



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0063964  
(43) 공개일자 2024년05월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/7088 (2006.01)  
A61P 1/16 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C12N 15/113 (2013.01)  
A61K 31/7088 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7012540
- (22) 출원일자(국제) 2022년09월26일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년04월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/044765
- (87) 국제공개번호 WO 2023/049475  
국제공개일자 2023년03월30일
- (30) 우선권주장  
63/248,520 2021년09월26일 미국(US)  
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인  
웨이브 라이프 사이언시스 리미티드  
싱가포르 018936 싱가포르 마리나 원 이스트 타워  
넘버12-00 스트레이츠 뷰 7
- (72) 발명자  
모니안 프라샨트  
미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오  
쉬바닐라 치크두 사크티  
미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인코리아나

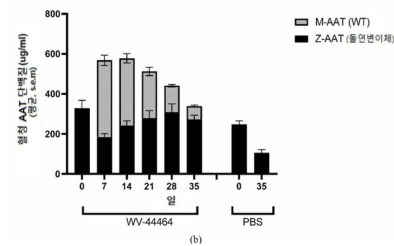
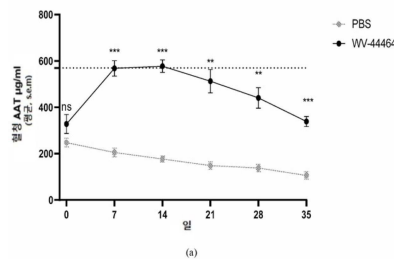
전체 청구항 수 : 총 88 항

(54) 발명의 명칭 **올리고뉴클레오티드 조성물 및 이의 방법**

(57) 요약

본 발명은 특히 설계된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 조성물은 높은 수준의 아데노신 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 조성물은 다양한 병태, 장애 또는 질환, 예를 들어 알파-1 항트립신 결핍증을 치료하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 본 발명은 아데노신 편집으로부터 이익을 얻을 수 있는 다양한 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A61P 1/16** (2018.01)  
**A61P 11/00** (2018.01)  
*C12N 2310/11* (2013.01)  
*C12N 2310/314* (2013.01)  
*C12N 2310/315* (2013.01)  
*C12N 2310/321* (2013.01)  
*C12N 2310/322* (2013.01)  
*C12N 2310/333* (2013.01)  
*C12N 2310/34* (2013.01)

(72) 발명자

**루 건량**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**바기즈 첸드라**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**기안그란데 팔로마 호반**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**칸다사미 파차무투**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**이와모토 나오키**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**시미즈 마모루**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**위 후이**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**양 하이린**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**라모어 사라 다이앤**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**장 평자오**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

**나라야난 파드마쿠마르**

미국 02138 매사추세츠주 캠프리지 콩코드 애비뉴  
733 웨이브 라이프 사이언시스 리미티드 씨/오

(30) 우선권주장

PCT/US2021/058495 2021년11월08일 미국(US)  
63/331,756 2022년04월15일 미국(US)  
63/397,320 2022년08월11일 미국(US)

명세서

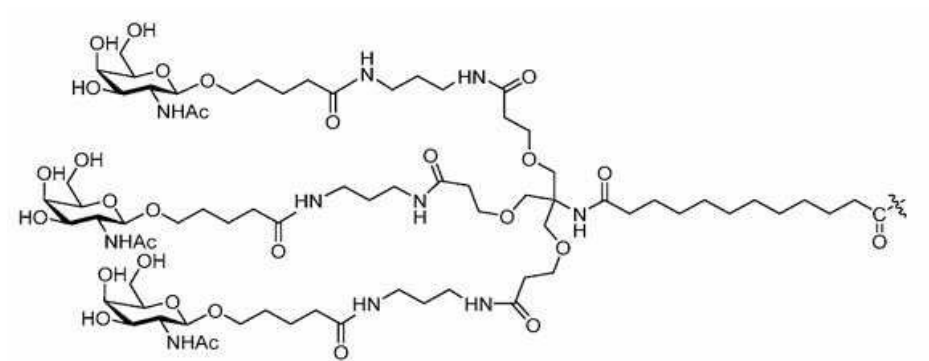
청구범위

청구항 1

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

Mod001은



을 나타내고;

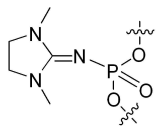
L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

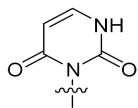
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

