

(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2011-0031368

(43) 공개일자

2011년03월25일

(51) Int. Cl.

C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/7088 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)

(21) 출원번호

10-2011-7002768

(22) 출원일자(국제출원일자)

2009년06월24일

심사청구일자

없음

(85) 번역문제출일자

2011년02월01일

(86) 국제출원번호

PCT/EP2009/057907

(87) 국제공개번호

WO 2010/000656

국제공개일자

2010년01월07일

(30) 우선권주장

08104623.7 2008년07월03일
유럽특허청(EPO)(EP)
61/077,942 2008년07월03일 미국(US)

(71) 출원인

산타리스 팔마 에이/에스
덴마크 디케이-2970 홀슬름 코글 알레 6

(72) 발명자

린트홀름 마리
스웨덴 에스-212 19 말뫼 게를라크스가탄 6비
스트라룸 엘렌 마리
덴마크 디케이-3460 비르케뢰드 비스트룸 페르스
켄간겐 11

(74) 대리인

박장원

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 미토콘드리아의 글리세롤-3-포스페이트 아실트랜스페라제 1 (MTGPAT1)의 발현을 억제하기 위한 RNA 안타고니스트 화합물

(57) 요약

본 발명은 세포에서 mtGPAT1 mRNA를 표적화하여, mtGPAT1의 발현을 감소시키는 올리고머 화합물 (올리고머)에 관한 것이다. mtGPAT1의 발현 감소는 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 특정 질병을 치료하는데 이롭다.

특허청구의 범위

청구항 1

mtGPAT1 mRNA를 발현하는 세포에서 mtGPAT1 유전자 또는 mRNA의 발현을 억제하는 10-30 뉴클레오타이드 길이의 단일 가닥 올리고머로서, 상기 올리고머는 총 10-30개의 뉴클레오타이드로 된 인접한 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 여기서 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 263 또는 그의 자연 발생적인 변이체와 같은 포유동물의 mtGPAT1 유전자 또는 mRNA의 역보체에 해당하는 대역과 적어도 80% 상동성인 것인 올리고머.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 및 290 중 어느 하나의 대응하는 대역과 적어도 80% 상동성인 것인 올리고머.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 263의 대응하는 영역의 역보체에 대해 미스매치를 포함하지 않거나, 미스매치를 1개 이하 또는 2개 이하로 포함하는 것인 올리고머.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 인접한 뉴클레오타이드 서열로 구성된 것인 올리고머.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 길이가 10-18개의 뉴클레오타이드인 것인 올리고머.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는 것인 올리고머.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드는 SEQ ID NOs: 1-262 중 어느 하나를 포함하거나 어느 하나로 구성된 것인 올리고머.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 유사체는 잠금 핵산 (LNA) 유닛; 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 및 2'-플루오로-DNA 유닛으로 이루어진 군으로부터 선택된 당 변환 뉴클레오타이드 등의 당 변환 뉴클레오타이드인 것인 올리고머.

청구항 9

제6항 또는 제7항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 유사체는 LNA인 것인 올리고머.

청구항 10

제6항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 갭머(gapmer)인 것인 올리고머.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 올리고머는 SEQ ID NO: 2, 33, 125, 142, 147, 169, 176, 182, 214, 249, 250 및 254 중 어느 하나인 것인 올리고머.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머와, 상기 올리고머에 공유적으로 결합된 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티를 포함하여 이루어진 컨쥬게이트.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머, 또는 제13항에 기재된 컨쥬게이트 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아쥬반트를 포함하는 의약 조성물.

청구항 14

과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병의 치료를 위한 약제로서 사용되기 위한 제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머 또는 제12항에 기재된 컨쥬게이트.

청구항 15

과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머, 또는 제13항에 기재된 컨쥬게이트의 용도.

청구항 16

과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병에 걸린 환자 또는 그러한 질병에 걸릴 위험이 있는 환자에게, 제1항 내지 제12항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머 또는 제13항에 기재된 컨쥬게이트를 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)의 치료 방법.

청구항 17

mtGPAT1를 발현하는 세포에서 mtGPAT1를 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제12항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머 또는 제12항에 기재된 컨쥬게이트를, 상기 세포에게 투여하여 상기 세포에서 mtGPAT1를 억제하는 것을 포함하여 이루어지는 것인 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 세포 내에서 mtGPAT1 mRNA를 표적화함으로써 mtGPAT1의 발현을 감소시키는 올리고머 화합물(올리고머)에 관한 것이다. 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 간 지방증(NASH), 인슐린 내성, 및 비인슐린 의존성 당뇨병(NIDDM)과 같은 일련의 질환에는 mtGPAT1 발현을 감소시키는 것이 이롭다.

배경기술

[0002] 미토콘드리아의 글리세롤-3-포스페이트 아실트랜스페라제 1 (EC 2.3.1.15, GPAT1, mtGPAT1, GPAM, mtGPAM로도 알려져 있음)은 간의 트리글리세라이드 형성에 있어서 중요한 역할을 하는데, 여기서는 mtGPAT1의 활성 수준이 높을 경우 지방간(간 지방증)가 초래되는 반면, mtGPAT1이 부재할 경우에는 간의 트리글리세라이드 농도가 낮아 지거나, 지방산 산화가 촉진되게 된다.

[0003] 글리세롤-3-포스페이트 아실트랜스페라제(GPATs)는 트리글리세라이드 합성의 율속 단계를 촉매하는 효소군이다. 이 효소는 글리세롤-3-포스페이트와 활성화된 지방산 (아실-코엔자임 A, 아실-CoA) 간의 에스테르 결합의 형성을 촉매한다. 세포 내에서의 GPAT 효소 활성화에는 두 가지 이상의 효소, 즉, 세포질세망과 미토콘드리아 두 가지 모두의 외막에 존재하는 효소 활성화, NEM에 의한 불활성화에 각각 둔감 민감한 효소 분획이 관련되어 있다는 것이 일찌기 인식되어져 왔다 (Coleman et al. (2000) *Annu. Rev. Nutr.* **20**, 77-103-3; Coleman et al. (2004) *Prog. Lipid Res.* **43**, 134-176; Coleman (2007) *Cell Metab* **5**, 87-89).

- [0004] MtGPAT1은 NEM에 의한 불활성화에 둔감한 GPAT 효소로서 미토콘드리아에만 존재하는 것으로 확인되었다. mtGPAT1의 활성은 간 외부 조직에서는 총 GPAT 활성의 10%에 대해서만 책임이 있을 정도로 낮은 반면, mtGPAT1은 간 내부에서는 총GPAT 활성의 50% 가까운 활성이 이 효소에 의한 것이다 (Coleman et al. (2000) *Annu. Rev. Nutr.* **20**, 77-103-3; Coleman et al. (2004) *Prog. Lipid Res.* **43**, 134-176; Coleman (2007) *Cell Metab* **5**, 87-89). 리소포스파티드산(Lysophosphatidic acid:LPA)은 모든 GPAT 활성의 산물로서, 트리글리세라이드와 인지질 두 가지 모두의 합성을 진행시킬 수 있다. 트리글리세라이드의 합성에 관여하는 대부분의 효소들은 세포 질세망에 존재하므로, mtGPAT1 역시도 초기에는 주로 인지질 전구체 합성과 연관된 것으로 믿어졌었다. 그러나, mtGPAT1 활성의 호르몬 및 영양 조절 측면은 간의 트리글리세라이드 합성에서 중요한 역할을 함을 가리키고 있다(Coleman et al. (2000) *Annu. Rev. Nutr.* **20**, 77-103-3; Coleman et al. (2004) *Prog. Lipid Res.* **43**, 134-176; Coleman (2007) *Cell Metab* **5**, 87-89). MtGPAT1 활성은 비만 마우스에서 먹이 공급에 반응하여 극적으로 상향조절된다. (Xu et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **349**, 439-448).
- [0005] CHO 또는 HEK293 세포에서 mtGPAT1이 과발현되면 세포내 트리글리세라이드 수준이 확고하게 증가된다 (Igal et al. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 42205-42212). 간 세포에서의 mtGPAT1의 과발현은 세포내 지질 축적을 더 높은 수준을 야기하며(Lewin et al. (2005) *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab* **288**, E835-E844), 이에 부수적으로 세포 연료 (베타-산화)를 위한 지방산의 이용성은 감소되게 된다 - mtGPAT1 활성이 높으면 간의 지방산 흡수와 트리글리세라이드 합성 (지방생성 동화: lipogenic anabolism)은 증가시키고 지방간 산화 (지질 이화: lipid catabolism)는 저하되는 것으로 보인다. 이는, 세포의 (말로닐-CoA 농도의 제어를 통한)에너지 요구량이 활성화 지방산의 지방형성/지방저장(mtGPAT1 활성)을 지시하거나 또는 미토콘드리아 내로 전달된 다음 지방산 산화 (카르니틴 팔미토일 트랜스페라제-1, CPT-1, 율속 단계로서)로 이어지게 되는 말로닐-CoA에 의해 조절되는 "대사 스위치" 측면과도 합치된다. mtGPAT1을 높은 수준으로 발현하는 모든 세포에서는, 인지질 또는 콜레스테롤 에스테르에 활성화된 지방산이 삽입되는 것보다 트리글리세라이드 합성이 더 선호되었다.
- [0006] 일시적인 간의 아테노바이러스-유발성 mtGPAT1 과발현은 간 트리아실글리세롤의 대폭적인 증가, 즉 간 지방증(Linden et al. (2006) *FASEB J.* **20**, 434-443) 및 인슐린 내성(Nagle et al. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 14807-14815)을 야기한다. MtGPAT1 녹아웃 마우스가 제작되었다. 표준 사료로 급식할 경우 동물들은 체중이 감소되고 성선 지방패드의 중량도 감소되었으며, 간 트리글리세라이드 수준과, 혈장 트리글리세라이드 수준이 저하되었을 뿐만 아니라, VLDL 분비도 감소되었다 (Hammond et al. (2002) *Mol. Cell Biol.* **22**, 8204-8214; Yazdi et al. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **369**, 1065-1070). MtGPAT1 녹아웃 동물들 역시 인슐린 내성은 일으키지 않는 것으로 보인다(Neschen et al. (2005) *Cell Metab* **2**, 55-65). mtGPAT1 없이 4개월간 고지방, 고설탕 식이를 제공받은 마우스에서는, 간의 트리글리세라이드 함량이 60% 감소됨과 함께, 혈장 베타-히드록시부티레이트 수준 증가와 같은 지방산 산화 촉진 경향이 감지되었다 (Hammond et al. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 25629-25636). 나이 든 mtGPAT1 녹아웃 마우스에서는 장쇄 지방산-CoA의 간 축적이 증가되었는데, 이는 이 효소의 활성을 균형있게 하향 조절하는 것이 이 효소가 아예 없는 것보다 더 바람직하다는 것을 시사하는 것이다.(Hammond et al. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 25629-25636). 그러나, mtGPAT1가 부재하여도 간 크기, 간 세포수, 또는 미토콘드리아의 형태에는 이렇다할 변화가 결과되지 않는 것으로 나타났다 (Hammond et al. (2007) *Exp. Mol. Pathol.* **82**, 210-219). 따라서 mtGPAT1 활성이 높으면 비만, 인슐린 내성, 및 간 지질 축적과 연관이 있는 것으로 전반적으로 결론지을 수 있다.
- [0007] mtGPAT1 활성의 억제제 이체까지 효소의 활성부로 지향된 작은 분자에만 국한되었다. 그러나, GPAT 군의 여러 멤버들의 활성 부위의 단백질 서열이 고도로 상동성을 보이므로(Gonzalez-Baro et al. (2007) *Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol* **292**, G1195-G1199) 이 단백질 군의 하나의 단일 멤버에 대하여 특이적인 작은 분자 억제제를 설계할 만하다.
- [0008] 따라서, mtGPAT1에 특이적인 억제제와 같이 서브타입 특이적인 GPAT 억제제가 요구된다. 본 발명의 LNA 함유 RNA 안타고니스트들은 mtGPAT1 발현의 조절과 연관된 치료적, 진단적 및 연구 응용 분야에서 그간 충족되지 못하였던 필요성을 만족시키는, 그러한 mtGPAT1 특이적 억제제이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 발명의 개요

[0010] 본 발명은 총 10개-30개의 뉴클레오타이드로 된 인접(contiguous) 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 길이가 10

- 30 뉴클레오타이드인 올리고머를 제공하는데, 여기서 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO:263 또는 그의 자연 발생적인 변이체와 같은 포유동물의 mtGPAT1 유전자 또는 mRNA의 역 보체(reverse complement)에 상응하는 대역과 적어도 80% (e.g., 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 99%) 동일하다. 따라서, 예컨대, 이 올리고머는 SEQ ID NO: 263의 일부 서열을 갖는 단일 표준 핵산 분자와 혼성화한다.

[0011] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머와, 상기 올리고머에 공유 결합된 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티를 포함하는 컨쥬게이트를 제공한다.

[0012] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머 또는 컨쥬게이트, 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아쥬반트를 포함하는 의약 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명은 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 간 지방증(NASH), 인슐린 내성 및 인슐린 비의존성 당뇨병(NIDDM)의 치료용 의약을 제조하는데 있어서의, 본 발명에 따른 올리고머의 용도를 제공한다.

[0014] 본 발명은 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 간 지방증(NASH), 인슐린 내성 및 인슐린 비의존성 당뇨병(NIDDM)에 걸린 환자 또는 이러한 병에 걸릴 위험이 있는 대상자에게 본 발명의 올리고머, 컨쥬게이트 또는 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 간 지방증(NASH), 인슐린 내성 및 인슐린 비의존성 당뇨병(NIDDM)의 치료 방법을 제공한다.

[0015] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머, 또는 컨쥬게이트를, mtGPAT1을 발현하는 세포에 투여하여, 상기 세포에서의 mtGPAT1의 발현을 억제시키는, mtGPAT1의 억제 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0016] **올리고머**

[0017] 본 발명은 예컨대 SEQ ID 263에 도시된 바와 같은 mtGPAT1 핵산, 및 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 그러한 핵산 분자의 자연 발생적인 변이체와 같은, 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산 분자의 기능을 조절하기 위하여 올리고머 화합물 (본 명세서에서 올리고머라고 칭함)을 사용한다. 본 발명의 문맥상 "올리고머"라는 용어는, 두 개 이상의 뉴클레오타이드 (즉, 올리고뉴클레오타이드)의 공유 결합에 의해 형성된 분자를 가리킨다. 본 발명의 올리고머는 길이가 10-30 뉴클레오타이드인 인접 뉴클레오타이드 서열로 이루어지거나 이러한 서열을 포함한다.

[0018] 여러 가지 실시상태에서, 본 발명의 화합물은 RNA(유닛)은 포함하지 않는다. 본 발명에 따른 화합물은 선형 분자인 것이 좋고, 또는 선형 분자로서 합성된다. 본 발명의 올리고머는 단일 가닥 분자이며, 바람직하게는 예컨대, 동일 올리고머 내에서 균등한 대역(equivalent regions)에 상보적인 예컨대, 적어도 3개, 4개, 또는 5개의 인접 뉴클레오타이드와 같은 짧은 대역은 포함하지 않는 것이 좋다 - 이와 관련하여, 본 발명의 올리고머는 (기본적으로는) 이중 가닥이 아니다. 몇몇 실시 상태에서, 올리고머는 siRNA가 아닌 것과 같이, 기본적으로 이중 가닥이 아니다. 다양한 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 전적으로 인접 뉴클레오타이드 대역만으로 이루어질 수 있다. 따라서, 이 올리고머는 실질적으로 자기상보적(selfcomplementary)인 것이 아니다.

[0019] **표적**

[0020] 본 발명의 올리고머는 mtGPAT1 유전자의 발현을 하향 조절할 수 있는 것이 적합하다. 이와 관련해서, 본 발명의 올리고머는 전형적으로 인간 세포와 같은 포유동물에서 mtGPAT1의 억제를 일으킬 수 있다. 몇가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 표적 핵산에 결합하여 정상적인 발현 수준에 비해, 발현 수준을 적어도 10% 또는 20%, 더욱 좋기로는 정상적인 발현 수준에 비해, 발현 수준을 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 억제한다. 몇가지 실시상태에서, 이러한 조절(modulation)은 본 발명의 화합물을 0.04 내지 25nM, 예컨대 0.8 내지 20nM의 농도로 사용한 경우 관찰된다. 동일 또는 상이한 실시 상태에서, 발현 억제는 100% 미만, 예컨대 98% 억제 미만, 95% 억제 미만, 90% 억제 미만, 80% 억제 미만, 예컨대 70% 억제 미만이다. 발현 수준의 조절은 SDS-PAGE와 같은 방법에 의해 단백질 수준을 측정한다음, 표적 단백질에 대하여 발생시킨 적절한 항체를 이용하는 웨스턴 블라팅법에 의하여 측정할 수 있다. 별법으로, 발현 수준의 조절은 노던 블라팅 또는 정량적 RT-PCR에 의해 mRNA 수준을 측정함으로써 결정할 수도 있다. 몇가지 실시상태에서, mRNA 수준을 통하여 측정할 경우, 0.04 내지 25nM, 예컨대 0.8 내지 20nM 농도와 같은 적절한 농도를 이용하여 측정할 경우, 하향 조절의 정도는 일반적으로, 본 발명의 화합물 부재시의 정상 수준에 비해 10-20% 수준이다.

- [0021] 본 발명은 따라서, mtGPAT1 단백질 및/또는 mRNA를 발현하는 세포에서 mtGPAT1 단백질 및/또는 mRNA의 발현을 하향조절하거나 억제하는 방법을 제공하며, 여기서 상기 방법은 상기 세포에게 본 발명의 올리고머 또는 킨주게이트를 투여하여 상기 세포에서의 mtGPAT1 단백질 및/또는 mRNA의 발현을 하향조절 또는 억제하는 것을 포함하여 이루어진다. 적절한 세포는 인간 세포와 같은 포유동물의 세포이다. 몇가지 실시상태에서, 투여는 시험관내(*in vitro*)에서 실시할 수 있다. 몇가지 실시상태에서 투여는 생체내(*in vivo*)에서 실시할 수도 있다.
- [0022] 본 발명에서 "표적 핵산(target nucleic acid)"이라는 용어는 포유동물의 mtGPAT1 폴리펩타이드, 예컨대 SEQ ID NO:263과 같은 인간의 mtGPAT1, mtGPAT1를 코딩하는 핵산 또는 자연 발생적인 그의 변이체 및 이로부터 유도된 RNA 핵산, 바람직하게는 mRNA, 예컨대 pre-mRNA (바람직하게는 성숙한 mRNA가 좋다)를 가리킨다. 몇가지 실시상태에서, 예컨대 연구 또는 진단에 사용될 경우, '표적 핵산'은 cDNA 또는 상기 DNA 또는 RNA 핵산 표적으로부터 유도된 합성 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. 본 발명에 따른 올리고머는 표적 핵산에 혼성화할 수 있는 것이 바람직하다. SEQ ID NO: 263은 cDNA 서열이므로, 비록 cDNA 서열에서는 우라실이 티미딘으로 대체되어 있는 하지만, 성숙한 mRNA 표적 서열에 상응하는 것임을 이해할 수 있을 것이다.
- [0023] "자연 발생적인 그의 변이체(naturally occurring variants thereof)"라 함은 마우스, 원숭이 및 바람직하게는 인간과 같은 포유동물 등의 소정의 분류학적 그룹 내에 자연적으로 존재하는 핵산 서열의 mtGPAT1 폴리펩타이드의 변이체들을 가리키는 것이다. 일반적으로, 폴리뉴클레오타이드의 "자연 발생적인 변이체"라고 할 때, 이 용어에는 전위 또는 중복에 의해 10번 염색체; **위치:** 10q25.2 Mb에서 발견되는, mtGPAT1을 코딩하는 게놈 DNA의 모든 대립유전자 변이체 및 그로부터 유도된 mRNA와 같은 RNA가 모두 포괄된다. "자연 발생적인 변이체" 역시 mtGPAT1 mRNA를 선택적 스플라이싱(alternative splicing)시킴으로써 유도되는 변이체들을 포함한다. 특수한 폴리펩타이드 서열에 이 용어를 사용할 경우, 이 용어는 또한 시그널 펩타이드 절단, 단백질분해 절단, 글리코실화 등과 같은 번역후 변형 또는 번역과 동시에 일어나는 변형 등에 의해 프로세싱될 수 있는 자연 발생적인 단백질 형태를 포괄한다.
- [0024] **서열**
- [0025] 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO: 263에 존재하는 뉴클레오타이드 서열의 역보체(reverse complement)에 상응하는 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나(comprise) 이러한 서열로 이루어져(consist of) 있다. 따라서, 이 올리고머는 SEQ ID NOS: 1 - 262로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하거나 이러한 서열로 이루어지며, 여기서, 상기 올리고머 (또는 그의 인접 뉴클레오타이드 부분)는 상기 선택된 서열에 대해 임의로 1개, 2개 또는 3개의 미스매치(mismatch)를 포함할 수도 있다.

표 1

표 1: 본 발명의 올리고머 서열의 목록

이 표의 올리고머 서열은 올리고뉴클레오타이드의 Tm을 증가시키는 뉴클레오타이드 유사체를 포함시키는, 본 발명의 방법에 의해 설계될 수 있다. 또한, 포스포로티오에이트 결합은 인터뉴클레오타이드 결합으로서 존재할 수 있다.

"s"는 포스포로티오에이트 결합을 나타내고, 굵은 문자는 LNA 분자를 나타낸다.

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
1	232	5'-GCAGATAAGAAAC-3'	안티센스 서열
2	232	5'- G_s [°] G_s [°] mC_s [°] A_s G_s A_s T_s A_s G_s A_s A_s [°] A_s [°] mC [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
3	452	5'-TTCCGCAAACCCA-3'	안티센스 서열
4	452	5'-ATTCCGCAAACCCA-3'	안티센스 서열
5	452	5'-CATTCCGCAAACCCA-3'	안티센스 서열
6	452	5'-ACATTCCGCAAACCCA-3'	안티센스 서열
7	453	5'-TTCCGCAAACCC-3'	안티센스 서열
8	453	5'-ATTCCGCAAACCC-3'	안티센스 서열
9	453	5'-CATTCCGCAAACCC-3'	안티센스 서열
10	453	5'-ACATTCCGCAAACCC-3'	안티센스 서열
11	453	5'-AACATTCCGCAAACCC-3'	안티센스 서열
12	454	5'-ACATTCCGCAAACC-3'	안티센스 서열
13	454	5'-AACATTCCGCAAACC-3'	안티센스 서열
14	454	5'-TAACATTCCGCAAACC-3'	안티센스 서열

[0026]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
15	455	5'-ACATTCCGCAAAC-3'	안티센스 서열
16	455	5'-AACATTCCGCAAAC-3'	안티센스 서열
17	455	5'-TAACATTCCGCAAAC-3'	안티센스 서열
18	455	5'-ATAACATTCCGCAAAC-3'	안티센스 서열
19	456	5'-AACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
20	456	5'-TAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
21	456	5'-ATAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
22	456	5'-AATAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
23	457	5'-AACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
24	457	5'-TAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
25	457	5'-ATAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
26	457	5'-AATAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
27	457	5'-AAATAACATTCCGCAA-3'	안티센스 서열
28	458	5'-TAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
29	458	5'-ATAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
30	458	5'-AATAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
31	458	5'-AAATAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
32	458	5'-TAAATAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
33	459	5'-A _s ^o T _s ^o A _s A _s C _s A _s T _s C _s C _s G _s ^o mC ^o -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드

[0027]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
34	459	5'-AATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
35	459	5'-AAATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
36	459	5'-TAAATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
37	459	5'-ATAAATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
38	460	5'-AATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
39	460	5'-AAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
40	460	5'-TAAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
41	460	5'-ATAAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
42	460	5'-TATAAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
43	461	5'-TATAAATAACATTCC-3'	안티센스 서열
44	461	5'-ATATAAATAACATTCC-3'	안티센스 서열
45	462	5'-TATAAATAACATTC-3'	안티센스 서열
46	462	5'-ATATAAATAACATTC-3'	안티센스 서열
47	462	5'-GATATAAATAACATTC-3'	안티센스 서열
48	463	5'-GATATAAATAACATT-3'	안티센스 서열
49	463	5'-TGATATAAATAACATT-3'	안티센스 서열
50	464	5'-TGATATAAATAACAT-3'	안티센스 서열
51	464	5'-TTGATATAAATAACAT-3'	안티센스 서열
52	465	5'-TGATATAAATAACA-3'	안티센스 서열
53	465	5'-TTGATATAAATAACA-3'	안티센스 서열

[0028]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
54	465	5'-ATTGATATAAATAACA-3'	안티센스 서열
55	466	5'-TGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
56	466	5'-TTGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
57	466	5'-ATTGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
58	466	5'-CATTGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
59	467	5'-ATTGATATAAATAA-3'	안티센스 서열
60	467	5'-CATTGATATAAATAA-3'	안티센스 서열
61	467	5'-TCATTGATATAAATAA-3'	안티센스 서열
62	470	5'-GTTTCATTGATATAAA-3'	안티센스 서열
63	471	5'-GTTTCATTGATATAA-3'	안티센스 서열
64	472	5'-GTTTCATTGATATA-3'	안티센스 서열
65	556	5'-ACATGCCCTTATG-3'	안티센스 서열
66	556	5'-AACATGCCCTTATG-3'	안티센스 서열
67	556	5'-AAACATGCCCTTATG-3'	안티센스 서열
68	556	5'-CAAACATGCCCTTATG-3'	안티센스 서열
69	557	5'-AACATGCCCTTAT-3'	안티센스 서열
70	557	5'-AAACATGCCCTTAT-3'	안티센스 서열
71	557	5'-CAAACATGCCCTTAT-3'	안티센스 서열
72	558	5'-CAAACATGCCCTTA-3'	안티센스 서열
73	559	5'-CAAACATGCCCTT-3'	안티센스 서열

