의 ED_{50}을 가짐을 나타낸다. 또한, 데이터는 AD-62865(cy/h 작용제)가 인간 ANGPTL3에 대해 3 mg/kg의 ED_{80}을 가짐을 나타낸다.

[0536] 이들이 유도되는 모체 서열에 비해 더 적은 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드를 갖는 추가 작용제(상기 표 4A 및 4B에 기재됨)의 유효성을 단회 1 mg/kg 용량의 작용제 투여에 의해 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에서 검정하였다. 혈청을 투여-전 및 투여 9일 후 동물로부터 수집하고 마우스 및 인간 ANGPTL3 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다. 모체 서열에 비해 더 적은 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드를 갖는 3 작용제, AD-66920, AD-66921, 및 AD-66922가 cy/h 특이적 작용제, AD-62865에 비해 개선된 인간 ANGPTL3 녹다운 기간을 가짐을 나타내는 아래 표 6 및 도 16에 이들 검정 결과를 제공한다.

[0537] [표 6]

[0538] **AAV-TBG-ANGPTL3 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

				9일, 투여-전 대비					
군	n#	듀플렉스 명칭	용량 (mg/kg)	인간 Angptl3 평균	인간 Angptl3 SD	마우스 Angptl3 평균	마우스 Angptl3 SD	마우스 교차 반응성	NM_014495.3 에서 안티센스 가닥의 5' 표적 위치
1	2	PBS		**0.8**	0.3	1.4	0.08		
2	3	AD-62865	1	**0.44**	0.14	1.0	0.16		
3	3	AD-66916	1	**0.44**	0.11	1.3	0.25		482
4	3	AD-66917	1	**0.58**	0.22	1.2	0.17		56
5	3	AD-66918	1	**1.39**	0.68	0.9	0.42		478
6	3	AD-66919	1	**0.88**	0.25	1.1	0.16		77
7	3	AD-66920	1	**0.41**	0.05	1.0	0.14		61
8	3	AD-66921	1	**0.39**	0.14	1.1	0.40		398
9	3	AD-66922	1	**0.27**	0.08	1.2	0.38		393
10	3	AD-66923	1	**0.67**	0.21	0.3	0.07	예	278
11	3	AD-66924	1	**0.62**	0.20	0.5	0.07	예	276
12	3	AD-66925	1	**0.70**	0.22	0.9	0.11		1014
	3	AD-65695	1	**0.60**	0.14	0.3	0.08	예	278

[0539]

[0540] [표 7A]

[0541] **추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.**

듀플렉스 명칭	변형된 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형된 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	314	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	335
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	315	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	336
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	316	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	337
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	317	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	338
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	318	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	339
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	319	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	340
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	320	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg	341
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	321	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	342
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	322	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	343
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	323	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	344
AD-67013	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	324	usdTsgaguugagudTcdAagugacasusa	345
AD-67014	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	325	us(Ufms)gaguugagudTcdAagugacasusa	346
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96	326	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa	347
AD-66974	asascuaacuuacuuuaau(Tgn)caaaL96	327	usdTsugaauuaagdTudAguuagusgsc	348
AD-66973	asascudAacuuacuuaau(Tgn)caaaL96	328	usdTsugaauuaagdTudAguuagusgsc	349
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaaL96	329	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuagusgsc	350
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaaL96	330	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	351
AD-67042	csusccadTagdAgaagcaa(Tgn)cuaaL96	331	usdTsagauugcuudCadCuauggagsusa	352
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	332	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugusug	353
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	333	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	354
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	334	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	355

[0542]

[0543] [표 7B]

[0544] **추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.**

듀플렉스 명칭	변형된 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형된 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	314	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	335
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	315	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	336
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	316	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	337
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	317	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	338
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	318	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	339
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	319	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	340
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	320	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg	341
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	321	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	342
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	322	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	343
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	323	asdAsaaagacugadTcdAaauaugsusg	344
AD-67013	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaa	324	usdTsgaguugagudTcdAagugacasusa	345
AD-67014	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaa	325	us(Ufms)gaguugagudTcdAagugacasusa	346
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaa	326	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa	347
AD-66974	asascuaacuuacuuuaau(Tgn)caaa	327	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	348
AD-66973	asascudAacuuacuuaau(Tgn)caaa	328	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	349
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa	329	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuagusgsc	350
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa	330	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	351
AD-67042	csusccadTagdAgaagcaa(Tgn)cuaa	331	usdTsagauugcuudCadCuauggagsusa	352
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	332	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	353
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	333	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	354
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	334	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	355

[0545]

[0546] [표 7C]

[0547] **추가적인 변형되지 않은 ANGPTL3 RNAi 작용제.**

듀플렉스 명칭	변형되지 않은 센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	변형되지 않은 안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67021	GAAUATGUGACUUGAACUCAA	356	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	377
AD-67022	GAAUATGUGACUUGAACUCAA	357	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	378
AD-67173	GAAUAUGUCACUUGAACUCAA	358	UUGAGUUCAAGTGACAUAUUCUU	379
AD-67174	GAAUATGUGACUUGAACUCAA	359	UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	380
AD-66922	GAAUAUGUCACUUGAACUCAA	360	UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	381
AD-67008	AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU	361	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	382
AD-67007	AUUAAGCUGCUUCUUUTUAUU	362	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	383
AD-67006	AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU	363	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	384
AD-66920	AUUAAGCUCCUUCUUUUUAUU	364	AAUAAAAAGAAGGAGCUUAAUUG	385
AD-67028	ACAUATUUCAUCAGUCTUUUU	365	AAAAAGACUGATCAAAUAUGUUG	386
AD-67013	UGUCACUUCAACUCAACUCAA	366	UTGAGUUGAGUTCAAGUGACAUA	387
AD-67014	UGUCACUUCAACUCAACUCAA	367	UUGAGUUGAGUTCAAGUGACAUA	388
AD-66921	UGUCACUUGAACUCAACUCAA	368	UUGAGUUGAGUUCAAGUGACAUA	389
AD-66974	AACUAACUUACUUAAUTCAAA	369	UTUGAAUUAAGTUAGUUAGUUGC	390
AD-66973	AACUAACUUACUUAAUTCAAA	370	UTUGAAUUAAGTUAGUUAGUUGC	391
AD-66916	AACUAACUAACUUAAUUCAAA	371	UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC	392
AD-66925	CUCCAUAGUGAAGCAAUCUAA	372	UUAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA	393
AD-67042	CUCCATAGAGAAGCAATCUAA	373	UTAGAUUGCUUCACUAUGGAGUA	394
AD-66923	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	374	AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG	395
AD-67026	ACAUAUUUGAUCAGUCUUUUU	375	AAAAAGACUGATCAAAUAUGUUG	396
AD-67027	ACAUATUUCAUCAGUCTUUUU	376	AAAAAGACUGAUCAAAUAUGUUG	397

[0548]

[0549] **실시예 7. AAV-TBG-ANGPTL3 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0550] 표 7A, 7B, 및 7C에 기재된 추가 작용제의 제2 하위세트를 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에서 검정하였다. 이들 서열의 센스 및 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오티드 서열을 표 8A 및 8B에 제공한다. 간략하게, 그리고 상술된 바와 같이, 투여 전 -14일차에 야생형 마우스(C57BL/6)를 1 x 10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염시켰다. 0일차에, 마우스에 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 용량의 작용제를 투여하였다. 혈청을 투여 전 및 투여 후 14일 및 28일에 동물로부터 수집하고 마우스 및 인간 ANGPTL3 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다.

[0551] 이들 검정 결과를 아래의 표 9 및 도 17a 및 도 17b에 제공한다. 결과는 작용제 AD-67173, AD-67174, AD-66922, AD-67007, 및 AD-66920이 개선된 인간 ANGPTL3 녹다운 기간을 가짐을 나타낸다.

[0552] [표 8A]

듀플렉스 ID	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	398	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	408
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	399	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	409
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	400	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	410
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaaL96	401	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	411
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	402	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	412
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	403	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	413
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauuL96	404	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg	414
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	405	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	415
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	406	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	416
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	407	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	417

[0553]

[0554] [표 8B]

듀플렉스 ID	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67021	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	398	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	408
AD-67022	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	399	us(Ufms)gaguucaagdTgdAcauauucsusu	409
AD-67173	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	400	usdTsgaguucaagdTgdAcauauucsusu	410
AD-67174	gsasauadTgudGacuugaa(Cgn)ucaa	401	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	411
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	402	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	412
AD-67008	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	403	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	413
AD-67007	asusuaadGcudGcuucuuu(Tgn)uauu	404	asAfsuaaAfaagaaggAfgCfuuaaususg	414
AD-67006	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	405	asdAsuaaaaagaadGgdAgcuuaaususg	415
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	406	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	416
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	407	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	417

[0555]

[0556] [표 9]

		투여-전 대비, 14일차	
		인간 **Angptl3**	
듀플렉스	용량 **(mg/kg)**	평균	**SD**
PBS	0	0.74	0.27
AD-67021	3	0.48	0.22
AD-67022	3	0.52	0.17
AD-67173	3	**0.25**	0.03
AD-67174	3	**0.22**	0.05
AD-66922	**1**	**0.26**	0.06
AD-67008	3	0.50	0.18
AD-67007	3	**0.21**	0.02
AD-67006	3	0.50	0.18
AD-66920	**1**	**0.25**	0.05
AD-65695	**1**	**0.49**	0.15
AD-67028	3	0.47	0.04

[0557]

[0558] 다른 실험에서, 표 7A, 7B, 및 7C에 기재된 추가 작용제의 추가 하위세트를 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에서 검정하였다. 이들 서열의 센스 및 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오티드 서열을 표 10A 및 10B에 제공한다. 간략하게, 그리고 상술된 바와 같이, 투여 전 -14일차에, 야생형 마우스(C57BL/6)를 1 x 10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염시켰다. 0일차에, 마우스에 단회 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 용량의 작용제를 투여하였다.

혈청을 투여 전 및 투여 후 14일 및 28일에 동물로부터 수집하고 마우스 및 인간 ANGPTL3 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다.

[0559] 투여 14일 후 이들 검정의 결과를 아래의 표 11, 및 도 18a에 제공하며, 투여 28일 후 이들 검정의 결과를 아래의 표 12 및 도 18b에 제공한다. 결과는 작용제 AD-66921, AD-66916, 및 AD-67042가 개선된 인간 ANGPTL3 녹다운 기간을 가짐을 나타낸다.

[0560] [표 10A]

듀플렉스 ID	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67013	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	418	usdTsgaguugagudTcdAagugacasusa	430
AD-67014	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaaL96	419	us(Ufms)gaguugagudTcdAagugacasusa	431
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaaL96	420	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa	432
AD-66974	asascuaacuuacuuaau(Tgn)caaaL96	421	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	433
AD-66973	asascudAacuuacuuaau(Tgn)caaaL96	422	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	434
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaaL96	423	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	435
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaaL96	424	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	436
AD-67042	csusccadTagdAgaagcaa(Tgn)cuaaL96	425	usdTsagauugcuudCadCuauggagsusa	437
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	426	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	438
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	427	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	439
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	428	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	440
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuuL96	429	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	441

[0561]

[0562] [표 10B]

듀플렉스 ID	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-67013	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaa	418	usdTsgaguugagudTcdAagugacasusa	430
AD-67014	usgsucadCuudCaacucaa(Cgn)ucaa	419	us(Ufms)gaguugagudTcdAagugacasusa	431
AD-66921	usgsucacUfuGfAfAfcucaacucaa	420	usUfsgagUfuGfAfguucAfaGfugacasusa	432
AD-66974	asascuaacuuacuuaau(Tgn)caaa	421	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	433
AD-66973	asascudAacuuacuuaau(Tgn)caaa	422	usdTsugaauuaagdTudAguuaguusgsc	434
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa	423	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	435
AD-66925	csusccauAfgUfGfAfagcaaucuaa	424	usUfsagaUfuGfCfuucaCfuAfuggagsusa	436
AD-67042	csusccadTagdAgaagcaa(Tgn)cuaa	425	usdTsagauugcuudCadCuauggagsusa	437
AD-66923	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	426	asAfsaaaGfaCfUfgaucAfaAfuaugususg	438
AD-67026	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	427	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	439
AD-67027	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	428	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	440
AD-67028	ascsauadTuudCaucaguc(Tgn)uuuu	429	asdAsaaagacugadTcdAaauaugususg	441

[0563]

[0564] [표 11]

		PBS 대비, 14일차	
		인간 Angptl3	
siRNA	용량 (mg/kg)	평균	SD
PBS	0	1.00	0.12
AD-67013	3	0.86	0.06
AD-67014	3	0.67	0.15
AD-66921	**1**	**0.44**	0.18
AD-66974	3	**0.75**	0.03
AD-66973	3	0.76	0.05
AD-66916	**1**	**0.41**	0.05
AD-66925	**1**	**0.65**	0.13
AD-67042	*3*		
AD-65695	**1**	0.59	0.19
AD-66923	**1**	**0.64**	0.25
AD-67026	3	0.56	0.03
AD-67027	3	0.66	0.23
AD-67028	3	0.65	0.21

[0565]

[0566] [표 12]

		PBS 대비, 28일차	
		인간 Angptl3	
siRNA	용량 (mg/kg)	평균	SD
PBS	0	1.00	0.12
AD-67013	3	**1.50**	**1.28**
AD-67014	3	**0.90**	**0.23**
AD-66921	**1**	**0.44**	**0.11**
AD-66974	3	**0.96**	**0.10**
AD-66973	3	**1.00**	**0.34**
AD-66916	**1**	**0.57**	**0.06**
AD-66925	**1**	**1.01**	**0.28**
AD-67042	*3*		
AD-65695	**1**	**0.85**	**0.17**
AD-66923	**1**	**0.85**	**0.25**
AD-67026	3	**0.64**	**0.06**
AD-67027	3	**0.58**	**0.11**
AD-67028	3	**1.32**	**1.01**

[0567]

[0568] **실시예 8. 비인간 영장류에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0569] 수컷 게잡이 원숭이(n=3/군)에 1일차에 단회 1 mg/kg 용량의 AD-65695 또는 AD-66920, 또는 단회 3 mg/kg 용량의 AD-66920을 피하 투여하였다. 공복 혈청을 투여 후 4일, 8일, 11일, 15일, 및 22일에 수집하고 ANGPLT3 단백질 수준 및 혈청 지질 수준을 측정하였다.

[0570] 이들 검정 결과를 도 19a 및 도 19b에 제공하며 단회 3 mg/kg 용량의 AD-66920(h/cy) 투여 후 혈청 ANGPTL3 단백질의 최대 80% 녹다운 및 혈청 트리글리세라이드 수준의 약 50% 저하가 존재함을 나타낸다. 단회 1 mg/kg 용량의 AD-66920은 혈청 트리글리세라이드 수준에 온건한 효과를 가졌다. 놀랍게도, 단회 1 mg/kg 용량의 AD-65695의 투여가 단회 1 mg/kg 용량의 AD-66920과 유사한 수준까지 ANGPTL3 단백질 수준을 저하시켰지만, 단회 1 mg/kg 용량의 AD-65695는 AAV8-TBG-ANGPTL3 마우스 모델에서 단회 1 mg/kg 용량의 AD-66920에 비해 약 3배 덜 강력하였고 혈청 트리글리세라이드에 대해서는 효과를 갖지 않았다.

[0571] **실시예 9. AAV-TBG-ANGPTL3 마우스에서 생체내 ANGPTL3 침묵화**

[0572] ANGPTL3을 표적화하는 추가 작용제 세트의 생체내 유효성을 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에서 검정하였다. 이들 서열의 센스 및 안티센스 가닥의 변형된 뉴클레오티드 서열을 표 13A 및 13B에 제공한다. 간략하게 그리고 상술된 바와 같이, 투여 전 -21일차에 야생형 마우스(C57BL/6; n=3)를 1 x 10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염시켰다. 0일차에, 마우스에 단회 1 mg/kg 용량의 작용제를 투여하였다. 혈청을 투여 전 및 투여 28일 후 동물로부터 수집하고 인간 ANGPTL3 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다.

[0573] 이들 검정 결과를 도 20에 제공하며 이들 작용제가 인간 ANGPTL3 단백질 수준을 효과적으로 녹다운함을 나타낸다.

[0574] 표 13A 및 13B에 기재된 ANGPTL3을 표적화하는 추가 작용제 세트를 AAV8-TBG-ANGPTL3 감염된 마우스에서 생체내 유효성에 대해 검정하였다. 상술된 바와 같이, 투여 전 -21일차 야생형 마우스(C57BL/6; n=3)를 1 x 10^{11} 바이러스 입자의 정맥내 투여에 의해 감염시켰다. 0일차에, 마우스에 단회 1 mg/kg 용량의 작용제를 투여하였다. 혈청을 투여 전 및 투여 28일 후 동물로부터 수집하고 인간 및 마우스 ANGPTL3 수준을 상술된 바와 같이 ELISA 검정에 의해 결정하였다.

[0575] 이들 검정 결과를 도 21a 및 도 21b에 제공하며 이들 작용제가 마우스 및 인간 ANGPTL3 단백질 수준을 효과적으로 녹다운함을 나타낸다.

[0576] **실시예 10. AAV-TBG-ANGPTL3 마우스에서 시험관내 ANGPTL3 침묵화**

[0577] ANGPTL3 유전자를 표적화하는 추가 iRNA 작용제를 상술된 바와 같이 합성하였다. 추가적인 변형되지 않은 ANGPTL3 센스 및 안티센스 가닥 서열의 상세 목록을 표 14에 나타내며, 이들 추가적인 작용제의 변형된 센스 및 안티센스 가닥 서열의 상세 목록을 표 13A, 13B, 15A 및 15B에 나타낸다.

[0578] 이들 추가 작용제를 10 nM 및 0.1 nM 최종 듀플렉스 농도에서 작용제의 단회 용량 전달감염에 의해 Hep3b 및 일차 게잡이 원숭이 간세포에서의 시험관내 검정에서 평가하였다(표 16 참고).

[0579] Hep3b 세포를 배양하고 상술된 바와 같이 전달감염시켰다. 일차 게잡이원숭이 간세포에서의 자유 섭취 침묵화를 24시간 동안 ANGPTL3 작용제를 이용한 인큐베이션 후 평가하였다. 5 ㎕의 완전 성장 배지를 Lipofectamine RNAiMax 및 Optimem 함유 5 ㎕ 대신 치환한 것을 제외하고, 방법은 상술된 것과 유사하였다. 이들 검정 결과(표 16에 제공됨)는 여러 듀플렉스가 ANGPTL3 mRNA 발현을 강력하게 억제하였음을 예시한다.