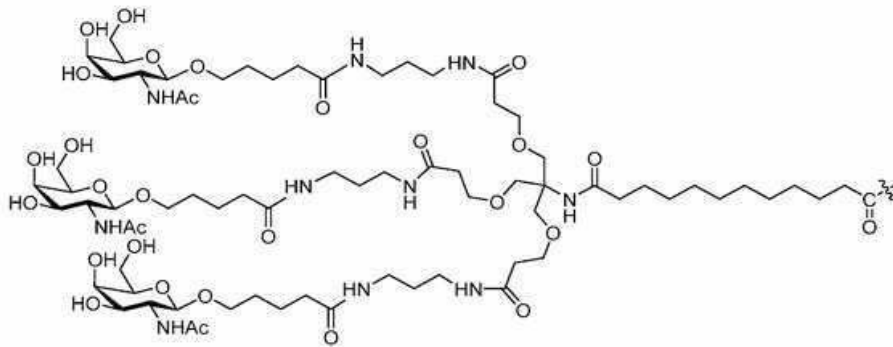


b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

청구항 2

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은 을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

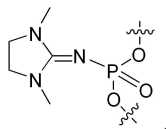
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

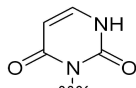
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은 의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

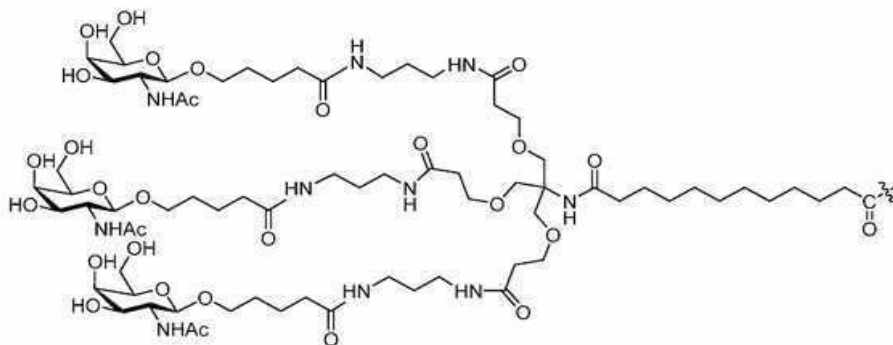


b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 3

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은 을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는

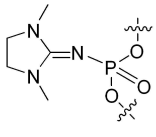
-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

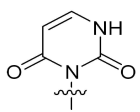
n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;

n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

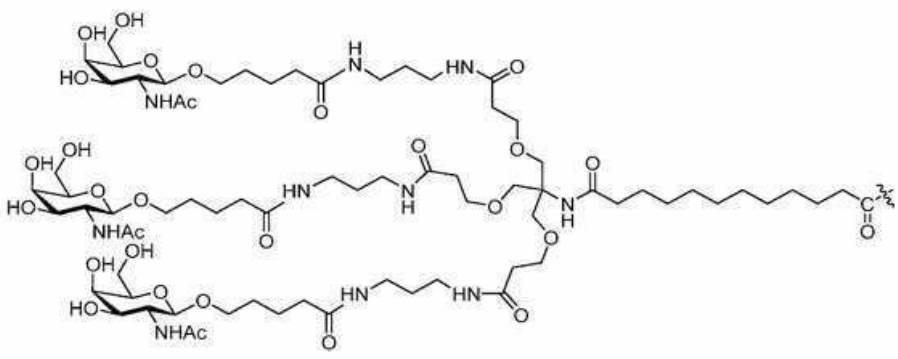
I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

#### 청구항 4

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

Mod001은  을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

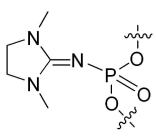
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

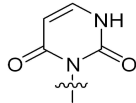
n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;

n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

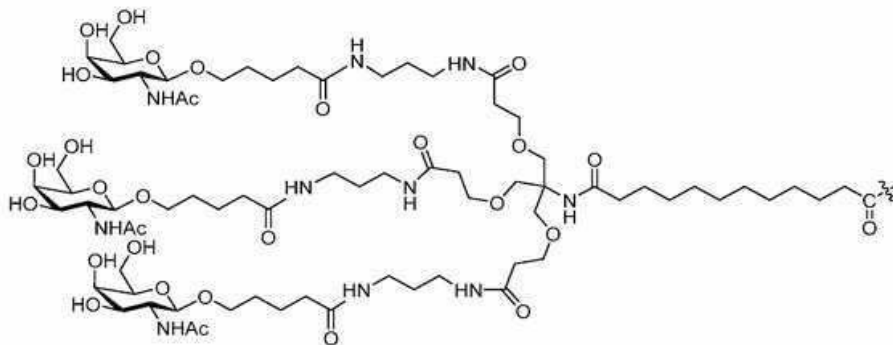


b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

**청구항 5**

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfUn001RTeoTeo fC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은