[0029]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
74	613	5'-CAATTGCCTCTTG-3'	안티센스 서열
75	784	5'-AGAAGCTGTTGAA-3'	안티센스 서열
76	784	5'-AAGAAGCTGTTGAA-3'	안티센스 서열
77	842	5'-CGTCTCAGTTGCAG-3'	안티센스 서열
78	842	5'-TCGTCTCAGTTGCAG-3'	안티센스 서열
79	842	5'-TTCGTCTCAGTTGCAG-3'	안티센스 서열
80	843	5'-CGTCTCAGTTGCA-3'	안티센스 서열
81	843	5'-TCGTCTCAGTTGCA-3'	안티센스 서열
82	843	5'-TTCGTCTCAGTTGCA-3'	안티센스 서열
83	844	5'-TCGTCTCAGTTGC-3'	안티센스 서열
84	844	5'-TTCGTCTCAGTTGC-3'	안티센스 서열
85	845	5'-TCGTCTCAGTTG-3'	안티센스 서열
86	845	5'-TTCGTCTCAGTTG-3'	안티센스 서열
87	846	5'-TTCGTCTCAGTT-3'	안티센스 서열
88	961	5'-TGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
89	961	5'-TTGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
90	961	5'-GTTGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
91	961	5'-TGTTGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
92	962	5'-GTTGAGATTATTGC-3'	안티센스 서열
93	962	5'-TGTTGAGATTATTGC-3'	안티센스 서열

[0030]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
94	962	5'-ATGTTGAGATTATTGC-3'	안티센스 서열
95	963	5'-GTTGAGATTATTG-3'	안티센스 서열
96	963	5'-TGTGAGATTATTG-3'	안티센스 서열
97	963	5'-ATGTTGAGATTATTG-3'	안티센스 서열
98	963	5'-GATGTTGAGATTATTG-3'	안티센스 서열
99	964	5'-ATGTTGAGATTATT-3'	안티센스 서열
100	964	5'-GATGTTGAGATTATT-3'	안티센스 서열
101	964	5'-GGATGTTGAGATTATT-3'	안티센스 서열
102	965	5'-ATGTTGAGATTAT-3'	안티센스 서열
103	965	5'-GATGTTGAGATTAT-3'	안티센스 서열
104	965	5'-GGATGTTGAGATTAT-3'	안티센스 서열
105	965	5'-GGGATGTTGAGATTAT-3'	안티센스 서열
106	966	5'-GATGTTGAGATTA-3'	안티센스 서열
107	966	5'-GGATGTTGAGATTA-3'	안티센스 서열
108	966	5'-GGGATGTTGAGATTA-3'	안티센스 서열
109	967	5'-GGGATGTTGAGATT-3'	안티센스 서열
110	1030	5'-TTCATCGAGCCT-3'	안티센스 서열
111	1030	5'-TTTCATCGAGCCT-3'	안티센스 서열
112	1030	5'-GTTTCATCGAGCCT-3'	안티센스 서열
113	1031	5'-GTTTCATCGAGCC-3'	안티센스 서열

[0031]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
114	1032	5'-GTTTCATCGAGC-3'	안티센스 서열
115	1273	5'-AGTGACCTTCGAT-3'	안티센스 서열
116	1273	5'-TAGTGACCTTCGAT-3'	안티센스 서열
117	1273	5'-GTAGTGACCTTCGAT-3'	안티센스 서열
118	1273	5'-TG TAGTGACCTTCGAT-3'	안티센스 서열
119	1274	5'-TAGTGACCTTCGA-3'	안티센스 서열
120	1274	5'-GTAGTGACCTTCGA-3'	안티센스 서열
121	1274	5'-TG TAGTGACCTTCGA-3'	안티센스 서열
122	1274	5'-TTGTAGTGACCTTCGA-3'	안티센스 서열
123	1275	5'-TAGTGACCTTCG-3'	안티센스 서열
124	1275	5'-GTAGTGACCTTCG-3'	안티센스 서열
125	1275	5'-T _s [°] G _s [°] T _s [°] A _s G _s T _s G _s A _s C _s T _s T _s [°] mC _s [°] G [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
126	1275	5'-TTGTAGTGACCTTCG-3'	안티센스 서열
127	1275	5'-ATTGTAGTGACCTTCG-3'	안티센스 서열
128	1276	5'-TTGTAGTGACCTTC-3'	안티센스 서열
129	1276	5'-ATTGTAGTGACCTTC-3'	안티센스 서열
130	1277	5'-ATTGTAGTGACCTT-3'	안티센스 서열
131	1414	5'-TTCTAAATATTCCTT-3'	안티센스 서열
132	1415	5'-TTCTAAATATTCCT-3'	안티센스 서열

[0032]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
133	1667	5'-CTGTAGAGGAGCA-3'	안티센스 서열
134	1674	5'-GCCTGTGTCTGTAG-3'	안티센스 서열
135	1674	5'-TGCCTGTGTCTGTAG-3'	안티센스 서열
136	1675	5'-TGCCTGTGTCTGTA-3'	안티센스 서열
137	1675	5'-CTGCCTGTGTCTGTA-3'	안티센스 서열
138	1675	5'-CCTGCCTGTGTCTGTA-3'	안티센스 서열
139	1676	5'-CCCTGCCTGTGTCTGT-3'	안티센스 서열
140	1677	5'-CCCTGCCTGTGTCTG-3'	안티센스 서열
141	1677	5'-TCCCTGCCTGTGTCTG-3'	안티센스 서열
142	1678	5'-T _s [°] T _s [°] mC _s [°] C _s C _s T _s G _s C _s C _s T _s G _s T _s G _s T _s [°] mC _s [°] T _s [°] - 3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
143	1679	5'-TTCCCTGCCTGTGTC-3'	안티센스 서열
144	1679	5'-ATTCCCTGCCTGTGTC-3'	안티센스 서열
145	1680	5'-TTCCCTGCCTGTGT-3'	안티센스 서열
146	1680	5'-ATTCCCTGCCTGTGT-3'	안티센스 서열
147	1681	5'-A _s [°] T _s [°] T _s [°] C _s C _s C _s T _s G _s C _s C _s T _s G _s [°] T _s [°] G [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
148	1716	5'-TCACAAAGAAGTCT-3'	안티센스 서열
149	1716	5'-ATCACAAAGAAGTCT-3'	안티센스 서열
150	1716	5'-CATCACAAAGAAGTCT-3'	안티센스 서열

[0033]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
151	1717	5'-ATCACAAAGAAGTC-3'	안티센스 서열
152	1717	5'-CATCACAAAGAAGTC-3'	안티센스 서열
153	1717	5'-TCATCACAAAGAAGTC-3'	안티센스 서열
154	1718	5'-ATCACAAAGAAGT-3'	안티센스 서열
155	1718	5'-CATCACAAAGAAGT-3'	안티센스 서열
156	1718	5'-TCATCACAAAGAAGT-3'	안티센스 서열
157	1718	5'-TTCATCACAAAGAAGT-3'	안티센스 서열
158	1719	5'-TTCATCACAAAGAAG-3'	안티센스 서열
159	1777	5'-ACATCTTCTGAATT-3'	안티센스 서열
160	1823	5'-GGTGATTGTGACAC-3'	안티센스 서열
161	1823	5'-GGGTGATTGTGACAC-3'	안티센스 서열
162	1823	5'-TGGGTGATTGTGACAC-3'	안티센스 서열
163	1824	5'-GGTGATTGTGACA-3'	안티센스 서열
164	1824	5'-GGGTGATTGTGACA-3'	안티센스 서열
165	1824	5'-TGGGTGATTGTGACA-3'	안티센스 서열
166	1824	5'-GTGGGTGATTGTGACA-3'	안티센스 서열
167	1825	5'-GGGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
168	1825	5'-TGGGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
169	1825	5'- G _s [°] T _s [°] G _s [°] G _s G _s T _s G _s A _s T _s G _s T _s G _s [°] A _s [°] mC [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드

[0034]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
170	1825	5'-TGTGGGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
171	1825	5'-GGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
172	1826	5'-TGGGTGATTGTGA-3'	안티센스 서열
173	1826	5'-GTGGGTGATTGTGA-3'	안티센스 서열
174	1826	5'-TGTGGGTGATTGTGA-3'	안티센스 서열
175	1826	5'-GTGTGGGTGATTGTGA-3'	안티센스 서열
176	1827	5'-G _s [°] T _s [°] G _s [°] T _s G _s G _s G _s T _s G _s A _s T _s G _s [°] T _s [°] G [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
177	1874	5'-GGGACAGTTGTGC-3'	안티센스 서열
178	1897	5'-TAGAAGTTGAGTTC-3'	안티센스 서열
179	1897	5'-GTAGAAGTTGAGTTC-3'	안티센스 서열
180	1897	5'-TGTAGAAGTTGAGTTC-3'	안티센스 서열
181	1898	5'-GTAGAAGTTGAGTT-3'	안티센스 서열
182	1898	5'-T _s [°] G _s [°] T _s [°] A _s G _s A _s G _s T _s G _s A _s G _s [°] T _s [°] T [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
183	1898	5'-CTGTAGAAGTTGAGTT-3'	안티센스 서열
184	1899	5'-CTGTAGAAGTTGAGT-3'	안티센스 서열
185	1899	5'-GCTGTAGAAGTTGAGT-3'	안티센스 서열
186	1900	5'-CTGTAGAAGTTGAG-3'	안티센스 서열
187	1900	5'-GCTGTAGAAGTTGAG-3'	안티센스 서열

[0035]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
188	1901	5'-GCTGTAGAAGTTGA-3'	안티센스 서열
189	1946	5'-CAAGCTATGATGG-3'	안티센스 서열
190	1946	5'-GCAAGCTATGATGG-3'	안티센스 서열
191	1946	5'-TGCAAGCTATGATGG-3'	안티센스 서열
192	1946	5'-CTGCAAGCTATGATGG-3'	안티센스 서열
193	1947	5'-TGCAAGCTATGATG-3'	안티센스 서열
194	1947	5'-CTGCAAGCTATGATG-3'	안티센스 서열
195	1948	5'-TGCAAGCTATGAT-3'	안티센스 서열
196	1948	5'-CTGCAAGCTATGAT-3'	안티센스 서열
197	2021	5'-CTCCTGGCTGATCA-3'	안티센스 서열
198	2057	5'-AAGGTAGCACAGGC-3'	안티센스 서열
199	2057	5'-GAAGGTAGCACAGGC-3'	안티센스 서열
200	2057	5'-AGAAGGTAGCACAGGC-3'	안티센스 서열
201	2058	5'-GAAGGTAGCACAGG-3'	안티센스 서열
202	2058	5'-AGAAGGTAGCACAGG-3'	안티센스 서열
203	2058	5'-GAGAAGGTAGCACAGG-3'	안티센스 서열
204	2059	5'-AGAAGGTAGCACAG-3'	안티센스 서열
205	2059	5'-GAGAAGGTAGCACAG-3'	안티센스 서열
206	2059	5'-AGAGAAGGTAGCACAG-3'	안티센스 서열
207	2060	5'-AGAAGGTAGCACA-3'	안티센스 서열

[0036]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
208	2060	5'-GAGAAGGTAGCACA-3'	안티센스 서열
209	2060	5'-AGAGAAGGTAGCACA-3'	안티센스 서열
210	2060	5'-GAGAGAAGGTAGCACA-3'	안티센스 서열
211	2061	5'-AGAAGGTAGCAC-3'	안티센스 서열
212	2061	5'-GAGAAGGTAGCAC-3'	안티센스 서열
213	2061	5'-AGAGAAGGTAGCAC-3'	안티센스 서열
214	2061	5'-G _s ^o A _s ^o G _s ^o A _s G _s A _s G _s G _s T _s A _s G _s mC _s ^o A _s ^o mC ^o -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
215	2062	5'-GAGAGAAGGTAGCA-3'	안티센스 서열
216	2063	5'-GAGAGAAGGTAGC-3'	안티센스 서열
217	2148	5'-GAATGCCATACTGG-3'	안티센스 서열
218	2148	5'-AGAATGCCATACTGG-3'	안티센스 서열
219	2149	5'-AGAATGCCATACTG-3'	안티센스 서열
220	2179	5'-ATCTTCTGGTCATC-3'	안티센스 서열
221	2215	5'-TTGTCCCACTGCTG-3'	안티센스 서열
222	2215	5'-CTTGTCCCACTGCTG-3'	안티센스 서열
223	2215	5'-TCTTGTCCCACTGCTG-3'	안티센스 서열
224	2216	5'-CTTGTCCCACTGCT-3'	안티센스 서열
225	2216	5'-TCTTGTCCCACTGCT-3'	안티센스 서열
226	2216	5'-TTCTTGTCCCACTGCT-3'	안티센스 서열

[0037]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
227	2218	5'-GCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
228	2219	5'-GCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
229	2219	5'-AGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
230	2220	5'-GCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
231	2220	5'-AGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
232	2220	5'-AAGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
233	2221	5'-AGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
234	2221	5'-AAGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
235	2222	5'-AAGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
236	2223	5'-AAGCTTCTTGTCCTG-3'	안티센스 서열
237	2266	5'-ACTGTCTTCATCTTC-3'	안티센스 서열
238	2266	5'-CACTGTCTTCATCTTC-3'	안티센스 서열
239	2269	5'-AGTCACTGTCTTCATC-3'	안티센스 서열
240	2270	5'-AGTCACTGTCTTCAT-3'	안티센스 서열
241	2270	5'-AAGTCACTGTCTTCAT-3'	안티센스 서열
242	2272	5'-CAAAGTCACTGTCTTC-3'	안티센스 서열
243	2273	5'-CAAAGTCACTGTCTTC-3'	안티센스 서열
244	2273	5'-CCAAAGTCACTGTCTTC-3'	안티센스 서열
245	2274	5'-CCAAAGTCACTGTCTTC-3'	안티센스 서열
246	2275	5'-CCAAAGTCACTGTCTTC-3'	안티센스 서열

[0038]

테스트 물질 Seq. ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
247	2298	5'-TAGCAATCTCGC-3'	안티센스 서열
248	2393	5'-AGATGGCAGCAGAGC-3'	안티센스 서열
249	2393	5'-A _s [°] A _s [°] G _s [°] A _s T _s G _s G _s C _s A _s G _s C _s A _s G _s A _s [°] G _s [°] mC [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
250	2394	5'- A _s [°] A _s [°] A _s [°] G _s A _s T _s G _s G _s C _s A _s G _s C _s A _s G _s A _s [°] G [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
251	2395	5'-AAAGATGGCAGCAGA-3'	안티센스 서열
252	2395	5'-CAAAGATGGCAGCAGA-3'	안티센스 서열
253	2396	5'-CAAAGATGGCAGCAG-3'	안티센스 서열
254	2396	5'-A _s [°] mC _s [°] A _s [°] A _s G _s A _s T _s G _s G _s C _s A _s G _s mC _s [°] A _s [°] G [°] -3'	LNA 안티센스 올리고뉴클레오타이드
255	2656	5'-AAACTCAGAATATA-3'	안티센스 서열
256	2657	5'-AAACTCAGAATAT-3'	안티센스 서열
257	2668	5'-TACAGCACCACAAA-3'	안티센스 서열
258	2668	5'-CTACAGCACCACAAA-3'	안티센스 서열
259	2669	5'-CTACAGCACCACAA-3'	안티센스 서열
260	2670	5'-CTACAGCACCACA-3'	안티센스 서열
261	3006	5'-GTCCATCACAGTAA-3'	안티센스 서열
262	3006	5'-TGTCATCACAGTAA-3'	안티센스 서열

[0039]

[0040]

바람직한 올리고뉴클레오타이드 설계는 3-10-3, 3-9-3, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 2-8-2의 LNA-DNA-LNA 유형의 갭머(gapmer)이다.

표 2

표 2: 특히 바람직한 것으로 선택된 안티센스 서열 모티프들

본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 하기 목록의 모티프를 갖는 서열의 일부를 포함하거나 이들로 이루어지는 것이 바람직하다.

테스트 물질 Seq. ID#	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	서열 모티프	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
264	232	5'- GGCAGATAAGAAAC -3'	안티센스 서열
265	452	5'- GTTTCATTGATATAAATAACATTCCG CAAACCCA-3'	안티센스 서열
266	556	5'- CAAACATGCCCTTATG -3'	안티센스 서열
267	613	5'-CAATTGCCTCTTG-3'	안티센스 서열
268	784	5'- AAGAAGCTGTTGAA-3'	안티센스 서열
269	842	5'- TTCGTCTCAGTTGCAG-3'	안티센스 서열
270	961	5'-GGGATGTTGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
271	1030	5'-GTTTCATCGAGCCT -3'	안티센스 서열
272	1273	5'- ATTGTAGTGACCTTCGAT -3'	안티센스 서열
273	1414	5'- TTCTAAATATTCCTT -3'	안티센스 서열
274	1667	5' ATTCCCTGCCTGTGTCTGTAGAGGA GCA - 3'	안티센스 서열
275	1716	5' - TTCATCACAAAGAAGTCT - 3'	안티센스 서열
276	1777	5' - ACATCTTCTGAATT - 3'	안티센스 서열
277	1823	5' - GTGTGGGTGATTGTGACAC - 3'	안티센스 서열
278	1874	5' - GGGACAGTTGTGC - 3'	안티센스 서열
279	1897	5' - GCTGTAGAAGTTGAGTTC - 3'	안티센스 서열
280	1946	5' - CTGCAAGCTATGATGG - 3'	안티센스 서열
281	2021	5' - CTCCTGGCTGATCA - 3'	안티센스 서열
282	2057	5' - GAGAGAAGGTAGCACAGGC - 3'	안티센스 서열
283	2148	5' - AGAATGCCATACTGG - 3'	안티센스 서열
284	2179	5' - ATCTTCTGGTCATC - 3'	안티센스 서열
285	2215	5' - AAGCTTCTTGTCCTGCTG - 3'	안티센스 서열
286	2266	5' - CCAAAGTCACTGTCTTCATCTTC	안티센스 서열

[0041]

테스트 물질 Seq. ID#	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	서열 모티프	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
		- 3'	
287	2298	5' - TAGCAATCTCGC - 3'	안티센스 서열
288	2393	5' - ACAAGATGGCAGCAGAGC - 3'	안티센스 서열
289	2656	5' CTACAGCACCACAAAACCTCAGAATA TA - 3'	안티센스 서열
290	3006	5' - TGTCCATCACAGTAA - 3'	안티센스 서열

[0042]

표 3

표 3: 특히 바람직한 것으로 선택된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 서열들:

여기서 서열 번호는 표 1 에 제시된 서열 번호와 동일하다.

또한 이 표에서, 바람직한 올리고뉴클레오타이드 디자인은 겹머의 LNA-DNA-LNA

유형의 3-10-3, 3-9-3, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 2-8-2 이다.

테스트 물질 서열 ID #	SEQ ID 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
1	232	5'-GCAGATAAGAAAC-3'	안티센스 서열
2	232	5'-GGCAGATAAGAAAC-3'	안티센스 서열
28	458	5'-TAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
29	458	5'-ATAACATTCCGCA-3'	안티센스 서열
33	459	5'-ATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
34	459	5'-AATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
35	459	5'-AAATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
36	459	5'-TAAATAACATTCCGC-3'	안티센스 서열
39	460	5'-AAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
40	460	5'-TAAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
41	460	5'-ATAAATAACATTCCG-3'	안티센스 서열
55	466	5'-TGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
56	466	5'-TTGATATAAATAAC-3'	안티센스 서열
65	556	5'-ACATGCCCTTATG-3'	안티센스 서열
80	843	5'-CGTCTCAGTTGCA-3'	안티센스 서열
86	845	5'-TTCGTCTCAGTTG-3'	안티센스 서열
87	846	5'-TTCGTCTCAGTT-3'	안티센스 서열
88	961	5'-TGAGATTATTGCC-3'	안티센스 서열
92	962	5'-GTTGAGATTATTGC-3'	안티센스 서열
121	1274	5'-TGTAGTGACCTTCGA-3'	안티센스 서열
125	1275	5'-TGTAGTGACCTTCG-3'	안티센스 서열
130	1277	5'-ATTGTAGTGACCTT-3'	안티센스 서열

[0043]

테스트 물질 서열 ID #	SEQ ID NO: 263 기준으로 인간 mRNA 에서의 표적 서열의 출발점	올리고뉴클레오타이드 서열	올리고뉴클레오타이드 서열의 유형
131	1414	5'-TTCTAAATATTCCTT-3'	안티센스 서열
135	1674	5'-TGCCTGTGTCTGTAG-3'	안티센스 서열
142	1678	5'-TTCCCTGCCTGTGTCT-3'	안티센스 서열
145	1680	5'-TTCCCTGCCTGTGT-3'	안티센스 서열
147	1681	5'-ATTCCCTGCCTGTG-3'	안티센스 서열
151	1717	5'-ATCACAAGAAGTC-3'	안티센스 서열
155	1718	5'-CATCACAAGAAGT-3'	안티센스 서열
159	1777	5'-ACATCTTCTGAATT-3'	안티센스 서열
168	1825	5'-TGGGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
169	1825	5'-GTGGGTGATTGTGAC-3'	안티센스 서열
176	1827	5'-GTGTGGGTGATTGTG-3'	안티센스 서열
181	1898	5'-GTAGAAGTTGAGTT-3'	안티센스 서열
182	1898	5'-TGTAAGTTGAGTT-3'	안티센스 서열
213	2061	5'-AGAGAAGGTAGCAC-3'	안티센스 서열
214	2061	5'-GAGAGAAGGTAGCAC-3'	안티센스 서열
215	2062	5'-GAGAGAAGGTAGCA-3'	안티센스 서열
216	2063	5'-GAGAGAAGGTAGC-3'	안티센스 서열
221	2215	5'-TTGTCCCCTGCTG-3'	안티센스 서열
224	2216	5'-CTTGTCCCCTGCT-3'	안티센스 서열
249	2393	5'-AAGATGGCAGCAGAGC-3'	안티센스 서열
250	2394	5'-AAAGATGGCAGCAGAG-3'	안티센스 서열
254	2396	5'-ACAAAGATGGCAGCAG-3'	안티센스 서열
257	2668	5'-TACAGCACCACAAA-3'	안티센스 서열
260	2670	5'-CTACAGCACCACA-3'	안티센스 서열
261	3006	5'-GTCCATCACAGTAA-3'	안티센스 서열

[0044]

[0045]

본 발명의 올리고머는 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산 (예컨대, SEQ ID NO: 263)의 동등한 대역과 완전히 상보적인 (완벽하게 상보적인) 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이들로 구성되어 있다. 따라서, 올리고머는 안티센스 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이들로 구성될 수 있다.

[0046]

그러나, 몇 가지 실시상태에서, 이 올리고머는 표적 서열에 혼성화할 때 1, 2, 3, 또는 4개 (또는 그 이상)의 미스매치를 관용할 수 있으며 표적에 충분히 결합하여, 소망되는 효과, 즉, 표적을 하향조절하는 효과를 나타낼 수 있다. 미스매치는 예컨대 뉴클레오타이드 서열 내에 존재하는, LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체의 수의 증가 및/또는 올리고머 뉴클레오타이드 서열의 길이의 증가에 의해 상쇄될 수 있다.

[0047]

몇 가지 실시상태에서, 상기 인접한(contiguous) 뉴클레오타이드 서열은 표적 서열에, 예컨대, 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산의 대응하는 대역에 혼성화할 때 미스매치를 3개 이하, 예컨대 2개 이하로 함유한다.

[0048]

몇 가지 실시상태에서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 표적 서열에, 예컨대, 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산의 대응하는 대역에 혼성화할 때 미스매치를 1개 이하로 함유한다.

[0049]

본 발명의 올리고머의 뉴클레오타이드 서열 또는 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NOS: 1 - 262로 이루어진 군으로부터 선택된 대응하는 서열과, 바람직하게는 적어도 80%, 예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 예컨대 100% 상동적인(동일한) 것이 바람직하다.

[0050]

본 발명의 올리고머의 뉴클레오타이드 서열 또는 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 263에 존재하는 대

응하는 서열의 역보체와 적어도 80% 상동적인 것, 예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 예컨대 100% 상동적인(동일한) 것이 좋다.