[0580] [표 13A]

[0581] **추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.**

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauuL96	442	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	454
AD-72868	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuauaL96	443	VP(Tams)AfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	455
AD-72869	asusuaagcuCfcUfucuuuuauuL96	444	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	456
AD-72870	asusuaagcuCfcUfucuuuuauuL96	445	asAfsuaaaaagaadGgAfgcuuaaususg	457
AD-72871	asusuaagcuCfcUfucuuu(Tgn)uauuL96	446	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	458
AD-72872	asusuaagcuCfcUfucuauauauuL96	447	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	459
AD-65695	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuuL96	448	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	460
AD-72873	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuaL96	449	VP(Tams)AfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	461
AD-72874	ascsauauuuGfaUfcagucuuuuuL96	450	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	462
AD-72875	ascsauauuuGfaUfcagucuuuuuL96	451	asAfsaaagacugadTcAfaauaugususg	463
AD-72876	ascsauauuuGfaUfcaguc(Tgn)uuuuL96	452	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	464
AD-72877	ascsauauuuGfaUfcagacauuuuL96	453	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	465

[0582]

[0583] [표 13B]

[0584] 추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO
AD-66920	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuauu	442	asAfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	454
AD-72868	asusuaagCfuCfCfUfucuuuuuaua	443	VP(Tams)AfsuaaAfaAfGfaaggAfgCfuuaaususg	455
AD-72869	asusuaagcuCfcUfucuuuuuauu	444	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	456
AD-72870	asusuaagcuCfcUfucuuuuuauu	445	asAfsuaaaaagaadGgAfgcuuaaususg	457
AD-72871	asusuaagcuCfcUfucuuuu(Tgn)uauu	446	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	458
AD-72872	asusuaagcuCfcUfucuauauauu	447	asAfsuaaaaagaaGfgAfgcuuaaususg	459
AD-65695	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuuu	448	asAfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	460
AD-72873	ascsauauUfuGfAfUfcagucuuuua	449	VP(Tams)AfsaaaGfacugaucAfaAfuaugususg	461
AD-72874	ascsauauuuGfaUfcagucuuuuu	450	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	462
AD-72875	ascsauauuuGfaUfcagucuuuuu	451	asAfsaaagacugadTcAfaauaugususg	463
AD-72876	ascsauauuuGfaUfcaguc(Tgn)uuuu	452	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	464
AD-72877	ascsauauuuGfaUfcagacauuuu	453	asAfsaaagacugaUfcAfaauaugususg	465

[0585]

[0586] [표 14]

[0587] 추가적인 변형되지 않은 ANGPTL3 RNAi 작용제.

[0588]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO	NM_014495.3 에서 안티센스 표적 위치
AD-66916	AACUAACUAACUUAAUUCAAA	466	UUUGAAUUAAGUUAGUUAGUUGC	507	480-502
AD-66922	GAAUAUGUCACUUGAACUCAA	467	UUGAGUUCAAGUGACAUAUUCUU	508	391-413
AD-74755	AAACUCUAAACUUGACUAAAU	468	AUUUAGUCAAGUUUAGAGUUUUA	509	1853-1874
AD-74756	AACUAACUUAAUUCAAAAUCA	469	UGAUUUUGAAUUAAGUUAGUUAG	510	515-536
AD-74757	CCAGAAGUAACUUCACUUAAA	470	UUUAAGUGAAGUUACUUCUGGGU	511	555-576
AD-74758	GAACUCAACUCAAAACUUGAA	471	UUCAAGUUUUGAGUUGAGUUCAA	512	435-456

[0589]

AD-74759	CAACUCAAAACUUGAAAGCCU	472	AGGCUUUCAAGUUUUGAGUUGAG	513	440-461
AD-74760	UUCCACGUUGCUUGAAAUUGA	473	UCAAUUUCAAGCAACGUGGAACU	514	46-67
AD-74761	GUUGCUUGAAAUUGAAAAUCA	474	UGAUUUUCAAUUUCAAGCAACGU	515	52-73
AD-74762	GAUCACAAAACUUCAAUGAAA	475	UUUCAUUGAAGUUUUUGUGAUCCA	516	952-973
AD-74763	UCAAGAUUUGCUAUGUUAGAA	476	UUCUAACAUAGCAAAUCUUGAUU	517	183-204_C21A
AD-74764	CAAAAUCAAGAUUUGCUAUGU	477	ACAUAGCAAAUCUUGAUUUUGGC	518	178-199
AD-74765	GAACUACUCCCUUUCUUCAGU	478	ACUGAAGAAAGGGAGUAGUUCUU	519	751-772
AD-74766	AGAAAUUUCUCUAUCUUCCAA	479	UUGGAAGAUAGAGAAAUUUCUGU	520	716-737
AD-74767	UGAACUGAGGCAAAUUUAAAA	480	UUUUAAAUUUGCCUCAGUUCAUU	521	1461-1482
AD-74768	CAUCCAACAGAUUCAGAAAGA	481	UCUUUCUGAAUCUGUUGGAUGGA	522	1434-1455_C21A
AD-74769	AAAAUCAAGAUUUGCUAUGUU	482	AACAUAGCAAAUCUUGAUUUUGG	523	179-200
AD-74770	AGAGCAAAAUCUAAGCCAGAA	483	UUCUGGCUUAGAUUUUGCUCUUG	524	1341-1362_G21A
AD-74771	AUCAUAUGAGCUAAUAUCACA	484	UGUGAUAUUAGCUCAUAUGAUGC	525	1798-1819
AD-74772	AAUAAACCUCGUAACAAGUUA	485	UAACUUGUUACGAGGUUUAUUUC	526	2339-2360
AD-74773	CAACAGCAUAGUCAAAUAAAA	486	UUUUAUUUGACUAUGCUGUUGGU	527	651-672
AD-74774	AAAACAACCUAAAUGGUAAAU	487	AUUUACCAUUUAGGUUGUUUUCU	528	1309-1330
AD-74775	CACUUAAAACUUUUGUAGAAA	488	UUUCUACAAAAGUUUUAAGUGAA	529	568-589
AD-74776	AUUAAAAUAAGUUCGCUGUCU	489	AGACAGCGAACUUAUUUUAAUAC	530	2070-2091
AD-74777	CAAAACUUCAAUGAAACGUGA	490	UCACGUUUCAUUGAAGUUUUGUG	531	957-978_G21A
AD-74778	AGAUGGAUCACAAAACUUCAA	491	UUGAAGUUUUGUGAUCCAUCUAU	532	947-968
AD-74779	CACUUAAUACUAUGAAAACAA	492	UUGUUUUCUAUAGUAUUAAGUGUU	533	2194-2215
AD-74780	ACUAAGUCACAUUGACUUUAA	493	UUAAAGUCAAUGUGACUUAGUAG	534	2111-2132
AD-74781	UAUUAAAUAACUUUUCUAAAU	494	AUUUAGAAAAGUUAUUUAAUAAG	535	1746-1767
AD-74782	ACACUUAAUACUAUGAAAACA	495	UGUUUUCAUAGUAUUAAGUGUUA	536	2193-2214
AD-74783	UUUAUGAAACCUAAUGAAGCA	496	UGCUUCAUUAGGUUUUCAUAAAUA	537	2035-2056
AD-74784	CAAACAUUAUAUUGAAUAUUA	497	UAAUAUUCAAUAUAAUGUUUGUU	538	1103-1124_C21A
AD-74785	AAACCAGUGAAAUCAAAGAAA	498	UUUCUUUGAUUUCACUGGUUUGC	539	343-364_G21A
AD-74786	GAGUUAAAGUUUAUAUUUCCA	499	UGGAAAUAUAAACUUUAACUCGA	540	2271-2292_C21A
AD-74787	CCAAUAUAAACAAUUAAACCA	500	UGGUUUAAUUGUUUAUAUUGGUC	541	632-653

[0590]

[0591] [표 15A]

AD-74788	GUGGAGAAAACAACCUAAAUA	501	UAUUUAGGUUGUUUUCUCCACAC	542	1303-1324_G21A
AD-74789	AACUCAACUCAAAACUUGAAA	502	UUUCAAGUUUUGAGUUGAGUUCA	543	436-457
AD-74790	AAUGUUCACAAUUAAGCUCCU	503	AGGAGCUUAAUUGUGAACAUUUU	544	80-101
AD-74791	GCAGAAUUAAAUACUGUAUUA	504	UAAUACAGUAUUUAAUUCUGCUU	545	2053-2074
AD-74792	UGAAUGAAAUAAGAAAUGUAA	505	UUACAUUUCUUAUUUCAUUCAAC	546	772-793
AD-74793	UACAUAUAAACUACAAGUCAA	506	UUGACUUGUAGUUUAUAUGUAGU	547	386-407

[0592] 추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.

[0593]

듀플렉스 명칭	센스 서열, 5'에서 3'으로	SEQ ID NO:	안티센스 서열, 5'에서 3'으로	SEQ ID NO:	NM_014495.3 에서 mRNA 표적 서열	SEQ ID NO:
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaaL96	548	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	589	GCAACUAACUAACUUAAUUCAAA	630
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaaL96	549	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	590	AAGAAUAUGUCACUUGAACUCAA	631
AD-74755	asasacucUfaAfAfCfuugacuaaauL96	550	asUfsuuaGfuCfAfaguuUfaGfaguuususa	591	UAAAACUCUAAACUUGACUAAAU	632
AD-74756	asascuaaCfuUfAfAfuucaaaaucaL96	551	usGfsauuUfuGfAfauuaAfgUfuaguusasg	592	CUAACUAACUUAAUUCAAAAUCA	633
AD-74757	cscsagaaGfuAfAfCfuucacuuaaaL96	552	usUfsuaaGfuGfAfaguuAfcUfucuggsgsu	593	ACCCAGAAGUAACUUCACUUAAA	634
AD-74758	gsasacucAfaCfUfCfaaaacuugaaL96	553	usUfscaaGfuUfUfugagUfuGfaguucsasa	594	UUGAACUCAACUCAAAACUUGAA	635
AD-74759	csasacucAfaAfAfCfuugaaagccuL96	554	asGfsgcuUfuCfAfaguuUfuGfaguugsasg	595	CUCAACUCAAAACUUGAAAGCCU	636
AD-74760	ususccacGfuUfGfCfuugaaauugaL96	555	usCfsaauUfuCfAfagcaAfcGfuggaascsu	596	AGUUCCACGUUGCUUGAAAUUGA	637
AD-74761	gsusugcuUfgAfAfAfuugaaaaucaL96	556	usGfsauuUfuCfAfauuuCfaAfgcaacsgsu	597	ACGUUGCUUGAAAUUGAAAAUCA	638
AD-74762	gsasucacAfaAfAfCfuucaaugaaaL96	557	usUfsucaUfuGfAfaguuUfuGfugaucscsa	598	UGGAUCACAAAACUUCAAUGAAA	639
AD-74763	uscsaagaUfuUfGfCfuauguuagaaL96	558	usUfscuaAfcAfUfagcaAfaUfcuugasusu	599	AAUCAAGAUUUGCUAUGUUAGAC	640
AD-74764	csasaaauCfaAfGfAfuuugcuaugUL96	559	asCfsauaGfcAfAfaucuUfgAfuuuugsgsc	600	GCCAAAAUCAAGAUUUGCUAUGU	641
AD-74765	gsasacuaCfuCfCfCfuuucuucagUL96	560	asCfsugaAfgAfAfagggAfgUfaguucsusu	601	AAGAACUACUCCCUUUCUUCAGU	642
AD-74766	asgsaaauUfuCfUfCfuaucuuccaaL96	561	usUfsggaAfgAfUfagagAfaAfuuucusgsu	602	ACAGAAAUUUCUCUAUCUUCCAA	643

AD-74767	usgsaacuGfaGfGfCfaauuuaaaaL96	562	usUfsuuaAfaUfUfugccUfcAfguucasusu	603	AAUGAACUGAGGCAAAUUUAAAA	644
AD-74768	csasuccaAfcAfGfAfuucagaaagaL96	563	usCfsuuuCfuGfAfaucuGfuUfggaugsgsa	604	UCCAUCCAACAGAUUCAGAAAGC	645
AD-74769	asasaaucAfaGfAfUfuugcuauguuL96	564	asAfscauAfgCfAfaaucUfuGfauuuusgsg	605	CCAAAAUCAAGAUUUGCUAUGUU	646
AD-74770	asgsagcaAfaAfUfCfuaagccagaaL96	565	usUfscugGfcUfUfagauUfuUfgcucususg	606	CAAGAGCAAAAUCUAAGCCAGAG	647
AD-74771	asuscauaUfgAfGfCfuaauucacaL96	566	usGfsugaUfaUfUfagcuCfaUfaugausgsc	607	GCAUCAUAUGAGCUAAUAUCACA	648
AD-74772	asasuaaaCfcUfCfGfuaacaaguuaL96	567	usAfsacuUfgUfUfacgaGfgUfuuauususc	608	GAAAUAAACCUCGUAACAAGUUA	649
AD-74773	csasacagCfaUfAfGfucaaauaaaaL96	568	usUfsuuaUfuUfGfacuaUfgCfuguugsgsu	609	ACCAACAGCAUAGUCAAAUAAAA	650
AD-74774	asasaacaAfcCfUfAfaaugguaaauL96	569	asUfsuuaCfcAfUfuuagGfuUfguuuuscsu	610	AGAAAACAACCUAAAUGGUAAAU	651
AD-74775	csascuuaAfaAfCfUfuuuguagaaaL96	570	usUfsucuAfcAfAfaaguUfuUfaagugsasa	611	UUCACUUAAAACUUUUGUAGAAA	652
AD-74776	asusuaaaAfuAfAfGfuucgcugucuL96	571	asGfsacaGfcGfAfacuuAfuUfuuausasc	612	GUAUUAAAAUAAGUUCGCUGUCU	653
AD-74777	csasaaacUfuCfAfAfuguaacgugaL96	572	usCfsacgUfuUfCfauugAfaGfuuuugsusg	613	CACAAAACUUCAAUGAAACGUGG	654
AD-74778	asgsauggAfuCfAfCfaaaacuucaaL96	573	usUfsgaaGfuUfUfugugAfuCfcaucusasu	614	AUAGAUGGAUCACAAAACUUCAA	655
AD-74779	csascuuaAfuAfCfUfuagaaaacaaL96	574	usUfsguuUfuCfAfuaguAfuUfaagugsusu	615	AACACUUAAUACUAUGAAAACAA	656
AD-74780	ascsuaagUfcAfCfAfuugacuuuaaL96	575	usUfsaaaGfuCfAfauguGfaCfuuagusasg	616	CUACUAAGUCACAUUGACUUUAA	657
AD-74781	usasuuaaAfuAfAfCfuuuucuaaauL96	576	asUfsuuaGfaAfAfaguuAfuUfUfuaauasasg	617	CUUAUUAAAUAACUUUUUCUAAAU	658
AD-74782	ascsacuuAfaUfAfCfuauguaaaacaL96	577	usGfsuuuUfcAfUfaguaUfuAfAfaguugususa	618	UAACACUUAAUACUAUGAAAACA	659
AD-74783	ususuaugAfaAfCfCfuaugaagcaL96	578	usGfscuuCfaUfUfaggaUfuCfCfauaaasusa	619	UAUUUAUGAAACCUAAUGAAGCA	660
AD-74784	csasaacaUfuAfUfAfauguaauauuaL96	579	usAfsauaUfuCfAfauauAfaUfguuugsusu	620	AACAAACAUUAUAUUGAAUAUUUC	661
AD-74785	asasaccaGfuGfAfAfauacaagaaaL96	580	usUfsucuUfuGfAfuuucAfcUfgguuusgsc	621	GCAAACCAGUGAAAUCAAAGAAG	662
AD-74786	gsasguuaAfaGfUfUfuauauuuccaL96	581	usGfsgaaAfuAfUfaaacUfuUfUfaacucsgsa	622	UCGAGUUAAAGUUUAUAUUUUCCC	663
AD-74787	cscsaauaUfaAfAfCfaauuaaaccaL96	582	usGfsguuUfaAfUfuguuUfaUfauuggsusc	623	GACCAAUAUAAACAAUUAAACCA	664
AD-74788	gsusggagAfaAfAfCfaccuaauaaL96	583	usAfsuuuAfgGfUfuguuUfuCfuccacsasc	624	GUGUGGAGAAAACAACCUAAAUG	665
AD-74789	asascucaAfcUfCfAfaaacuugaaaL96	584	usUfsucaAfgUfUfuugaGfuUfgaguuscsa	625	UGAACUCAACUCAAAACUUGAAA	666
AD-74790	asasuguuCfaCfAfAfuuaagcuccuL96	585	asGfsgagCfuUfAfauugUfgAfacauususu	626	AAAAUGUUCACAAUUAAGCUCCU	667
AD-74791	gscsagaaUfuAfAfAfuacuguauuaL96	586	usAfsauaCfaGfUfuuuAfaUfucugcsusu	627	AAGCAGAAUUAAAUACUGUAUUA	668
AD-74792	usgsaaugAfaAfUfAfagaaauguaaL96	587	usUfsacaUfuUfCfuuauUfcUfauucasasc	628	GUUGAAUGAAAUAAGAAAUGUAA	669
AD-74793	usascauaUfaAfAfCfuacaagucaaL96	588	usUfsgacUfuGfUfaguuUfaUfauguasgsu	629	ACUACAUAUAAACUACAAGUCAA	670

[0594]

[0595] [표 15B]

[0596] 추가적인 변형된 ANGPTL3 RNAi 작용제.

[0597]

듀플렉스 명칭	센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO:	안티센스 서열 5'에서 3'으로	SEQ ID NO:	NM_014495.3 에서 mRNA 표적 서열	SEQ ID NO:
AD-66916	asascuaaCfuAfAfCfuuaauucaaa	548	usUfsugaAfuUfAfaguuAfgUfuaguusgsc	589	GCAACUAACUAACUUAAUUCAAA	630
AD-66922	gsasauauGfuCfAfCfuugaacucaa	549	usUfsgagUfuCfAfagugAfcAfuauucsusu	590	AAGAAUAUGUCACUUGAACUCAA	631
AD-74755	asasacucUfaAfAfCfuugacuaaau	550	asUfsuuaGfuCfAfaguuUfaGfaguuususa	591	UAAAACUCUAAACUUGACUAAAU	632
AD-74756	asascuaaCfuUfAfAfuucaaauca	551	usGfsauuUfuGfAfAfauuaAfgUfuaguusasg	592	CUAACUAACUUAAUUCAAAAUCA	633
AD-74757	cscsagaaGfuAfAfCfuucacuuaaa	552	usUfsuaaGfuGfAfAfaguuAfcUfucuggsgsu	593	ACCCAGAAGUAACUUCACUUAAA	634
AD-74758	gsasacucAfaCfUfCfaaaacuugaa	553	usUfscaaGfuUfUfUfugagUfuGfaguucsasa	594	UUGAACUCAACUCAAAACUUGAA	635
AD-74759	csasacucAfaAfAfCfuugaaagccu	554	asGfsgcuUfucCfAfaguuUfuGfaguugsasg	595	CUCAACUCAAACUUGAAAGCCU	636
AD-74760	ususccacGfuUfGfCfuugaaauuga	555	usCfsaauUfucCfAfagcaAfcGfuggaascsu	596	AGUUCCACGUUGCUUGAAAUUGA	637
AD-74761	gsusugcuUfgAfAfAfuugaaaauca	556	usGfsauuUfuCfAfauuuCfaAfgcaacsgsu	597	ACGUUGCUUGAAAUUGAAAAUCA	638
AD-74762	gsasucacAfaAfAfCfuucaaugaaa	557	usUfsucaUfuGfAfAfaguuUfuGfugaucscsa	598	UGGAUCACAAAACUUCAAUGAAA	639
AD-74763	uscsaagaUfuUfGfCfuauguuagaa	558	usUfscuaAfcAfUfagcaAfaUfcuugasusu	599	AAUCAAGAUUUGCUAUGUUAGAC	640
AD-74764	csasaaauCfaAfGfAfuuugcuaugu	559	asCfsauaGfcAfAfaucuUfgAfuuuugsgsc	600	GCCAAAAUCAAGAUUUGCUAUGU	641
AD-74765	gsasacuaCfuCfCfCfuuucuucagu	560	asCfsugaAfgAfAfagggAfgUfaguucsusu	601	AAGAACUACUCCCUUUCUUCAGU	642
AD-74766	asgsaaauUfuCfUfCfuauccuuccaa	561	usUfsggaAfgAfUfagagAfaAfuuucusgsu	602	ACAGAAAUUUCUCUAUCUUCCAA	643
AD-74767	usgsaacuGfaGfGfCfaaauuuaaaa	562	usUfsuuaAfaUfUfugccUfcAfguucasusu	603	AAUGAACUGAGGCAAAUUUAAAA	644
AD-74768	csasuccaAfcAfGfAfuucagaaaga	563	usCfsuuuCfuGfAfaucuGfuUfggaugsgsa	604	UCCAUCCAACAGAUUCAGAAAGC	645
AD-74769	asasaaucAfaGfAfUfuugcuauguu	564	asAfscauAfgCfAfaaucUfuGfauuusgsg	605	CCAAAAUCAAGAUUUGCUAUGUU	646
AD-74770	asgsagcaAfaAfUfCfuaagccagaa	565	usUfscugGfcUfUfagauUfuUfgcucususg	606	CAAGAGCAAAAUCUAAGCCAGAG	647
AD-74771	asuscauaUfgAfGfCfuaauaucaca	566	usGfsugaUfaUfUfagcuCfaUfaugausgsc	607	GCAUCAUAUGAGCUAAUAUCACA	648
AD-74772	asasuaaaCfcUfCfGfuaacaaguua	567	usAfsacuUfgUfUfacgaGfgUfuuauususc	608	GAAAUAAACCUCGUAACAAGUUA	649
AD-74773	csasacagCfaUfAfGfucaaauaaaa	568	usUfsuuaUfuUfGfacuaUfgCfuguugsgsu	609	ACCAACAGCAUAGUCAAAUAAAA	650
AD-74774	asasaacaAfcCfUfAfaaugguaaau	569	asUfsuuaCfcAfUfuuagGfuUfguuuuscsu	610	AGAAAACAACCUAAAUGGUAAAU	651
AD-74775	csascuuaAfaAfCfUfuuguagaaaa	570	usUfsucuAfcAfAfaaguUfuUfaagugsasa	611	UUCACUUAAAACUUUUGUAGAAA	652