을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

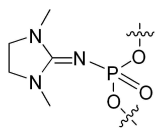
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

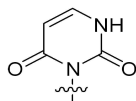
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은 의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

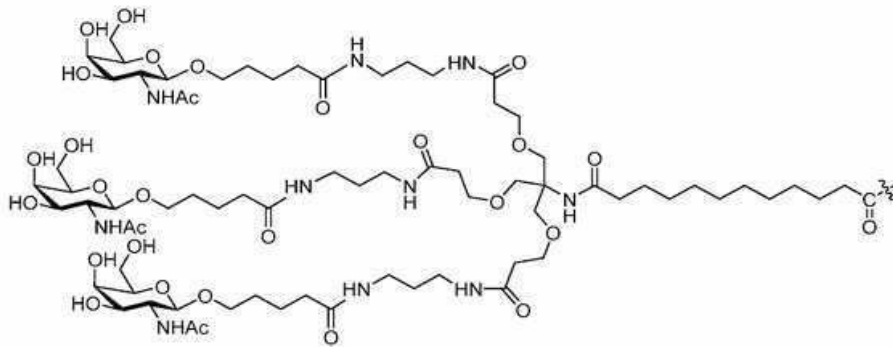


b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

**청구항 6**

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb 008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은

을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

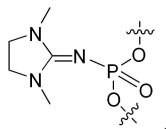
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

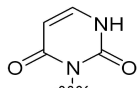
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은 의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

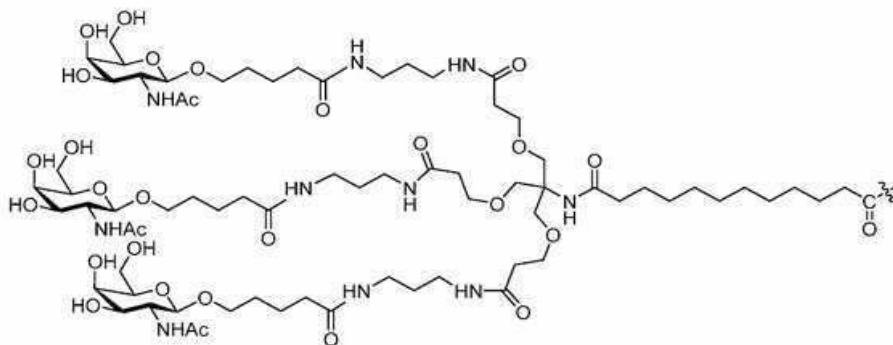


b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

**청구항 7**

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoaefG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoteofC\*ST\*Sb008U\*STn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은

을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는

-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

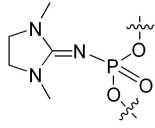
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

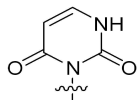
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

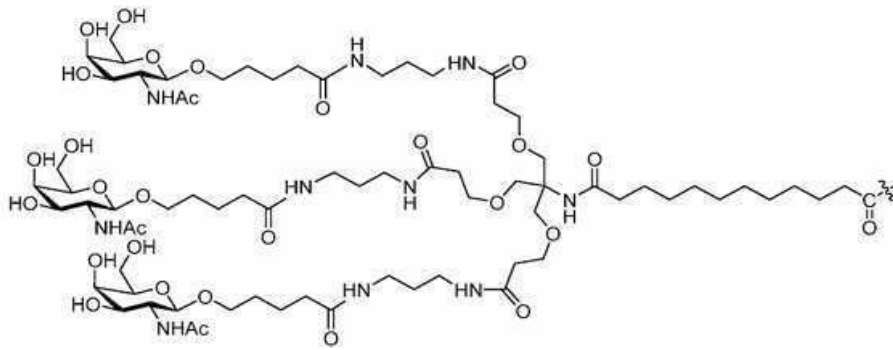


b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 8

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STe  
oTeofC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은

을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

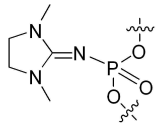
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

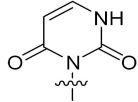
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

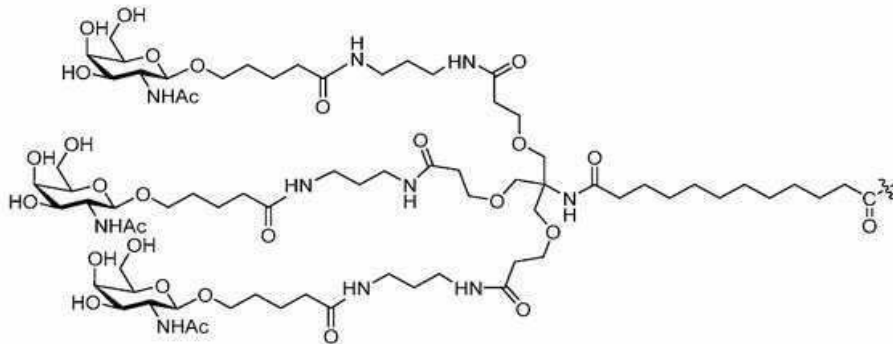


b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 9

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*S  
T\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은  을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