- [0051] 본 발명의 올리고머의 뉴클레오타이드 서열 또는 인접한 뉴클레오타이드 서열은 바람직하게는 SEQ ID NO: 263에 존재하는 서브서열과 바람직하게는 적어도 80% 상보적인 것, 예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96% 상보적인 것, 예컨대 100% 상보적인 것(완벽하게 상보적인 것)이 좋다.
- [0052] 몇 가지 실시상태에서 올리고머(또는 그의 인접한 뉴클레오타이드 부분)는 SEQ ID NOS: 1, 2, 3, 4, 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, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 또는 그의 적어도 10개의 인접한 뉴클레오타이드 길이의 서브서열로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서, 상기 올리고머 (또는 그의 인접한 뉴클레오타이드 부분)는 상기 서열과 비교할 때, 임의로 1개, 2개 또는 3개의 미스매치를 포함할 수 있다.
- [0053] 몇 가지 실시상태에서, 상기 서브서열은 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 또는 29개의 인접한 뉴클레오타이드, 예컨대 12-22개, 예컨대 12-18개의 뉴클레오타이드들로 구성될 수 있다. 적절하게는, 몇 가지 실시상태에서, 상기 서브서열은 본 발명의 올리고머의 인접한 뉴클레오타이드 서열과 동일한 길이를 갖는 것이 적합하다.
- [0054] 그러나, 몇 가지 실시상태에서는 올리고머의 본 발명의 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 부가적인 5' 또는 3' 뉴클레오타이드, 예컨대 표적 서열에 대해 상보적이지 않은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 부가적인 뉴클레오타이드 5' 및 / 또는 3'을 독립적으로 함유할 수도 있는 것으로 이해된다. 이와 관련하여, 본 발명의 올리고머는 몇 가지 실시상태에서, 부가적인 뉴클레오타이드에 의해 플랭킹된(flanked) 5' 및 3'의 인접한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것일 수 있다. 몇 가지 실시 상태에서, 상기 부가적인 5' 또는 3' 뉴클레오타이드들은 DNA 또는 RNA와 같은 자연 발생적인 뉴클레오타이드이다. 몇 가지 실시상태에서, 이들 부가적인 5' 또는 3' 뉴클레오타이드는 본 발명에서 갭머(gapmer) 올리고머와 관련하여 대역 D(region D)를 나타낼 수 있다.
- [0055] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:264에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0056] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:265에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0057] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:266에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0058] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:267에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0059] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:268에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0060] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:269에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을 포함하거나 이들 서열로 구성된다.
- [0061] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 SEQ ID NO:270에 따른 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 서브서열을

214, 249, 250 및 254 중 어느 하나이다.

[0083] 본 발명의 올리고머 (또는 인접한 뉴클레오타이드 서열)와 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산 또는 그의 역보체, 예컨대, 본 발명에 개시된 것들 간으 "상동성(homology)"을 측정함에 있어서, 이러한 상동성은 본 발명의 화합물의 대응하는 뉴클레오타이드 서열을, 포유동물의 mtGPAT1을 코딩하는 핵산 (또는 표적 핵산)의 상응하는 대역에 대하여 단순 정렬시킴으로써 결정할 수 있으며, 상동성은 염기 갯수를 계수하여, 이를 본 발명의 화합물 중의 인접한 뉴클레오타이드의 총 갯수로 나눈 다음, 100을 곱하여 구한다. 이와 같은 비교에서, 갭(gap)이 존재할 경우, 이러한 갭은 단순한 미스매치인 편이, 본 발명의 뉴클레오타이드 서열과 표적 핵산의 뉴클레오타이드 서열 간의 갭 내의 뉴클레오타이드의 수가 다른 영역인 경우보다 바람직하다.

[0084] "대응하는/상응하는" 및 "대응하다/상응하다"라는 표현은 올리고머 또는 인접한 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 서열 (제1서열)과, i) SEQ ID NO: 263과 같은 mtGPAT1 단백질을 코딩하는 mRNA와 같은 핵산 표적의 역보체의 서브서열, 및/또는 ii) SEQ ID NOS: 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 및 290으로 이루어진 군과 같은, 본 발명에 제시된 뉴클레오타이드 서열 중에서 선택된 부가적인 서열의 동등한 인접 뉴클레오타이드 서열 간의 비교와 관련하여 사용되는 용어이다. 뉴클레오타이드 유사체를, 이들과 동등한 또는 대응하는 뉴클레오타이드와 직접 비교한다. 상기한 i) 또는 ii)의 부가적인 서열에 상응하는 제1서열은 일반적으로, 제1 서열(예컨대 인접한 뉴클레오타이드 서열과 같은 서열) 전장에 걸쳐 상기 서열과 동일하거나, 또는, 본 발명에 개시된 바와 같이, 몇 가지 실시상태에서, 대응하는 서열에 대해 적어도 80%, 예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96% 상동성이며, 예컨대 100% 상동적이다 (동일하다).

[0085] "대응하는 뉴클레오타이드 유사체" 및 "대응하는 뉴클레오타이드"라는 용어는 뉴클레오타이드 유사체 중의 뉴클레오타이드와 자연 발생적인 뉴클레오타이드가 서로 동일한 경우를 가리키는 것이다. 예컨대, 뉴클레오타이드의 2-데옥시리보스 유닛이 아데닌에 결합된 경우, "대응하는 뉴클레오타이드 유사체"는 아데닌에 결합된 오탄당 유닛 (2-데옥시리보오스와 다름)을 함유한다.

[0086] **길이**

[0087] 본 발명의 올리고머는 총 길이 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 인접한 뉴클레오타이드로 된 인접한 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이러한 서열로 구성된다.

[0088] 몇 가지 실시상태에서, 이 올리고머는 총 길이가 10 - 22개, 예컨대 12 - 18개, 예컨대 13 - 17개 또는 12 - 16개, 예컨대 13, 14, 15, 16개인 인접한 뉴클레오타이드로 된 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이러한 서열로 구성된다.

[0089] 몇 가지 실시상태에서, 이 올리고머는 총 길이가 10, 11, 12, 13, 또는 14개인 인접한 뉴클레오타이드로 된 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이러한 서열로 구성된다.

[0090] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명에 따른 올리고머는 22개 이하의 뉴클레오타이드, 예컨대 20개 이하의 뉴클레오타이드, 예컨대 18개 이하의 뉴클레오타이드, 예컨대 15개, 16개 또는 17개의 뉴클레오타이드로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 본 발명의 올리고머는 20개 미만의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0091] **뉴클레오타이드 유사체**

[0092] 본 발명에서 "뉴클레오타이드"라는 용어는 당 모이어티(sugar moiety), 염기 모이어티 및 예컨대 포스페이트 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간(internucleotide) 결합기와 같은 공유 결합기를 포함하는 글리코사이드를 칭하는 용어로서, 이 용어는 DNA 또는 RNA와 같은 자연 발생적인 뉴클레오타이드는 물론, 본 발명에서 "뉴클레오타이드 유사체"라고도 칭해지는 변형된 당 및/또는 염기 모이어티를 포함하는 자연 발생적이지 않은 뉴클레오타이드도 모두 포괄한다. 본 발명에서, 단일 뉴클레오타이드(유닛)은 또한 모노머 또는 핵산 유닛이라고 칭하기도 한다.

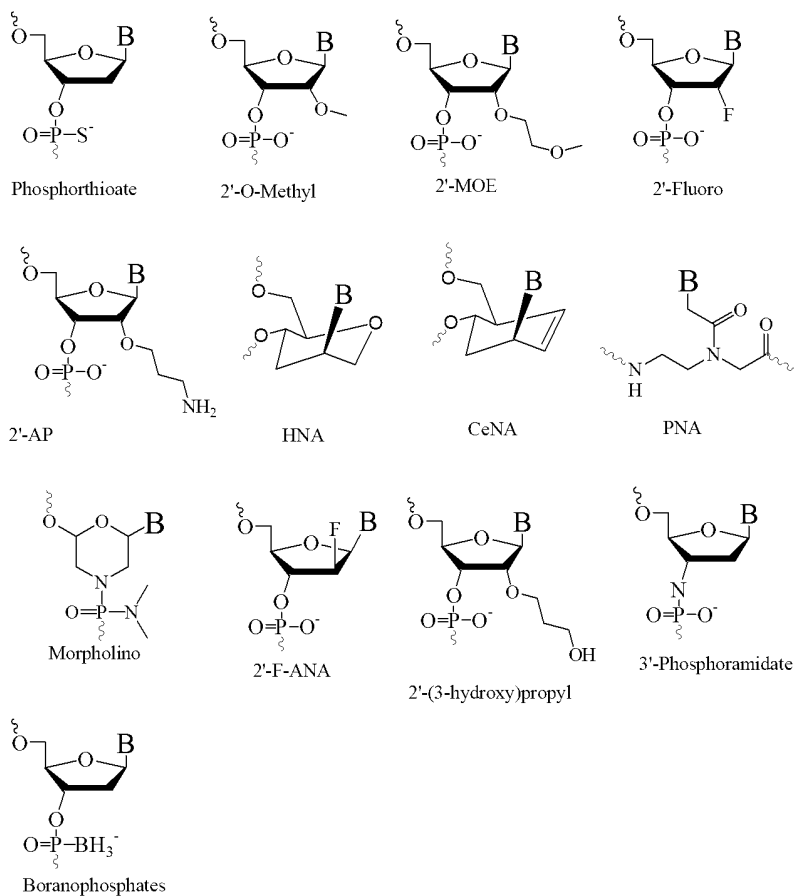
[0093] 생화학 분야에서, "뉴클레오사이드"라는 용어는 흔히, 당 모이어티와 염기 모이어티를 포함하는 글리코사이드를 칭할 때 사용되는 용어이며, 따라서, 뉴클레오타이드 유닛이라 하면, 올리고머의 뉴클레오타이드들 간의 인트뉴클레오타이드 결합에 의해 공유적으로 결합되는, 뉴클레오타이드 유닛을 칭하는데 이용될 수 있다.

[0094] 본 발명이 속한 기술 분야의 숙련된 자라면 쉽게 이해할 수 있는 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드의 5' 뉴클레오타이드는 5' 말단기를 포함할수도, 포함하지 않을 수도 있지만, 5' 인트뉴클레오타이드 결합기를 포함하지는

않는다.

[0095] 자연 발생적이지 않은 뉴클레오타이드들로는 바이시클릭 뉴클레오타이드 또는 2' 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 2' 치환된 뉴클레오타이드와 같은, 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드를 들 수 있다.

[0096] "뉴클레오타이드 유사체"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드와 같은 자연적인 뉴클레오타이드에서 당 및/또는 염기 모이어티가 변형됨에 따른 변이체이다. 이러한 유사체들은 이론적으로, 해당 올리고뉴클레오타이드의 천연 뉴클레오타이드와 "동등"하거나 또는 단순히 "사일런트"한 것일 수 있어서, 즉, 그 올리고뉴클레오타이드가 표적 유전자 발현을 억제하는 방식에 아무런 기능적 영향도 미치지 않을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 이러한 "동등한" 유사체가 제조하기 더 쉽거나, 제조 단가가 더 저렴한 경우, 또는 보관시 더 안정하거나 또는 제조 조건 하에서 더 안정한 경우, 또는 태그 또는 라벨을 나타낼 경우에는, 유용할 수 있다. 그러나, 바람직하기로는, 이러한 유사체는 예컨대, 표적에 대한 결합 친화도를 증가시키고/증가시키거나 세포내 뉴클리아제에 대한 내성을 증가시키고/증가시키거나 세포 내로의 운반능을 증가시킴으로써, 해당 올리고머가 (표적 유전자의) 발현을 억제하는 방식에 영향을 미치는 것이 좋다. 뉴클레오타이드 유사체의 특정한 예는 예컨대 문헌 [Freier & Altmann; *Nucl. Acid Res.*, 1997, 25, 4429-4443 및 Uhlmann; *Curr. Opinion in Drug Development*, 2000, 3(2), 293-213] 및 반응식 1에 설명되어 있다:



[0097]

[0098] 반응식 1

[0099] 따라서 본 발명의 올리고머는 자연 발생적인 뉴클레오타이드 - 바람직하게는 2'-데옥시뉴클레오타이드 (본 발명에서 일반적으로 "DNA"라고 칭함)와 같은 단순 서열 뿐만 아니라, 가능하게는 리보뉴클레오타이드 (본 발명에서 일반적으로 "RNA"라고 칭함), 또는 이러한 자연 발생적인 뉴클레오타이드와 자연 발생적이지 않은 뉴클레오타이드, 즉 뉴클레오타이드 유사체와의 조합체(combination)를 포함하거나 이들로 구성될 수도 있다. 이러한 뉴클레오타이드 유사체는 표적 서열에 대한 올리고머의 친화도를 증강시킬 수 있는 것이 적합하다.

[0100] 적합하고 바람직한 뉴클레오타이드 유사체들이 PCT/DK2006/000512에 예시되어 있거나 상기 문헌에 인용되어 있다.

[0101] LNA 또는 2'-치환된 당과 같이, 올리고머 내에 친화성을 증강시키는 뉴클레오타이드들이 혼입되면 특이적으로 결합하는 올리고머의 크기를 감소시킬 수 있고, 이에 따라, 일탈적인 결합이 일어나기 전에, 올리고머의 크기에

대한 상한을 감소시킬 수도 있다.

- [0102] 몇 가지 실시 상태에서, 올리고머는 적어도 2개의 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇 가지 실시상태에서, 올리고머는 3-8개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 6 또는 7개의 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 가장 바람직한 실시 상태에서, 상기 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 하나는 잠금 핵산(LNA: locked nucleic acid)이며; 예컨대, 상기 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 3개 또는 적어도 4개, 또는 적어도 5개, 또는 적어도 6개 또는 적어도 7개 또는 8개는 LNA 일수 있다. 몇 가지 실시상태에서는 모든 뉴클레오타이드 유사체가 LNA일 수 있다.
- [0103] 뉴클레오타이드만으로 구성된 바람직한 뉴클레오타이드 서열 모티프 또는 뉴클레오타이드 서열이라고 할 때, 그 서열에 의하여 정의되는 본 발명의 올리고머들은 상기 서열 중에 존재하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 대신, 대응하는 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA 유닛이나 또는 올리고머/표적 듀플렉스의 듀플렉스 안정성/ T_m 을 상승시키는 다른 뉴클레오타이드 유사체 (즉, 친화성을 증강시키는 뉴클레오타이드 유사체)를 함유할 수 있다.
- [0104] 몇 가지 실시상태에서, 올리고머와 표적 서열의 뉴클레오타이드 서열 간의 여하한 미스매치는 본 발명에서 대역 B라 및/또는 대역 D와 같은 친화성 증강 뉴클레오타이드 유사체의 외부 대역, 및 또는 올리고뉴클레오타이드 중 DNA 뉴클레오타이드와 같은 비변형 대역, 및/또는 인접한 뉴클레오타이드 서열에 대하여 5' 또는 3'인 대역들에서 발견되는 것이 더 좋다.
- [0105] 뉴클레오타이드의 이러한 변형의 예로는 당 모이어티를 변형시켜 2'-치환기를 제공하거나, 결합 친화성을 증강시켜 뉴클리아제 내성을 증강시킬 수도 있는 브릿지 (잠금 핵산) 구조를 생산하는 것을 들 수 있다.
- [0106] 바람직한 뉴클레오타이드 유사체로는 LNA, 예컨대 옥시-LNA (예컨대 베타-D-옥시-LNA, 및 알파-L-옥시-LNA), 및/또는 아미노-LNA (예컨대 베타-D-아미노-LNA 및 알파-L-아미노-LNA) 및/또는 티오-LNA (예컨대 베타-D-티오-LNA 및 알파-L-티오-LNA) 및/또는 ENA (예컨대 베타-D-ENA 및 알파-L-ENA)를 들 수 있다. 가장 바람직한 것은 베타-D-옥시-LNA이다.
- [0107] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머에 제시되는 뉴클레오타이드 유사체들 (예컨대 상술한 대역 A 및 C에서와 같이)은 예컨대: 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA 유닛, 아라비노 핵산 (ANA) 유닛, 2'-플루오로-ANA 유닛, HNA 유닛, INA (인터컬레이팅 핵산 - Christensen, 2002. Nucl. Acids. Res. 2002 30: 4918-4925, 본 명세서에 참고로 그 내용이 인용된다) 유닛 및 2'MOE 유닛 중에서 각각 독립적으로 선택된다. 몇 가지 실시 상태에서는, 본 발명의 올리고머에 제시된 뉴클레오타이드 유사체들의 전술한 유형들 중 오직 하나만이 있는 경우도 있다.
- [0108] 몇 가지 실시상태에서 뉴클레오타이드 유사체는 2'-O-메톡시에틸-RNA (2'MOE), 2'-플루오로-DNA 모노머 또는 LNA 뉴클레오타이드 유사체이며, 그에 따라, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 이들 유형의 유사체로부터 독립적으로 선택되거나, 세 가지 유형들 중에서 선택된 오직 하나의 유형의 유사체만을 함유할 수도 있다. 몇 가지 실시상태에서, 상기 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 하나는 2'-MOE-RNA이며, 예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 2'-MOE-RNA 뉴클레오타이드 유닛일 수 있다. 몇 가지 실시상태에서 상기 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 하나, 예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개는 2'-플루오로 DNA 유닛이다.
- [0109] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명에 따른 올리고머는 적어도 1개, 예컨대, as 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 잠금 핵산(LNA) 유닛, 예컨대 3 - 7개 또는 4 내지 8개의 LNA 유닛, 또는 3, 4, 5, 6 또는 7개의 LNA 유닛을 포함한다. 몇 가지 실시상태에서는, 모든 뉴클레오타이드 유사체들이 LNA이다. 몇 가지 실시상태에서는, 올리고머는 베타-D-옥시-LNA와 다음의 LNA 중 하나 이상의 두 가지를 모두 포함할 수 있다: 베타-D 또는 알파-L 배열 중 어느 하나 또는 이들의 조합형으로 존재하는 티오-LNA, 아미노-LNA, 옥시-LNA, 및/또는 ENA. 몇 가지 실시상태에서 모든 LNA 시토신 유닛은 5'-메틸-시토신이다. 본 발명의 몇 가지 실시상태에서, 올리고머는 LNA 유닛과 DNA 유닛의 두 가지를 모두 포함할 수 있다. 바람직하게는, LNA 유닛과 DNA 유닛의 조합의 총합은 10-25개, 바람직하게는 10-20개, 더욱 바람직하게는 12-16개인 것이 좋다. 본 발명의 몇 가지 실시상태에서, 올리고머의 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 인접한 뉴클레오타이드 서열은 적어도 한개의 LNA로 구성되며 나머지 뉴클레오타이드 유닛들은 DNA 유닛이다. 몇 가지 실시상태에서 올리고머는 LNA 뉴클레오타이드 유사체와 자연 발생적인 뉴클레오타이드 (예컨대 RNA 또는 DNA, 가장 바람직하게는 DNA 뉴클레오타이드)만을 포함하며, 임의로 포스포로티오에이트와 같은 변형된 인터뉴클레오타이드 결합을 가질 수 있다.
- [0110] "뉴클레오베이스"라는 용어는 뉴클레오타이드의 염기 모이어티를 가리키며 자연 발생적인 변이체와 자연 발생적이지 않은 변이체에 대한 것 모두를 포괄한다. 따라서, "뉴클레오베이스"는 공지의 퓨린 및 피리미딘 헤테로사

이들 뿐만 아니라, 헤테로사이클계 유사체와 그의 호변이성체도 포괄한다.

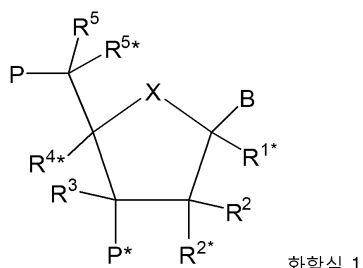
[0111] 뉴클레오베이스의 비제한적인 예로는, 아데닌, 구아닌, 시토신, 티미딘, 우라실, 잔틴, 하이포잔틴, 5-메틸시토신, 이소시토신, 슈도이소시토신, 5-브로모우라실, 5-프로피닐우라실, 6-아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 이노신, 디아미노퓨린, 및 2-클로로-6-아미노퓨린을 들 수 있다.

[0112] 몇 가지 실시상태에서, 올리고머 중에 존재하는 뉴클레오베이스들 중 적어도 하나는 5-메틸시토신, 이소시토신, 슈도이소시토신, 5-브로모우라실, 5-프로피닐우라실, 6-아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 이노신, 디아미노퓨린, 및 2-클로로-6-아미노퓨린으로 이루어진 군으로부터 선택된 변형된 뉴클레오베이스이다.

[0113] **LNA**

[0114] The "LNA"라는 용어는 "잠금 핵산"으로 알려져 있는, 바이시클릭 뉴클레오타이드 유사체를 가리킨다. 이것은 LNA 모노머를 가리킬 수도 있고, "LNA 올리고뉴클레오타이드"라는 맥락으로 사용될 경우, LNA는 하나 이상의 바이시클릭 뉴클레오타이드 유사체를 함유하는 올리고뉴클레오타이드를 가리키는 것이다. LNA 뉴클레오타이드는 리보오스 당환의 C2'와 C4' 사이의 바이래디칼 "브릿지" - 예컨대 후술하는 바이래디칼 $R^{4*} - R^{2*}$ 에 도시된 바와 같은, 바이래디칼 브릿지를 가짐을 특징으로 한다.

[0115] 본 발명의 올리고뉴클레오타이드에 사용되는 LNA는 다음 화학식 1의 구조를 갖는 것이 바람직하며, 그의 염기성 염 및 산부가염도 포함된다:



[0116] 식 중, 모든 키랄 중심에서, 비대칭기들은 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다;

[0118] X는 -O-, -S-, -N(R^{N*})-, -C(R⁶R^{6*})-으로부터 선택되며, 예컨대, 몇 가지 실시상태에서 X는 -O-이다;

[0119] B는 수소, 임의로 치환된 C₁₋₄-알콕시, 임의로 치환된 C₁₋₄-알킬, 임의로 치환된 C₁₋₄-아실옥시, 자연 발생적인 것을 비롯한 뉴클레오베이스 및 뉴클레오베이스 유사체, DNA 인터칼레이터, 광화학적 활성화기, 열화학적 활성화기, 킬레이팅기, 리포터기 및 리간드로부터 선택된다;

[0120] P는 인접 모노머에 대한 인터뉴클레오타이드 결합, 또는 5'-말단기, 예컨대 R⁵ 또는 균등하게 적용가능한 치환기 R^{5*}를 임의로 포함하는 인터뉴클레오타이드 결합 또는 5'-말단기를 표시한다;

[0121] P*는 인접 모노머에 대한 인터뉴클레오타이드 결합, 또는 3'-말단기를 나타낸다;

[0122] R^{4*} 및 R^{2*}는 함께 -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)-, 및 >C=Z 중에서 선택된 1 내지 4개의 기(groups)/원자들로 구성된 바이래디칼을 나타내는데, 여기서 Z는 -O-, -S-, 및 -N(R^a)- 중에서 선택되는 것이고, R^a 및 R^b는 수소, 임의로 치환된 C₁₋₁₂-알킬, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알케닐, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알키닐, 히드록시, 임의로 치환된 C₁₋₁₂-알콕시, C₂₋₁₂-알콕시알킬, C₂₋₁₂-알케닐옥시, 카르복시, C₁₋₁₂-알콕시 카르보닐, C₁₋₁₂-알킬카르보닐, 포르밀, 아릴, 아릴옥시-카르보닐, 아릴옥시, 아릴카르보닐, 헤테로아릴, 헤테로-아릴옥시-카르보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카르보닐, 아미노, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노, 카르바모일, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)-아미노-카르보닐, 아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, C₁₋₆-알킬-카르보닐아미노, 카르바미도, C₁₋₆-알카노일옥시, 설포노, C₁₋₆-알킬설포닐옥시, 니트로, 아지도, 설퍼닐, C₁₋₆-알킬티오, 할로젠, DNA 인터칼레이터, 광화학적 활성화기, 열화학적 활성화기, 킬레이팅기, 리포터기 및 리간드 중에서 각각 독립적으로 선택되고, 여기서, 아릴 및 헤테로아릴은 임의로 치환되어도

중으며, 두개의 제미날(geminal) 치환기들인 R^a 와 R^b 는 함께 임의로 치환된 메틸렌 ($=CH_2$)을 나타낼 수 있고, 여기서, 모든 키랄 중심에서, 비대칭성 기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다;

[0123]

존재하는 치환기 R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} , R^6 및 R^{6*} 각각은, 임의로 치환된 C_{1-12} -알킬, 임의로 치환된 C_{2-12} -알케닐, 임의로 치환된 C_{2-12} -알키닐, 히드록시, C_{1-12} -알콕시, C_{2-12} -알콕시알킬, C_{2-12} -알케닐옥시, 카르복시, C_{1-12} -알콕시 카르보닐, C_{1-12} -알킬카르보닐, 포르밀, 아릴, 아릴옥시-카르보닐, 아릴옥시, 아릴카르보닐, 헤테로아릴, 헤테로-아릴옥시-카르보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카르보닐, 아미노, 모노- 및 디(C_{1-6} -알킬)아미노, 카르바모일, 모노- 및 디(C_{1-6} -알킬)-아미노-카르보닐, 아미노- C_{1-6} -알킬-아미노카르보닐, 모노- 및 디(C_{1-6} -알킬)아미노- C_{1-6} -알킬-아미노카르보닐, C_{1-6} -알킬-카르보닐아미노, 카르바미도, C_{1-6} -알카노일옥시, 설푸노, C_{1-6} -알킬설푸닐옥시, 니트로, 아지도, 설파닐, C_{1-6} -알킬티오, 할로젠, DNA 인터칼레이터, 광화학적 활성기, 열화학적 활성기, 킬레이팅기, 리포터기, 및 리간드 중에서 각각 독립적으로 선택되며, 여기서 아릴과 헤테로아릴은 임의로 치환되어도 좋고, 두개의 제미날 치환기들은 함께 옥소, 티옥소, 이미노를 나타내거나 임의로 치환된 메틸렌을 나타내며; 여기서 R^N 은 수소 및 C_{1-4} -알킬 중에서 선택되고, 두개의 인접한 (adjacent), 제미날이 아닌 (non-geminal) 치환기들은 이중 결합을 결과시키는 부가적인 결합을 나타낼 수 있다; R^{N*} 은 존재할 경우, 그리고 바이래디칼과 연관이 없을 경우, 수소 및 C_{1-4} -알킬 중에서 선택된다; 모든 키랄 중심에서, 비대칭기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다.