AD-74776	asusuaaaAfuAfAfGfuucgcugucu	571	asGfsacaGfcGfAfacuuAfuUfuuaausasc	612	GUAUUAAAAUAAGUUCGCUGUCU	653
AD-74777	csasaaacUfuCfAfAfugaaacguga	572	usCfsacgUfuUfCfauugAfaGfuuuugsusg	613	CACAAAACUUCAAUGAAACGUGG	654
AD-74778	asgsauggAfuCfAfCfaaaacuucaa	573	usUfsgaaGfuUfUfugugAfuCfcaucusasu	614	AUAGAUGGAUCACAAAACUUCAA	655
AD-74779	csascuuaAfuAfCfUfaugaaaacaa	574	usUfsguuUfuCfAfuaguAfuUfaagugsusu	615	AACACUUAAUACUAUGAAAACAA	656
AD-74780	ascsuaagUfcAfCfAfuugacuuuaa	575	usUfsaaaGfuCfAfauguGfaCfuuagusasg	616	CUACUAAGUCACAUUGACUUUAA	657
AD-74781	usasuuaaAfuAfAfCfuuuucuaaau	576	asUfsuuaGfaAfAfaguuAfuUfuaauasasg	617	CUUAUUAAAUAACUUUUCUAAAU	658
AD-74782	ascsacuuAfaUfAfCfcuaugaaaaca	577	usGfsuuuUfcAfUfaguaUfuAfagugususa	618	UAACACUUAAUACUAUGAAAACA	659
AD-74783	ususuaugAfaAfCfCfcuaaugaagca	578	usGfscuuCfaUfUfagguUfuCfauaaasusa	619	UAUUUAUGAAACCUAAUGAAGCA	660
AD-74784	csasaacaUfuAfUfAfuugaauauua	579	usAfsauaUfuCfAfauauAfaUfguuugsusu	620	AACAAACAUUAUAUUGAAUAUUC	661
AD-74785	asasaccaGfuGfAfAfaucaaagaaa	580	usUfsucuUfuGfAfuuucAfcUfgguuusgsc	621	GCAAACCAGUGAAAUCAAAGAAG	662
AD-74786	gsasguuaAfaGfUfUfuauauuucca	581	usGfsgaaAfuAfUfaaacUfuUfaacucsgsa	622	UCGAGUUAAAGUUUAUAUUUCCC	663
AD-74787	cscsaauaUfaAfAfCfaauuaaacca	582	usGfsguuUfaAfUfuguuUfaUfauuggsusc	623	GACCAAUAUAAACAAUUAAACCA	664
AD-74788	gsusggagAfaAfAfCfaaccuaaaua	583	usAfsuuuAfgGfUfuguuUfuCfuccacsasc	624	GUGUGGAGAAAACAACCUAAAUG	665
AD-74789	asascucaAfcUfCfAfaaacuugaaa	584	usUfsucaAfgUfUfuugaGfuUfgaguuscsa	625	UGAACUCAACUCAAAACUUGAAA	666
AD-74790	asasuguuCfaCfAfAfuuaagcuccu	585	asGfsgagCfuUfAfauugUfgAfacauususu	626	AAAAUGUUCACAAUUAAGCUCCU	667
AD-74791	gscsagaaUfuAfAfAfuacuguauua	586	usAfsauaCfaGfUfauuuAfaUfucugcsusu	627	AAGCAGAAUUAAAUACUGUAUUA	668
AD-74792	usgsaaugAfaAfUfAfagaaauguaa	587	usUfsacaUfuUfCfuuauUfuCfauucasasc	628	GUUGAAUGAAAUAAGAAAUGUAA	669
AD-74793	usascauaUfaAfAfCfuacaagucaa	588	usUfsgacUfuGfUfaguuUfaUfauguasgsu	629	ACUACAUAUAAACUACAAGUCAA	670

[0598]

[0599] [표 16]

[0600] Hep3B 세포 및 일차 게잡이 원숭이 간세포에서 AngPTL3 단회 투여 스크리닝.

[0601] 데이터는 AD-1955 비-표적화 대조군 대비 잔여 메시지 백분율로 표현한다.

Hep3b 계 삼이 원숭이 간세포

듀플렉스ID	10nM_AVG	10nM_STDEV	0.1nM_AVG	0.1nM_STDEV	10nM_AVG	10nM_STDEV	0.1nM_AVG	0.1nM_STDEV
AD-66916	5.2	2.1	17.9	4.1	5.2	0.4	40.5	5.4
AD-66922	12.5	2.1	41.5	17.0	4.6	0.6	43.5	8.2
AD-74755	18.2	5.9	44.3	3.5	68.7	7.8	79.2	11.5
AD-74756	10.4	4.1	56.9	12.5	9.9	2.4	50.7	7.4
AD-74757	10.7	6.5	38.3	12.4	5.6	0.8	34.5	4.0
AD-74758	19.3	3.1	120.4	19.5	24.1	6.9	78.4	17.7
AD-74759	20.4	3.9	132.1	34.5	26.7	4.0	80.4	8.3
AD-74760	21.6	4.7	140.1	16.8	12.8	1.5	72.5	6.4
AD-74761	19.9	2.4	107.8	30.0	12.6	1.1	71.9	12.3
AD-74762	11.0	5.0	55.0	11.0	6.4	1.2	78.5	17.1
AD-74763	13.5	4.1	67.5	13.6	21.2	5.2	76.8	13.4
AD-74764	10.4	3.0	70.7	21.4	15.8	1.4	63.1	4.8
AD-74765	16.5	3.6	83.1	16.4	22.0	2.5	82.2	10.4
AD-74766	11.3	6.2	56.0	25.3	7.8	0.4	51.3	2.1
AD-74767	8.6	3.2	70.9	19.7	14.8	5.8	61.5	4.7
AD-74768	28.8	10.1	120.3	24.3	37.6	5.3	81.1	9.6
AD-74769	14.5	5.5	65.4	28.5	10.3	1.6	63.5	8.9
AD-74770	42.4	13.0	95.0	23.6	59.8	8.1	104.6	14.8
AD-74771	30.0	12.2	79.7	15.3	73.7	10.0	87.6	17.1
AD-74772	22.9	3.8	60.4	10.9	80.9	9.1	83.8	8.0
AD-74773	11.2	3.3	47.4	14.1	9.7	1.8	56.3	1.8
AD-74774	57.3	4.8	99.3	8.1	65.0	4.2	81.3	9.3
AD-74775	13.8	3.6	83.1	21.8	54.2	4.0	92.0	5.5

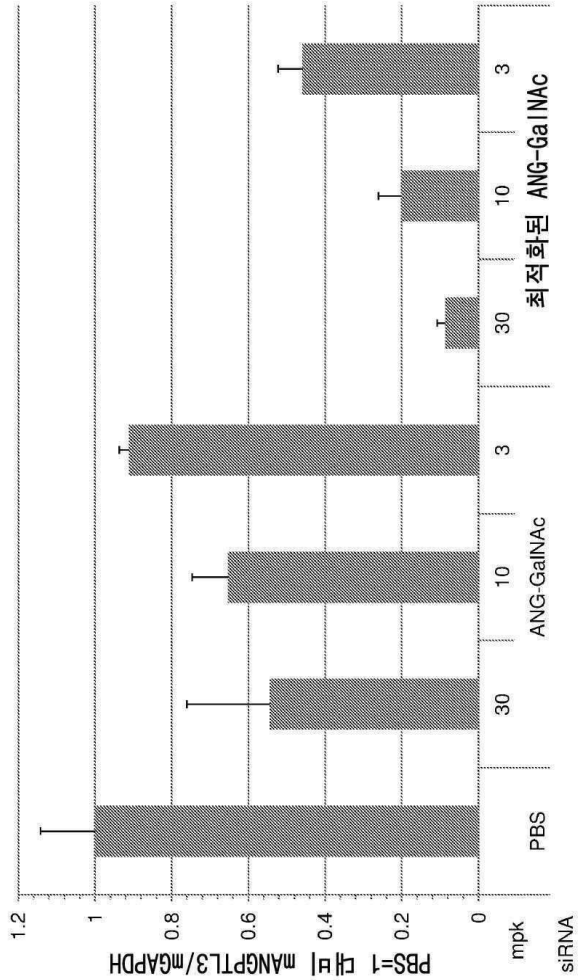
[0602]

[0603]

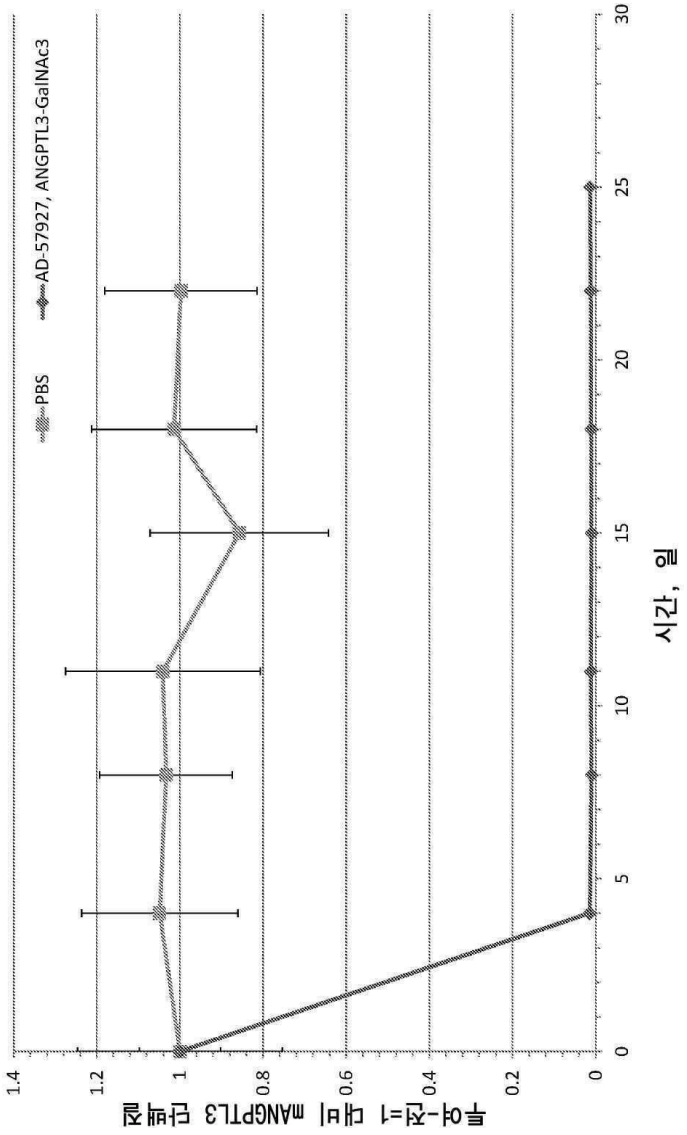
AD-74776	50.6	11.5	114.3	39.7	80.2	11.0	97.3	9.4
AD-74777	14.8	3.8	76.7	27.0	39.4	12.1	92.1	4.2
AD-74778	22.0	13.0	62.8	24.6	15.6	3.0	70.4	7.4
AD-74779	45.5	9.0	64.7	4.7	82.8	15.1	87.0	9.0
AD-74780	38.3	13.9	81.0	22.9	77.4	7.4	82.0	4.3
AD-74781	44.5	10.1	78.5	15.9	79.5	3.3	88.7	7.9
AD-74782	59.1	18.5	137.3	65.4	79.1	3.6	88.5	4.3
AD-74783	115.4	42.4	109.6	32.6	91.8	5.6	95.3	9.2
AD-74784	11.5	4.6	47.8	18.3	8.6	2.8	56.7	10.7
AD-74785	15.0	13.9	43.9	7.4	12.1	2.6	72.4	14.0
AD-74786	32.1	10.3	61.0	14.6	85.5	7.2	93.3	22.2
AD-74787	60.9	12.4	86.4	26.2	88.1	11.9	96.6	21.4
AD-74788	17.8	7.7	69.9	23.8	19.3	1.2	79.2	15.3
AD-74789	30.6	3.6	64.0	6.9	24.6	1.3	76.0	9.5
AD-74790	15.4	3.5	56.9	10.5	9.2	0.6	58.7	12.4
AD-74791	30.7	6.3	49.3	6.9	81.3	8.3	87.3	3.8
AD-74792	10.5	2.4	30.1	6.4	10.5	1.2	54.7	7.3
AD-74793	12.1	4.9	30.9	16.2	13.2	2.1	83.2	12.7

도면

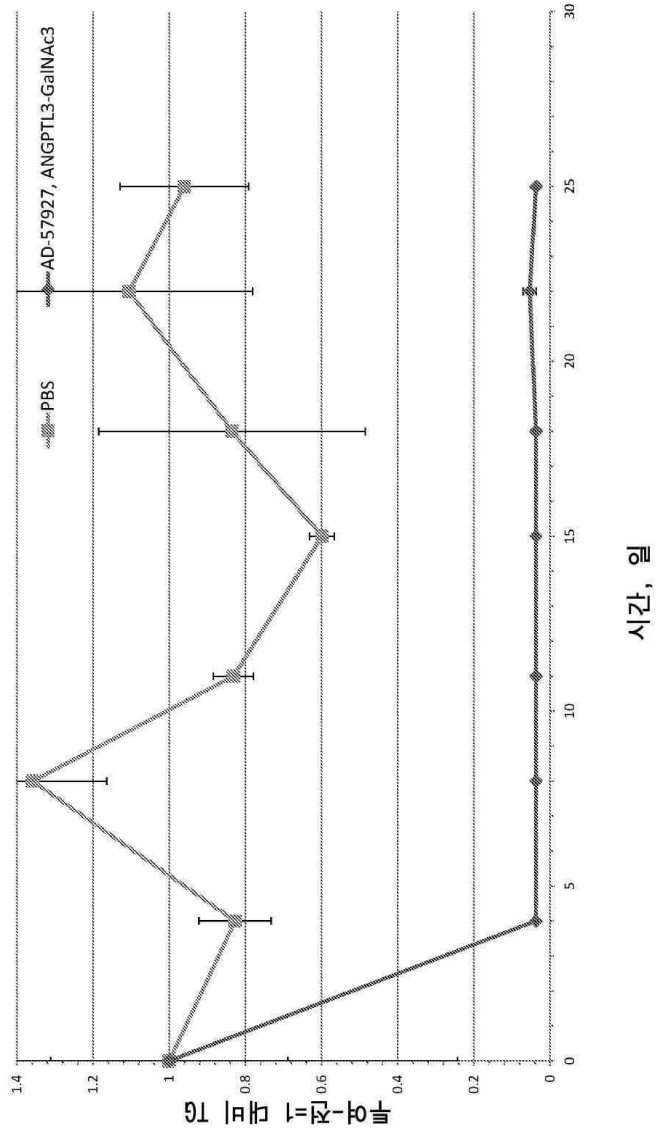
도면1


PBS=1 대비 mANGPTL3/mGAPDH
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
mpk
siRNA
PBS
30
ANG-GalNAc
10
3
30
10
3
최적화된 ANG-GalNAc

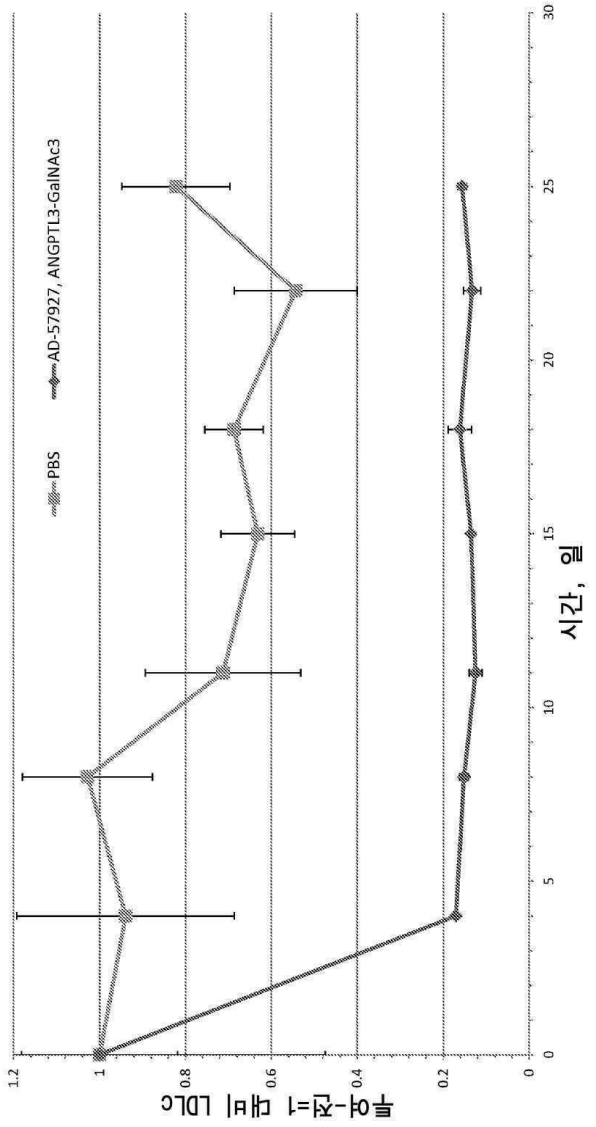
도면2


PBS
AD-57927, ANGPTL3-GalNAc3
투여-전=1 대비 mANGPTL3 단백질
시간, 일
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
0
5
10
15
20
25
30