[0124]

몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*} 는 함께 $C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-$, $C(R^aR^b)-O-$, $C(R^aR^b)-NR^a-$, $C(R^aR^b)-S-$, 및 $C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-O-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 기들로 구성된 바이래디칼을 나타내는데, 여기서 각각의 R^a 및 R^b 는 임의로 독립적으로 선택될 수 있다. 몇 가지 실시상태에서, R^a 및 R^b 는 임의로, 독립적으로 수소 및 C_{1-6} 알킬, 예컨대 메틸, 예컨대 수소로부터 독립적으로 선택될 수 있다.

[0125]

몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} 는 수소, 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 알콕실, 치환된 C_{1-6} 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_{1-6} 아미노알킬 또는 치환된 C_{1-6} 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭 기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다.

[0126]

몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} 는 수소이다.

[0127]

몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 는 독립적으로 수소, 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 알콕실, 치환된 C_{1-6} 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_{1-6} 아미노알킬 또는 치환된 C_{1-6} 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭 기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다.

[0128]

몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 는 수소이다.

[0129]

몇 가지 실시상태에서, R^5 및 R^{5*} 는 독립적으로 각각 H, $-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-O-CH_3$, 및 $-CH=CH_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 적합하게는 몇 가지 실시상태에서, R^5 또는 R^{5*} 중 하나는 수소이고, 다른 기(각각 R^5 또는 R^{5*})는 C_{1-5} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, 치환된 C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 아실 ($-C(=O)-$)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 좋은데; 여기서, 각각의 치환된 기는 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, 치환된 C_{2-6} 알키닐, OJ_1 , SJ_1 , NJ_1J_2 , N_3 , $COOJ_1$, CN , $O-C(=O)NJ_1J_2$, $N(H)C(=NH)NJ_1J_2$ 또는 $N(H)C(=X)N(H)J_2$ 로부터 각각 독립적으로 선택된 치환기에 의하여 일치환(mono substituted) 또는 다치환(poly substituted) 된 것이다 [여기서 X는 O 또는 S이고; J_1 과 J_2 는 각각,

독립적으로, H, C₁₋₆ 알킬, 치환된 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 치환된 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 치환된 C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 아미노알킬, 치환된 C₁₋₆ 아미노알킬 또는 보호기이다]. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 치환된 C₁₋₆ 알킬이다. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 치환된 메틸렌인데, 여기서 바람직한 치환기는 F, NJ₁J₂, N₃, CN, OJ₁, SJ₁, O-C(=O)NJ₁J₂, N(H)C(=NH)NJ, J₂ 또는 N(H)C(O)N(H)J₂로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 기이다. 몇 가지 실시상태에서 각각의 J₁ 및 J₂는, 독립적으로 H 또는 C₁₋₆ 알킬이다. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 메틸, 에틸 또는 메톡시메틸이다. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 메틸이다. 또 다른 실시 상태에서, R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 에틸레닐이다. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 치환된 아실이다. 몇 가지 실시상태에서 R⁵ 또는 R^{5*} 중 하나는 C(=O)NJ₁J₂이다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭기가 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다. 이러한 5' 변형된 바이시클릭 뉴클레오타이드는 WO 2007/134181에 개시되어 있으며, 이 문헌의 내용 전체가 본 발명에 참고로 인용된다.

[0130] 몇 가지 실시상태에서 B는 뉴클레오베이스 유사체 및 자연 발생적인 뉴클레오베이스를 비롯한 뉴클레오베이스이며, 예컨대 퓨린 또는 피리미딘, 또는 치환된 퓨린 또는 치환된 피리미딘, 예컨대 아데닌, 시토신, 티민, 아데닌, 우라실, 및/또는 변형되거나 치환된 뉴클레오베이스, 예컨대 5-티아졸로-우라실, 2-티오-우라실, 5-프로피닐-우라실, 2'티오-티민, 5-메틸 시토신, 5-티오졸로-시토신, 5-프로피닐-시토신, 및 2,6-디아미노퓨린이 이에 속한다.

[0131] 몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*}는 함께 -C(R^aR^b)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-O-, -C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-, -C(R^a)=C(R^b)-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-N(R^c)-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-N(R^e)-, -C(R^aR^b)-N(R^c)-O-, 및 -C(R^aR^b)-S-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-S-로부터 선택된 바이레디칼을 나타내는데, 여기서 R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, 및 R^f는 각각 독립적으로 수소, 임의로 치환된 C₁₋₁₂-알킬, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알케닐, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알키닐, 히드록시, C₁₋₁₂-알콕시, C₂₋₁₂-알콕시알킬, C₂₋₁₂-알케닐옥시, 카르복시, C₁₋₁₂-알콕시카르보닐, C₁₋₁₂-알킬카르보닐, 포르밀, 아릴, 아릴옥시-카르보닐, 아릴옥시, 아릴카르보닐, 헤테로아릴, 헤테로-아릴옥시-카르보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카르보닐, 아미노, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노, 카르바모일, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)-아미노-카르보닐, 아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, C₁₋₆-알킬-카르보닐아미노, 카르바미도, C₁₋₆-알카노일옥시, 설포노, C₁₋₆-알킬설포닐옥시, 니트로, 아지도, 설파닐, C₁₋₆-알킬티오, 할로젠, DNA 인터칼레이터, 광화학적 활성화기, 열화학적 활성화기, 킬레이팅기, 리포터기, 및 리간드로부터 독립적으로 선택되며, 여기서, 아릴 및 헤테로아릴은 임의로 치환되어도 좋은 것이고, 두 개의 제미날 치환기인 R^a 및 R^b는 함께 임의 치환된 메틸렌(=CH₂)을 표시하는 것일 수 있다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭 기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다.

[0132] 또 다른 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*}는 함께 -CH₂-O-, -CH₂-S-, -CH₂-NH-, -CH₂-N(CH₃)-, -CH₂-CH₂-O-, -CH₂-CH(CH₃)-, -CH₂-CH₂-S-, -CH₂-CH₂-NH-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-O-, -CH₂-CH₂-CH(CH₃)-, -CH=CH-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-O-, -CH₂-NH-O-, -CH₂-N(CH₃)-O-, -CH₂-O-CH₂-, -CH(CH₃)-O-, 및 -CH(CH₂-O-CH₃)-O-, 및/또는, -CH₂-CH₂-, 및 -CH=CH- 로부터 선택된 바이레디칼 (2가)를 나타내는 것일 수 있다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭기들은 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다.

[0133] 몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*}는 함께 바이레디칼 C(R^aR^b)-N(R^c)-O-를 나타내는데, 여기서 R^a 및 R^b는 독립적으로 수소, 할로젠, C₁₋₆ 알킬, 치환된 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 치환된 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 또는 치환된 C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 알콕실, 치환된 C₁₋₆ 알콕실, 아실, 치환된 아실, C₁₋₆ 아미노알킬 또는 치환된 C₁₋₆ 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 예컨대 수소를 나타내며; R^c는 수소, 할로젠, C₁₋₆ 알킬, 치환된 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 치환된 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 또는 치환된 C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 알콕실, 치환된 C₁₋₆ 알콕실, 아실, 치환된 아실, C₁₋₆ 아미노알킬 또는 치환된 C₁₋₆ 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 예컨대 수소이다.

[0134] 몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*} 는 함께 바이레디칼 $C(R^a R^b)-O-C(R^c R^d)-O-$ 를 나타내는데, 여기서 R^a , R^b , R^c , 및 R^d 는 독립적으로 수소, 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 알콕실, 치환된 C_{1-6} 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_{1-6} 아미노알킬 또는 치환된 C_{1-6} 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 예컨대 수소이다.

[0135] 몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*} 는 바이레디칼인 $-CH(Z)-O-$ 를 형성하는데, 여기서 Z 는 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, 치환된 C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알키닐, 아실, 치환된 아실, 치환된 아마이드, 티올 또는 치환된 티올로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 각각의 상기 치환된 기들은, 독립적으로, 할로젠, 옥소, 히드록실, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ^3C(=X)NJ_1J_2$ 및 CN [여기서, 각각의 J_1 , J_2 및 J_3 는, 독립적으로, H 또는 C_{1-6} 알킬이고, X 는 O , S 또는 NJ_1 이다]으로부터 독립적으로 선택된 임의의 보호된 치환기에 의해 모노 치환 또는 폴리 치환된다. 몇 가지 실시상태에서 Z 는 C_{1-6} 알킬 또는 치환된 C_{1-6} 알킬이다. 몇 가지 실시상태에서 Z 는 메틸이다. 몇 가지 실시상태에서 Z 는 치환된 C_{1-6} 알킬이다. 몇 가지 실시상태에서 상기 치환기는 C_{1-6} 알콕시이다. 몇 가지 실시상태에서 Z 는 CH_3OCH_2- 이다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭기는 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다. 이러한 바이시클릭 뉴클레오타이드들은 US 7,399,845에 개시되어 있으며, 이 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 참고로 인용된다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} 는 수소이다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 는 수소이고, R^5 , R^{5*} 중 하나 또는 두 개 모두는 상기한 바와 같이, 그리고 WO 2007/134181에 개시된 바와 같은 수소 이외의 기일 수 있다.

[0136] 몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*} 는 함께 브릿지 내에 치환된 아미노기를 포함하는 바이레디칼을 나타내며, 예컨대, R^{4*} 및 R^{2*} 는 바이레디칼인 $-CH_2-N(R^c)-$ [여기서, R^c 는 C_{1-12} 알킬옥시임]를 포함하거나 상기 바이레디칼로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 R^{4*} 및 R^{2*} 는 함께 바이레디칼인 $-Cq_3q_4-NOR-$ 를 표시하는데, 여기서 q_3 및 q_4 는 독립적으로 수소, 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 알콕실, 치환된 C_{1-6} 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_{1-6} 아미노알킬 또는 치환된 C_{1-6} 아미노알킬을 나타내고; 여기서 각각의 치환된 기는, 할로젠, OJ_1 , SJ_1 , NJ_1J_2 , $COOJ_1$, CN , $O-C(=O)NJ_1J_2$, $N(H)C(=NH)NJ_1J_2$ 또는 $N(H)C(=X=N(H)J_2)$ [여기서 X 는 O 또는 S 이고; J_1 및 J_2 는 각각, 독립적으로, H , C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 아미노알킬 또는 보호기임]로부터 독립적으로 선택된 치환기들에 의해 독립적으로 모노 치환 또는 폴리 치환된다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭 기들이 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다. 이러한 바이시클릭 뉴클레오타이드는 WO2008/150729에 개시되어 있으며, 이 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} 는 독립적으로 수소, 할로젠, C_{1-6} 알킬, 치환된 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 치환된 C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐 또는 치환된 C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 알콕실, 치환된 C_{1-6} 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_{1-6} 아미노알킬 또는 치환된 C_{1-6} 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 , R^5 , R^{5*} 는 수소이다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*} , R^2 , R^3 는 수소이고 R^5 , R^{5*} 중 하나 또는 두 개 모두는 전술한 바와 같은 것이고 WO 2007/134181에 기재된 바와 같은 수소 이외의 기이다. 몇 가지 실시상태에서 R^{4*} 및 R^{2*} 는 함께 바이레디칼(2가기)인 $C(R^a R^b)-O-$ 를 표시하는데, 여기서 R^a 및 R^b 는 독립적으로 각각 할로젠, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알키닐, 치환된 C_2-C_{12} 알키닐, C_1-C_{12} 알콕시, 치환된 C_1-C_{12} 알콕시, OJ_1 , SJ_1 , SOJ_1 , SO_2J_1 , NJ_1J_2 , N_3 , CN , $C(=O)OJ_1$, $C(=O)NJ_1J_2$, $C(=O)J_1$, $O-C(=O)NJ_1J_2$, $N(H)C(=NH)NJ_1J_2$, $N(H)C(=O)NJ_1J_2$ 또는 $N(H)C(=S)NJ_1J_2$ 를 나타내거나; 또는 R^a 및 R^b 는 함께 $=C(q_3)(q_4)$ 를 나타내는데; 여기서 q_3 및 q_4 는 각각 독립적으로, H , 할로젠, C_1-C_{12} 알킬 또는 치환된 C_1-C_{12} 알킬을 나타내는 것이고; 상기 각각의 치환된 기는, 독립적으로, mono 또는 poly substituted with substituent groups 독립적으로 selected from 할로젠, C_1-C_6 알킬, 치환된 C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, 치환된 C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 치환된 C_2-C_6 알키닐, OJ_1 ,

SJ₁, NJ₁J₂, N₃, CN, C(=O)OJ₁, C(=O)NJ₁J₂, C(=O)J₁, O-C(=O)NJ₁J₂, N(H)C(=O)NJ₁J₂ 또는 N(H)C(=S)NJ₁J₂으로부터 독립적으로 선택된 치환기에 의해 모노 치환 또는 폴리 치환되며; 상기 각각의 J₁ 및 J₂는, 독립적으로, H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 치환된 C₂-C₆ 알키닐, C₁-C₆ 아미노알킬, 치환된 C₁-C₆ 아미노알킬 또는 보호기이다. 이러한 화합물은 WO2009006478A에 개시되어 있으며, 상기 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다.

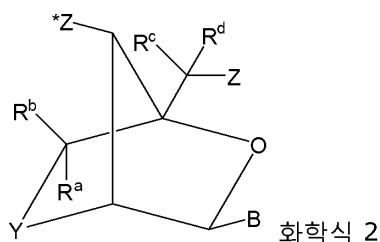
[0137]

몇 가지 실시상태에서, R^{4*} 및 R^{2*}는 바이래디칼 - Q -를 형성하는데, 여기서 상기 Q는 C(q₁)(q₂)C(q₃)(q₄), C(q₁)=C(q₃), C[=C(q₁)(q₂)]-C(q₃)(q₄) 또는 C(q₁)(q₂)-C[=C(q₃)(q₄)]이고; q₁, q₂, q₃, q₄는 독립적으로 각각 H, 할로젠, C₁₋₁₂ 알킬, 치환된 C₁₋₁₂ 알킬, C₂₋₁₂ 알케닐, 치환된 C₁₋₁₂ 알콕시, OJ₁, SJ₁, SOJ₁, SO₂J₁, NJ₁J₂, N₃, CN, C(=O)OJ₁, C(=O)-NJ₁J₂, C(=O) J₁, -C(=O)NJ₁J₂, N(H)C(=NH)NJ₁J₂, N(H)C(=O)NJ₁J₂ 또는 N(H)C(=S)NJ₁J₂를 나타내며; 여기서 각각의 J₁ 및 J₂는 독립적으로, H, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 아미노알킬 또는 보호기를 나타내는 것이고; 임의로, Q가 C(q₁)(q₂)(q₃)(q₄)이고 q₃ 또는 q₄ 중 하나가 CH₃ 이면, 다른 q₃ 또는 q₄ 중 적어도 하나 또는 q₁ 및 q₂ 중 하나는 H가 아니다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*}, R², R³, R⁵, R^{5*}는 수소이다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭기가 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다. 이러한 바이시클릭 뉴클레오타이드는 WO2008/154401에 개시되어 있으며 상기 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*}, R², R³, R⁵, R^{5*}는 독립적으로 수소, 할로젠, C₁₋₆ 알킬, 치환된 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 치환된 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐 또는 치환된 C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 알콕실, 치환된 C₁₋₆ 알콕실, 아실, 치환된 아실, C₁₋₆ 아미노알킬 또는 치환된 C₁₋₆ 아미노알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*}, R², R³, R⁵, R^{5*}는 수소이다. 몇 가지 실시상태에서, R^{1*}, R², R³는 수소이고, R⁵, R^{5*} 중 하나 또는 두 개 모두는 상기한 바와 같이, 그리고 WO 2007/134181 또는 WO2009/067647에 기재된 바와 같이 수소가 아닐 수 있다 (알파-L-바이시클릭 핵산 유사체).

[0138]

몇 가지 실시상태에서 본 발명의 올리고뉴클레오타이드에 사용되는 LNA는 바람직하게는 다음 화학식 2를 갖는 것이 좋다:

화학식 2

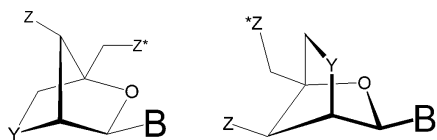


[0139]

[0140]

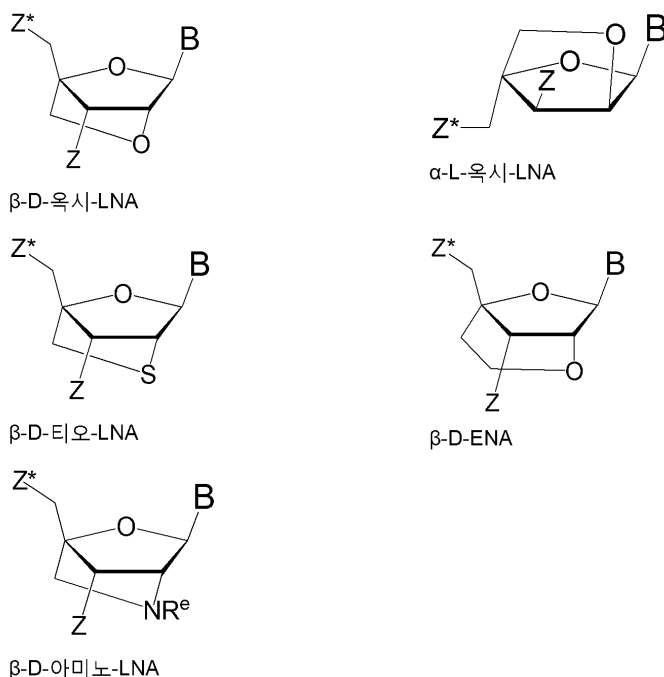
식 중, Y는 -O-, -CH₂O-, -S-, -NH-, N(R^c) 및/또는 -CH₂-이고; Z 및 Z*은 독립적으로 인터뉴클레오타이드 결합, R^H, 말단기 또는 보호기로부터 독립적으로 선택되며; B는 천연 또는 비천연 뉴클레오타이드 염기 모이어티 (뉴클레오베이스)를 구성하고, R^H는 수소 및 C₁₋₄-알킬로부터 선택되며; R^a, R^b, R^c, R^d 및 R^e는, 임의로 독립적으로, 수소, 임의로 치환된 C₁₋₁₂-알킬, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알케닐, 임의로 치환된 C₂₋₁₂-알키닐, 히드록시, C₁₋₁₂-알콕시, C₂₋₁₂-알콕시알킬, C₂₋₁₂-알케닐옥시, 카르복시, C₁₋₁₂-알콕시카르보닐, C₁₋₁₂-알킬카르보닐, 포르밀, 아릴, 아릴옥시-카르보닐, 아릴옥시, 아릴카르보닐, 헤테로아릴, 헤테로-아릴옥시-카르보닐, 헤테로아릴옥시, 헤테로아릴카르보닐, 아미노, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노, 카르바모일, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)-아미노-카르보닐, 아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, 모노- 및 디(C₁₋₆-알킬)아미노-C₁₋₆-알킬-아미노카르보닐, C₁₋₆-알킬-카르보닐아미노, 카르바미도, C₁₋₆-알카노일옥시, 설포노, C₁₋₆-알킬설포닐옥시, 니트로, 아지도, 설파

닐, C₁₋₆-알킬티오, 할로젠, DNA 인터칼레이터, 광화학적 활성화기, 열화학적 활성화기, 킬레이팅기, 리포터기, 및 리간드로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 아릴 및 헤테로아릴은 임의로 치환되어도 좋고, 여기서 두 개의 제미날 치환기 R^a 및 R^b는 함께 임의로 치환된 메틸렌(=CH₂)을 표시할 수 있으며; R^h는 수소 및 C₁₋₄-알킬로부터 선택된다. 몇 가지 실시상태에서 R^a, R^b, R^c, R^d 및 R^e는 수소 및 C₁₋₆ 알킬, 예컨대 메틸로부터 임의로 독립적으로 선택된다. 모든 키랄 중심에서, 비대칭기가 R 또는 S 배향으로 발견될 수 있다. 예컨대, 두 개의 예시적인 입체화학적 이성질체들은 아래와 같이 도시될 수 있는 베타-D 및 알파-L 이소형태를 포함한다:



[0141]

[0142] 예시적인 특정 LNA 유닛은 하기에 표시된 바와 같다:



[0143]

[0144] "티오-LNA"라는 용어에는 상기한 일반식의 Y가 S 또는 -CH₂-S-로부터 선택되는 것인 잠금 뉴클레오타이드가 포함된다. 티오-LNA는 베타-D 및 알파-L- 배열의 두 가지 배열 모두로 존재할 수 있다.

[0145]

"아미노-LNA"라는 용어에는 상기한 일반식의 Y가 -N(H)-, N(R)-, CH₂-N(H)-, 및 -CH₂-N(R)- [여기서 R은 수소 및 C₁₋₄-알킬로부터 선택됨]로부터 선택되는 것인 잠금 뉴클레오타이드가 포함된다. 아미노-LNA는 베타-D 및 알파-L-배열의 두 가지 배열 모두로 존재할 수 있다.

[0146]

"옥시-LNA"라는 용어에는 상기한 일반식의 Y가 -O-를 나타내는 것인 잠금 뉴클레오타이드가 포함된다. 옥시-LNA는 베타-D 및 알파-L-배열의 두 가지 배열 모두로 존재할 수 있다.

[0147]

"ENA"라는 용어에는 상기한 일반식의 Y가 -CH₂-O- (여기서 -CH₂-O-의 산소 원자는 염기 B에 대하여 2'-위치에 결합됨)를 나타내는 것인 잠금 뉴클레오타이드가 포함된다. R^e는 수소 또는 메틸이다.

[0148]

몇 가지 예시적인 실시상태에서 LNA는 베타-D-옥시-LNA, 알파-L-옥시-LNA, 베타-D-아미노-LNA 및 베타-D-티오-LNA로부터 선택되는데, 특히 베타-D-옥시-LNA인 것이 좋다.

[0149]

RNAse 리크루트먼트

[0150]

올리고머 화합물은 번역의 입체 장애나 다른 방법에 의한 것과 같은 표적 mRNA의 비RNAse(non RNAse) 매개형 분

해를 통해 기능할 수도 있다는 것으로 인식되어 있지만, 본 발명의 바람직한 올리고머는 RNase H와 같은 엔도리보뉴클리아제 (RNase)를 리크루팅할 수 있다.

[0151] 올리고머 또는 인접한 뉴클레오타이드 서열은 적어도 6개, 예컨대 적어도 7개의 연속적인 뉴클레오타이드 유닛, 예컨대, 적어도 8개 또는 적어도 9개의 연속적인 뉴클레오타이드 유닛 (잔기), 예컨대 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개의 연속적인 뉴클레오타이드로 된 대역을 포함하며, 이들은 상보적인 표적 RNA와 듀플렉스 형태로서 형성될 경우, RNase를 리크루팅할 수 있다. RNase를 리크루팅할 수 있는 인접한 서열은 본 발명에 설명된 바와 같은 문맥에서 갭머(gapmer)라 칭해진 대역 B일 수 있다. 몇 가지 실시상태에서, RNase를 리크루팅할 수 있는 인접한 서열, 예컨대 대역 B의 크기는 예컨대, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 뉴클레오타이드 유닛처럼 보다 클 수 있다.

[0152] EP 1 222 309에는 RNaseH 활성을 측정하기 위한 시험관내 방법이 설명되어 있는데, 이 방법으로 RNaseH를 리크루트할 수 있는 능력을 측정할 수 있다. EP 1222 309의 실시예 91-95에 설명된 방법론을 이용하여 측정시, 상보적인 RNA 표적이 주어졌을 때, 어떤 올리고머의 pmol/l/min으로 측정되는 초기 비율이 오로지 DNA만을 함유하고, 2' 치환기가 없는 올리고뉴클레오타이드로서 그 올리고뉴클레오타이드 내의 모든 뉴클레오타이드들 사이에 포스포로티오에이트 결합기를 갖는 동등한 올리고뉴클레오타이드에 비해 적어도 1%, 예컨대 적어도 5%, 예컨대 적어도 10% 또는 20% 미만일 경우, 그 올리고머는 RNase H를 리크루트할 수 있는 것으로 고려한다.

[0153] 몇 가지 실시상태에서, EP 1222 309의 실시예 91-95에 설명된 방법론을 이용하여 측정시, 상보적인 RNA 표적 및 RNaseH가 주어졌을 때, 어떤 올리고머의 pmol/l/min으로 측정되는 RNaseH 초기 비율이, 오로지 DNA만을 함유하고, 2' 치환기가 없는 올리고뉴클레오타이드로서 그 올리고뉴클레오타이드 내의 모든 뉴클레오타이드들 사이에 포스포로티오에이트 결합기를 갖는 동등한 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 측정된 초기 비율의 1% 미만, 예컨대 5% 미만, 예컨대 10% 미만 또는 예컨대 20% 미만일 경우, 그 올리고머는 기본적으로 RNase H를 리크루트하지 못하는 것으로 고려한다.

[0154] 또 다른 실시상태에서, EP 1222 309의 실시예 91-95에 설명된 방법론을 이용하여 측정시, 상보적인 RNA 표적 및 RNaseH가 주어졌을 때, 어떤 올리고머의 pmol/l/min으로 측정되는 RNaseH 초기 비율이 오로지 DNA만을 함유하고, 2' 치환기가 없는 올리고뉴클레오타이드로서 그 올리고뉴클레오타이드 내의 모든 뉴클레오타이드들 사이에 포스포로티오에이트 결합기를 갖는 동등한 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 측정된 초기 비율의 적어도 20%, 예컨대 적어도 40%, 예컨대 적어도 60%, 예컨대 적어도 80%이면, 그 올리고머는 RNaseH를 리크루트할 수 있는 것으로 고려한다.

[0155] 일반적으로, 상보적인 표적 RNA와의 듀플렉스로서 형성될 경우 RNase를 리크루팅할 수 있는 연속적인 뉴클레오타이드 유닛을 형성하는 올리고머의 대역은 RNA 표적과 DNA/RNA 유사 듀플렉스를 형성하면서, 알파-L 배열, 바람직하게는 알파-L-옥시 LNA인 LNA 유닛과 DNA 유닛의 두 가지를 모두 포함하는 뉴클레오타이드 유닛으로 구성된다.

[0156] 본 발명의 올리고머는 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 유사체의 두 가지를 모두 포함하며, 갭머(gapmer), 헤드머(headermer) 또는 믹스머(mixmer) 형태로 존재할 수도 있다.

[0157] 헤드머는 5'-말단에 있는 비RNase 리크루팅 뉴클레오타이드 유사체의 인접한 스트레치 구조물과 3'-말단(예컨대 적어도 7개의 그러한 뉴클레오타이드) 쪽으로 RNase에 의해 인식 및 절단가능한 DNA 또는 변형된 뉴클레오타이드 유닛의 인접한 스트레치 구조물을 갖는 것으로 정의되며, 테일머(tailmer)는 5'-말단 (적어도 7개의 그러한 뉴클레오타이드)에서 RNase에 의해 인식 및 절단가능한 DNA 또는 변형된 뉴클레오타이드의 인접한 스트레치 구조물과, 3'-말단 쪽으로 비RNase 리크루팅 뉴클레오타이드 유사체의 인접한 스트레치가 이어지는 구조를 갖는 것으로 정의된다. 믹스머라 칭해지는 본 발명에 따른 다른 키메라는 RNase에 의해 인식 및 절단가능한 DNA 또는 그의 변형된 뉴클레오타이드와 비RNase 리크루팅 뉴클레오타이드 유사체와의 교호적인 조성으로 이루어져 있다. 어떤 뉴클레오타이드 유사체들은 RNaseH 결합 및 절단을 매개할 수도 있다. 알파-L-LNA는 RNaseH 활성을 어느 정도까지 리크루트하기 때문에, 갭머 구축시, RNaseH에 의해 인식 및 절단가능한 DNA 또는 변형된 뉴클레오타이드들이 보다 작은 갭으로 필요로 될 수 있으며, 믹스머 구조물을 더욱 유연하게 만들어줄 수 있다.

[0158] 갭머 디자인

[0159] 바람직하게는, 본 발명의 올리고머는 갭머인 것이 좋다. 갭머 올리고머는 RNaseH와 같은 RNase를 리크루팅할 수 있는 뉴클레오타이드의 연속적인 스트레치를 포함하는 올리고머로서, 예컨대 본 발명에서 대역 B로 칭해지는, 적어도 6개 또는 7개의 DNA 뉴클레오타이드의 대역인데, 여기서 대역 B는 RNase를 리크루팅할 수 있는 뉴클레오

타이드의 인접한 스트레치에 대한 1-6개의 뉴클레오타이드 유사체 5' 및 3'와 같은 친화성 증강 뉴클레오타이드 유사체의 대역에 의해 5'과 3' 모두에서 플랭킹되어 있으며 - 이들 대역들은 각각 대역 A와 대역 C로 칭해진다.

[0160] 종기로는, 캡머는 A-B-C, 또는 임의로 A-B-C-D 또는 D-A-B-C인 식 (5'에서 3'로)의 (폴리)뉴클레오타이드 서열 (여기서: 대역 A (5' 대역)는 적어도 1개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 적어도 1개의 LNA 유닛, 예컨대 1-6개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA 유닛으로 구성되거나 이러한 유닛을 포함하며: 대역 B는 DNA 뉴클레오타이드와 같이, 적어도 5개의 연속적인 RNase를 리크루팅할 수 있는 (mRNA 표적과 같은 상보적인 RNA 분자와의 듀플렉스로서 형성될 경우) 적어도 5개의 연속적인 뉴클레오타이드로 구성되거나 이들을 포함하는 것이고; 대역 C (3' 대역)는 적어도 1개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 적어도 1개의 LNA 유닛, 예컨대 1-6개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA 유닛을 포함하거나 이들로 구성되는 것이고; 대역 D는 존재하는 경우, 1, 2, 또는 3개의 뉴클레오타이드 유닛, 예컨대 DNA 뉴클레오타이드를 포함하거나 이들로 구성된 것이다.

[0161] 몇 가지 실시상태에서, 대역 A는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA 유닛, 예컨대 2-5개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 2-5개의 LNA 유닛, 예컨대 3 또는 4개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 3 또는 4개의 LNA 유닛으로 구성되고; 및/또는 대역 C는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA 유닛, 예컨대 2-5개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 2-5개의 LNA 유닛, 예컨대 3 또는 4개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 3 또는 4개의 LNA 유닛으로 구성된다.

[0162] 몇 가지 실시상태에서 대역 B는 RNase를 리크루팅할 수 있는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 연속적인 뉴클레오타이드, 또는 RNase를 리크루팅할 수 있는 6-10개, 또는 7-9개, 예컨대 8개의 연속적인 뉴클레오타이드로 구성되거나 이를 포함한다. 몇 가지 실시상태에서 대역 B는 적어도 1개의 DNA 뉴클레오타이드 유닛, 예컨대 1-12개의 DNA 유닛, 바람직하게는 4-12개의 DNA 유닛, 더욱 바람직하게는 6-10개의 DNA 유닛, 예컨대 7-10개의 DNA 유닛, 가장 바람직하기로는 8, 9 또는 10개의 DNA 유닛을 포함하거나 이들로 구성되어 있다.

[0163] 몇 가지 실시상태에서 대역 A는 3 또는 4개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA로 구성되어 있고, 대역 B는 7, 8, 9 또는 10개의 DNA 유닛으로 구성되어 있으며, 대역 C는 3 또는 4개의 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 LNA로 구성되어 있다. 이러한 디자인에는 (A-B-C) 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3이 포함되며, 대역 D가 추가될 수 있는데 대역 D는 1 또는 2개의 뉴클레오타이드 유닛, 예컨대 DNA 유닛을 가질 수 있다.

[0164] 추가적인 캡머 디자인들이 W02004/046160에 개시되어 있으며, 이 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다.

[0165] 본 발명에 그 내용 전부가 인용된 미국 가특허출원 60/977409호는 "쇼트머(shotmer)" 캡머 올리고머를 개시하고 있는데, 이것은 몇가지 실시 상태에서 본 발명에 따른 캡머 올리고머일 수 있다.

[0166] 몇 가지 실시상태에서 올리고머는 도합 10, 11, 12, 13 또는 14개의 뉴클레오타이드 유닛으로 된 인접한 뉴클레오타이드 서열로 구성되는데, 여기서 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 A-B-C, 또는 임의로 A-B-C-D 또는 D-A-B-C 형태의 식 (5'-3')을 갖는 것으로서, 여기서; A는 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 LNA 유닛으로 구성되고; B는 상보적인 RNA 분자 (예컨대 mRNA 표적)와 듀플렉스로서 형성될 경우 RNase를 리크루팅할 수 있는 인접한 뉴클레오타이드 유닛 7, 8 또는 9개로 구성되며; C는 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 LNA 유닛으로 구성된다. 존재할 경우, D는 하나의 단일 DNA 유닛으로 구성된다.

[0167] 몇 가지 실시상태에서 A는 1개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 A는 2개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 A는 3개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 C는 1개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 C는 2개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 C는 3개의 LNA 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 B는 7개의 뉴클레오타이드 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 B는 8개의 뉴클레오타이드 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 B는 9개의 뉴클레오타이드 유닛으로 구성된다. 몇 가지 실시상태에서 B는 1 - 9개의 DNA 유닛, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 DNA 유닛을 포함한다. 몇 가지 실시상태에서 B는 DNA 유닛으로 구성되어 있다. 몇 가지 실시상태에서 B는 알파-L 배열의 LNA 유닛을 적어도 1개, 예컨대, 알파-L-배열의 LNA 유닛을 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개 포함한다. 몇 가지 실시상태에서 B는 적어도 1개의 알파-L-옥시 LNA 유닛을 포함하거나 또는 알파-L-배열 중의 모든 LNA 유닛이 알파-L-옥시 LNA 유닛인 경우. 몇 가지 실시상태에서 A-B-C에 존재하는 뉴클레오타이드의 갯수는 (뉴클레오타이드 유사체 유닛 - 대역 B - 뉴클레오타이드 유사체 유닛): 1-8-1, 1-8-2, 2-8-1, 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 4-8-1, 4-8-2, 1-8-4, 2-8-4, 또는; 1-9-1, 1-9-2, 2-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 4-9-1, 1-9-4, 또는; 1-10-1, 1-10-2, 2-10-1, 2-10-2, 1-10-3, 3-10-1로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇 가지 실시상태에서 A-B-C 중의

뉴클레오타이드의 갯수는: 2-7-1, 1-7-2, 2-7-2, 3-7-3, 2-7-3, 3-7-2, 3-7-4, 및 4-7-3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇 가지 실시상태에서 A와 C 두가지 모두는 각각 2개의 LNA 유닛으로 구성되며, B는 8 또는 9개의 뉴클레오타이드 유닛, 바람직하게는 DNA 유닛으로 구성된다.

[0168] **인터뉴클레오타이드 결합(Internucleotide linkages)**

[0169] "결합기(linkage group)" 또는 "인터뉴클레오타이드 결합"이라는 용어는 두 개의 뉴클레오타이드, 두 개의 뉴클레오타이드 유사체, 및 뉴클레오타이드 뉴클레오타이드 유사체 등을 공유적으로 커플링시킬 수 있는 기를 의미한다. 바람직한 특정 예로는 포스페이트기와 포스포로티오에이트기를 들 수 있다.

[0170] 본 발명의 올리고머의 뉴클레오타이드 또는 그의 인접한 뉴클레오타이드 서열들은 결합기를 경유해서 서로 커플링된다. 각각의 뉴클레오타이드는 결합기를 경유해서 3' 인접 뉴클레오타이드에 적절하게 결합된다.

[0171] 적절한 인터뉴클레오타이드 결합의 예로는 PCT/DK2006/000512에 설명된 것을 들 수 있는데, 특히 PCT/DK2006/000512의 34 페이지 첫번째 문단에 기재된 인터뉴클레오타이드 결합들을 예로 들 수 있다 (본 발명에 그 내용이 인용된다).

[0172] 몇 가지 실시상태에서, 인터뉴클레오타이드 결합을 그의 정상적인 포스포디에스테르로부터 뉴클리아제의 공격에 보다 내성을 갖는 형태, 예컨대 포스포로티오에이트 또는 보라노포스페이트로 변형시키는 것이 바람직한데, 이들 후자의 두 가지 형태는 RNase H에 의해 절단가능하므로, 표적 유전자의 발현을 감소시키는 안티센스 억제 경로를 가능케 한다.

[0173] 본 발명에 제시되는 적절한 황(S) 함유 인터뉴클레오타이드 결합들이 바람직할 수 있다. 포스포로티오에이트 인터뉴클레오타이드 결합들 역시 선호되며, 특히 갭머의 갭 대역 (B)가 특히 바람직하다. 포스포로티오에이트 결합은 또한 플랭킹 대역에 사용될 수도 있다 (A와 C, 및 A 또는 C를 D에 결합시키기 위함, 및 대역 D에서는 적절하게).

[0174] 대역 A, B 및 C는 그러나 포스포로티오에이트 이외의 다른 인터뉴클레오타이드 결합, 예컨대 포스포디에스테르 결합을 포함할 수도 있는데, 예컨대, 특히 그러한 뉴클레오타이드 유사체를 사용할 경우 대역 A와 C에서 인터뉴클레오타이드 결합이 엔도-뉴클리아제 분해로부터 보호되는 경우 - 예컨대 대역 A와 C가 LNA 뉴클레오타이드를 포함하는 경우 더욱 그러하다.

[0175] 올리고머 중의 인터뉴클레오타이드 결합들은 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트 또는 보라노포스페이트일 수 있으므로 표적화 RNA의 RNase H 절단이 불가능하다. 향상된 뉴클리아제 내성 및 제조가 용이하다는 등의 다른 장점으로 인해, 포스포로티오에이트가 바람직하다.

[0176] 본 발명의 올리고머의 일 구체예에서, 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체는 포스포로티오에이트기에 의해 서로 결합된다.

[0177] 특히 뉴클레오타이드 유사체 유닛들(일반적으로 대역 A 및/또는 C)의 사이 또는 그에 인접하게, 1개 또는 2개의 포스포디에스테르 결합을 다른(otherwise) 포스포로티오에이트 올리고머 내로 포함시킴으로써, 올리고머의 생체 이용성 및/또는 생체분포를 변형시킬 수 있다 - 본 문에 그 내용이 인용됨 W02008/053314 참조.

[0178] 전술한 바와 같은 몇 가지 실시상태에서 (적합한 경우 그리고 특히 표시하지 않은 경우), 나머지 모든 결합기들은 포스포디에스테르이거나 포스포로티오에이트, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0179] 몇 가지 실시상태에서 모든 인터뉴클레오타이드 결합기들은 포스포로티오에이트이다.

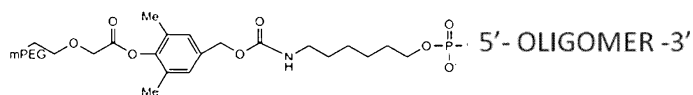
[0180] 본 발명에 제공된 것들과 같은 특정 갭머 올리고뉴클레오타이드 서열을 칭하는 경우, 다양한 실시 상태에서, 결합이 포스포로티오에이트 결합, 교호 결합인 경우, 본 명세서에 개시된 것들, 예컨대 포스페이트(포스포디에스테르) 결합이, 특히 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체 간의 결합에 사용될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 마찬가지로, 본 명세서에 개시된 것과 같은 특정 갭머 올리고뉴클레오타이드 서열을 칭할 때, 여러 실시상태에서 C 잔기는 5'메틸 변형된 시토신을의미하며, 당해 올리고머 내에 존재하는 1개 이상의 C들은 비변형 C 잔기일 수 있다.

[0181] **올리고머 화합물**

[0182] 본 발명의 올리고머 서열은 예컨대 SEQ IDS: 1-262 및 264-290로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0183] **컨쥬게이트**

- [0184] 문맥상 "컨쥬게이트"라는 용어는 본 명세서에 설명된 바와 같은 올리고머를 하나 이상의 비뉴클레오타이드, 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티에 공유 결합 ("컨쥬게이션")시킴으로써 형성되는 이종 분자(heterogenous molecule)를 의미한다. 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티의 예로는 단백질, 지방산 사슬, 당 잔기, 당단백질, 폴리머 또는 이들의 조합물과 같은 고분자(macromolecular) 체제를 들 수 있다. 전형적인 단백질은 표적 단백질에 대한 항체일 수 있다. 전형적인 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다.
- [0185] 따라서, 다양한 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는, 인접한 뉴클레오타이드 서열과, 추가의 비뉴클레오타이드 대역으로 전형적으로 구성되는 폴리뉴클레오타이드 대역을 포함할 수 있다. 인접한 뉴클레오타이드 서열로 구성된 본 발명의 올리고머라 할 때, 이 화합물은 컨쥬게이트 성분과 같은 비뉴클레오타이드 성분을 포함할 수 있다.
- [0186] 본 발명의 여러가지 실시상태에서, 올리고머 화합물은 리간드/컨쥬게이트에 결합되는데 이들은 예컨대 올리고머 화합물의 세포 흡수도를 증가시키는데 이용될 수 있다. WO2007/031091에는 적절한 리간드와 컨쥬게이트가 설명되어 있으며, 상기 문헌은 본 발명에 참고로 인용된다.
- [0187] 본 발명은 또한 본 명세서에 설명된 바와 같은, 본 발명에 따른 화합물, 및 상기 화합물에 공유적으로 결합되어 있는 적어도 1개의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티를 포함하는 컨쥬게이트도 제공한다. 따라서, 본 발명의 화합물이 특정 핵산 또는 뉴클레오타이드 서열로 구성되어 있는 다양한 실시상태에서, 본 발명의 화합물은 또한, 상기 화합물에 공유적으로 결합된 적어도 1개의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티 (예컨대, 하나 이상의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체는 포함하지 않는다)를 포함할 수도 있다.
- [0188] (컨쥬게이트 모이어티에 대한) 컨쥬게이션은 본 발명의 올리고머의 활성, 세포 분포 또는 세포 흡수를 증진시킬 수 있다. 이러한 모이어티의 예로는, 항체, 폴리펩타이드, 지질 모이어티, 예컨대 콜레스테롤 모이어티, 콜산, 티오에테르, 예컨대 핵산-s-트리틸티올, 티오콜레스테롤, 지방 사슬, 예컨대 도데칸디올 또는 운데실 잔기, 인지질, 예컨대, 디-핵사테실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-o-핵사테실-rac-글리세로-3-h-포스포네이트, 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬, 아다만탄 아세트산, 팔미틸 모이어티, 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티를 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다.
- [0189] 본 발명의 올리고머는 또한 약물질, 예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 설파제, 당뇨병약, 항균제 또는 항생제와 컨쥬게이션될 수도 있다.
- [0190] 특정 실시상태에서, 컨쥬게이션된 모이어티는 스테롤, 예컨대 콜레스테롤이다.
- [0191] 다양한 실시상태에서, 컨쥬게이션된 모이어티는 양하전된 폴리머, 예컨대, 길이가 1-50개, 예컨대 2-20개, 예컨대 3-10개의 아미노산 잔기인 양하전된 펩타이드, 및/또는 폴리알킬렌 옥사이드, 예컨대 폴리에틸글리콜(PEG) 또는 폴리프로필렌 글리콜을 포함하거나 이들로 이루어질 수 있다. - WO 2008/034123 참조 (본 명세서에 이 문헌의 내용이 인용됨) 양하전된 폴리머, 예컨대 폴리알킬렌 옥사이드는 WO 2008/034123에 설명된 바와 같은 릴리즈가능한 링커와 같은 링커를 경유하여 적절하게 결합될 수 있다.
- [0192] 예컨대, 본 발명의 컨쥬게이트에는 하기 컨쥬게이트 모이어티들이 사용될 수 있다:



[0193]

[0194] 활성화된 올리고머

- [0195] 본 발명에서 "활성화된 올리고머"라는 용어는 올리고머를 하나 이상의 컨쥬게이션된 모이어티, 즉, 그 자체로는 핵산 또는 모노머가 아닌 모이어티에 공유결합시킴으로써 해서, 본 발명에서 설명된 컨쥬게이트를 형성시킬 수 있는 적어도 1개의 관능성 모이어티(functional moiety)에 공유적으로 결합된 (즉, 관능화된) 올리고머를 가리킨다. 일반적으로, 관능성 모이어티는 예컨대, 또는 아데닌 염기의 엑소시클릭 NH₂기 또는 3'-히드록실기, 바람직하게는 친수성인 스페이서 및 컨쥬게이션된 모이어티에 결합할 수 있는 말단기를 경유하여, 당해 올리고머에 공

유결합할 수 있는 화학기를 포함할 것이다 (예컨대, 아미노기, 설프히드릴기 또는 히드록실기). 몇 가지 실시상태에서, 이 말단기는 보호되지 않으며, 예컨대, NH_2 기이다. 또 다른 실시상태에서, 이 말단기는 예컨대, 문헌 ["Protective Groups in Organic Synthesis" by Theodora W Greene 및 Peter G M Wuts, 3rd edition (John Wiley & Sons, 1999)]에 설명된 것들과 같은 적절한 보호기에 의해 보호된다. 적절한 히드록실 보호기의 예로는 에스테르, 예컨대 아세테이트 에스테르, 아르알킬기, 예컨대 벤질, 디페닐메틸, 또는 트리페닐메틸, 및 테트라히드로피라닐을 들 수 있다. 적절한 아미노 보호기의 예로는, 벤질, 알파-메틸벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, 벤질옥시카르보닐, 3차-부톡시카르보닐, 및 아실기, 예컨대 트리클로로아세틸 또는 트리플루오로아세틸을 들 수 있다. 몇 가지 실시상태에서, 이 관능성 모이어티는 자가 절단성(self-cleaving)이다. 또 다른 실시상태에서, 이 관능성 모이어티는 생분해성이다. 예컨대, 미국특허 No. 7,087,229 참조 [이 문헌은 그 기재 내용 전부가 본 발명에 인용된다].

[0196] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 당해 올리고머의 5' 말단에 컨주게이션된 모이어티를 공유 결합시키기 위하여, 5' 말단에서 관능화된다. 다른 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 3' 말단에서 관능화될 수 있다. 또 다른 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 백본을 따라 또는 헤테로시클릭 염기 모이어티 상에서 관능화될 수 있다. 또 다른 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 5' 말단, 3' 말단, 백본 및 염기로부터 독립적으로 선택되는 두 개 이상의 위치에서 관능화될 수 있다.

[0197] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명의 활성화된 올리고머는 그 합성 과정 중에 관능성 모이어티에 공유적으로 결합되는 하나 이상의 모노머를 혼입시킴으로써 합성한다. 다른 실시상태에서, 본 발명의 활성화된 올리고머는 관능화된 바 없는 모노머로 합성되어, 합성 종료 후에 관능화된다. 몇 가지 실시상태에서, 상기 올리고머는 아미노 알킬 링커를 함유하는 입체장애(hindered) 에스테르에 의해 관능화되는데, 여기서 상기 알킬 부분은 화학식 $(\text{CH}_2)_w$ 으로 표시되고, 이 때, w 는 1 내지 10의 정수, 바람직하게는 약 6이고, 알킬아미노기의 알킬 부분은 직쇄 또는 분지쇄이고, 상기 관능기는 에스테르기 $(-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{NH})$ 를 경유하여 올리고머에 결합된다.

[0198] 또 다른 실시상태에서, 올리고머는 $(\text{CH}_2)_w$ -설프히드릴 (SH) 링커를 함유하는 힌더드 에스테르에 의해 관능화되며, 여기서 w 는 1 내지 10의 정수, 바람직하게는 약 6이고, 상기 알킬아미노기의 알킬 부분은 직쇄 또는 분지쇄이고, 상기 관능기는 에스테르기 $(-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{SH})$ 를 경유하여 올리고머에 결합된다.

[0199] 몇 가지 실시상태에서, 설프히드릴-활성화된 올리고뉴클레오타이드는 폴리에틸렌 글리콜 또는 펩타이드 (디설파이드 결합의 형성을 경유)와 같은 폴리머 모이어티로 컨주게이션된다.

[0200] 전술한 바와 같은 입체장애 에스테르를 함유하는 활성화된 올리고머들은 공지 방법, 특히 PCT 국제공개 No. WO 2008/034122 및 상기 문헌의 실시예에 설명된 방법에 의해 합성될 수 있으며, 상기 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다.

[0201] 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 미국특허 Nos. 4,962,029 및 4,914,210에 실질적으로 설명되어 있는 바와 같은 관능화 시약, 즉, 한쪽 말단에 포스포라미다이트를 가지며 친수성 스페이서 사슬을 통해, 보호 또는 보호되지 않은 설프히드릴, 아미노 또는 히드록실기를 포함하는 반대쪽 말단에 결합된 실질적으로 선형인 시약에 의해 설프히드릴, 아미노 또는 히드록실기를 올리고머 내로 도입함으로써 관능화된다. 이러한 시약은 주로 올리고머의 히드록실기와 반응한다. 몇 가지 실시상태에서, 이러한 활성화된 올리고머는 당해 올리고머의 5'-히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 다른 실시상태에서, 활성화된 올리고머는 3'-히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 또 다른 실시상태에서, 본 발명의 활성화된 올리고머들은 당해 올리고머의 백본 상의 히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 또 다른 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 그 내용 전부가 본 발명에 인용된 미국특허 Nos. 4,962,029 및 4,914,210에 개시된 바와 같은 두 개 이상의 관능화 시약에 의해 관능화된다. 이러한 관능화 시약의 합성 방법 및 이들을 모노머 또는 올리고머에 통합시키는 방법은 미국 특허 Nos. 4,962,029 및 4,914,210에 설명된 바와 같다.