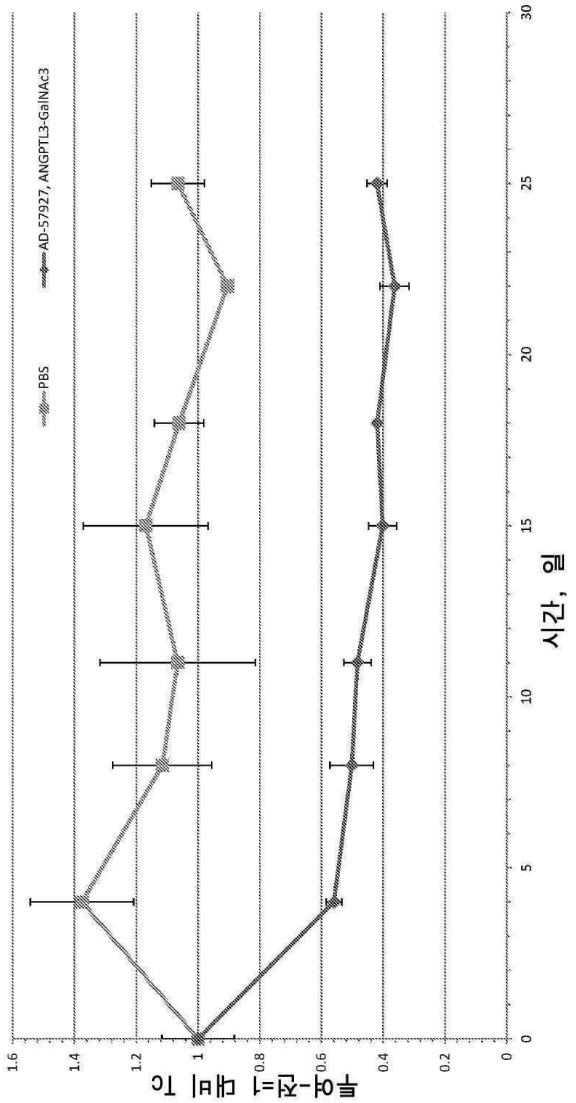
도면3


AD-57927, ANGPTL3-GalNAc3
PBS
투여-전=1 대비 TG
시간, 일
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
0
5
10
15
20
25
30

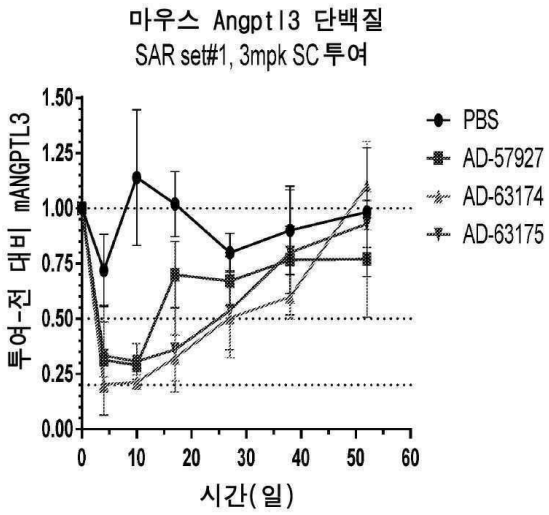
도면4


투여-전=1 대비 LDLC
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
5
10
15
20
25
30
시간, 일
PBS
AD-57927, ANGPTL3-GalNAc3

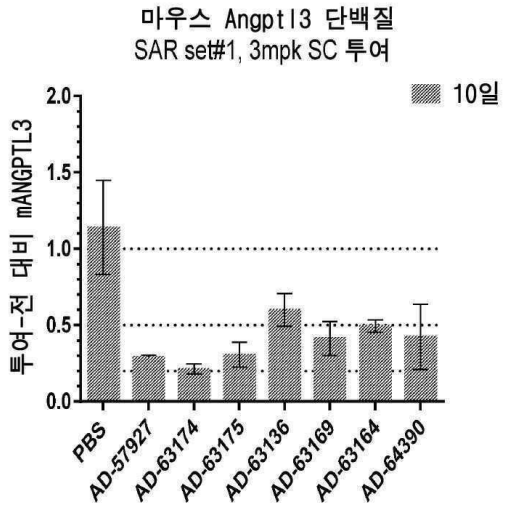
도면5


AD-57927, ANGPTL3-GalNAc3
PBS
시간, 일
투여-전=1 대비 TC
0
5
10
15
20
25
30
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
1.6

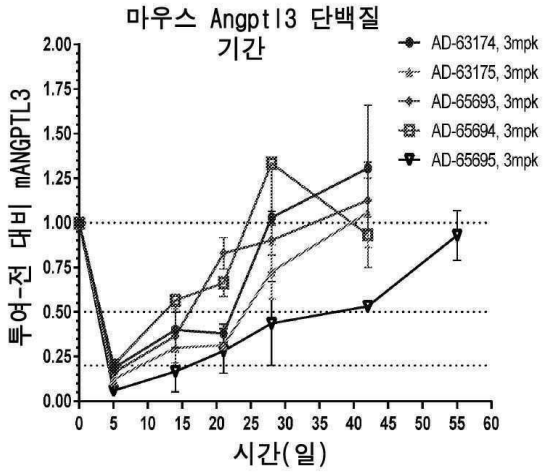
도면6a


마우스 Angptl3 단백질
SAR set#1, 3mpk SC 투여
투여-전 대비 mANGPTL3
시간(일)
PBS
AD-57927
AD-63174
AD-63175
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
1.25
1.50
0
10
20
30
40
50
60

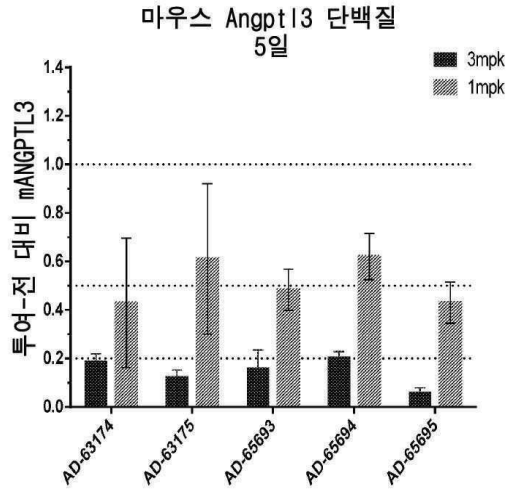
도면6b



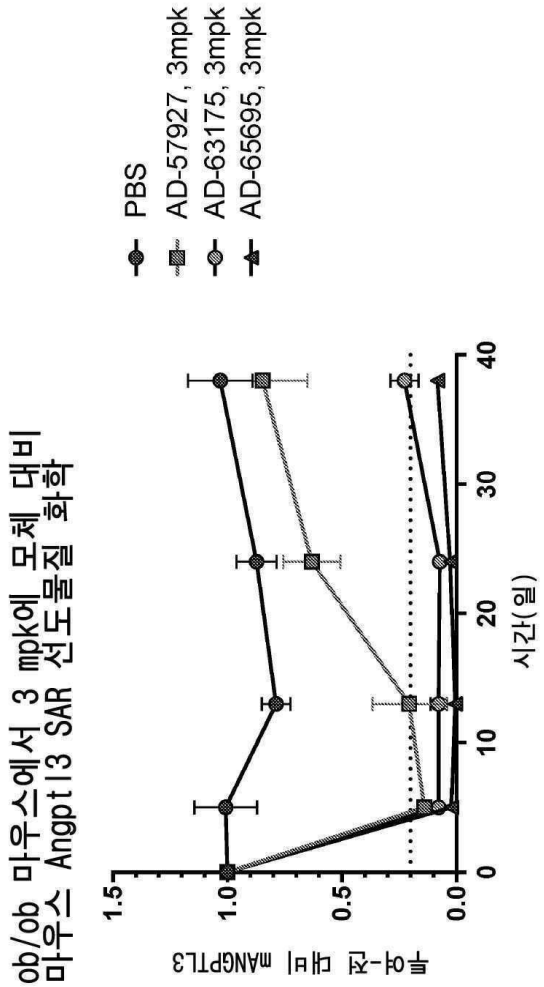
도면7a



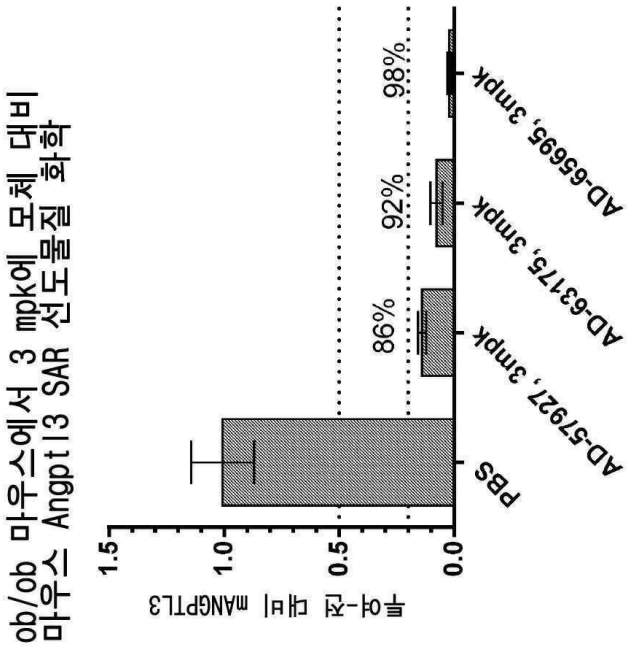
도면7b



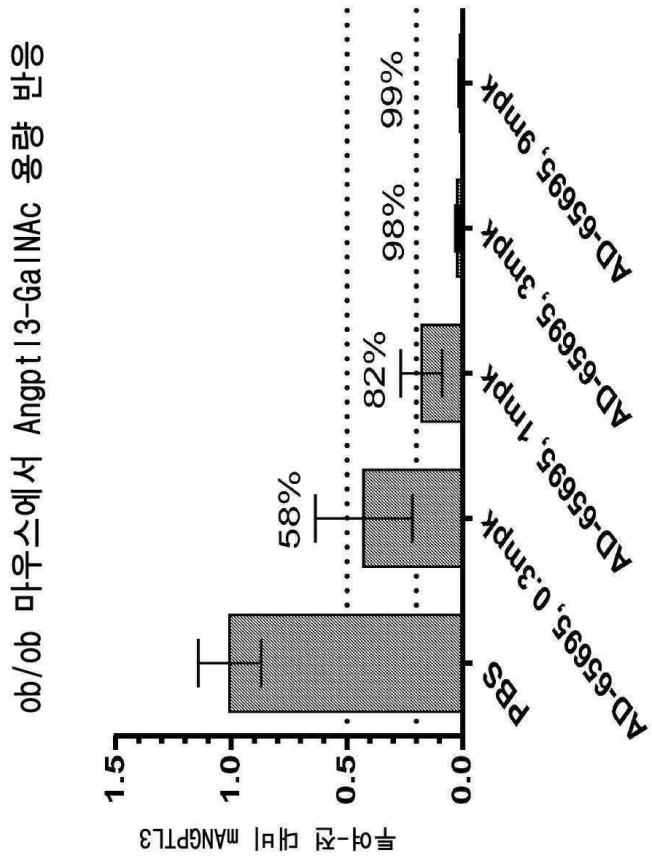
도면8a


ob/ob 마우스에서 3 mpk에 모체 대비
마우스 Angptl3 SAR 선도물질 화학
PBS
AD-57927, 3mpk
AD-63175, 3mpk
AD-65695, 3mpk
투여-전 대비 mANGPTL3
1.5
1.0
0.5
0.0
0
10
20
30
40
시간(일)

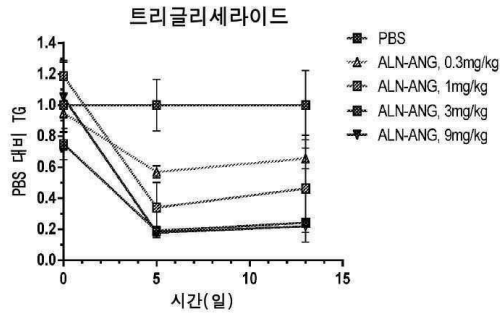
도면8b


ob/ob 마우스에서 3 mpk에 모체 대비
마우스 Angptl3 SAR 선도물질 화학
투여-전 대비 mANGPTL3
1.5
1.0
0.5
0.0
86%
92%
98%
PBS
AD-657927, 3mpk
AD-631756, 3mpk
AD-656965, 3mpk

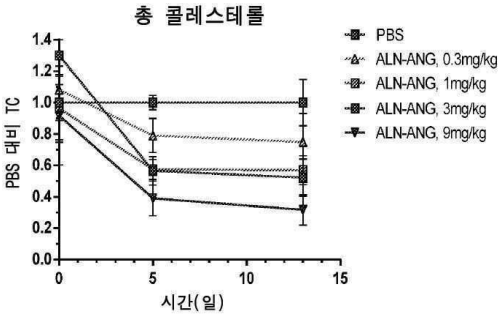
도면9


ob/ob 마우스에서 Angptl3-GalNAc 용량 반응
투여-전 대비 mANGPTL3
1.5
1.0
0.5
0.0
58%
82%
98%
99%
PBS
AD-656965, 0.3mpk
AD-656965, 1mpk
AD-656965, 3mpk
AD-656965, 9mpk

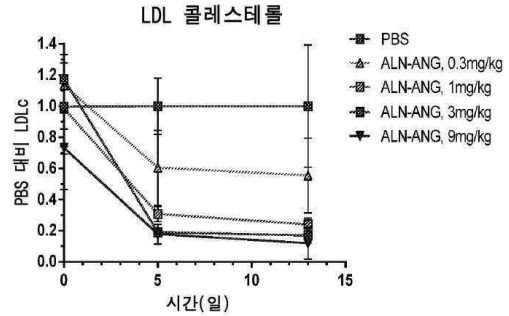
도면10a



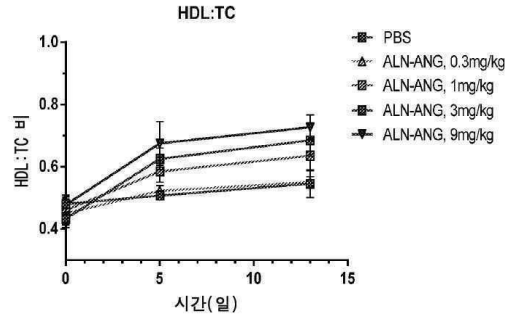
도면10b



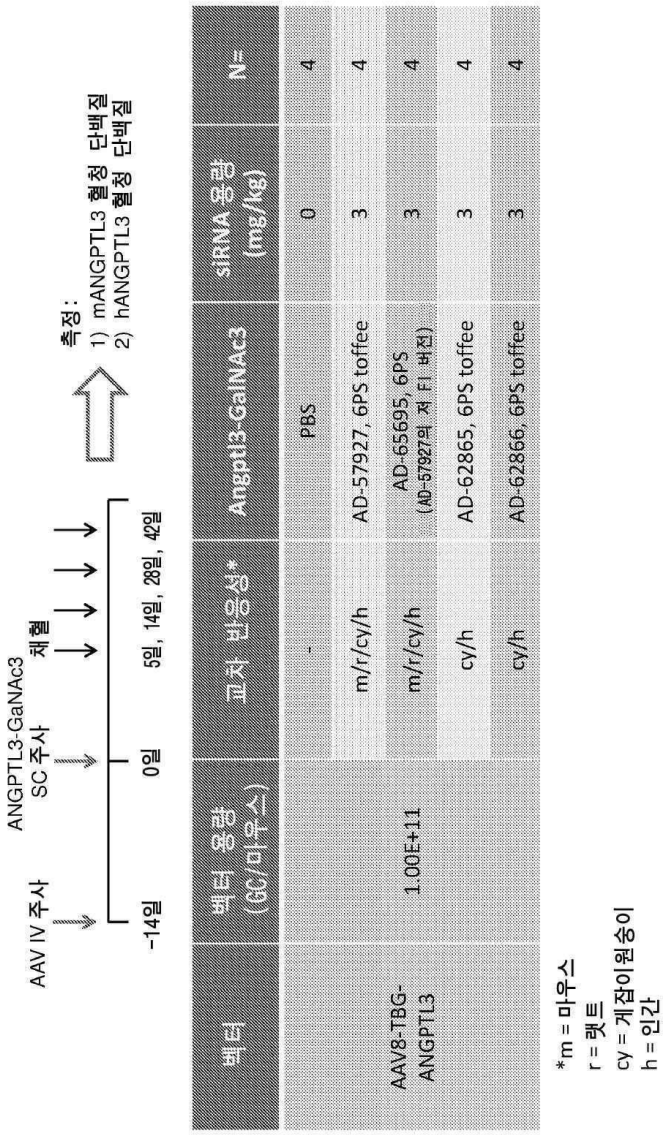
도면10c



도면10d



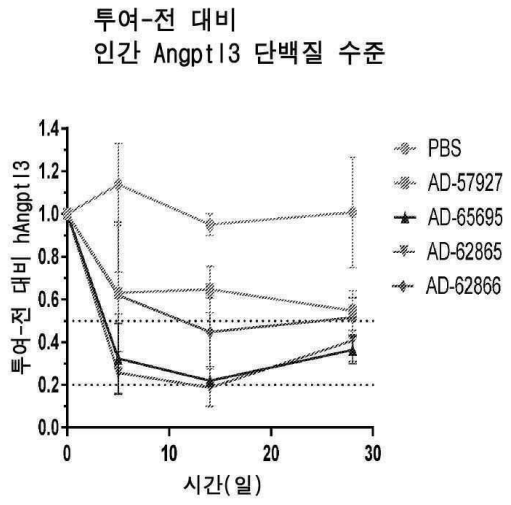
도면11



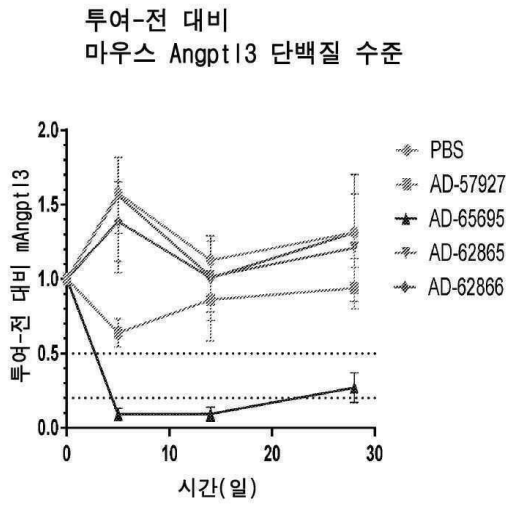
벡터	벡터 용량 (GC/마우스)	교차 반응성*	Angptl3-GalNAc3	siRNA 용량 (mg/kg)	N=
AAV8-TBG-ANGPTL3	1.00E+11	-	PBS	0	4
		m/r/cy/h	AD-57927, 6PS toffee	3	4
		m/r/cy/h	AD-65695, 6PS (AD-57927의 저 F1 버전)	3	4
		cy/h	AD-62865, 6PS toffee	3	4
		cy/h	AD-62866, 6PS toffee	3	4