[0202] 몇 가지 실시상태에서, 고체상 결합된 올리고머의 5'-말단을 디에닐 포스포로아미다이트 유도체로 관능화시킨 다음, 탈보호된 올리고머를 딜스-알더 사이클로부가반응을 통해, 예컨대 아미노산 또는 펩타이드로 컨주게이션시킨다.

[0203] 여러 가지 실시상태에서, 예컨대, 2'-카르바메이트 치환된 당 또는 2'-(0-펜틸-N-프탈이미도)-데옥시리보스 당과 같은 2'-당 변형체를 함유하는 모노머를 올리고머 내로 혼입시킴으로써, 컨주게이션된 모이어티를 올리고머의 당에 공유 결합시키는 것을 용이화할 수 있다. 또 다른 실시상태에서, 예컨대, 5'-디메톡시트리틸-2'-0-

(e-프탈이미딜아미노펜틸)-2'-데옥시아데노신-3'--N,N-디이소프로필-시아노에톡시 포스포라미다이트와 같은 시약을 이용하여 하나 이상의 모노머의 2'-위치에 아미노-함유 링커가 있는 올리고머를 제조한다. 예컨대, 문헌 [Manoharan, et al., Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171] 참조.

[0204] 또 다른 실시상태에서, 본 발명의 올리고머는 N6 퓨린 아미노기, 구아닌의 엑소시클릭 N2, 또는 시토신의 N4 또는 5 위치 상을 비롯한 뉴클레오베이스 상에 아민을 함유하는 관능성 모이어티를 가질 수 있다. 다양한 실시상태에서, 이러한 관능화는 올리고머 합성시 이미 관능화된 시판 시약을 이용함으로써 달성할 수도 있다.

[0205] 몇 가지 관능성 모이어티, 예컨대, 헤테로이관능성 및 호모이관능성 결합 모이어티를 Pierce Co. (Rockford, Ill.)사로부터 구득할 수 있다. 시판하는 다른 결합기로는 5'-아미노-Modifier C6 및 3'-아미노-Modifier 시약을 들 수 있는데, 이들 두 가지 모두 Glen Research Corporation (Sterling, Va.)사로부터 구득할 수 있다. 5'-아미노-Modifier C6은 또한 ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.)사로부터 Aminolink-2로서 구득가능하고, 3'-아미노-Modifier 역시 Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.)사로부터 구입가능하다.

[0206] **조성물**

[0207] 본 발명의 올리고머는 의약품 포물레이션 및 조성물로서 이용될 수도 있다. 이러한 조성물은 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 염 도는 아쥬반트를 포함한다. PCT/DK2006/000512는 적절하고 바람직한 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체 및 아쥬반트를 개시하고 있으며, 이 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 인용된다. 적절한 투여량, 포물레이션, 투여 경로, 조성, 투약형태, 다른 치료제와의 병용여부, 전구약물 포물레이션 등 역시 PCT/DK2006/000512에 제공되며, - 이 문헌 역시 본 발명에 그 내용 전부가 인용된다.

[0208] **용도**

[0209] 본 발명의 올리고머는 예컨대 진단, 치료 및 예방을 위한 연구 시약으로서 이용될 수 있다.

[0210] 연구 분야에서, 이러한 올리고머는 세포 및 실험 동물에서 mtGPAT1 단백질의 합성을 특이적으로 억제하여 (일반적으로 mRNA를 분해 또는 억제함으로써 단백질 형성을 억제하는 것에 의함) 치료 개재수단을 위한 표적으로서의 그의 유용성의 평가 또는 표적의 기능적 분석을 용이하게 해준다.

[0211] 진단 분야에서, 본 발명의 올리고머는 노던 블라팅, 인시투 혼성화 또는 유사 기술에 의해 세포와 조직에서의 mtGPAT1 발현을 검출 및 정량하는데 사용될 수 있다.

[0212] 치료 분야에서, mtGPAT1의 발현을 조절함으로써 치료될 수 있는 질병이나 장애를 갖는 것으로 의심되는 동물 또는 인간에게 본 발명에 따른 올리고머 화합물을 투여함으로써 상기 동물 또는 인간을 치료한다. 또한, mtGPAT1의 발현과 연관된 질병 또는 병태에 걸렸거나 걸리기 쉬운 인간과 같은 포유동물에게, 본 발명에 따른 1종 이상의 올리고머 또는 조성물의 치료적 또는 예방적 유효량을 투여함으로써 상기 인간 등의 포유동물을 치료하는 방법도 제공된다.

[0213] 본 발명은 또한 본 발명에 설명된 바와 같은 질병의 치료용 약제를 제조하는데 있어서, 또는 본 발명에 설명된 바와 같은 질병을 치료하기 위한 방법에 사용되기 위한 본 발명의 화합물 또는 컨쥬게이트의 용도도 제공한다.

[0214] 본 발명은 또한 본 발명에 설명된 바와 같은 질병을 치료하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 본 발명에 다른 화합물 및/또는 본 발명에 따른 컨쥬게이트, 및/또는 본 발명에 따른 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어진다.

[0215] **의약 용도**

[0216] 본 발명의 올리고머 및 기타 조성물은 mtGPAT1의 과발현 또는 돌연변이형 발현과 연관된 병태를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0217] 본 발명은 또한 본 발명에 설명된 질환, 병태 또는 질병을 치료하기 위한 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명의 화합물의 용도를 제공한다.

[0218] 일반적으로 말해서, 본 발명의 한가지 구체예는 하나 이상의 LNA 유닛을 포함하는 mtGPAT1에 표적화된 올리고머의 치료적 유효량을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, mtGPAT1의 비정상적인 수준과 연관된 병태에 걸려 있거나 이 병태에 민감한 포유동물을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0219] 본 발명에서 말하는 질병 또는 질환은 몇 가지 실시상태에서 mtGPAT1 유전자, 또는 그의 단백질 산물이 mtGPAT1

과 연관이 있거나 상호반응하는 유전자의 돌연변이와 관련이 있을 수 있다. 따라서, 몇 가지 실시상태에서, 표적 mRNA는 mtGPAT1 서열의 돌연변이 형태이다.

- [0220] 본 발명의 흥미로운 한가지 구체예는 본 발명에 정의된 바와 같은 올리고머(화합물) 또는 본 발명에 정의된 바와 같은 컨주게이트의, 본 발명에 설명된 바와 같은 질병, 병태 또는 질환의 치료를 위한 약제를 제조하는데 있어서의 용도에 관한 것이다.
- [0221] 본 발명의 방법은 바람직하게는 mtGPAT1의 비정상적인 수준에 의해 야기되는 질병을 치료 또는 예방하는데 이용된다.
- [0222] 달리 말하면, 몇 가지 실시상태에서, 본 발명은 mtGPAT1의 비정상적 수준을 치료하기 위한 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명의 올리고머, 본 발명의 컨주게이트 또는 본 발명의 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어진다.
- [0223] 본 발명은 또한 의약으로서 사용되기 위한 본 발명의 올리고머, 조성물 또는 컨주게이트에 관한 것이기도 하다.
- [0224] 본 발명은 또한 mtGPAT1의 비정상적 수준 또는 mtGPAT1의 돌연변이 형태의 발현 (예컨대 대립유전자 변이체, 예컨대, 본 발명에 설명된 질병과 연관된 것)을 치료하기 위한 약제를 제조하는데 있어서의, 본 발명의 화합물, 조성물 또는 컨주게이트의 용도에 관한 것이다.
- [0225] 또한, 본 발명은 본 발명에 언급된 질병 또는 병태에 걸린 대상자를 치료하기 위한 방법에 관한 것이기도 하다.
- [0226] 치료를 필요로 하는 환자는 당해 질병 또는 병태에 걸려있거나 걸릴 위험이 있는 환자이다.
- [0227] 몇 가지 실시상태에서, 본 발명에서 사용되는 "치료"라는 용어는 기존 질환 (예컨대 전술한 질병 또는 질환)을 치료하거나 또는, 질환을 방지, 즉 예방하는 것 모두를 가리킨다. 따라서, 본 발명에서 치료라 함은, 어떤 실시상태에서는 예방적인 것을 가리키기도 한다.
- [0228] **실시상태**
- [0229] 본 발명의 다음의 실시상태는 본 발명에 설명된 다른 실시상태와 병용될 수 있다.
- [0230] 1. 길이가 10-30 뉴클레오타이드이고, 총 10-30개의 뉴클레오타이드로 된 인접한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고머로서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 263 또는 그의 자연 발생적인 변이체와 같은 포유동물의 mtGPAT1 유전자 또는 mRNA의 역보체에 해당하는 대역에 적어도 80% 상동성인 것인 올리고머.
- [0231] 2. 상기 실시상태 1에 있어서, 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 및 290 중 어느 하나의 대응하는 대역과 적어도 80% 상동성인 것인 올리고머.
- [0232] 3. 상기 실시상태 1 또는 2에 있어서, 인접한 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 263의 대응하는 영역의 역보체에 대해 미스매치를 포함하지 않거나, 미스매치를 1개 이하 또는 2개 이하로 포함하는 것인 올리고머.
- [0233] 4. 상기 실시상태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 인접한 뉴클레오타이드 서열로 구성된 것인 올리고머.
- [0234] 5. 상기 실시상태 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 길이가 10-18개의 뉴클레오타이드인 것인 올리고머.
- [0235] 6. 상기 실시상태 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는 것인 올리고머.
- [0236] 7. 상기 실시상태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접한 뉴클레오타이드는 SEQ ID NOs: 1-262 중 어느 하나를 포함하거나 어느 하나로 구성된 것인 올리고머.
- [0237] 8. 상기 실시상태 6 또는 7에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 유사체는 당 변환 뉴클레오타이드, 예컨대, 잠금 핵산 (LNA) 유닛; 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 및 2'-플루오로-DNA 유닛으로 이루어진 군으로부터 선택된 당 변환 뉴클레오타이드와 같은, 당 변환 뉴클레오타이드인 것인 올리고머.
- [0238] 9. 상기 실시상태 6 또는 7에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 유사체는 LNA인 것인 올리고머.
- [0239] 10. 상기 실시상태 6 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 갭머(gapmer)인 것인 올리고머.

- [0240] 11. 상기 실시상태 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 상기 올리고머는 SEQ ID NO: 2, 33, 125, 142, 147, 169, 176, 182, 214, 249, 250 및 254 중 어느 하나인 것인 올리고머.
- [0241] 12. 상기 실시상태 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, mtGPAT1 유전자 또는 mRNA를 발현하는 세포에서의 mtGPAT1 유전자 또는 mRNA의 발현을 억제하는 올리고머.
- [0242] 13. 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 기재된 올리고머와, 상기 올리고머에 공유적으로 결합된 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 모이어티를 포함하여 이루어진 컨쥬게이트.
- [0243] 14. 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 기재된 올리고머, 실시상태 13에 따른 컨쥬게이트 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아쥬반트를 포함하는 의약 조성물.
- [0244] 15. 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 항에 기재된 올리고머 또는 실시상태 13에 따른 컨쥬게이트의 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병에서의 사용을 위한 올리고머.
- [0245] 16. 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 항에 기재된 올리고머 또는 실시상태 13에 따른 컨쥬게이트의 용도.
- [0246] 17. 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)과 같은 질병에 걸린 환자 또는 그러한 질병에 걸릴 위험이 있는 환자에게, 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 항에 기재된 올리고머 또는 실시상태 13에 따른 컨쥬게이트를 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 과체중, 비만, 지방간, 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD), 비알코올성 스테아토헤파티티스(NASH), 인슐린 내성 및 비인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)의 치료 방법.
- [0247] 18. mtGPAT1을 발현하는 세포에서 mtGPAT1을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은 상기 실시상태 1 내지 12 중 어느 하나에 항에 기재된 올리고머 또는 실시상태 13에 따른 컨쥬게이트를 상기 세포에게 투여하여 상기 세포에서 mtGPAT1을 억제하는 것을 포함하여 이루어지는 것인 방법.

도면의 간단한 설명

- [0248] **도 1:** mtGPAT1에 대하여 지향된 일련의 LNA 함유 단일가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드들이 동일한 나노물 범위에서 시험관내에서 효능이 있음을 보여준다. A) mtGPAT1에 지향된 일련의 LNA 함유 안티센스 분자로 지질-보조 형질감염(transfection) 후의, LTK-D2 세포에서의 상대적인 mtGPAT1 mRNA 발현. 도면의 데이터는 mock 형질감염 세포에서의 대응하는 mRNA 비율의 백분율로서 표현된 mtGPAT1/GADPH mRNA 발현의 평균값 \pm SD를 나타낸다. B) mtGPAT1에 지향된 일련의 LNA 함유 안티센스 분자로 지질-보조 형질감염 후의, HuH7 세포에서의 상대적인 mtGPAT1 mRNA 발현. 도면의 데이터는 mock 형질감염 세포에서의 대응하는 mRNA 비율의 백분율로서 표현된 mtGPAT1/GADPH mRNA 발현의 평균값 \pm SD를 나타낸다.

도 2: 암컷 C57BL/6 마우스에 있어서 간의 mtGPAT mRNA 발현의 생체내 하향 조절. 간의 mtGPAT mRNA 발현에 미치는 5 가지의 서로 다른 mtGPAT 안티센스 올리고머, SEQ ID μ g 33, 125, 147, 176, 및 249의 효과를 테스트하였다.

서열번호(SEQUENCE ID)에 관한 간단한 설명:

1-262는 표 1에 제시되어 있다.

263은 실시예 섹션 다음에 나오는 서열목록에 제시되어 있다.

264-290은 표 2에 제시되어 있다.

표 1의 서열들 중에서 특별히 바람직한 것으로 선택된 안티센스 서열들의 목록을 표 3에 제시하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0249] 실시예

- [0250] PCT/EP2007/060703의 실시예 1 및 2에 설명된 방법론을 이용하여 LNA 모노머 및 올리고뉴클레오타이드를 합성하였다.

- [0251] 인간 또는 래트 혈장 중에서의 LNA 올리고뉴클레오타이드의 안정성을 PCT/EP2007/060703의 실시예 4에 설명된 방법론을 이용하여 시험하였다.
- [0252] 시험관내 모델; RNA 추출 및 cDNA 합성은 PCT/EP2007/060703의 실시예 7에 설명된 방법론에 따라 수행하였다.
- [0253] PCT/EP2007/060703의 전술한 실시예들의 내용은 특히 본 발명에 참고 인용된다.
- [0254] **실시예 1: 시험관내 모델: 세포 배양**
- [0255] 표적 핵산 발현에 미치는 안티센스 화합물의 효과는, 표적 핵산이 측정가능한 수준으로 존재하기만 하면, 여하한 다양한 유형의 세포종에서든 테스트할 수 있다. 표적은 이러한 핵산을 코딩하는 일시적으로 또는 안정하게 형질감염시킴으로서, 내인적으로 발현시킬 수 있다.
- [0256] 표적 핵산의 발현은 예컨대, 노던 블랏 분석, 정량적 PCR, 리보뉴클리아제 보호 분석법과 같은 통상적인 측정법을 이용하여 측정가능하다. 다음의 세포 유형들을 설명 목적을 위해 제시하나, 선택된 세포 중에서 표적이 발현되는 한, 다른 종류의 세포들도 사용가능하다.
- [0257] 후술되는 적절한 배지에서 세포를 배양하여 37°C, 95-98% 습도 및 5% CO₂에서 세포를 배양하였다. 세포들을 1주일에 2-3회 계대 배양하였다.
- [0258] LTK-D2: 마우스의 섬유아세포 세포주 LTK-D2를 ATCC로부터 취득하여 10% FBS + Glutamax I + 비필수 아미노산 + 겐타마이신이 보강된 DMEM (Sigma)에서 배양하였다.
- [0259] HuH7: 인간의 간세포주 HuH7를 ATCC로부터 취득하여 및 cultured in with 10% FBS + 글루타맥스 I + 비필수 아미노산 + 겐타마이신이 보강된 Eagle MEM (Sigma)에서 배양하였다.
- [0260] **실시예 2: 시험관내 모델: 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리**
- [0261] 세포 배양 및 형질감염: 2.5×10^5 또는 4×10^5 개의 세포, respectively, were seeded in each well of 6-well plates at 10% FBS, 글루타맥스 I 및 겐타마이신이 보강된 성장 배지 중, 37°C (5% CO₂)에서, 6-웰 플레이트의 각 웰마다 HuH7 또는 LTK-D2 세포를 각각 2.5×10^5 개 또는 4×10^5 개 접종하였다. 세포들이 60-70% 컨플루언시에 달하면, 리포팩타민 2000 (5 µg/ml)을 이용하여 여러가지 농도의 올리고뉴클레오타이드 (0.04 - 25 nM)로 두번째 형질감염시켰다. 형질감염은 기본적으로 문헌 [Dean et al. (1994, JBC 269:16416-16424)]의 방법에 따라 실시하였다. 요약하면, 세포들을 OptiMEM 에서 리포팩타민과 함께 10분간 인큐베이션시킨 다음 웰 1개당 총 부피 0.5 ml 형질감염 믹스가 되도록 올리고뉴클레오타이드를 첨가하였다. 4시간 후, 형질감염 믹스를 제거하고, 세포를 세척한 다음 mRNA 분석 및 단백질 분석하기에 적절한 성장 배지에서 37°C에서 약 20시간 배양하였다. 이어서 단백질 및 RNA 분석을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0262] **실시예 3: 시험관내 및 생체내 모델: 실시간 PCR에 의한 mtGPAT1 발현의 올리고뉴클레오타이드 억제 분석**
- [0263] mtGPAT1 mRNA 수준의 실시간 정량 PCR 분석
- [0264] 처리 및 미처리 샘플 중에서의 상대적인 마우스 mtGPAT1 mRNA 수준을 측정하기 위해, 생성된 cDNA를, 7500Fast PCR system (Applied Biosystems)를 이용하는 정량적 PCR 분석에 이용하였다.
- [0265] MtGPAT1 mRNA 정량은 시판되는 TaqMan 어썬이 및 시약 (Applied Biosystems)을 이용하여 실시하였다. 간단히 설명하면, 최초 표준 cDNA (뉴클리아제를 함유하지 않는 물에 15배 희석) 4 µl를, 0.5 µl 20x 프라이머 프로브 믹스 (mtGPAT1 또는 GAPDH)이 보강된, 6 µl Taqman Fast Universal PCR 마스터 믹스(2x) (Applied Biosystems)에 첨가하였다.
- [0266] 선형 범위 (Ct 대 상대적인 카피 수)의 증폭을 수행하기 위하여, mock 형질감염된 세포 cDNA 반응물 (샘플보다 총 RNA를 2.5배 더 많이 사용)의 2배 cDNA 희석물을 표품으로서 사용하였다. 각각의 샘플은 PCR 프로그램을 이용하여 두번째 분석하였다: 95°C 20초간 이어서 95°C에서 3초, 60°C에서 30초 40 사이클.
- [0267] 서열 검출 소프트웨어 (Applied Biosystems)를 이용하여, 계산된 쓰레쉬홀드 $\Delta\Delta C_t$ 로부터 mtGPAT1 mRNA의 상대적인 양을 구하였다.

- [0268] 분석 결과를 도 1에 도시하였다. 데이터는 mock 형질감염된 세포에 대한 상대적인 하향조절 백분율로서 나타내었다. 실시간 PCR에 의해 전사 안정상태를 모니터링하고 GAPDH 전사 안정 상태로 정규화시켰다.
- [0269] **실시예 4: 생체내 모델; mtGPAT1에 대해 지향된 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리한 후 실험 동물 중에서의 간 지질 함량의 분석**
- [0270] 생체내 실험에서의 평가를 위해 한개 또는 여러개의 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자들을 선택한다. 선택 과정에는 먼저, 해당 분자를 1회분 투약 (전형적으로는 스크리닝 중의 올리고뉴클레오타이드 농도는 5-25 mg/kg임)한 후 mtGPAT1 mRNA의 하향 조절 관점에서 선택된 올리고뉴클레오타이드 분자의 효능을 스크리닝 한 다음, 한 가지 또는 여러 가지의 선택된 올리고뉴클레오타이드 분자에 대한 투여량 반응 연구를 실시하는 것이 포함되나 이에 한정되지 않는다 (여기서 1주일 당 투여량의 농도 및 횟수를 최적화시킴으로써, mtGPAT1 mRNA의 효과적이고도 안정한 하향조절과 그에 대한 상대적인 생물학적 효과를 가능케 하는 최소 농도 및 투여 횟수가 결정된다) (하기 참조).
- [0271] 동물 실험은 C57Bl/6J, NMRI, 또는 기타 지질-감수성 마우스와 같은 여러가지 마우스 스트레인에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 정맥내 또는 피하 주사함으로써 수행하나 이러한 주입 방식으로 한정되는 것은 아니다. 연구 기간 동안 이 동물들에게 표준 사료를 제공하거나 또는 고지방 식이를 제공하거나, 또는 처리 개시 전에 고지방 식이를 제공한 다음, 처리 기간 동안 표준 사료를 제공하였다. 레퍼런스/대조군으로 사용하기 위하여 한 그룹의 동물들은 염수(saline) 처리하였다.
- [0272] 실험 종료 후, 간과 같은 표적 장기를 절개하여 액체 질소에서 불꽃-동결시켰다. 각각의 조직의 분취물을 mtGPAT1 mRNA 및 단백질 발현, 및 다른 관련 단백질의 발현에 대해 분석하였다. 조직의 지질 추출물을 HPTLC (고성능 박층 크로마토그래피) 분석함으로써 지질 축적량(lipid accumulation)을 평가한다. 지질 추출은 잘 수립된 표준 프로토콜 (Blight Dyer lipid extraction)을 이용하여 수행한다. 지질 축적량은 조직 지질 추출물 중의 중성 지질 (트리아실글리세롤, 콜레스테롤 에스테르 및 유리 콜레스테롤)을 정량하고, 지질 함량을 조직 질량 또는 조직 단백질 함량에 대해 정규화시킴으로써 평가한다. 중성 지질의 간 축적량이 대조군보다 높으면 지방간/간 지방증으로 고려한다. 간 지질 축적량은 또한, 조직 절편을, 조직 지질 함량 평가를 위한 잘 수립된 기술인 Oil Red O 염색에 의하여 확인할 수도 있다.
- [0273] **실시예 5: 생체내 모델; mtGPAT1에 대하여 지향된 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리한 후 실험 동물에 있어서의 혈장 지질, 리포단백질, 및 염증성 마커 함량 분석**
- [0274] 이 분석은 실시예 4에 개략된 것과 동일한 실험 동물로부터 수집한 샘플에 대하여 실시한다.
- [0275] 처리 중에, 또는 실험 종료 후에, 시험 동물로부터 얻은 혈장 또는 혈청을 수집하여 직접 분석하거나 또는 프로테아제 억제제 각테일과 혼합하여 분석 전까지 -80°C에서 보관한다. 분취물을, 제조사 지침(ABX Pentra, Horiba, France)에 따른 표준 프로토콜을 이용하여 비색 효소기반 분석법을 이용하여 총콜레스테롤 및 트리글리세라이드 함량을 측정한다. 샘플을 또한 제조사 지침 (Sebia, France)에 따른 표준 프로토콜을 이용하여 리포단백질 지질 분포에 대하여도 분석한다.
- [0276] 조직 중의 지질 축적은 지질 독성의 일부라고도 종종 칭해지는 염증 반응을 개시시킬 수 있다. 혈청/혈장으로의 전염증성 사이토카인의 분비 정량을 조직 염증의 모니터링 수단으로서 이용할 수 있다. 실험 동물로부터의 혈청 또는 혈장 중의 전염증성 및 항염증성 사이토카인 수준을 제조사 지침에 따라, 표준 프로토콜을 이용하여 ELISA 또는 Luminix (Luminix,)법으로 분석한다. 사이토카인 분석에는 TNF-알파, IL-1b, IL-6 및 SAA의 혈장 또는 혈청 농도의 정량도 포함된다.
- [0277] **실시예 6: 암컷 C57BL/6 마우스에서의 간의 mtGPAT mRNA 발현의 생체내 하향 조절**
- [0278] 간의 mtGPAT mRNA 발현에 대한 5 가지 서로 다른 mtGPAT 안티센스 올리고머, SEQ ID μ g 33, 125, 147, 176, 및 249의 효과를 테스트하였다. 암컷 C57BL/6 마우스들에게 제9일 실험 종료 전, 마지막 주사한지 48 시간 후에, 각각의 화합물을 15 mg/kg으로 3회씩 주사하였다 (제0일, 제3일 및 제7일). 간의 mRNA를 분리하고, cDNA 합성 후 mtGPAT1 및 GAPDH를 위한 RT-PCR를 실시하였다. 도 2에 도시된 데이터는 염수가 주사된 대조군 동물에서의

mtGPAT1/GAPDH mRNA 농도에 대한 mtGPAT1/GAPDH mRNA 농도의 백분율로서 표현한다.

[0279] 서열 목록

[0280] SEQ ID NO: 263

[0281] <210> 263

[0282] <211> 6390

[0283] <212> DNA

[0284] <213> homo sapiens

[0285] <400> 2

[0286] 1 gtgcgccact gcagctggca ttggccggga ctggaagtgc gggcttctgc agcagccgaa

[0287] 61 gctggagctg ctaggcagcg gctccctgt tgtatggaca ttctgcaccc gaaactgata

[0288] 121 gctgagtcct gaagttttat gttatgaaac agaagaactt tcatcccagc acatgatttg

[0289] 181 ggaattacac tttgtgacat ggatgaatct gcactgaccc ttggtacaat agatgtttct

[0290] 241 tatctgccac attcatcaga atacagtgtt ggtcgatgta agcacacaag tgaggaatgg

[0291] 301 ggtgagtgig gcttttagacc caccatcttc agatctgcaa ctttaaaatg gaaagaaagc

[0292] 361 ctaatgagtc ggaaaaggcc atttgttggga agatgttgtt actcctgcac tccccagagc

[0293] 421 tgggacaaat ttttcaaccc cagtatcccg tctttgggtt tgcggaatgt tatttataac

[0294] 481 aatgaaactc acacaagaca ccgcggatgg ctgcaagac gcctttctta cgttcttttt

[0295] 541 attcaagagc gagatgtgca taagggcatg ttgcccacca atgtgactga aaatgtgctg

[0296] 601 aacagcagta gagtacaaga ggcaattgca gaagtggctg ctgaattaaa ccctgatggt

[0297] 661 tctgcccagc agcaatcaaa agccgttaac aaagtgaataa agaaagctaa aaggattctt

[0298] 721 caagaaatgg ttgccactgt ctaccggca atgatcagac tgactgggtg ggtgctgcta

[0299] 781 aaactgttca acagcttctt ttggaacatt caaatcaca aaggtcaact tgagatgggt

[0300] 841 aaagctgcaa ctgagacgaa ttgcccgtt ctgtttctac cagttcatag atcccatatt

[0301] 901 gactatctgc tgctcacttt cattctcttc tgccataaca tcaaagcacc atacattgct

[0302] 961 tcaggcaata atctcaacat cccaatcttc agtaccttga tcataagct tgggggcttc

[0303] 1021 ttcatacgac gaaggtctga tgaacacca gatggacgga aagatgttct ctatagagct

[0304] 1081 ttgtctcatg ggcatatagt tgaattactt cgacagcagc aattcttggga gatcttcttg

[0305] 1141 gaaggcacac gttctaggag tggaaaaacc tcttgtgctc gggcaggact tttgtcagtt

[0306] 1201 gtggtagata ctctgtctac caatgtcatc ccagacatct tgataatacc tgttggaaac

[0307] 1261 tcctatgatc gcattatcga aggtcactac aatggtgaac aactgggcaa acctaagaag

[0308] 1321 aatgagagcc tgtggagtgt agcaagaggt gttattagaa tgttacgaaa aaactatggt

[0309] 1381 tgtgtccgag tggattttgc acagccattt tccttaaagg aatatttaga aagccaaagt

[0310] 1441 cagaaaccgg tgtctgctct actttccctg gagcaagcgt tgttaccagc tatacttctt

[0311] 1501 tcaagaccca gtgatgctgc tgatgaaggt agagacacgt ccattaatga gtccagaaat

[0312] 1561 gcaacagatg aatccctacg aaggaggttg attgcaaac tggtctagca tattctattc

[0313] 1621 actgctagca agtcctgtgc cattatgtcc acacacattg tggtctgcct gctcctctac

[0314] 1681 agacacaggc aggggaattga tctctccaca ttggctgaag acttctttgt gatgaaagag

[0315] 1741 gaagtcctgg ctctgtatgt tgacctgggg ttctcaggaa attcagaaga tgtagtaatg

[0316] 1801 catgccatac agctgctggg aaattgtgtc acaatcacc acactagcag gaacgatgag

[0317] 1861 tttttatca cccccagcac aactgtccca tcagtcttcg aactcaact ctacagcaat

[0318] 1921 ggggtacttc atgtctttat catggaggcc atcatagctt gcagccttta tgcagttctg

[0319] 1981 aacaagaggg gactgggggg tcccactagc accccacctt acctgatcag ccaggagcag

[0320] 2041 ctggtgcgga aggcggccag cctgtgctac cttctctcca atgaaggcac catctcactg

[0321] 2101 ccttgccaga cattttacca agtctgccaat gaaacagtag gaaagtttat ccagtatggc

[0322] 2161 attcttacag tggcagagca cgatgaccag gaagatatca gtcttagtct tgctgagcag

[0323] 2221 cagtgggaca agaagcttcc agaacctttg tcttgagaaa gtgatgaaga agatgaagac

[0324] 2281 agtgactttg gggaggaaca gcgagattgc tacctgaagg tgagccaatc caaggagcac

[0325] 2341 cagcagttta tcaccttctt acagagactc cttgggcctt tgctggaggc ctacagctct

[0326] 2401 gctgccatct ttgttcacaa cttcagtggc cctgttccag aacctgagta tctgcaaaag

[0327] 2461 ttgcacaaat acctaaatac cagaacagaa agaaatgttg cagtatatgc tgagagtgcc

[0328] 2521 acatattgtc ttgtgaagaa tgctgtgaaa atgtttaagg atattggggt tttcaaggag

[0329] 2581 accaaacaaa agagagtgtc tgttttagaa ctgagcagca cttttctacc tcaatgcaac

[0330] 2641 cgacaaaaac ttctagaata tattctgagt ttgtgtgtgc tgtaggtaac gtgtggcact

[0331] 2701 gctggcaaat gaaggtcatg agatgagttc cttgtaggta ccagcttctg gctcaagagt

[0332] 2761 tgaagggtcc atcgcagggt caggcctgcc ctgtcccgaa gtgatctcct ggaagacaag

[0333] 2821 tgcccttctc ctccatggat ctgtgatctt cccagctctg catcaacaca gcagcctgca

[0334] 2881 gataacactt ggggggacct cagcctctat tcgcaactca taatccgtag actacaagat

[0335] 2941 gaaatctcaa taaattatgt ttgagtttat taaagattga cattttaagt acaactttta

[0336] 3001 aggactaatt actgtgatgg acacagaaat gtagctgtgt tctggaactg aatcttacat

[0337] 3061 ggtatactta gtgctgctgg gtaatttgtt ggtatattat ctggttagtg gttaatgctt

[0338] 3121 cctttaaaaa taattgagtc atccattcac tctttttcag ttttatctgt caatagtagc

[0339] 3181 tacattttta atgggagcac cttttatccc aaagtgcctt ataaattgag tggactgata

[0340] 3241 tatatcacac ccaggtatca ctgtgctgtc ctttgcgtgc agatttagaa atgtttttaa

[0341] 3301 gagctatgtg aaaacagaca atattagttt aggtcgggaa ctgagatatt gtaatcaaat

[0342] 3361 agttaacatc aggaagttaa ttggctggc aaaattctag ggaaacttgg ccagaaaact

[0343] 3421 ggtgttgaag gcttttgcct atataaaca gtgccattga gtttcaaatg accagcaaat

[0344] 3481 atatttagaa ccttctctgt tttatgtctg tacctcgtcc accctcagg taatactgc

[0345] 3541 ctctcacagg tacagctgtt tcttggaagt cctccaacca aatagcagtt ttcctaactt

[0346] 3601 gattagcttg agctgacaga ctgttagaat acagttctct ggccacagct gatgagggt

[0347] 3661 ttctgtactg cacacagatt gtgtactgca cccagtcga ggtgactggt acccactcga

[0348] 3721 gttgtgccgt gcacaacctg tccagtatat gcatgtggtg gccctactga ctggtaatgg

[0349] 3781 ttagaggcat ttatggattt ttagctttga ggaaaaacca tgacttttaa caaattttta

[0350] 3841 tgggttatat gcctaaacct ttatgccaca tagtggtaaa taattatgaa aaatggtctg

[0351] 3901 ttcataattg gtaggtgcct tttgtgagca gggagcataa ttattggttt attatggtaa

[0352] 3961 ttatggtgat tttttaata tcatgtaatg ttaaacggtt ttctaacagt ttactgttgc

[0353] 4021 ttaatcctca gatattatgg aattaagaat tttccagat gagtgttaca tagattcttt

[0354] 4081 gaatttagta taaaagtact gagaattaag tttgtacttc cataagcttg gattttaaac

[0355] 4141 actgatagta tctcatgagt aatgtgtgtt ttgggagagg gagggatgct gattgatatt

[0356] 4201 tcacattgta tgaaatacca tgtttgaaac tcatagcaat aatgctatgc tgttgtatc

[0357] 4261 cctctcaagt tctgcattta aaatatattt tttctttata ggaattgatg tataccatga

[0358] 4321 agtcattgtc agttgtagta gctctgatgt tgaatgagat atcatgtttt agcattccat

[0359] 4381 tttactgact agggtagaag aacacttttc ttggctacat ttggaggata cccaggaggat

[0360] 4441 cttgggtgtt ctttatctgg ggaagcaaac atttactag tctctttttt tcatccttta

[0361] 4501 aattgtaaat taaggattac tcaagctcac cattattcaa gattgggact cgcttcccag

[0362] 4561 tcgacactct gccctgcctg tcattgctgc aaagagctgc tgctttgcca acctaagcaa

[0363] 4621 agaaaatacg gcttctcttg cattattttc ctttttggtt ggtttgtttt ctagaagtac

[0364] 4681 gttcagatgc tttggggaat gcaatgtatg atttgctagc tctctacca cttaactcac

[0365] 4741 tgtgaggata aatatgcatg ctttttgtaa ttaactggtg ctttgaaaat cttttttaag

[0366] 4801 ggagaaaaat ctcaacaaaa gttatgctca tccagacaag ctgaccttg agttaatttc

[0367] 4861 agcacaactc attcttcagt gcctcatgac tgaaaacaaa aaacaaaaaa acgaaagcat

[0368] 4921 cttcacaatg aagcttccag atagcaccgt ttgtctaaaa gataattct cattgttttc

[0369] 4981 caacagtgat ggcttccaca taagggttaa caaactaggt gcttgtaaat aatttattac

[0370] 5041 agtttactct atcgcatttc tgtaacatga aatgcatgcc ctcttccagg ggaagactgt

[0371] 5101 ggtcaagtta aaaaaaaaa acaatattaa acaacatgaa actgcagtct gtttttgaaa

[0372] 5161 atgagaatgt cctaagtgat tcagaagaga ggagggaagt tgtgcactct gaaaaatgc

[0373] 5221 gaaaaacaaa ggcaaaaact agtgggaaat gtgtagaact gtttaactgag atggcttcga

[0374] 5281 gtcttcttcc tggaaatctgt taaatttcac aaagtcatga gggtaaatgg agaaaatatt

[0375] 5341 tctgggatta caatgaatgt aagcccaaat tgtggaattg ccagtaacct ggatggggaa

[0376] 5401 aagcatttcc catagcactc catgtaatat gagtgtctctg tgagatgttc atcagtgttt

[0377] 5461 tatagaaatg gtgttctggt gaaaccaagt ttgcacctgg aaacttaca tgcactttag

[0378] 5521 cgcagtaagg gcttggcatc cggtagtga aaactgtcta acccagcatt gcccaacta

[0379] 5581 ttttgacacc aggacctttt tctcctttgg gatacttatg aacctctcac taatgtcctg

[0380] 5641 tggagaacat tttgggaaac actatgttag atagtctttt aaggagacaa aacgtaatg

[0381] 5701 aacagatagc actggggcag aatatgcatg ctttttgtaa cgtccagtgt ggcgttgaat

[0382] 5761 agatgtgtat ttcctccct gcagaaaata agcacagaaa attataatgt aggtgatcgg

[0383] 5821 agctctttcc ttgatagag agaacagccc caatgaccc ggctttttca ctgaacgtat

[0384] 5881 cagaatacat ggatgaattg gggtaaataa ggttttaatt cagatctaga agaaagtatt

[0385] 5941 gtacgtttga atgcagattt ttatccacag atagtgttag tgttttagaca tgacaggacc

[0386] 6001 tatcgttgag gtttctaaga cttactatgg gctgtaaacc tgttttttaa aactatttta

[0387] 6061 gaaacctgag acttgccgctc tggcatttta gttaataca aactaatgat tgcatttgaa

[0388] 6121 agagattctt gaccttattt ctaaactctc agagctctga aatgtcttga tggaaggat

[0389] 6181 taaactattt gcctgttgta caaagaaatg ttaagactcg tgaaaagaat tactataagg

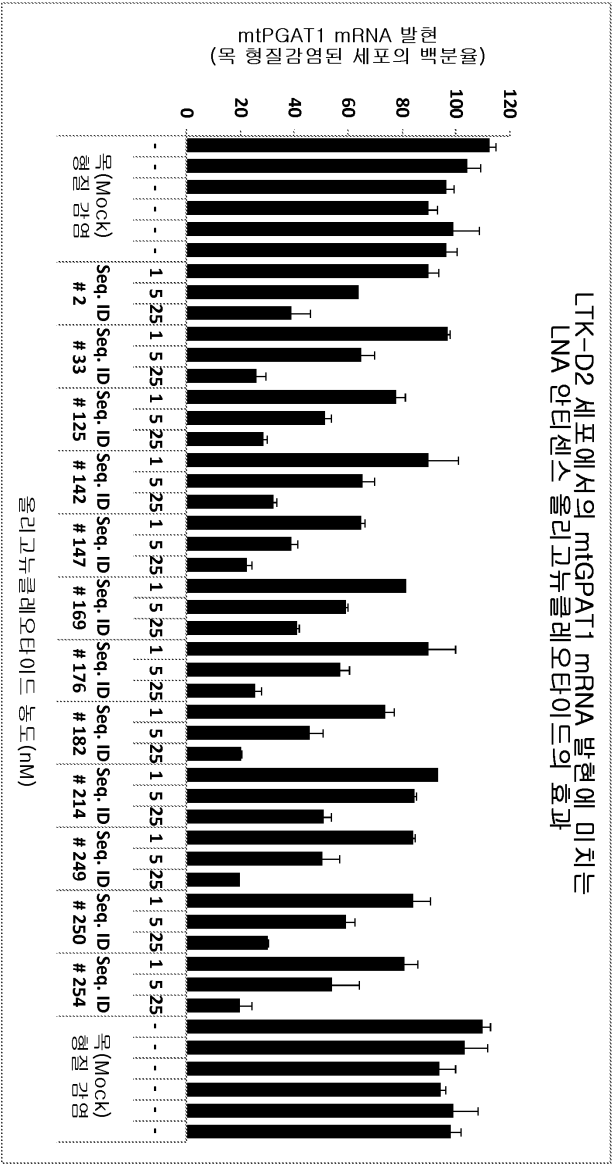
[0390] 6241 tactgtgaaa taactgcgat ttgtgagca aaacatactt ggaaatgctg attgattttt

[0391] 6301 atgcttgta gtgtattgca agaaacacag aaaatgtagt ttgttttaa taaacaaaa

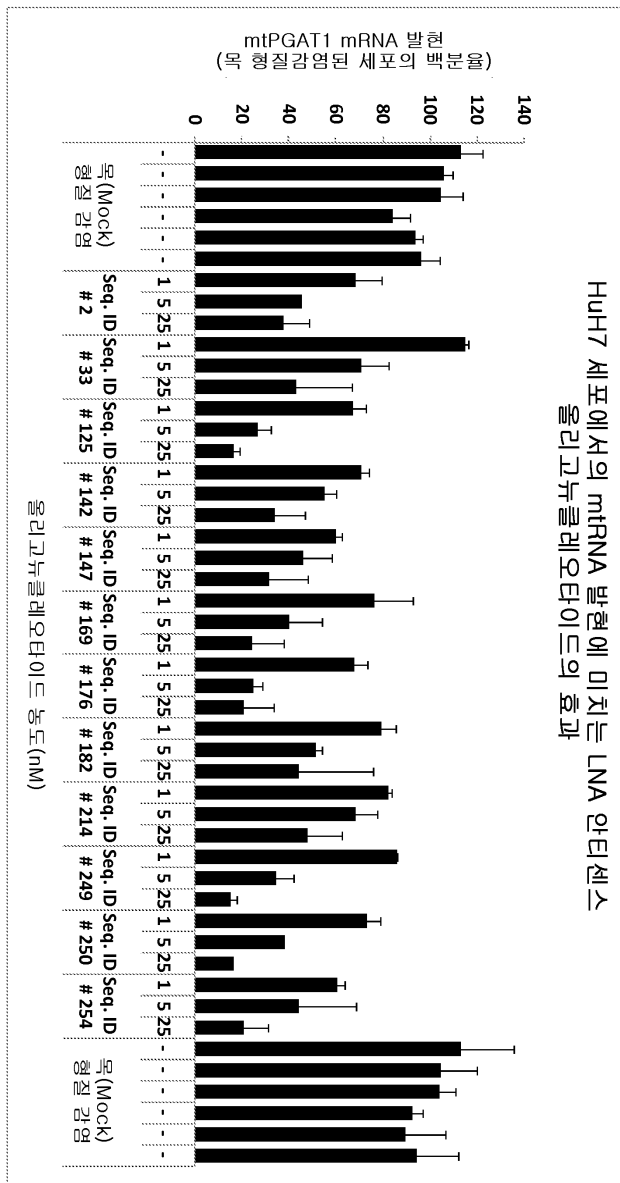
[0392] 6361 attgaacata caaaaaaaaa aaaaaaaaaa

도면

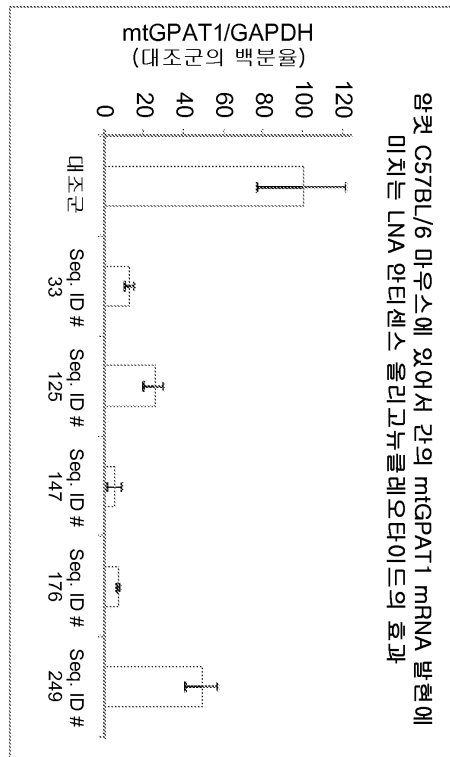
도면1a



도면1b



도면2



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Santaris Pharma A/S
- <120> RNA ANTAGONIST COMPOUNDS FOR THE INHIBITION OF EXPRESSION OF
MITOCHONDRIAL GLYCEROL-3-PHOSPHATE ACYLTRANSFERASE 1 (MTGPAT1)
- <130> 1073WO
- <150> US 61/077942
- <151> 2008-07-03
- <150> EP08104623.7
- <151> 2008-07-03
- <160> 290
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 13
- <212> DNA
- <213> artificial
- <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
- <400> 1

gcagataaga aac	13
<210> 2	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(14)	
<223> Phosphorothioate	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(3)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<220><221> misc_feature	
<222> (12)..(14)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<400> 2	
ggcagataag aaac	14
<210> 3	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 3	
ttccgcaaac cca	13
<210> 4	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 4	
attccgcaaa ccca	14
<210> 5	
<211> 15	

<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 5	
 cattccgcaa accca	15
<210> 6	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 6	
 acattccgca aaccca	16
<210> 7	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 7	
 ttccgcaaac cc	12
<210> 8	
<211> 13	
<212> DNA	
<213>	
> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 8	
 attccgcaaa ccc	13
<210> 9	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 9	
 cattccgcaa accc	14

<210> 10
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 10
 acattccgca aaccc 15

<210> 11
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 11
 aacattccgc aaaccc 16

<210> 12
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 12
 acattccgca aacc 14

<210> 13
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 13
 aacattccgc aaacc 15
 <210> 14
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 14	
taacattccg caaacc	16
<210> 15	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 15	
acattccgca aac	13
<210> 16	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 16	
aacattccgc aaac	14
<210> 17	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 17	
taacattccg caaac	15
<210> 18	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 18	
ataacattcc gcaaac	16
<210> 19	
<211> 13	
<212> DNA	

<213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 19
 aacattccgc aaa 13
 <210> 20
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 20
 taacattccg caaa 14
 <210> 21
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

 <400> 21
 ataacattcc gcaaa 15
 <210> 22
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 22
 aataacattc cgcaaa 16
 <210> 23
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 23
 aacattccgc aa 12
 <210> 24

<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 24	
taacattccg caa	13
<210> 25	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 25	
ataacattcc gcaa	14
<210> 26	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 26	
aataacattc cgcaa	15
<210> 27	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 27	
aaataacatt ccgcaa	16
<210> 28	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 28	

taacattccg ca	12
<210> 29	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 29	
ataacattcc gca	13
<210> 30	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 30	
aataacattc cgca	14
<210> 31	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 31	
aaataacatt ccgca	15
<210> 32	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 32	
taaataacat tccgca	16
<210> 33	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(12)

<223> phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C

<400> 33

ataacattcc gc 12

<210> 34

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 34

aataacattc cgc 13

<210> 35

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 35

aaataacatt ccgc 14

<210> 36

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 36

taaataacat tccgc 15

<210> 37
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 37
 ataaataaca ttccgc 16
 <210> 38
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 38
 aataacattc cg 12
 <210> 39
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 39
 aaataacatt ccg 13
 <210> 40
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 40
 taaataacat tccg 14
 <210> 41
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 41	
ataaataaca ttccg	15
<210> 42	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 42	
tataaataac attccg	16
<210> 43	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 43	
tataaataac attcc	15
<210> 44	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 44	
atataaataa cattcc	16
<210> 45	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 45	
tataaataac attc	14
<210> 46	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 46

atataaataa cattc 15

<210> 47

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 47

gatataaata acattc 16

<210> 48

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 48

gatataaata acatt 15

<210> 49

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 49

tgatataaat aacatt 16

<210> 50

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 50

tgatataaat aacat 15

<210> 51

<211> 16

<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 51	
ttgatataaa taacat	16
<210> 52	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 52	
tgatataaat aaca	14
<210> 53	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 53	
ttgatataaa taaca	15
<210> 54	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 54	
attgatataa ataaca	16
<210> 55	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 55	
tgatataaat aac	13

<210> 56
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 56
 ttgatataaa taac 14
 <210> 57
 <211> 15

 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 57
 attgatataa ataac 15
 <210> 58
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 58
 cattgatata aataac 16
 <210> 59
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 59
 attgatataa ataa 14

 <210> 60
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 60
cattgatata aataa 15
<210> 61
<211> 16
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<400> 61
tcattgatat aaataa 16
<210> 62
<211> 16
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 62
gtttcattga tataaa 16
<210> 63
<211> 15
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<400> 63
gtttcattga tataa 15
<210> 64
<211> 14
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<400> 64
gtttcattga tata 14
<210> 65
<211> 13

<212> DNA

<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 65	
acatgccctt atg	13
<210> 66	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 66	
aacatgccct tatg	14
<210> 67	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 67	
aaacatgccc ttatg	15
<210> 68	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 68	
caaacatgcc cttatg	16
<210> 69	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 69	
aacatgccct tat	13
<210> 70	
<211> 14	

<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 70	
aaacatgccc ttat	14
<210> 71	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 71	
caaacatgcc cttat	15
<210> 72	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 72	
caaacatgcc cttta	14
<210> 73	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 73	
caaacatgcc ctt	13
<210> 74	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 74	
caattgcctc ttg	13

<210> 75
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 75
 agaagctggt gaa 13

<210> 76
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 76
 aagaagctgt tgaa 14

<210> 77
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 77
 cgtctcagtt gcag 14

<210> 78
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 78
 tcgtctcagt tgcag 15

<210> 79
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 79	
ttcgtctcag ttgcag	16
<210> 80	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 80	
cgtctcagtt gca	13
<210> 81	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 81	
tcgtctcagt tgca	14
<210> 82	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 82	
ttcgtctcag ttgca	15
<210> 83	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 83	
tcgtctcagt tgc	13
<210> 84	
<211> 14	
<212> DNA	

<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 84	
ttcgtctcag ttgc	14
<210> 85	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 85	
tcgtctcagt tg	12
<210> 86	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 86	
ttcgtctcag ttg	13
<210> 87	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 87	
ttcgtctcag tt	12
<210> 88	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 88	
tgagattatt gcc	13
<210> 89	

<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 89	
ttgagattat tgcc	14
<210> 90	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 90	
gttgagatta ttgcc	15
<210> 91	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 91	
tgttgagatt attgcc	16
<210> 92	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 92	
gttgagatta ttgc	14
<210> 93	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 93	

tggttgagatt attgc	15
<210> 94	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 94	
atgttgagat tattgc	16
<210> 95	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 95	
gttgagatta ttg	13
<210> 96	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 96	
tggttgagatt attg	14
<210> 97	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 97	
atgttgagat tattg	15
<210> 98	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 98
 gatgttgaga ttattg 16
 <210> 99
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 99
 atgttgagat tatt 14
 <210> 100
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 100
 gatgttgaga ttatt 15
 <210> 101
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 101
 ggatgttgag attatt 16
 <210> 102
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 102
 atgttgagat tat 13
 <210> 103
 <211> 14