*m = 마우스
r = 랫트
cy = 게잡이원숭이
h = 인간

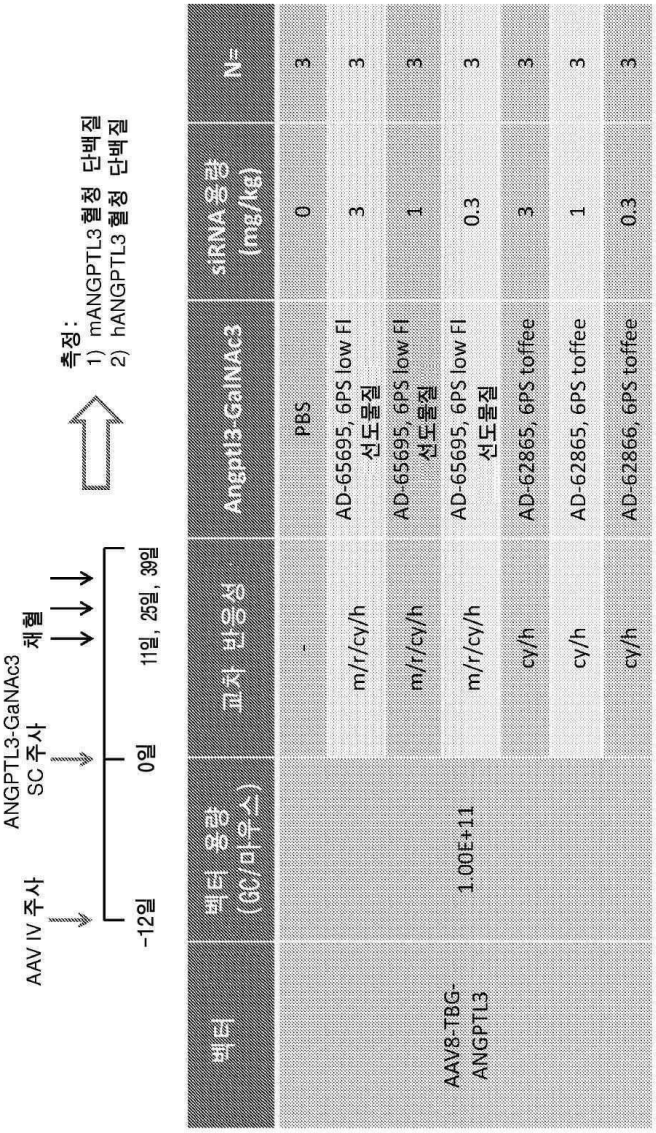
도면12a



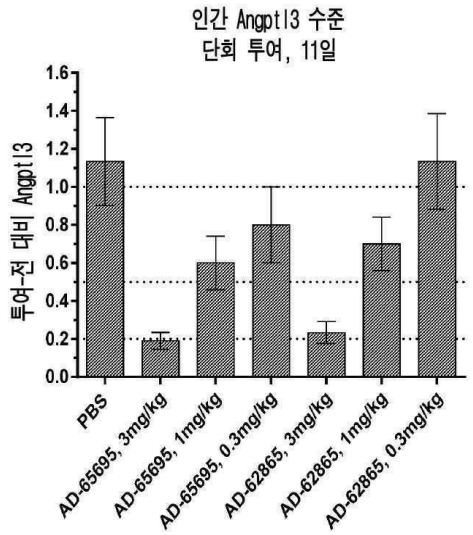
도면12b


투여-전 대비
마우스 Angptl3 단백질 수준
투여-전 대비 mAngptl3
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
10
20
30
시간(일)
PBS
AD-57927
AD-65695
AD-62865
AD-62866

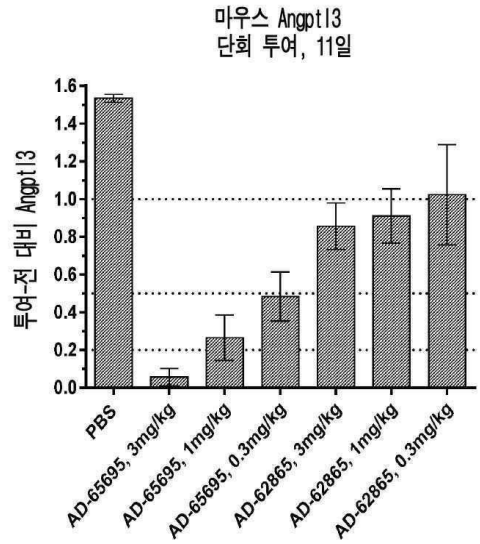
도면13


ANGPTL3-GaNAc3
SC 주사
AAV IV 주사
채혈
-12일
0일
11일, 25일, 39일
측정:
1) mANGPTL3 혈청 단백질
2) hANGPTL3 혈청 단백질
벡터
벡터 용량 (GC/마우스)
1차 반응성
Angptl3-GalNAc3
siRNA 용량 (mg/kg)
N=
AAV8-TBG-ANGPTL3
1.00E+11
-
PBS
0
3
m/r/cy/h
AD-65695, 6PS low FI 선도물질
3
3
m/r/cy/h
AD-65695, 6PS low FI 선도물질
1
3
m/r/cy/h
AD-65695, 6PS low FI 선도물질
0.3
3
cy/h
AD-62865, 6PS toffee
3
3
cy/h
AD-62865, 6PS toffee
1
3
cy/h
AD-62866, 6PS toffee
0.3
3

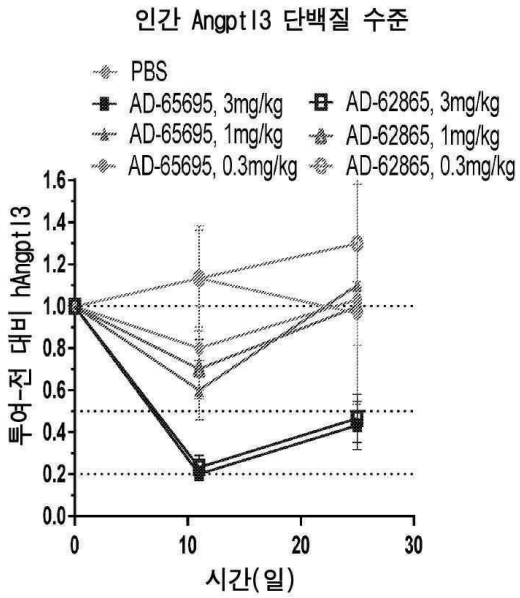
도면14a


인간 Angptl3 수준
단회 투여, 11일
투여-전 대비 Angptl3
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
PBS
AD-65695, 3mg/kg
AD-65695, 1mg/kg
AD-65695, 0.3mg/kg
AD-62865, 3mg/kg
AD-62865, 1mg/kg
AD-62865, 0.3mg/kg

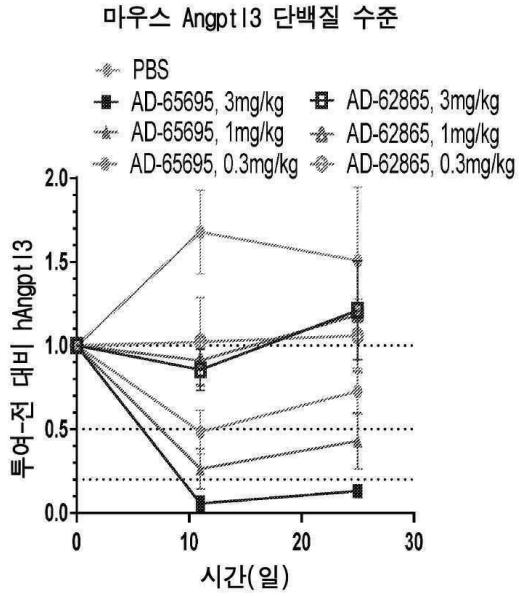
도면14b


마우스 Angptl3
단회 투여, 11일
투여-전 대비 Angptl3
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
PBS
AD-65695, 3mg/kg
AD-65695, 1mg/kg
AD-65695, 0.3mg/kg
AD-62865, 3mg/kg
AD-62865, 1mg/kg
AD-62865, 0.3mg/kg

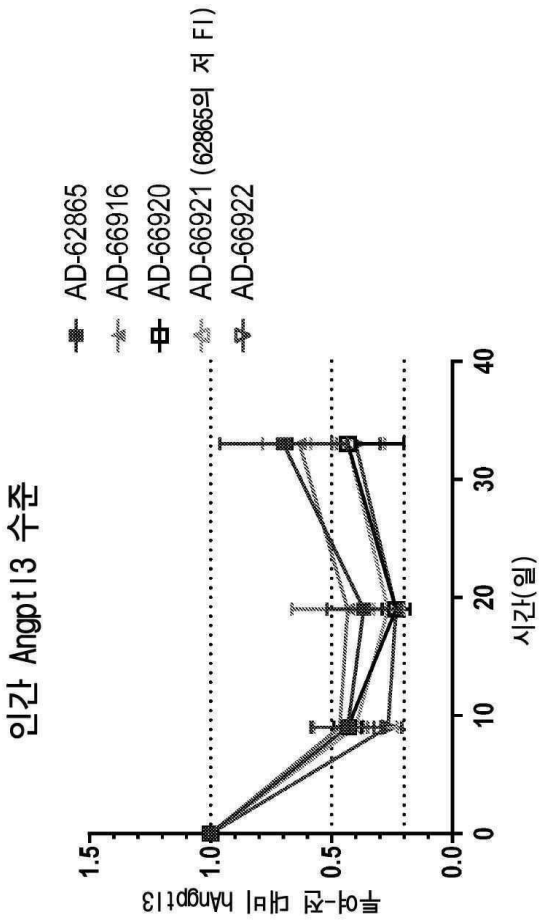
도면15a


인간 Angptl3 단백질 수준
PBS
AD-65695, 3mg/kg
AD-62865, 3mg/kg
AD-65695, 1mg/kg
AD-62865, 1mg/kg
AD-65695, 0.3mg/kg
AD-62865, 0.3mg/kg
투여-전 대비 hAngptl3
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
10
20
30
시간(일)

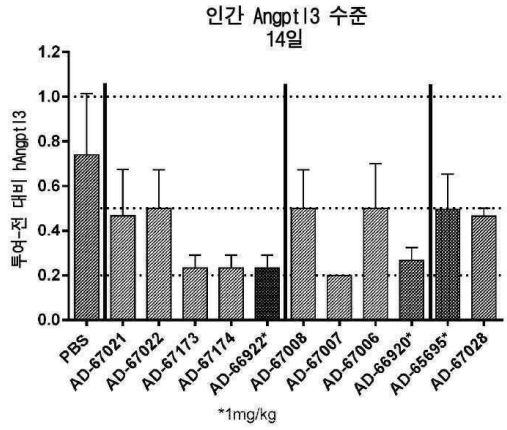
도면15b


마우스 Angptl3 단백질 수준
PBS
AD-65695, 3mg/kg
AD-62865, 3mg/kg
AD-65695, 1mg/kg
AD-62865, 1mg/kg
AD-65695, 0.3mg/kg
AD-62865, 0.3mg/kg
투여-전 대비 hAngptl3
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
10
20
30
시간(일)

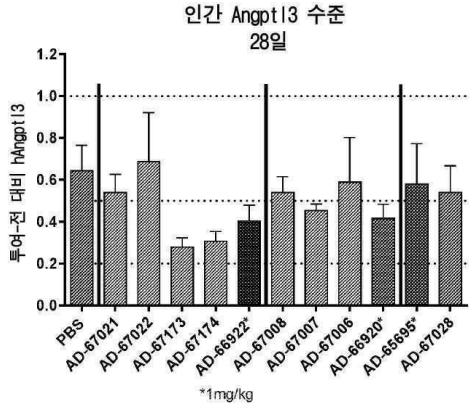
도면16


AD-62865
AD-66916
AD-66920
AD-66921 (62865의 저 FI)
AD-66922
인간 Angptl3 수준
투여-전 대비 hAngptl3
1.5
1.0
0.5
0.0
0
10
20
30
40
시간(일)

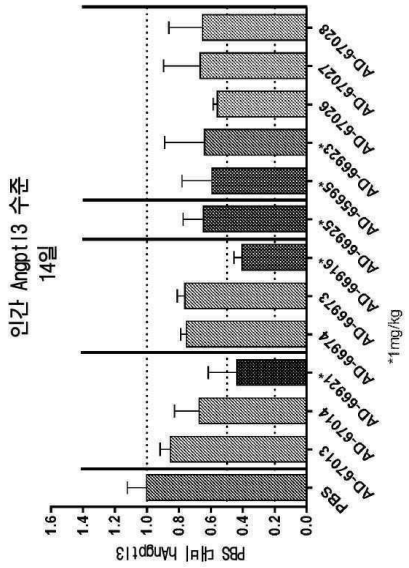
도면17a


인간 Angptl3 수준
14일
투여-전 대비 hAngptl3
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
PBS
AD-67021
AD-67022
AD-67173
AD-67174
AD-66922*
AD-67008
AD-67007
AD-67006
AD-66920*
AD-65695*
AD-67028
*1mg/kg

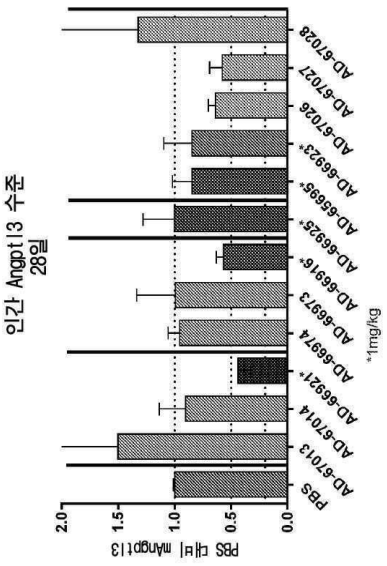
도면17b



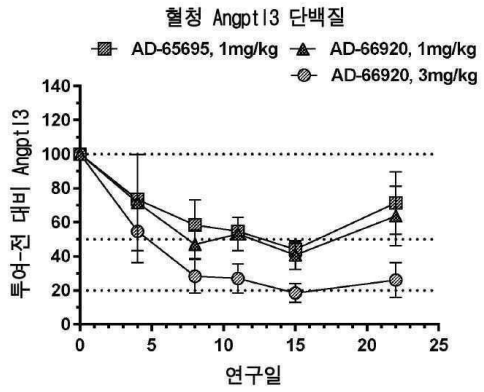
도면18a



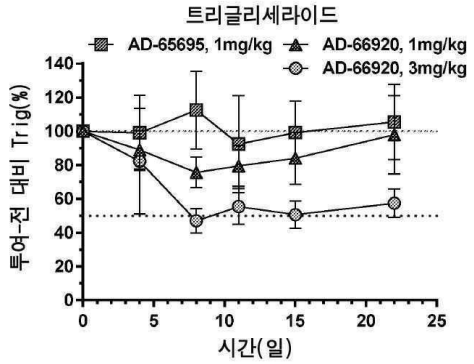
도면18b



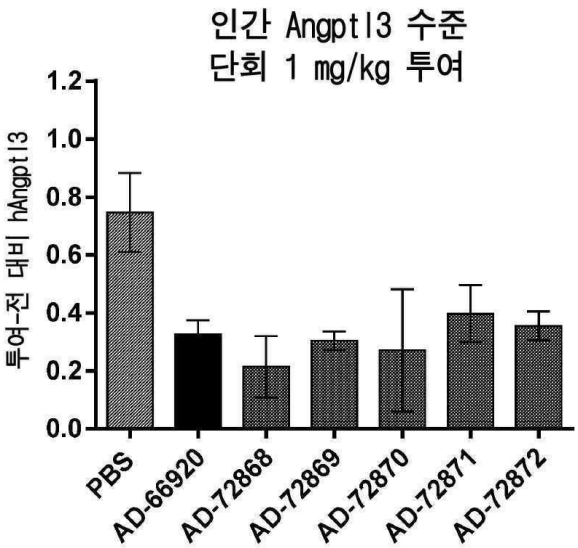
도면19a



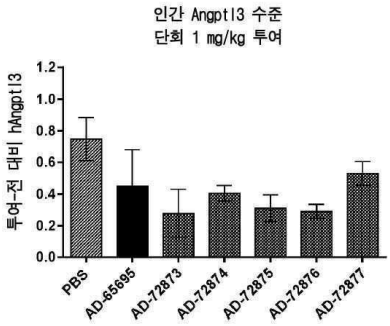
도면19b



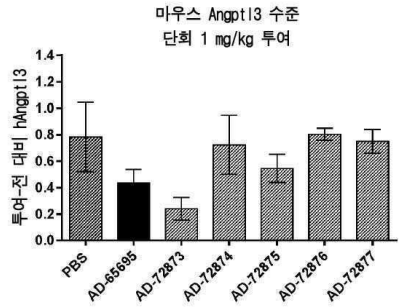
도면20



도면21a



도면21b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> ANGIOPOIETIN-LIKE 3 (ANGPTL3) IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

<130> 121301-03320

<150> US 62/146,604

<151> 2015-04-13

<150> US 62/261,361

<151> 2015-12-01

<160> 670

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 2951

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atatatagag ttaagaagtc taggtctgct tccagaagaa aacagttcca cgttgcttga 60

aattgaaaat caagataaaa atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag 120

ttatttcctc cagaattgat caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa 180

aatcaagatt tgctatgtta gacgatgtaa aaattttagc caatggcctc cttcagttgg 240
gacatggtct taaagacttt gtccataaga cgaagggcca aattaatgac atatttcaaa 300
aactcaacat atttgatcag tctttttatg atctatcgct gcaaaccagt gaaatcaaag 360
aagaagaaaa ggaactgaga agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa 420
agaatatgtc acttgaactc aactcaaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac 480
ttcaacaaaa agtgaaatat ttagaagagc aactaactaa cttaattcaa aatcaacctg 540
aaactccaga acacccagaa gtaacttcac ttaaaacttt tgtagaaaaa caagataata 600

gcatcaaaga ccttctccag accgtggaag accaatataa acaattaaac caacagcata 660
gtcaaataaa agaaatagaa aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa 720
tttctctatc ttccaagcca agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa 780
taagaaatgt aaaacatgat ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagaggtg 840
aacatacaag tggcatgtat gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact 900
gtgatgttat atcaggtagt ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa 960
acttcaatga aacgtgggag aactacaaat atggttttgg gaggcttgat ggagaatttt 1020

ggttgggcct agagaagata tactccatag tgaagcaatc taattatgtt ttacgaattg 1080
agttggaaga ctggaaagac aacaaacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaatc 1140
acgaaaccaa ctatacgcta catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc 1200
cggaaaacaa agatttggtg ttttctactt gggatcacaa agcaaaagga cacttcaact 1260
gtccagaggg ttattcagga ggctggtggt ggcatgatga gtgtggagaa aacaacctaa 1320
atggtaaata taacaaacca agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt 1380
ggaagtctca aaatggaagg ttatactcta taaaatcaac caaaatgttg atccatccaa 1440

cagattcaga aagctttgaa tgaactgagg caaatttaaa aggcaataat ttaaacatta 1500
acctcattcc aagttaatgt ggtctaataa tctggtatta aatccttaag agaaagcttg 1560
agaaatagat tttttttatc ttaaagtcac tgtctattta agattaaaca tacaatcaca 1620
taaccttaaa gaataccgtt tacatttctc aatcaaaatt cttataatac tatttgtttt 1680
aaattttgtg atgtgggaat caattttaga tggtcacaat ctagattata atcaataggt 1740
gaacttatta aataactttt ctaaataaaa aatttagaga cttttatttt aaaaggcatc 1800
atatgagcta atatcacaac tttcccagtt taaaaaacta gtactcttgt taaaactcta 1860