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 103
 gatgttgaga ttat 14
 <210> 104
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 104
 ggatgttgag attat 15
 <210> 105
 <211>
 > 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 105
 gggatgttga gattat 16
 <210> 106
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 106
 gatgttgaga tta 13
 <210> 107
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 107
 ggatgttgag atta 14

<210> 108
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 108
 gggatgttga gatta 15
 <210> 109
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 109
 gggatgttga gatt 14
 <210> 110
 <211> 12
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 110
 ttcacgcgac ct 12
 <210> 111
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 111
 tttcatcgag cct 13
 <210> 112
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 112

gtttcatcga gcct	14
<210> 113	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 113	
gtttcatcga gcc	13
<210> 114	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 114	
gtttcatcga gc	12
<210> 115	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 115	
agtgaccttc gat	13
<210> 116	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 116	
tagtgacctt cgat	14
<210> 117	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 117	
gtagtgacct tcgat	15
<210> 118	
<211>	
> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 118	
tgttagtgacc ttcat	16
<210> 119	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 119	
tagtgacctt cga	13
<210> 120	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 120	
gtagtgacct tcga	14
<210> 121	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 121	
tgttagtgacc ttcga	15
<210> 122	
<211> 16	

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 122
 ttgtagtgac cttcga 16
 <210> 123
 <211> 12
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 123
 tagtgacctt cg 12
 <210> 124
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 124
 gtagtgacct tcg 13
 <210> 125
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <220><221> misc_feature

 <222> (1)..(14)
 <223> phosphorothioate
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(14)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C

<400> 125	
tgtagtacc ttcg	14
<210> 126	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 126	
ttgtagtac cttcg	15
<210> 127	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 127	
attgtagtga ccttcg	16
<210> 128	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 128	
ttgtagtac cttc	14
<210> 129	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 129	
attgtagtga ccttc	15
<210> 130	
<211> 14	
<212> DNA	

<213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 130
 attgtagtga cctt 14
 <210> 131
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 131
 ttctaaatat tcctt 15
 <210> 132
 <211>
 > 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 132
 ttctaaatat tcct 14
 <210> 133
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 133
 ctgtagagga gca 13
 <210> 134
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 134

 gcctgtgtct gtag 14
 <210> 135

<211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 135
 tgcctgtgtc tgtag 15
 <210> 136
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 136
 tgcctgtgtc tgta 14
 <210> 137
 <211> 15
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 137
 ctgcctgtgt ctgta 15
 <210> 138
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 138
 cctgcctgtg tctgta 16
 <210> 139
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 139

ccctgcctgt gtctgt	16
<210> 140	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 140	
ccctgcctgt gtctg	15
<210> 141	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 141	
tcctgcctg tgtctg	16
<210> 142	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(16)	
<223> phosphorothioate	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(3)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<220><221> misc_feature	
<222> (14)..(16)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<400> 142	
ttcctgcct gtgtct	16
<210> 143	
<211> 15	

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400>
 143
 ttccctgcct gtgtc 15
 <210> 144
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 144
 attccctgcc tgtgtc 16
 <210> 145
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 145
 ttccctgcct gtgt 14
 <210> 146
 <211> 15

 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 146
 attccctgcc tgtgt 15
 <210> 147
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(14)

<223> phosphorothioate
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><221> misc_feature
 <222>
 > (12)..(14)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <400> 147
 attccctgcc tgtg 14
 <210> 148
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 148
 tcacaaagaa gtct 14
 <210> 149
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 149
 atcacaaaga agtct 15
 <210> 150
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 150
 catcacaag aagtct 16
 <210> 151
 <211> 14
 <212> DNA

<213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 151
 atcacaaaga agtc 14
 <210> 152
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

 <400> 152
 catcacaaag aagtc 15
 <210> 153
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 153
 tcatcacaaa gaagtc 16
 <210> 154
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 154
 atcacaaaga agt 13
 <210> 155
 <211>
 > 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 155
 catcacaaag aagt 14
 <210> 156

<211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 156
 tcatcacaaa gaagt 15
 <210> 157
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 157

 ttcacacaaa agaagt 16
 <210> 158
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 158
 ttcacacaaa agaag 15
 <210> 159
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 159
 acatcttctg aatt 14
 <210> 160
 <211> 14
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 160

ggtgattgtg acac	14
<210> 161	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 161	
gggtgattgt gacac	15
<210> 162	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 162	
tgggtgattg tgacac	16
<210> 163	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 163	
ggtgattgtg aca	13
<210> 164	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 164	
gggtgattgt gaca	14
<210> 165	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 165

tgggtgattg tgaca 15

<210> 166

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 166

gtgggtgatt gtgaca 16

<210> 167

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 167

gggtgattgt gac 13

<210> 168

<211>

> 14

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 168

tgggtgattg tgac 14

<210> 169

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(15)

<223> phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)

<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C

<220><221> misc_feature

<222> (13)..(15)

<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C

<400> 169

gtgggtgatt gtgac 15

<210> 170

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 170

tgtgggtgat tgtgac 16

<210> 171

<211> 12

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 171

ggtgattgtg ac 12

<210> 172

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 172

tgggtgattg tga 13

<210> 173

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 173
 gtgggtgatt gtga 14
 <210> 174
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

 <400> 174
 tgtgggtgat tgtga 15
 <210> 175
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 175
 gtgtgggtga ttgtga 16
 <210> 176
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(15)
 <223> phosphorothioate
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)

 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(15)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <400> 176
 gtgtgggtga ttgtg 15
 <210> 177

<211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 177
 gggacagttg tgc 13
 <210> 178
 <211> 14
 <212> DNA

 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 178
 tagaagttga gtgc 14
 <210> 179
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 179
 gtagaagttg agttc 15
 <210> 180
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 180
 ttagaagtt gagttc 16

 <210> 181
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 181

gtagaagttg agtt	14
<210> 182	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(15)	
<223> phosphorothioate	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(3)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<220><	
221> misc_feature	
<222> (13)..(15)	
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C	
<400> 182	
tgtagaagtt gagtt	15
<210> 183	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 183	
ctgtagaagt tgagtt	16
<210> 184	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 184	
ctgtagaagt tgagt	15
<210> 185	
<211> 16	

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 185
 gctgtagaag ttgagt 16
 <210> 186
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 186
 ctgtagaagt tgag 14
 <210> 187
 <211>
 > 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 187
 gctgtagaag ttgag 15
 <210> 188
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 188
 gctgtagaag ttga 14
 <210> 189
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 189

 caagctatga tgg 13

<210> 190
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 190
 gcaagctatg atgg 14
 <210> 191
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 191
 tgcaagctat gatgg 15
 <210> 192
 <211> 16
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 192
 ctgcaagcta tgatgg 16
 <210> 193
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 193
 tgcaagctat gatg 14
 <210> 194
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 194

ctgcaagcta tgatg	15
<210> 195	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 195	
tgcaagctat gat	13
<210> 196	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 196	
ctgcaagcta tgat	14
<210> 197	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 197	
ctcctggctg atca	14
<210> 198	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 198	
aaggtagcac aggc	14
<210> 199	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 199
 gaaggtagca caggc 15
 <210> 200
 <211>
 > 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 200
 agaaggtagc acaggc 16
 <210> 201
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 201
 gaaggtagca cagg 14
 <210> 202
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 202
 agaaggtagc acagg 15
 <210> 203
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 203
 gagaaggtag cacagg 16
 <210> 204
 <211> 14

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 204
 agaaggtagc acag 14
 <210> 205
 <211> 15
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 205
 gagaaggtag cacag 15
 <210> 206
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 206
 agagaaggta gcacag 16
 <210> 207
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 207
 agaaggtagc aca 13
 <210> 208
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 208
 gagaaggtag caca 14

<210> 209
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 209
 agagaaggta gcaca 15
 <210> 210
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 210
 gagagaagggt agcaca 16
 <210> 211
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 211
 agaaggtagc ac 12
 <210> 212
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 212
 gagaaggtag cac 13
 <210> 213
 <211>
 > 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 213
agagaaggta gcac 14
<210> 214
<211> 15
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(15)
<223> phosphorothioate
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(3)
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
<220><221> misc_feature
<222> (13)..(15)
<223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
<400> 214
gagagaaggt agcac 15
<210> 215
<211> 14
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<400> 215
gagagaaggt agca 14
<210> 216
<211> 13
<212> DNA
<213> artificial
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
<400> 216
gagagaaggt agc 13
<210> 217

<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 217	
gaatgccata ctgg	14
<210> 218	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 218	
agaatgccat actgg	15
<210> 219	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 219	
agaatgccat actg	14
<210> 220	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 220	
atcttcctgg tcac	15
<210> 221	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 221	
ttgtcccact gctg	14

<210> 222
 <211>
 > 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 222
 cttgtccac tgctg 15
 <210> 223
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 223
 tcttgtccca ctgctg 16
 <210> 224
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 224

 cttgtccac tgct 14
 <210> 225
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 225
 tcttgtccca ctgct 15
 <210> 226
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 226	
ttcttgtecc actgct	16
<210> 227	
<211> 16	
<212>	
DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 227	
gcttcttgte ccactg	16
<210> 228	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 228	
gcttcttgte ccact	15
<210> 229	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 229	
agcttcttgt cccact	16
<210> 230	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 230	
gcttcttgte ccac	14
<210> 231	
<211> 15	
<212> DNA	

<213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 231
 agcttcttgt cccac 15
 <210> 232
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

 <400> 232
 aagcttcttg tccac 16
 <210> 233
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 233
 agcttcttgt ccca 14
 <210> 234
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 234
 aagcttcttg tccca 15
 <210> 235
 <211>
 > 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 235
 aagcttcttg tccc 14
 <210> 236

<211> 13
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 236
 aagcttcttg tcc 13
 <210> 237
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 237

 actgtcttca tcttc 15
 <210> 238
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 238
 cactgtcttc atcttc 16
 <210> 239
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 239
 agtcactgtc ttcac 16
 <210> 240
 <211> 15
 <212>
 DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 240

agtcactgtc ttcac	15
<210> 241	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 241	
aagtcactgt cttcat	16
<210> 242	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 242	
caaagtcact gtcttc	16
<210> 243	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 243	
caaagtcact gtctt	15
<210> 244	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 244	
ccaaagtcac tgtctt	16
<210> 245	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 245

ccaaagtcac tgtct 15

<210> 246

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 246

ccaaagtcac tgtc 14

<210> 247

<211> 12

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 247

tagcaatctc gc 12

<210> 248

<211

> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 248

agatggcagc agagc 15

<210> 249

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(16)

<223> phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><221> misc_feature

 <222> (14)..(16)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <400> 249
 aagatggcag cagagc 16
 <210> 250
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(16)
 <223> phosphorothioate
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><221> misc_feature
 <222>
 (14)..(16)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <400> 250
 aaagatggca gcagag 16
 <210> 251
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 251
 aaagatggca gcaga 15
 <210> 252
 <211> 16
 <212> DNA

<213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 252
 caaagatggc agcaga 16

<210> 253
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 253
 caaagatggc agcag 15

<210> 254
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(16)
 <223> phosphorothioate
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <220><
 221> misc_feature
 <222> (14)..(16)
 <223> LNA, preferably beta-D oxy LNA, LNA Cs preferably 5-methyl C
 <400> 254

acaaagatgg cagcag 16
 <210> 255
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 255

aaactcagaa tata	14
<210> 256	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 256	
aaactcagaa tat	13
<210> 257	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 257	
tacagcacca caaa	14
<210> 258	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 258	
ctacagcacc acaaa	15
<210> 259	
<211>	
> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 259	
ctacagcacc acaa	14
<210> 260	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound		
<400> 260		
ctacagcacc aca	13	
<210> 261		
<211> 14		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound		
<400> 261		
gtccatcaca gtaa		
14		
<210> 262		
<211> 15		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound		
<400> 262		
tgtccatcac agtaa		
15		
<210> 263		
<211> 6390		
<212> DNA		
<213> homo sapiens		
<400> 263		
gtgcgcact gcagctggca ttggccggga ctggaagtgc gggcttctgc agcagccgaa	60	
gctggagctg ctaggcagcg gctcccctgt tgtatggaca ttctgcaccc gaaactgata	120	
gctgagtcct gaagttttat gttatgaaac agaagaactt tcatcccagc acatgatttg	180	
ggaattacac ttgtgacat ggatgaatct gcactgaccc ttggtacaat agatgtttct		
240		
tatctgccac attcatcaga atacagtgtt ggtcgatgta agcacacaag tgaggaatgg	300	
ggtagagtgt gctttagacc caccatcttc agatctgcaa ctttaaatg gaaagaaagc	360	
ctaagagtc ggaaaaggcc atttgttggga agatgttgtt actcctgcac tccccagagc	420	
tgggacaaat ttttcaacc cagtatcccg tctttgggtt tgcggaatgt tatttatatc	480	
aatgaaactc acacaagaca ccgcggatgg cttgcaagac gcctttctta cgttcttttt	540	
attcaagagc gagatgtgca taaggcatg ttgccacca atgtgactga aaatgtgctg	600	

aacagcagta gactacaaga ggcaattgca gaagtggctg ctgaattaaa ccctgatggt 660
 tctgcccagc agcaatcaaa agccgttaac aaagtgaata agaaagctaa aaggattctt 720
 caagaaatgg ttgccactgt ctcaccggca atgatcagac tgactgggtg ggtgctgcta 780
 aaactgttca acagcttctt ttggaacatt caaattcaca aaggtcaact tgagatggtt 840
 aaagctgcaa ctgagacgaa tttgccgctt ctgtttctac cagtcatag atcccatatt 900
 gactatctgc tgcctacttt cattctcttc tgccataaca tcaaagcacc atacattgct 960
 tcaggcaata atctcaacat cccaatcttc agtaccttga tccataagct tgggggcttc 1020

 ttcatacgac gaaggctcga tgaacacca gatggacgga aagatgttct ctatagagct 1080
 ttgctccatg ggcatatagt tgaattactt cgacagcagc aattcttgga gatcttcctg 1140
 gaaggcacac gtcttaggag tggaaaaacc tcttgctgc gggcaggact tttgtcagtt 1200
 gtggtagata ctctgtctac caatgtcatc ccagacatct tgataatacc tgttggaatc 1260
 tcctatgac gcattatcga aggtcactac aatggtgaac aactgggcaa acctaagaag 1320
 aatgagagcc tgtggagtgt agcaagaggt gttattagaa tgttacgaaa aaactatggt 1380
 tgtgtccgag tggattttgc acagccattt tccttaaagg aatatitaga aagccaaagt 1440

 cagaaaccgg tgctgtctct actttccctg gagcaagcgt tgttaccagc tatacttctt 1500
 tcaagacca gtgatgtgc tgatgaaggt agagacacgt ccattaatga gtccagaaat 1560
 gcaacagatg aatccctacg aaggagggtt attgcaaatc tggtgagca tattctattc 1620
 actgctagca agtcctgtgc cattatgtcc acacacattg tggtctgcct gctcctctac 1680
 agacacaggc agggaaatga tctctccaca ttggtcgaag acttctttgt gatgaaagag 1740
 gaagtcttg ctctgattt tgacctgggg tctcaggaa attcagaaga ttagtaaatg 1800
 catgccatac agctgtctgg aaattgtgtc acaatcacc acactagcag gaacgatgag 1860

 tttttatca ccccagcac aactgtccca tcagtcttcg aactcaact ctacagcaat 1920
 ggggtacttc atgtctttat catggaggcc atcatagctt gcagccttta tgcagttctg 1980
 aacaagaggg gactgggggg tccactagc accccaccta acctgatcag ccaggagcag 2040
 ctggtgcgga agcgccag cctgtgtctac cttctctcca atgaaggcac catctcactg 2100
 ccttgccaga catittacca agtctgccat gaaacagtag gaaagtttat ccagtatggc 2160
 attcttacg tggcagagca cgatgaccag gaagatatca gtcctagtct tgcctgagcag 2220
 cagtgggaca agaagcttcc agaacctttg tcttgagaa gtgatgaaga agatgaagac 2280

 agtgactttg gggaggaaca gcgagattgc tacctgaagg tgagccaatc caaggagcac 2340
 cagcagttta tcaccttctt acagagactc cttgggcctt tgcctggagc ctacagctct 2400
 gctgccatct ttgttcacaa cttcagtgtt cctgttccag aacctgagta tctgcaaaag 2460

ttgcacaaat acctaataac cagaacagaa agaaatgttg cagtatatgc tgagagtgcc 2520
 acatatgttc ttgtgaagaa tgctgtgaaa atgtttaagg atattggggt tttcaaggag 2580
 accaaacaaa agagagtgtc tgttttagaa ctgagcagca cttttctacc tcaatgcaac 2640
 cgacaaaaac ttctagaata tattctgagt tttgtggtgc tgtaggtaac gtgtggcact 2700

 gctggcaaat gaaggtcatg agatgagttc ctgttaggta ccagcttctg gctcaagagt 2760
 tgaaggtgcc atcgcagggt caggcctgcc ctgtcccgaa gtgatctcct ggaagacaag 2820
 tgccttctcc ctccatggat ctgtgatctt cccagctctg catcaacaca gcagcctgca 2880
 gataacactt ggggggacct cagcctctat tcgcaactca taatccgtag actacaagat 2940
 gaaatctcaa taaattatit ttgagtttat taaagattga cattttaagt acaactttta 3000
 aggactaatt actgtgatgg acacagaaat gtagctgtgt tctggaactg aatcttacat 3060
 ggtatactta gtgctgctgg gtaatttgtt ggtatattat ctggttagtg gttaatgctt 3120

 cctttaaaaa taattgagtc atccattcac tctttttcag ttttatctgt caatagtagc 3180
 tacattttta atgggagcac cttttatccc aaagtgttt ataaattgag tggactgata 3240
 tatatcacac ccaggtatca ctgtgctgtc ctttgctgtc agatttagaa atgtttttaa 3300
 gagctatgtg aaaacagaca atattagttt aggtcgggaa ctgagatatt gtaatcaaat 3360
 agttaacatc aggaagttaa tttggctggc aaaattctag ggaaacttgg ccagaaaact 3420
 ggtgttgaag gcittttgtc atataaacia gtgccattga gtttcaaag accagcaaat 3480
 atatttagaa ccttctctgt tttatgtctg tacctcgtcc accctcagg taatactgc 3540

 ctctcacagg tacagctgtt tcttggaat cctccaacca aatagcagtt ttcctaactt 3600
 gattagcttg agctgacaga ctgttagaat acagtctctt ggccacagct gatgagggt 3660
 ttctgtactg cacacagatt gtgtactgca cccagtcga ggtgactggt acccactcga 3720
 gtgtgcccgt gcacaacctg tccagtatat gcatgtggtg gcctactga ctggtaatgg 3780
 ttagaggcat ttatggattt ttagctttga gaaaaacca tgacttttaa caaattttta 3840
 tgggttatat gcctaaacct ttatgccaca tagtggtaaa taattatgaa aaatggtctg 3900
 ttcataattg gtaggtgcct tttgtgagca gggagcataa ttattggttt attatggtaa 3960

 ttatggtgat tttttaata tcatgtaatg ttaaacgtt ttctaacagt ttactgttgc 4020
 ttatctccaa gatattatgg aattaagaat tttccagat gagtgttaca tagattcttt 4080
 gaatttagta taaaagtact gagaattaag tttgtacttc cataagcttg gattttaaac 4140
 actgatagta tctcatgagt aatgtgtgtt ttgggagagg gagggatgct gattgatatt 4200
 tcacattgta tgaataacca tgtttgaaac tcatagcaat aatgctatgc tgttgtgatc 4260
 cctctcaagt tctgcattta aaatatattt tttctttata ggaattgatg tatacatga 4320

agtcattgtc agttgtagta gctctgatgt tgaatgagat atcatgtttt agcattccat 4380

tttactgact agggtagaag aacacttttc ttggctacat ttggaggata cccagggagt 4440

cttgggtgtt ccttatctgg ggaagcaaac atttactag tctctttttt tcatccttta 4500

aattgtaaat taaggattac tcaagctcac cattattcaa gattgggact cgcttcccag 4560

tcgacactct gccctgcctg tcattgctgc aaagagctgc tgctttgcc aacctaaagaa 4620

agaaaatacg gcttctcttg cattattttc ctttttggtt ggtttggttt ctagaagtac 4680

gttcagatgc ttgggggaat gcaatgtatg atttgctagc tctctcacca cttaaactcac 4740

tgtgaggata aatatgcatg ctttttgtaa ttaactggtg ctttgaaaat cttttttaag 4800

ggagaaaaat ctcaacaaa gttatgctca tccagacaag ctgacctttg agttaatttc 4860

agcacaactc attcttcagt gcctcatgac tgaaaacaaa aaacaaaaaa acgaaagcat 4920

cttcacaatg aagcttccag atagcacctg tttgctaaaa gatacattct cattgttttc 4980

caacagtgat ggcttccaca taagggttaa caaactaggt gcttgtaaat aattttattac 5040

agtttactct atcgcatctc tgtaacatga aatgcatgcc cttcttcagg ggaagactgt 5100

ggtcaagtta aaaaaaaaa acaatattaa acaacatgaa actgcagtct gtttttgaaa 5160

atgagaatgt cctaagtgat tcagaagaga ggagggaagt tgtgcactct gaaaatgcat 5220

gaaaaacaaa ggcaaaaact agtgggaaat gtgtagaact gtttaactgag atggcttcga 5280

gtcttccttc tggaatctgt taaatttcac aaagtcatga gggtaaatgg agaaaatatt 5340

tctgggatta caatgaatg aagcccaaat tgtggaattg ccagtaacct ggatggggaa 5400

aagcatttcc catagcactc catgtaatat gagtgtcttg tgagatgttc atcagtgttt 5460

tatagaaatg gtgttgctgg gaaaccaagt ttgcacctgg aaacttaca tgcactttag 5520

cgcagtaagg gcttggcatc cggtagtgaa aaactgtcta acccagcatt gcccaacta 5580

ttttgacacc aggacctttt tctcttttgg gatacttatg aacctctcac taatgtcctg 5640

tggagaacat ttgggaaac actatgttag atagtctttt aaggagacaa aacggtaatg 5700

aacagatagc actggggcag aatatgcatg cattttgtaa cgtccagtgt ggcgttgaat 5760

agatgtgtat ttcttccct gcagaaaata agcacagaaa attataatgt aggtgatcgg 5820

agctctttcc ttgatagag agaacagccc caatgatcct ggctttttca ctgaacgtat 5880

cagaatacat ggatgaattg gggtaataa ggttttaatt cagatctaga agaaagtatt 5940

gtacgtttga atgcagattt ttatccacag atagttgtag tgtttagaca tgacaggacc 6000

tatcgttag gtttctaaga cttactatgg gctgtaaacc tgttttttaa aactatttta 6060

gaaacctgag acttgccgtc tggcatttta gtttaataca aactaatgat tgcatttgaa 6120
 agagattctt gaccttattt ctaaactgtc agagctctga aatgtcttga tggaaggat 6180
 taaactattt gcctgttgta caaagaaatg ttaagactcg tgaaaagaat tactataagg 6240
 tactgtgaaa taactgcat tttgtgagca aaacatactt ggaaatgctg attgattttt 6300
 atgcttgta gtgtattgca agaaacacag aaaatgtagt tttgttttaa taaacaaaa 6360
 attgaacata caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6390

<210> 264

<211> 14

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 264

ggcagataag aaac 14

<210> 265

<211> 34

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 265

gtttcattga tataaataac attccgcaaa ccca 34

<210> 266

<211> 16

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 266

caaacatgcc cttatg 16

<210> 267

<211> 13

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

<400> 267

caattgcctc ttg	13
<210> 268	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 268	
aagaagctgt tgaa	14
<210> 269	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 269	
ttcgtctcag ttgcag	16
<210> 270	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 270	
gggatgttga gattattgcc	20
<210> 271	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 271	
gtttcatcga gcct	14
<210> 272	
<211>	
> 18	
<212> DNA	
<213> artificial	

<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 272
 attgtagtga ccttcgat 18
 <210> 273
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 273
 ttctaaatat tcctt 15
 <210> 274
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 274
 attccctgcc tgtgtctgta gaggagca 28
 <210> 275
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 275
 ttcatacaca agaagtct 18
 <210> 276
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 276
 acatcttctg aatt 14
 <210> 277
 <211> 19
 <212>

DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 277	
gtgtgggtga ttgtgacac	19
<210> 278	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 278	
gggacagttg tgc	13
<210> 279	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 279	
gctgtagaag ttgagttc	18
<210> 280	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 280	
ctgcaagcta tgatgg	16
<210> 281	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 281	
ctcctggctg atca	14
<210> 282	

<211> 19
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound

 <400> 282
 gagagaaggt agcacaggc 19
 <210> 283
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 283
 agaatgccat actgg 15
 <210> 284
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 284
 atcttcctgg tcatac 15
 <210> 285
 <211>
 > 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 285
 aagcttcttg tccactgct g 21
 <210> 286
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound
 <400> 286

ccaaagtcac tgtcttcac ttc	23
<210> 287	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 287	
tagcaatctc gc	12
<210> 288	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 288	
acaaagatgg cagcagagc	19
<210> 289	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 289	
ctacagcacc acaaaactca gaatata	27
<210> 290	
<211> 15	
<212>	
DNA	
<213> artificial	
<220><223> Oligo sequence motif or oligomeric compound	
<400> 290	
tgtccatcac agtaa	15