aacttgacta aatacagagg actggtaatt gtacagttct taaatgttgt agtattaatt 1920

tcaaaactaa aaatcgtcag cacagagtat gtgtaaaaat ctgtaataca aatttttaaa 1980

ctgatgcttc attttgctac aaaataattt ggagtaaatg tttgatatga tttatttatg 2040

aaacctaatg aagcagaatt aaatactgta ttaaaataag ttcgctgtct ttaaacaaat 2100

ggagatgact actaagtcac attgacttta acatgaggta tcactatacc ttatttgtta 2160

aaatatatac tgtatacatt ttatatattt taacacttaa tactatgaaa acaaataatt 2220

gtaaaggaat cttgtcagat tacagtaaga atgaacatat ttgtggcatc gagttaaagt 2280

ttatatttcc cctaaatatg ctgtgattct aatacattcg tgtaggtttt caagtagaaa 2340

taaacctcgt aacaagttac tgaacgttta aacagcctga caagcatgta tatatgttta 2400

aaattcaata aacaaagacc cagtccctaa attatagaaa tttaaattat tcttgcatgt 2460

ttatcgacat cacaacagat ccctaaatcc ctaaatccct aaagattaga tacaaatttt 2520

ttaccacagt atcacttgtc agaatttatt tttaaatatg atttttaaa actgccagta 2580

agaaatttta aattaaaccc atttgttaaa ggatatagtg cccaagttat atggtgacct 2640

acctttgtca atacttagca ttatgtattt caaattatcc aatatacatg tcatatatat 2700

ttttatatgt cacatatata aaagatatgt atgatctatg tgaatcctaa gtaaatattt 2760

tgttccagaa aagtacaaaa taataaaggt aaaaataatc tataattttc aggaccacag 2820

actaagctgt cgaaattaac gctgattttt ttagggccag aataccaaaa tggctcctct 2880

cttcccccaa aattggacaa tttcaaatgc aaaataattc attatttaat atatgagttg 2940

cttcctctat t 2951

<210> 2

<211> 2149

<212> DNA

<213> Macaca mulatta

<400> 2

atatatagag ttaagaagtc taggtctgct tccagaagaa cacagttcca cgttgcttga 60

aattgaaaat caggataaaa atgttcacaa ttaagctcct tctttttatt gttcctctag 120

ttatttcctc cagaattgac caagacaatt catcatttga ttctgtatct ccagagccaa 180

aatcaagatt tgctatgtta gacgatgtaa aaattttagc caatggcctc cttcagttgg 240

gacatggtct taaagacttt gtccataaga ctaagggcca aattaatgac atatttcaaa 300

aactcaacat atttgatcag tctttttatg atctatcact gcaaaccagt gaaatcaaag 360

aagaagaaaa ggaactgaga agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa 420

agaatatgtc acttgaactc aactcaaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac 480

ttcaacaaaa agtgaaatat ttagaagagc aactaactaa cttaattcaa aatcaacctg 540

aaactccaga acatccagaa gtaacttcac ttaaaagttt tgtagaaaaa caagataata 600

gcatcaaaga ccttctccag actgtggaag aacaatataa gcaattaaac caacagcaca 660

gtcaaataaa agaaatagaa aatcagctca gaatgactaa tattcaagaa cccacagaaa 720

tttctctatc ttccaagcca agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ctgaatgaaa 780

taagaaatgt aaaacatgat ggcattcctg ctgattgtac caccatttac aatagaggtg 840

aacatataag tggcatgtat gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact 900

gtgatgttgt atcaggtaaa acctgtctaa ggagaataga tggatcacaa aacttcaatg 960

aaacgtggga gaactacaaa tatggtttcg ggaggcttga tggagaattc tggttgggcc 1020

tagagaagat atactccata gtgaagcaat ctaattacgt tttacgaatt gagttggaag 1080

actggaaaga caacaaacat tatattgaat attcttttta cttgggaaat cacgaaacca 1140

actatacgct acatgtagtt aagattactg gcaatgtccc caatgcaatc ccggaaaaca 1200

aagatttggt gttttctact tgggatcaca aagcaaaagg acacttcagc tgtccagaga 1260

gttattcagg aggctggtgg tggcatgatg agtgtggaga aaacaaccta aatggtaaat 1320

ataacaaacc aagaacaaaa tctaagccag agcggagaag aggattatcc tggaagtctc 1380

aaaatggaag gttatactct ataaaatcaa ccaaaatgtt gatccatcca acagattcag 1440

aaagctttga atgaactgag gcaaatttaa aaggcaataa attaaacatt aaactcattc 1500

caagttaatg tggtttaata atctggtatt aaatccttaa gagaaggctt gagaaataga 1560

ttttttttatc ttaaagtcac tgtcaattta agattaaaca tacaatcaca taaccttaaa 1620

gaataccatt tacatttctc aatcaaaatt cctacaacac tatttgtttt atattttgtg 1680

atgtgggaat caattttaga tggtcgcaat ctaaattata atcaacaggt gaacttacta 1740

aataactttt ctaaataaaa aacttagaga ctttaatttt aaaagtcatc atatgagcta 1800

atatcacaat tttcccagtt taaaaaacta gttttcttgt taaaactcta aacttgacta 1860

aataaagagg actgataatt atacagttct taaatttgtt gtaatattaa tttcaaaact 1920

aaaaattgtc agcacagagt atgtgtaaaa atctgtaata taaattttta aactgatgcc 1980

tcattttgct acaaaataat ctggagtaaa tttttgatag gatttattta tgaaacctaa 2040

tgaagcagga ttaaatactg tattaaaata ggttcgctgt cttttaaaca aatggagatg 2100

atgattacta agtcacattg actttaatat gaggtatcac tatacctta 2149

<210> 3

<211> 1598

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 3

caggagggag aagttccaaa ttgcttaaaa ttgaataatt gagacaaaaa atgcacacaa 60

ttaaattatt ccttttttgtt gttcctttag taattgcatc cagagtggat ccagaccttt 120

catcatttga ttctgcacct tcagagccaa aatcaagatt tgctatgttg gatgatgtca 180

aaattttagc gaatggcctc ctgcagctgg gtcatggact taaagatttt gtccataaga 240

ctaagggaca aattaacgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tctttttatg 300

acctatcact tcgaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaactacat 360

ctacactaca agttaaaaac gaggaggtga agaacatgtc agtagaactg aactcaaagc 420

ttgagagtct gctggaagag aagacagccc ttcaacacaa ggtcagggct ttggaggagc 480

agctaaccaa cttaattcta agcccagctg gggctcagga gcacccagaa gtaacatcac 540

tcaaaagttt tgtagaacag caagacaaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag 600

aacagtataa acaattaagt caacagcaca tgcagataaa agaaatagaa aagcagctca 660

gaaagactgg tattcaagaa ccctcagaaa attctctttc ttctaaatca agagcaccaa 720

gaactactcc ccctcttcaa ctgaacgaaa cagaaaatac agaacaagat gaccttcctg 780

ccgactgctc tgccgtttat aacagaggcg aacatacaag tggcgtgtac actattaaac 840

caagaaactc ccaagggttt aatgtctact gtgataccca atcaggcagt ccatggacat 900

taattcaaca ccggaaagat ggctcacagg acttcaacga aacatgggaa aactacgaaa 960

agggctttgg gaggctcgat ggagaatttt ggttgggcct agagaagatc tatgctatag 1020

tccaacagtc taactacatt ttacgactcg agctacaaga ctggaaagac agcaagcact 1080

acgttgaata ctcctttcac ctgggcagtc acgaaaccaa ctacacgcta catgtggctg 1140

agattgctgg caatatccct ggggccctcc cagagcacac agacctgatg ttttctacat 1200

ggaatcacag agcaaaggga cagctctact gtccagaaag ttactcaggt ggctggtggt 1260

ggaatgacat atgtggagaa aacaacctaa atggaaaata caacaaaccc agaaccaaat 1320

ccagaccaga gagaagaaga gggatctact ggagacctca gagcagaaag ctctatgcta 1380

tcaaatcatc caaaatgatg ctccagccca ccacctaaga agcttcaact gaactgagac 1440

aaaataaaag atcaataaat taaatattaa agtcctcccg atcactgtag taatctggta 1500

ttaaaatttt aatggaaagc ttgagaattg aatttcaatt aggtttaaac tcattgttaa 1560

gatcagatat caccgaatca acgtaaacaa aatttatc 1598

<210> 4

<211> 1785

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

gacgttccaa attgcttgaa attgaataat tgaaacaaaa atgcacacaa ttaagctgct 60

ccttttttgtt gttcctctag taatttcgtc cagagttgat ccagaccttt cgccatttga 120

ttctgtaccg tcagagccaa aatcaagatt tgctatgttg gatgatgtca aaatttttagc 180

caatggcctc ctgcagctgg gtcatggtct taaagatttt gtccataaga caaagggaca 240

aattaatgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tgtttttatg acctatcact 300

tcaaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaaccacat ctaaactaca 360

agttaaaaac gaagaggtga agaatatgtc acttgaactg aactcaaagc ttgaaagtct 420

actggaggag aagatggcgc tccaacacag agtcagggct ttggaggaac agctgaccag 480

cttggttcag aacccgcctg gggctcggga gcacccagag gtaacgtcac ttaaaagttt 540

tgtagaacag caagataaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag aacaatataa 600

acaactaagt caacagcaca ttcagataaa agaaatagaa aatcagctca gaaagactgg 660

cattcaagaa cccactgaaa attctcttta ttctaaacca agagcaccaa gaactactcc 720

ccctcttcat ctgaaggaag caaaaaatat agaacaagat gatctgcctg ctgactgctc 780

tgccatttat aacagaggtg aacatacaag tggcgtgtat actattagac caagcagctc 840

tcaagtgttt aatgtctact gtgacaccca atcaggcact ccacggacat taattcaaca 900

ccggaaagat ggctctcaaa acttcaacca aacgtgggaa aactacgaaa agggttttgg 960

gaggcttgat ggtaaagtga tttccttgca tcactcactt atctgttgat ttaatagtat 1020

tagttgggtg tgttgacaca ggcctgagac catagcgctt ttgggcaagg ggggaggagg 1080

agcagcaggt gaattgaaag ttcaagacca gtctgggcca cacattgata ctccttctcg 1140

acattaagaa ttataaatta agcagcaatt ataaaatggg ctgtggaaat gtaacaataa 1200

gcaaaagcag accccagtct tcataaaact gattggtaaa tattatccat gatagcaact 1260

gcaatgatct cattgtactt atcactactg catgcctgca gtatgcttgt tgaaacttaa 1320

ttctatagtt catggttatc ataagtctta ttaaggaaca tagtatacgc cattggctct 1380

agtgaggggc catgctacaa atgagctgca aagatagcag tatagagctc tttcagtgat 1440

atcctaagca caacgtaaca caggtgaaat gggctggagg cacagttgtg gtggaacacg 1500

cggccagcag gacactggga ctgatcccca gcagcacaaa gaaagtgata ggaacacaga 1560

gcgagagtta gaagggacag ggtcaccgtc agagatacgg tgtctaactc ctgcaaccct 1620

acctgtaatt attccatatt ataaacatat actatataac tgtgggtctc tgcatgttct 1680

agaatatgaa ttctatttga ttgtaaaaca aaactataaa aataagtaaa aaaataaaaa 1740

ataaacagat acttaaaatc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 1785

<210> 5

<211> 2951

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

aatagaggaa gcaactcata tattaaataa tgaattattt tgcatttgaa attgtccaat 60

tttgggggaa gagaggagcc attttggtat tctggcccta aaaaaatcag cgttaatttc 120

gacagcttag tctgtggtcc tgaaaattat agattatttt tacctttatt attttgtact 180

tttctggaac aaaatattta cttaggattc acatagatca tacatatctt ttatatatgt 240

gacatataaa aatatatatg acatgtatat tggataattt gaaatacata atgctaagta 300

ttgacaaagg taggtcacca tataacttgg gcactatatc ctttaacaaa tgggtttaat 360

ttaaaatttc ttactggcag ttttaaaaaa tcatatttaa aaataaattc tgacaagtga 420

tactgtggta aaaaatttgt atctaatctt tagggattta gggatttagg gatctgttgt 480

gatgtcgata aacatgcaag aataatttaa atttctataa tttagggact gggtctttgt 540

ttattgaatt ttaaacatat atacatgctt gtcaggctgt ttaaacgttc agtaacttgt 600

tacgaggttt atttctactt gaaaacctac acgaatgtat tagaatcaca gcatatttag 660

gggaaatata aactttaact cgatgccaca aatatgttca ttcttactgt aatctgacaa 720

gattccttta caattatttg ttttcatagt attaagtgtt aaaatatata aaatgtatac 780

agtatatatt ttaacaaata aggtatagtg atacctcatg ttaaagtcaa tgtgacttag 840

tagtcatctc catttgttta aagacagcga acttatttta atacagtatt taattctgct 900

tcattaggtt tcataaataa atcatatcaa acatttactc caaattattt tgtagcaaaa 960

tgaagcatca gtttaaaaat ttgtattaca gatttttaca catactctgt gctgacgatt 1020

tttagttttg aaattaatac tacaacattt aagaactgta caattaccag tcctctgtat 1080

ttagtcaagt ttagagtttt aacaagagta ctagtttttt aaactgggaa agttgtgata 1140

ttagctcata tgatgccttt taaaataaaa gtctctaaat tttttattta gaaaagttat 1200

ttaataagtt cacctattga ttataatcta gattgtgacc atctaaaatt gattcccaca 1260

tcacaaaatt taaaacaaat agtattataa gaattttgat tgagaaatgt aaacggtatt 1320

ctttaaggtt atgtgattgt atgtttaatc ttaaatagac agtgacttta agataaaaaa 1380

aatctatttc tcaagctttc tcttaaggat ttaataccag attattagac cacattaact 1440

tggaatgagg ttaatgttta aattattgcc ttttaaattt gcctcagttc attcaaagct 1500

ttctgaatct gttggatgga tcaacatttt ggttgatttt atagagtata accttccatt 1560

ttgagacttc caagataatc ctcttctcct ctctggctta gattttgctc ttggtttgtt 1620

atatttacca tttaggttgt tttctccaca ctcatcatgc caccaccagc ctcctgaata 1680

accctctgga cagttgaagt gtccttttgc tttgtgatcc caagtagaaa acaccaaatc 1740

tttgttttcc gggattgcat tggggacatt gccagtaatc gcaactagat gtagcgtata 1800

gttggtttcg tgatttccca agtaaaaaga atattcaata taatgtttgt tgtctttcca 1860

gtcttccaac tcaattcgta aaacataatt agattgcttc actatggagt atatcttctc 1920

taggcccaac caaaattctc catcaagcct cccaaaacca tatttgtagt tctcccacgt 1980

ttcattgaag ttttgtgatc catctattcg atgttgaatt aatgtccatg gactacctga 2040

tataacatca cagtagacat gaaaaacttg agagttgctg ggtctgatgg catacatgcc 2100

acttgtatgt tcacctctgt tataaatggt ggtacattca gcaggaatgc catcatgttt 2160

tacatttctt atttcattca actgaagaaa gggagtagtt cttggtgctc ttggcttgga 2220

agatagagaa atttctgtgg gttcttgaat actagtcctt ctgagctgat tttctatttc 2280

ttttatttga ctatgctgtt ggtttaattg tttatattgg tcttccacgg tctggagaag 2340

gtctttgatg ctattatctt gtttttctac aaaagtttta agtgaagtta cttctgggtg 2400

ttctggagtt tcaggttgat tttgaattaa gttagttagt tgctcttcta aatatttcac 2460

tttttgttga agtagaattt tttcttctag gaggctttca agttttgagt tgagttcaag 2520

tgacatattc tttacctctt cattttgac ttgtagttta tatgtagttc ttctcagttc 2580

cttttcttct tctttgattt cactggtttg cagcgataga tcataaaaag actgatcaaa 2640

tatgttgagt ttttgaaata tgtcattaat ttggcccttc gtcttatgga caaagtcttt 2700

aagaccatgt cccaactgaa ggaggccatt ggctaaaatt tttacatcgt ctaacatagc 2760

aaatcttgat tttggctctg gagatagaga atcaaatgat gaattgtctt gatcaattct 2820

ggaggaaata actagaggaa caataaaaag aaggagctta attgtgaaca tttttatctt 2880

gattttcaat ttcaagcaac gtggaactgt tttcttctgg aagcagacct agacttctta 2940

actctatata t 2951

<210> 6

<211> 2149

<212> DNA

<213> Macaca mulatta

<400> 6

taaggtatag tgatacctca tattaaagtc aatgtgactt agtaatcatc atctccattt 60

gtttaaaaga cagcgaacct attttaatac agtatttaat cctgcttcat taggtttcat 120

aaataaatcc tatcaaaaat ttactccaga ttattttgta gcaaaatgag gcatcagttt 180

aaaaatttat attacagatt tttacacata ctctgtgctg acaattttta gttttgaaat 240

taatattaca acaaatttaa gaactgtata attatcagtc ctctttattt agtcaagttt 300

agagttttaa caagaaaact agtttttaa actgggaaaa ttgtgatatt agctcatatg 360

atgactttta aaattaaagt ctctaagttt tttatttaga aaagttattt agtaagttca 420

cctgttgatt ataatttaga ttgcgaccat ctaaaattga ttcccacatc acaaaatata 480

aaacaaatag tgttgtagga attttgattg agaaatgtaa atggtattct ttaaggttat 540

gtgattgtat gtttaatctt aaattgacag tgactttaag ataaaaaaat ctatttctca 600

agccttctct taaggattta ataccagatt attaaaccac attaacttgg aatgagttta 660

atgtttaatt tattgccttt taaatttgcc tcagttcatt caaagctttc tgaatctgtt 720

ggatggatca acattttggt tgattttata gagtataacc ttccattttg agacttccag 780

gataatcctc ttctccgctc tggcttagat tttgttcttg gtttgttata tttaccattt 840

aggttgtttt ctccacactc atcatgccac caccagcctc ctgaataact ctctggacag 900

ctgaagtgtc cttttgcttt gtgatcccaa gtagaaaaca ccaaatcttt gttttccggg 960

attgcattgg ggacattgcc agtaatctta actacatgta gcgtatagtt ggtttcgtga 1020

tttcccaagt aaaaagaata ttcaatataa tgtttgttgt ctttccagtc ttccaactca 1080

attcgtaaaa cgtaattaga ttgcttcact atggagtata tcttctctag gcccaaccag 1140

aattctccat caagcctccc gaaaccatat ttgtagttct cccacgtttc attgaagttt 1200

tgtgatccat ctattctcct tagacaggtt ttacctgata caacatcaca gtagacatga 1260

aaaacttgag agttgctggg tctgatggca tacatgccac ttatatgttc acctctattg 1320

taaatggtgg tacaatcagc aggaatgcca tcatgtttta catttcttat ttcattcagc 1380

tgaagaaagg gagtagttct tggtgctctt ggcttggaag atagagaaat ttctgtgggt 1440

tcttgaatat tagtcattct gagctgattt tctatttctt ttatttgact gtgctgttgg 1500

tttaattgct tatattgttc ttccacagtc tggagaaggt ctttgatgct attatcttgt 1560

ttttctacaa aacttttaag tgaagttact tctggatgtt ctggagtttc aggttgattt 1620

tgaattaagt tagttagttg ctcttctaaa tatttcactt tttgttgaag tagaattttt 1680

tcttctagga ggctttcaag ttttgagttg agttcaagtg acatattctt tacctcttca 1740

tttttgactt gtagtttata tgtagttctt ctcagttcct tttcttcttc tttgatttca 1800

ctggtttgca gtgatagatc ataaaaagac tgatcaaata tgttgagttt ttgaaatatg 1860

tcattaattt ggcccttagt cttatggaca aagtctttaa gaccatgtcc caactgaagg 1920

aggccattgg ctaaaatttt tacatcgtct aacatagcaa atcttgattt tggctctgga 1980

gatacagaat caaatgatga attgtcttgg tcaattctgg aggaaataac tagaggaaca 2040

ataaaaagaa ggagcttaat tgtgaacatt tttatcctga ttttcaattt caagcaacgt 2100

ggaactgtgt tcttctggaa gcagacctag acttcttaac tctatatat 2149

<210> 7

<211> 1598

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

caggagggag aagttccaaa ttgcttaaaa ttgaataatt gagacaaaaa atgcacacaa 60

ttaaattatt ccttttttgtt gttcctttag taattgcatc cagagtggat ccagaccttt 120

catcatttga ttctgcacct tcagagccaa aatcaagatt tgctatgttg gatgatgtca 180

aaattttagc gaatggcctc ctgcagctgg gtcatggact taaagatttt gtccataaga 240

ctaagggaca aattaacgac atatttcaga agctcaacat atttgatcag tctttttatg 300

acctatcact tcgaaccaat gaaatcaaag aagaggaaaa ggagctaaga agaactacat 360

ctacactaca agttaaaaac gaggaggtga agaacatgtc agtagaactg aactcaaagc 420

ttgagagtct gctggaagag aagacagccc ttcaacacaa ggtcagggct ttggaggagc 480

agctaaccaa cttaattcta agcccagctg gggctcagga gcacccagaa gtaacatcac 540

tcaaaagttt tgtagaacag caagacaaca gcataagaga actcctccag agtgtggaag 600

aacagtataa acaattaagt caacagcaca tgcagataaa agaaatagaa aagcagctca 660

gaaagactgg tattcaagaa ccctcagaaa attctctttc ttctaaatca agagcaccaa 720

gaactactcc ccctcttcaa ctgaacgaaa cagaaaatac agaacaagat gaccttcctg 780

ccgactgctc tgccgtttat aacagaggcg aacatacaag tggcgtgtac actattaaac 840

caagaaactc ccaagggttt aatgtctact gtgataccca atcaggcagt ccatggacat 900

taattcaaca ccggaaagat ggctcacagg acttcaacga aacatgggaa aactacgaaa 960

agggctttgg gaggctcgat ggagaatttt ggttgggcct agagaagatc tatgctatag 1020

tccaacagtc taactacatt ttacgactcg agctacaaga ctggaaagac agcaagcact 1080

acgttgaata ctcctttcac ctgggcagtc acgaaaccaa ctacacgcta catgtggctg 1140

agattgctgg caatatccct ggggccctcc cagagcacac agacctgatg ttttctacat 1200

ggaatcacag agcaaaggga cagctctact gtccagaaag ttactcaggt ggctggtggt 1260

ggaatgacat atgtggagaa aacaacctaa atggaaaata caacaaaccc agaaccaaat 1320

ccagaccaga gagaagaaga gggatctact ggagacctca gagcagaaag ctctatgcta 1380

tcaaatcatc caaaatgatg ctccagccca ccacctaaga agcttcaact gaactgagac 1440

aaaataaaag atcaataaat taaatattaa agtcctcccg atcactgtag taatctggta 1500

ttaaaatttt aatggaaagc ttgagaattg aatttcaatt aggtttaaac tcattgttaa 1560

gatcagatat caccgaatca acgtaaacaa aatttatc 1598

<210> 8

<211> 1785

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

tttttttttt tttttttttt tttttgattt taagtatctg tttatttttt atttttttac 60

ttatttttat agttttgttt tacaatcaaa tagaattcat attctagaac atgcagagac 120

ccacagttat atagtatatg tttataatat ggaataatta caggtagggt tgcaggagtt 180

agacaccgta tctctgacgg tgaccctgtc ccttctaact ctcgctctgt gttcctatca 240

ctttctttgt gctgctgggg atcagtccca gtgtcctgct ggccgcgtgt tccaccacaa 300

ctgtgcctcc agcccatttc acctgtgtta cgttgtgctt aggatatcac tgaaagagct 360

ctatactgct atctttgcag ctcatttgta gcatggcccc tcactagagc caatggcgta 420

tactatgttc cttaataaga cttatgataa ccatgaacta tagaattaag tttcaacaag 480

catactgcag gcatgcagta gtgataagta caatgagatc attgcagttg ctatcatgga 540

taatatttac caatcagttt tatgaagact ggggtctgct tttgcttatt gttacatttc 600

cacagcccat tttataattg ctgcttaatt tataattctt aatgtcgaga aggagtatca 660

atgtgtggcc cagactggtc ttgaactttc aattcacctg ctgctcctcc tccccccttg 720

cccaaaagcg ctatggtctc aggcctgtgt caacacaccc aactaatact attaaatcaa 780

cagataagtg agtgatgcaa ggaaatcact ttaccatcaa gcctcccaaa acccttttcg 840

tagttttccc acgtttggtt gaagttttga gagccatctt tccggtgttg aattaatgtc 900

cgtggagtgc ctgattgggt gtcacagtag acattaaaca cttgagagct gcttggtcta 960

atagtataca cgccacttgt atgttcacct ctgttataaa tggcagagca gtcagcaggc 1020

agatcatctt gttctatatt ttttgcttcc ttcagatgaa gaggggggagt agttcttggt 1080

gctcttggtt tagaataaag agaattttca gtgggttctt gaatgccagt ctttctgagc 1140

tgattttcta tttcttttat ctgaatgtgc tgttgactta gttgtttata ttgttcttcc 1200

acactctgga ggagttctct tatgctgtta tcttgctgtt ctacaaaact tttaagtgac 1260

gttacctctg ggtgctcccg agccccaggc gggttctgaa ccaagctggt cagctgttcc 1320

tccaaagccc tgactctgtg ttggagcgcc atcttctcct ccagtagact ttcaagcttt 1380

gagttcagtt caagtgacat attcttcacc tcttcgtttt taacttgtag tttagatgtg 1440

gttcttctta gctccttttc ctcttctttg atttcattgg tttgaagtga taggtcataa 1500

aaacactgat caaatatgtt gagcttctga aatatgtcat taatttgtcc ctttgtctta 1560

tggacaaaat ctttaagacc atgacccagc tgcaggaggc cattggctaa aattttgaca 1620

tcatccaaca tagcaaatct tgattttggc tctgacggta cagaatcaaa tggcgaaagg 1680

tctggatcaa ctctggacga aattactaga ggaacaacaa aaaggagcag cttaattgtg 1740

tgcatttttg tttcaattat tcaatttcaa gcaatttgga acgtc 1785

<210> 9

<211> 2201

<212> DNA

<213> Macaca fascicularis

<400> 9

gggtagtata tagagttaag aagtctaggt ctgcttccag aagaacacag ttccacgctg 60

cttgaaattg aaaatcagga taaaaatgtt cacaattaag ctccttcttt ttattgttcc 120

tctagttatt tcctccagaa ttgaccaaga caattcatca tttgattctg tatctccaga 180

gccaaaatca agatttgcta tgttagacga tgtaaaaatt ttagccaatg gcctccttca 240

gttgggacat ggtcttaaag actttgtcca taagactaag ggccaaatta atgacatatt 300

tcaaaaactc aacatatttg atcagtcttt ttatgatcta tcactgcaaa ccagtgaaat 360

caaagaagaa gaaaaggaac tgagaagaac tacatataaa ctacaagtca aaaatgaaga 420

ggtaaagaat atgtcacttg aactcaactc aaaacttgaa agcctcctag aagaaaaaat 480

tctacttcaa caaaaagtga aatatttaga agagcaacta actaacttaa ttcaaaatca 540

acctgcaact ccagaacatc cagaagtaac ttcacttaaa agttttgtag aaaaacaaga 600

taatagcatc aaagaccttc tccagactgt ggaagaacaa tataagcaat taaaccaaca 660

gcatagtcaa ataaaagaaa tagaaaatca gctcagaatg actaatattc aagaacccac 720

agaaatttct ctatcttcca agccaagagc accaagaact actccctttc ttcagctgaa 780

tgaaataaga aatgtaaaac atgatggcat tcctgctgat tgtaccacca tttacaatag 840

aggtgaacat ataagtggca cgtatgccat cagacccagc aactctcaag tttttcatgt 900

ctactgtgat gttgtatcag gtagtccatg gacattaatt caacatcgaa tagatggatc 960

acaaaacttc aatgaaacgt gggagaacta caaatatggt ttcgggaggc ttgatggaga 1020

attctggttg ggcctagaga agatatactc catagtgaag caatctaatt acgttttacg 1080

aattgagttg gaagactgga aagacaacaa acattatatt gaatattctt tttacttggg 1140

aaatcacgaa accaactata cgctacatgt agttaagatt actggcaatg tccccaatgc 1200

aatcccggaa aacaaagatt tggtgttttc tacttgggat cacaaagcaa aaggacactt 1260

cagctgtcca gagagttatt caggaggctg gtggtggcat gatgagtgtg gagaaaacaa 1320

cctaaatggt aaatataaca aaccaagaac aaaatctaag ccagagcgga gaagaggatt 1380

atcctggaag tctcaaaatg gaaggttata ctctataaaa tcaaccaaaa tgttgatcca 1440

tccaacagat tcagaaagct ttgaatgaac tgaggcaaat ttaaaaggca ataaattaaa 1500

cattaaactc attccaagtt aatgtggttt aataatctgg tattaaatcc ttaagagaag 1560

gcttgagaaa tagatttttt tatcttaaag tcactgtcaa tttaagatta aacatacaat 1620

cacataacct taaagaatac catttacatt tctcaatcaa aattcttaca acactatttg 1680

ttttatattt tgtgatgtgg gaatcaattt tagatggtcg caatctaaat tataatcaac 1740

aggtgaactt actaaataac ttttctaaat aaaaaactta gagactttaa ttttaaaagt 1800

catcatatga gctaatgtca caattttccc agtttaaaaa actagtttc ttgttaaaac 1860

tctaaacttg actaaataaa gaggactgat aattatacag ttcttaaatt tgttgtaata 1920

ttaatttcaa aactaaaaat tgtcagcaca gagtatgtgt aaaaatctgt aatataaatt 1980

tttaaactga tgcctcattt tgctacaaaa taatctggag taaatttttg ataggattta 2040

tttatgaaac ctaatgaagc aggattaaat actgtattaa aataggttcg ctgtctttta 2100

aacaaatgga gatgatgatt actaagtcac attgacttta atatgaggta tcactatacc 2160

ttaacatatt tgttaaaacg tatactgtat acattttgtg t 2201

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<

220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

RFGF analogue sequence"

<400> 10

Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus

<400> 11

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln

1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila sp.

<400> 12

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys

1 5 10 15

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:
RFGF sequence"

<400> 13

Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro

1 5 10 15

<210> 14

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 14

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 15

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 15

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 16

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 16

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 17

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 17

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 18

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 19

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 19

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 20

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 20

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 21

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<

400> 21

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 22

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 22

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 23

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 23

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 24

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 24

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 25

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400>

25

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 26

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 26

ucacaauuaa gcuccuucuu u 21

<210> 27

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 27

aaagaaggag cuuaauugug aac 23

<210> 28

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 28

gagcaacuaa cuaacuuaau u 21

<210> 29

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 29

aauuaaguua guuaguugcu cuu 23

<210> 30

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 30

uuauuguucc ucuaguuauu u 21

<210> 31

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 31

aaauaacuag aggaacaaua aaa 23

<

210> 32

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 32

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 33

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 33

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210

> 34

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 34

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 35

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 35

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210>

36

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 36

caacauauuu gaucagucuu u 21

<210> 37

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 37

aaagacugau caaauauguu gag 23

<210> 38

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 38

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 39

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 39

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 40

<

211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 40

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 41

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 41

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 42

<211

> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 42

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 43

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 43

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 44

<211>
21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 44

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 45

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 45

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 46

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 46

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 47

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 47

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 48

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 48

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 49

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 49

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 50

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 50

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<

210> 51

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 51

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 52

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 52

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210

> 53

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 53

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 54

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 54

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210>

55

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 55

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 56

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 56

ucacaauuaa gcuccuucuu u 21

<210> 57

<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 57
aaagaaggag cuuaauugug aac 23
<210> 58
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 58
gagcaacuaa cuaacuuaau u 21
<210> 59
<
211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 59
aauuaaguua guuaguugcu cuu 23
<210> 60
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 60

uuauuguucc ucuaguuauu u 21

<210> 61

<211

> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 61

aaauaacuag aggaacaaua aaa 23

<210> 62

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 62

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 63

<211>

23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 63

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 64

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 64

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 65

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 65

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 66

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 66

caacauauuu gaucagucuu u 21

<210> 67

<211> 23

<

212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 67

aaagacugau caaauauguu gag 23

<210> 68

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 68

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 69

<211> 23

<212

> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 69

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 70

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 70

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 71

<211> 23

<212>

RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 71

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 72

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 72

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 73

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 73

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 74

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 74

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 75

<211> 21

<212> RNA

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 75

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 76

acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 77

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 77

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 78

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 78

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<

210> 79

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> Inverted abasic DNA (2-hydroxymethyl-

tetrahydrofurane-5-phosphate)

<400> 79

nacauauuug aucagucuuu uu 22

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 80

acauauuuga ucagucuutu u 21

<210> 81

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 81

acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 82

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 82

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 83

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 83

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 84

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 84

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 85

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 86

acauauuuga tcaguctuuu u 21

<210> 87

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 87

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 88

acauauuuga ucagucuutu u 21

<210> 89

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> Inverted abasic DNA (2-hydroxymethyl-
tetrahydrofurane-5-phosphate)

<400> 89

nacauauuug aucagucuuu uu 22

<210> 90

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 90

acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 91

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 91

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 92

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 92

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 93

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 93

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 94

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 94

auauuugauc agucuuuuu 19

<210> 95

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 95

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 96

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 96

acauauuuga ucagucuutu u 21

<210> 97

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 97

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 98

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 98

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 99

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<

220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 99

acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 100

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 100

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 101

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 101

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 102

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 102

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 103

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 103

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 104

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 104

acauauuuga ucagucuutu u 21

<210> 105

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 105

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 106

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 106

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 107

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 107

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 108

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 108

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 109

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 109

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 110

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 110

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 111

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 111

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 112

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 112

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 113

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 113

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 114

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 114

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 115

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 115

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 116

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 116

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 117

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 117

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 118

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 118

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 119

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 119

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 120

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 120

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 121

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 121

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 122

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 122

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 123

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 123

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 124

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 124
acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 125
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 125
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 126
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 126
acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 127
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 127

acauauuuga tcaguctuuu u 21

<210> 128

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 128

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 129

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 129

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 130

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 130

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 131

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 131

acauauuuga tcagucauuu u 21

<210> 132

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 132

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 133

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 133

acauauuuga tcaguctuuu u 21

<210> 134

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 134

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 135

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 135

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 136

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 136

acauauuuga tcagucauuu u 21

<210> 137

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 137

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 138

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 138

acauauuuga tcaguccuuu u 21

<210> 139

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 139

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 140

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 140

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 141

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 141

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 142

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 142

acauauuuga tcagucauuu u 21

<210> 143

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 143

acauauuuua tcagucuuuu u 21

<210> 144

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 144

acauauuuga tcagucguuu u 21

<210> 145

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 145

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 146

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 146

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 147

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 147

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 148
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 148
acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 149
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 149
acauauuuga tcagucuuuu u 21

<210> 150
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 150
acauauuuga tcaguccuuu u 21
<210> 151
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 151
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 152
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 152
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 153
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 153
acauauuuga tcaguctuuu u 21
<210> 154
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 154
acauauuuga ucaguctuuu u 21
<210> 155
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 155
acauauuuga tcagucauuu u 21
<210> 156
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 156
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 157
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 157
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 158
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 158
acauauuuga tcaguctuuu u 21

<210> 159
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 159
acauauuuga ucaguctuuu u 21
<210> 160
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 160
acauauuuga tcagucutuu u 21
<210> 161
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 161
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 162
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 162

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 163

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 163

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 164

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 164

acauauuuga tcaguctuuu u 21

<210> 165

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221

> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 165

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 166

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 166

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 167

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 167

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 168

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 168

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 169

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 169
acauauuuga tcaguctuuu u 21
<210> 170
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 170
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 171
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 171
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 172
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 172

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 173
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 173
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 174
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 174
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 175
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 175
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 176
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 176

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 177

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 177

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 178

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 178

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 179

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 179

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 180

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 180

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 181

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 181

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 182

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 182

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 183

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 183

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 184

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 184

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 185

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 185

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 186

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 186

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 187

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 187

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 188

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 188

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 189

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 189

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 190

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 190

aaaaagacug aucaaauaug u 21

<210> 191

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 191

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 192

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 192

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 193

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 193

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 194

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 194

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 195
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 195
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 196
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 196
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 197
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 197
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 198
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 198

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 199

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 199

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 200

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 200

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 201

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 201

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 202

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 202

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 203

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 203

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 204

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 204

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 205

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 205

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 206

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 206

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 207

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 207

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 208

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 208

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 209

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 209
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 210
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 210
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 211
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 211
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 212
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 212
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 213
<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 213

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 214

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 214

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 215

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 215

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 216

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 216

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 217

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 217

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 218

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 218

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 219

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 219

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 220

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 220
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 221
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 221
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 222
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 222
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 223
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 223
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 224
<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 224

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 225

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 225

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 226

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 226

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 227

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 227
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 228
<211> 23
<212> RNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 228
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 229
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 229
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 230
<211> 23
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 230
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 231
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 231

aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 232
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 232
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 233
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 233

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 234

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 234

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 235

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 235

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 236

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 236

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 237

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 237

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 238

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 238

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 239

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 239

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 240

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 240

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 241

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 241

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 242

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 242

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 243

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 243

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 244
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 244
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 245
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 245
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 246
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 246

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 247

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 247

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 248

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 248

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 249

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 249

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 250

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 250

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 251

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 251

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 252

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 252
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 253
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 253
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 254
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 254
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 255
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 255
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 256
<211> 23
<212> RNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 256
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 257
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 257
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 258
<211> 23
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 258

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 259

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 259

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 260

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 260

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 261

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 261
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 262
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 262
aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 263
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 263
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 264
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 264
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 265
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 265

aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 266
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 266
ugucacuuga acucaacuca a 21
<210> 267
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 267

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 268

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 268

ucacaauuaa gcuccuucuu u 21

<210> 269

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 269

gagcaacuaa cuaacuuaau u 21

<210> 270

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 270

uuauuguucc ucuaguuauu u 21

<210> 271

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 271

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 272

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 272

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 273

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 273

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 274

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 274

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 275

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 275

caacauauuu gaucagucuu u 21

<210> 276

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 276

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 277

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 277

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 278

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 278

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 279

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 279

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 280

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 280

aaagaaggag cuuaauugug aac 23

<210> 281

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 281

aauuaaguua guuaguugcu cuu 23

<210> 282

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 282

aaauaacuag aggaacaaua aaa 23

<210> 283

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 283

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 284

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 284

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 285

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 285

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 286

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 286

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 287

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 287

aaagacugau caaauauguu gag 23

<210> 288

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 288

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 289

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 289

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 290

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 290

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 291

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 291

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 292

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 292

ucacaauuaa gcuccuucuu u 21

<210> 293

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 293

gagcaacuaa cuaacuuaau u 21

<210> 294

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 294

uuauuguucc ucuaguuauu u 21

<210> 295

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 295

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 296

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 296

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 297

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 297

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 298

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 298

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 299

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 299

caacauauuu gaucagucuu u 21

<210> 300

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 300

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 301

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 301

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 302

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 302

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 303

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 303

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 304

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 304

aaagaaggag cuuaauugug aac 23

<210> 305

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 305

aauuaaguua guuaguugcu cuu 23

<210> 306

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 306

aaauaacuag aggaacaaua aaa 23

<210> 307

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 307

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 308

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 308

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 309

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 309

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 310

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 310

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 311

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 311

aaagacugau caaauauguu gag 23

<210> 312

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 312

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 313

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 313

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 314

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 314

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 315

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 315

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 316

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 316

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 317

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 317

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 318

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 318

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 319

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 319

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 320

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 320

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 321

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 321

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 322
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 322
auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 323
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 323
acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 324
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 324
ugucacuuca acucaacuca a 21

<210> 325
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 325
ugucacuuca acucaacuca a 21
<210> 326
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<400> 326
ugucacuuga acucaacuca a 21
<210> 327
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 327

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 328

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 328

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 329

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 329

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 330

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 330

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 331

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 331

cuccatagag aagcaatcua a 21

<210> 332

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 332

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 333

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 333

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 334

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 334

acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 335

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 335

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 336

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 336

uugaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 337

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 337

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 338

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 338

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 339

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 339

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 340

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 340

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 341

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 341

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 342

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 342

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 343

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 343

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 344

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 344

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 345

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 345

utgaguugag utcaagugac aua 23

<210> 346

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 346

uugaguugag utcaagugac aua 23

<210> 347

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 347

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 348

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 348

utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23

<210> 349

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 349

utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23

<210> 350

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 350

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 351

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 351

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 352

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 352
utagauugcu ucacuaugga gua 23
<210> 353
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 353
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 354
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 354
aaaaagacug atcaaauaug uug 23
<210> 355
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 355
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 356
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 356
gaauatguga cuugaacuca a 21
<210> 357
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 357
gaauatguga cuugaacuca a 21
<210> 358
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 358
gaauauguca cuugaacuca a 21
<210> 359
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 359
gaauatguga cuugaacuca a 21
<210> 360
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 360
gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 361
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 361
auuaagcugc uucuuutuau u 21
<210> 362
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 362
auuaagcugc uucuuutuau u 21
<210> 363
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 363
auuaagcucc uucuuuuuau u 21
<210> 364
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 364

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 365

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 365

acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 366

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 366

ugucacuuca acucaacuca a 21

<210> 367

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 367

ugucacuuca acucaacuca a 21

<210> 368

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 368

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 369

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 369

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 370

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 370

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 371

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 371

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 372

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 372

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 373

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 373

cuccatagag aagcaatcua a 21

<210> 374

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 374

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 375

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 375

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 376

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 376

acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 377

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 377

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 378

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 378

uugaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 379

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 379

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 380

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 380
uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 381
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 381
uugaguucaa gugacauauu cuu 23
<210> 382
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 382
aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 383
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 383
aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23
<210> 384
<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 384

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 385

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 385

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 386

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 386

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 387

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 387
utgaguugag utcaagugac aua 23
<210> 388
<211> 23
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 388
uugaguugag utcaagugac aua 23
<210> 389
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 389

uugaguugag uucaagugac aua 23
<210> 390
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 390
utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23
<210> 391
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 391
utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23
<210> 392
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 392
uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 393
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 393

uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 394

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 394

utagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 395

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 395

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 396

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 396

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 397

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 397

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 398

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 398

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 399

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221

> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 399

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 400

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 400

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 401

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 401

gaauatguga cuugaacuca a 21

<210> 402

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 402

gaauauguca cuugaacuca a 21

<210> 403

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 403

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 404

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 404

auuaagcugc uucuuutuau u 21

<210> 405

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 405

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 406

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 406

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 407

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 407

acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 408

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 408

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 409

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 409

uugaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 410

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 410

utgaguucaa gtgacauauu cuu 23

<210> 411

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 411

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 412

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 412

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 413

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 413

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 414

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 414

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 415

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 415

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 416

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 416

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 417

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221

> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 417

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 418

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 418

ugucacuuca acucaacuca a 21

<210> 419

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 419

ugucacuuca acucaacuca a 21

<210> 420

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 420

ugucacuuga acucaacuca a 21

<210> 421

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 421

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 422

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 422

aacuaacuua cuuaautcaa a 21

<210> 423

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 423

aacuaacuaa cuuaauucaa a 21

<210> 424

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 424

cuccauagug aagcaaucua a 21

<210> 425

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 425

cuccatagag aagcaatcua a 21

<210> 426

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 426

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 427

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 427
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 428
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 428
acauatuuca ucaguctuuu u 21

<210> 429
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 429
acauatuuca ucaguctuuu u 21
<210> 430
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 430

utgaguugag utcaagugac aua 23

<210> 431

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 431

uugaguugag utcaagugac aua 23

<210> 432

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 432

uugaguugag uucaagugac aua 23

<210> 433

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 433

utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23

<210> 434

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 434

utugaauuaa gtuaguuagu ugc 23

<210> 435

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 435

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 436

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 436
uuagauugcu ucacuaugga gua 23

<210> 437
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 437
utagauugcu ucacuaugga gua 23
<210> 438
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<400> 438
aaaaagacug aucaaauaug uug 23
<210> 439
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 439

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 440

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 440

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 441

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 441

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 442

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 442

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 443

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 443

auuaagcucc uucuuuuuau a 21

<210> 444

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 444

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 445

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 445

auuaagcucc uucuuuuuau u 21

<210> 446

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 446
auuaagcucc uucuuutuau u 21
<210> 447
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 447
auuaagcucc uucuauauau u 21
<210> 448
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 448
acauauuuga ucagucuuuu u 21
<210> 449
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<
220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 449

acauauuuga ucagucuuuu a 21

<210> 450

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 450

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 451

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 451

acauauuuga ucagucuuuu u 21

<210> 452

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 452

acauauuuga ucaguctuuu u 21

<210> 453

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 453

acauauuuga ucagacauuu u 21

<210> 454

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 454

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 455

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 455

tauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 456

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 456

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 457

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 457

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 458

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 458

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 459

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 459

aauaaaaaga aggagcuuaa uug 23

<210> 460

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 460

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 461

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 461

taaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 462

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 462

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 463

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221
> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 463

aaaaagacug atcaaauaug uug 23

<210> 464

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 464

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 465

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 465

aaaaagacug aucaaauaug uug 23

<210> 466

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 466
aacuaacuaa cuuaauucaa a 21
<210> 467
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 467
gaauauguca cuugaacuca a 21
<210> 468
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 468
aaacucuaaa cuugacuaaa u 21
<210> 469
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 469
aacuaacuua auucaaaauc a 21
<210> 470
<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 470

ccagaaguaa cuucacuuaa a 21

<210> 471

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 471

gaacucaacu caaaacuuga a 21

<210> 472

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 472

caacucaaaa cuugaaagcc u 21

<210> 473

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 473

uuccacguug cuugaaauug a 21

<210> 474

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 474

guugcuugaa auugaaaauc a 21

<210> 475

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 475

gaucacaaaa cuucaaugaa a 21

<210> 476

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 476

ucaagauuug cuauguuaga a 21

<210> 477

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 477

caaaaucaag auuugcuaug u 21

<210> 478

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 478

gaacuacucc cuuucuucag u 21

<210> 479

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 479

agaaauuucu cuaucuucca a 21

<210> 480

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 480

ugaacugagg caaauuuaaa a 21

<210> 481

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 481
cauccaacag auucagaaag a 21

<210> 482
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 482
aaaaucaaga uuugcuaugu u 21

<210> 483
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 483
agagcaaaau cuaagccaga a 21

<210> 484
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 484
aucauaugag cuaauaucac a 21

<210> 485

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 485

aauaaaccuc guaacaaguu a 21

<210> 486

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 486

caacagcaua gucaaauaaa a 21

<210> 487

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 487

aaaacaaccu aaaugguaaa u 21

<210> 488

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 488

cacuuaaaac uuuuguagaa a 21

<210> 489

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 489

auuaaaauaa guucgcuguc u 21

<210> 490

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 490

caaaacuuca augaaacgug a 21

<210> 491

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 491

agauggauca caaaacuuca a 21

<210> 492

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 492

cacuuaauac uaugaaaaca a 21

<210> 493

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 493

acuaagucac auugacuuua a 21

<210> 494

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 494

uauuaaauaa cuuuucuaaa u 21

<210> 495

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 495

acacuuaaua cuaugaaaac a 21

<210> 496

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 496

uuuaugaaac cuaaugaagc a 21

<210> 497

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 497

caaacauuau auugaauauu a 21

<210> 498

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 498

aaaccaguga aaucaaagaa a 21

<210> 499

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 499

gaguuaaagu uuauauuucc a 21

<210> 500

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 500

ccaauauaaa caauuaaacc a 21

<210> 501

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 501

guggagaaaa caaccuaaau a 21

<210> 502

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 502

aacucaacuc aaaacuugaa a 21

<210> 503

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 503
aauguucaca auuaagcucc u 21
<210> 504
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 504
gcagaauuaa auacuguauu a 21
<210> 505
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 505
ugaaugaaau aagaaaugua a 21
<210> 506
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 506
uacauauaaa cuacaaguca a 21

<210> 507

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 507

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 508

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 508

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 509

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 509

auuuagucaa guuuagaguu uua 23

<210> 510

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 510

ugauuuugaa uuaaguuagu uag 23

<210> 511

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 511

uuuaagugaa guuacuucug ggu 23

<210> 512

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 512

uucaaguuuu gaguugaguu caa 23

<210> 513

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 513

aggcuuucaa guuuugaguu gag 23

<210> 514

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 514

ucaauuucaa gcaacgugga acu 23

<210> 515

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 515

ugauuuucaa uuucaagcaa cgu 23

<210> 516

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 516

uuucauugaa guuuugugau cca 23

<210> 517

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 517

uucuaacaua gcaaaucuug auu 23

<210> 518

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 518

acauagcaaa ucuugauuuu ggc 23

<210> 519

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 519

acugaagaaa gggaguaguu cuu 23

<210> 520

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 520

uuggaagaua gagaaauuuc ugu 23

<210> 521

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 521

uuuuaaauuu gccucaguuc auu 23

<210> 522

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 522

ucuuucugaa ucuguuggau gga 23

<210> 523

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 523

aacauagcaa aucuugauuu ugg 23

<210> 524

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 524

uucuggcuua gauuuugcuc uug 23

<210> 525

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 525
ugugauauua gcucauauga ugc 23

<210> 526
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 526
uaacuuguua cgagguuuau uuc 23

<210> 527
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 527
uuuuauuuga cuaugcuguu ggu 23

<210> 528
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 528
auuuaccauu uagguuguuu ucu 23

<210> 529

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 529

uuucuacaaa aguuuuaagu gaa 23

<210> 530

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 530

agacagcgaa cuuauuuuaa uac 23

<210> 531

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 531

ucacguuuca uugaaguuuu gug 23

<210> 532

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 532

uugaaguuuu gugauccauc uau 23

<210> 533

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 533

uuguuuucau aguauuaagu guu 23

<210> 534

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 534

uuaaagucaa ugugacuuag uag 23

<210> 535

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 535

auuuagaaaa guuauuuaau aag 23

<210> 536

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 536

uguuuucaua guauuaagug uua 23

<210> 537

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 537

ugcuucauua gguuucauaa aua 23

<210> 538

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 538

uaauauucaa uauaauguuu guu 23

<210> 539

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 539

uuucuuugau uucacugguu ugc 23

<210> 540

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 540

uggaaauaua aacuuuaacu cga 23

<210> 541

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 541

ugguuuaauu guuuauauug guc 23

<210> 542

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 542

uauuuagguu guuuucucca cac 23

<210> 543

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 543

uuucaaguuu ugaguugagu uca 23

<210> 544

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 544

aggagcuuaa uugugaacau uuu 23

<210> 545

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 545

uaauacagua uuuaauucug cuu 23

<210> 546

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 546

uuacauuucu uauuucauuc aac 23

<210> 547

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 547
uugacuugua guuuauaugu agu 23
<210> 548
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 548
aacuaacuaa cuuaauucaa a 21
<210> 549
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 549
gaauauguca cuugaacuca a 21
<210> 550
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 550
aaacucuaaa cuugacuaaa u 21

<210> 551

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 551

aacuaacuua auucaaaauc a 21

<210> 552

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 552

ccagaaguaa cuucacuuaa a 21

<210> 553

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 553

gaacucaacu caaaacuuga a 21

<210> 554

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 554

caacucaaaa cuugaaagcc u 21

<210> 555

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 555

uuccacguug cuugaaauug a 21

<210> 556

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 556

guugcuugaa auugaaaauc a 21

<210> 557

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 557

gaucacaaaa cuucaaugaa a 21

<210> 558

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 558

ucaagauuug cuauguuaga a 21

<210> 559

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 559

caaaaucaag auuugcuaug u 21

<210> 560

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 560

gaacuacucc cuuucuucag u 21

<210> 561

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 561

agaaauuucu cuaucuucca a 21

<210> 562

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 562

ugaacugagg caaauuuaaa a 21

<210> 563

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 563

cauccaacag auucagaaag a 21

<210> 564

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 564

aaaaucaaga uuugcuaugu u 21

<210> 565

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 565

agagcaaaau cuaagccaga a 21

<210> 566

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 566

aucauaugag cuaauaucac a 21

<210> 567

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 567

aauaaaccuc guaacaaguu a 21

<210> 568

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 568

caacagcaua gucaaauaaa a 21

<210> 569

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 569
aaaacaaccu aaaugguaaa u 21

<210> 570
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 570
cacuuaaaac uuuuguagaa a 21

<210> 571
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 571
auuaaaauaa guucgcuguc u 21

<210> 572
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 572
caaaacuuca augaaacgug a 21

<210> 573

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 573

agauggauca caaaacuuca a 21

<210> 574

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 574

cacuuaauac uaugaaaaca a 21

<210> 575

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 575

acuaagucac auugacuuua a 21

<210> 576

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 576

uauuaaauaa cuuuucuaaa u 21

<210> 577

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 577

acacuuaaua cuaugaaaac a 21

<210> 578

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 578

uuuaugaaac cuaaugaagc a 21

<210> 579

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 579

caaacauuau auugaauauu a 21

<210> 580

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 580

aaaccaguga aaucaaagaa a 21

<210> 581

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 581

gaguuaaagu uuauauuucc a 21

<210> 582

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 582

ccaauauaaa caauuaaacc a 21

<210> 583

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 583

guggagaaaa caaccuaaau a 21

<210> 584

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 584

aacucaacuc aaaacuugaa a 21

<210> 585

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 585

aauguucaca auuaagcucc u 21

<210> 586

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 586

gcagaauuaa auacuguauu a 21

<210> 587

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 587

ugaaugaaau aagaaaugua a 21

<210> 588

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 588

uacauauaaa cuacaaguca a 21

<210> 589

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 589

uuugaauuaa guuaguuagu ugc 23

<210> 590

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 590

uugaguucaa gugacauauu cuu 23

<210> 591

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 591
auuuagucaa guuuagaguu uua 23
<210> 592
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 592
ugauuuugaa uuaaguuagu uag 23
<210> 593
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 593
uuuaagugaa guuacuucug ggu 23
<210> 594
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 594
uucaaguuuu gaguugaguu caa 23

<210> 595

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 595

aggcuuucaa guuuugaguu gag 23

<210> 596

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 596

ucaauuucaa gcaacgugga acu 23

<210> 597

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 597

ugauuuucaa uuucaagcaa cgu 23

<210> 598

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 598

uuucauugaa guuuugugau cca 23

<210> 599

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 599

uucuaacaua gcaaaucuug auu 23

<210> 600

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 600

acauagcaaa ucuugauuuu ggc 23

<210> 601

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 601

acugaagaaa gggaguaguu cuu 23

<210> 602

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 602

uuggaagaua gagaaauuuc ugu 23

<210> 603

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 603

uuuuaaauuu gccucaguuc auu 23

<210> 604

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 604

ucuuucugaa ucuguuggau gga 23

<210> 605

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 605

aacauagcaa aucuugauuu ugg 23

<210> 606

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 606

uucuggcuua gauuuugcuc uug 23

<210> 607

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 607

ugugauauua gcucauauga ugc 23

<210> 608

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 608

uaacuuguua cgagguuuau uuc 23

<210> 609

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 609

uuuuauuuga cuaugcuguu ggu 23

<210> 610

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 610

auuuaccauu uagguuguuu ucu 23

<210> 611

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 611

uuucuacaaa aguuuuaagu gaa 23

<210> 612

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 612

agacagcgaa cuuauuuuaa uac 23

<210> 613

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 613
ucacguuuca uugaaguuuu gug 23

<210> 614
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 614
uugaaguuuu gugauccauc uau 23

<210> 615
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 615
uuguuuucau aguauuaagu guu 23

<210> 616
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 616
uuaaagucaa ugugacuuag uag 23

<210> 617

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 617

auuuagaaaa guuauuuaau aag 23

<210> 618

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 618

uguuuucaua guauuaagug uua 23

<210> 619

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 619

ugcuucauua gguuucauaa aua 23

<210> 620

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 620

uaauauucaa uauaauguuu guu 23

<210> 621

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 621

uuucuuugau uucacugguu ugc 23

<210> 622

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 622

uggaaauaua aacuuuaacu cga 23

<210> 623

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 623

ugguuuaauu guuuauauug guc 23

<210> 624

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 624

uauuuagguu guuuucucca cac 23

<210> 625

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 625

uuucaaguuu ugaguugagu uca 23

<210> 626

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 626

aggagcuuaa uugugaacau uuu 23

<210> 627

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 627

uaauacagua uuuaauucug cuu 23

<210> 628

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 628

uuacauuucu uauuucauuc aac 23

<210> 629

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 629

uugacuugua guuuauaugu agu 23

<210> 630

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 630

gcaacuaacu aacuuaauuc aaa 23

<210> 631

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 631

aagaauaugu cacuugaacu caa 23

<210> 632

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 632

uaaaacucua aacuugacua aau 23

<210> 633

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 633

cuaacuaacu uaauucaaaa uca 23

<210> 634

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 634

acccagaagu aacuucacuu aaa 23

<210> 635

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 635
uugaacucaa cucaaaacuu gaa 23
<210> 636
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 636
cucaacucaa aacuugaaag ccu 23
<210> 637
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 637
aguuccacgu ugcuugaaau uga 23
<210> 638
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 638
acguugcuug aaauugaaaa uca 23

<210> 639

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 639

uggaucacaa aacuucaaug aaa 23

<210> 640

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 640

aaucaagauu ugcuauguua gac 23

<210> 641

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 641

gccaaaauca agauuugcua ugu 23

<210> 642

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 642

aagaacuacu cccuuucuuc agu 23

<210> 643

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 643

acagaaauuu cucuaucuuc caa 23

<210> 644

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 644

aaugaacuga ggcaaauuua aaa 23

<210> 645

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 645

uccauccaac agauucagaa agc 23

<210> 646

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 646

ccaaaaucaa gauuugcuau guu 23

<210> 647

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 647

caagagcaaa aucuaagcca gag 23

<210> 648

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 648

gcaucauaug agcuaauauc aca 23

<210> 649

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 649

gaaauaaacc ucguaacaag uua 23

<210> 650

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 650

accaacagca uagucaaaua aaa 23

<210> 651

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 651

agaaaacaac cuaaauggua aau 23

<210> 652

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 652

uucacuuaaa acuuuuguag aaa 23

<210> 653

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 653

guauuaaaau aaguucgcug ucu 23

<210> 654

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 654

cacaaaacuu caaugaaacg ugg 23

<210> 655

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 655

auagauggau cacaaaacuu caa 23

<210> 656

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 656

aacacuuaau acuaugaaaa caa 23

<210> 657

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 657
cuacuaaguc acauugacuu uaa 23
<210> 658
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 658
cuuauuaaau aacuuuucua aau 23
<210> 659
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 659
uaacacuuaa uacuaugaaa aca 23
<210> 660
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 660
uauuuaugaa accuaaugaa gca 23

<210> 661

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 661

aacaaacauu auauugaaua uuc 23

<210> 662

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 662

gcaaaccagu gaaaucaaag aag 23

<210> 663

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 663

ucgaguuaaa guuuauauuu ccc 23

<210> 664

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 664

gaccaauaua aacaauuaaa cca 23

<210> 665

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 665

gugуggagaa aacaaccuaa aug 23

<210> 666

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 666

ugaacucaac ucaaaacuug aaa 23

<210> 667

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 667

aaaauguuca caauuaagcu ccu 23

<210> 668

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 668

aagcagaauu aaauacugua uua 23

<210> 669

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 669

guugaaugaa auaagaaaug uaa 23

<210> 670

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 670

acuacauaua aacuacaagu caa 23