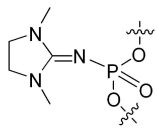
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

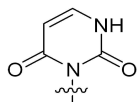
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

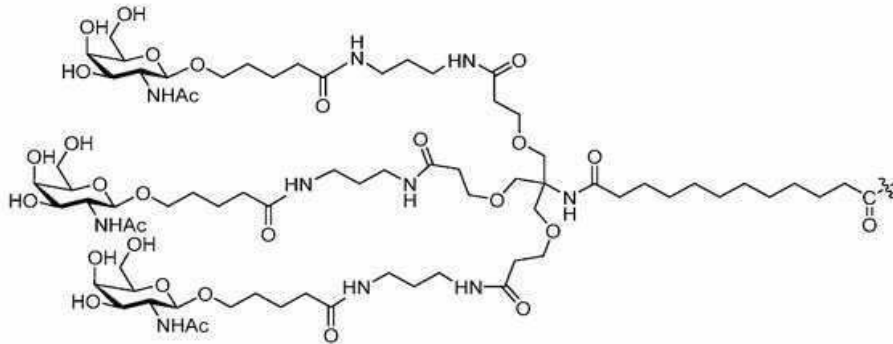


b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

**청구항 10**

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeo fC\*ST\*Sb008U\*Sin001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



Mod001은

을 나타내고;

L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

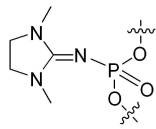
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

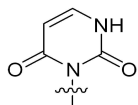
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은 의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

**청구항 11**

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

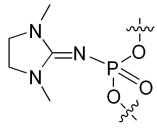
mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*Sin001Sm UfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

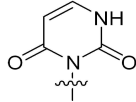
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 12

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*  
SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

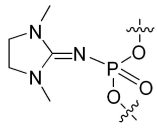
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

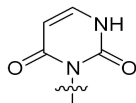
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 13

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

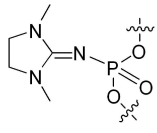
mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIn001S  
mUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

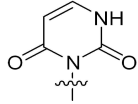
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

#### 청구항 14

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*  
SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

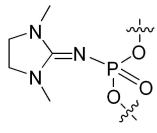
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

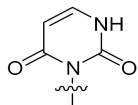
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

#### 청구항 15

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb00  
8U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

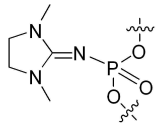
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

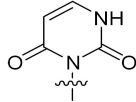
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 16

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

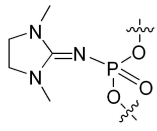
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

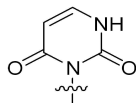
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 17

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

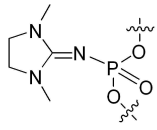
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

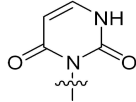
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 18

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoteofC\*ST\*  
Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

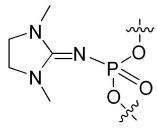
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

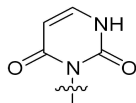
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 19

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*S  
In001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

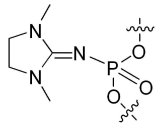
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

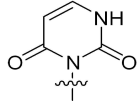
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 20

다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

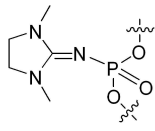
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

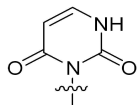
n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



n001 연결은  의 구조를 갖고;

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

### 청구항 21

제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드와 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체인 올리고뉴클레오티드.

### 청구항 22

제21항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.

### 청구항 23

제21항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

### 청구항 24

제21항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

**청구항 25**

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 제약상 허용가능한 염 형태인 올리고뉴클레오티드.

**청구항 26**

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 나트륨 염 형태인 올리고뉴클레오티드.

**청구항 27**

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인 (DS는 약 90%~100%(예를 들어, 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.

**청구항 28**

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.

**청구항 29**

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 약 10%~100%(예를 들어, 약 10%~95%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 약 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 올리고뉴클레오티드.

**청구항 30**

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염 형태로 존재하는 것인 조성물.

**청구항 32**

복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물로서, 복수의 각 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염이고, 특정 올리고뉴클레오티드는 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드인 조성물.

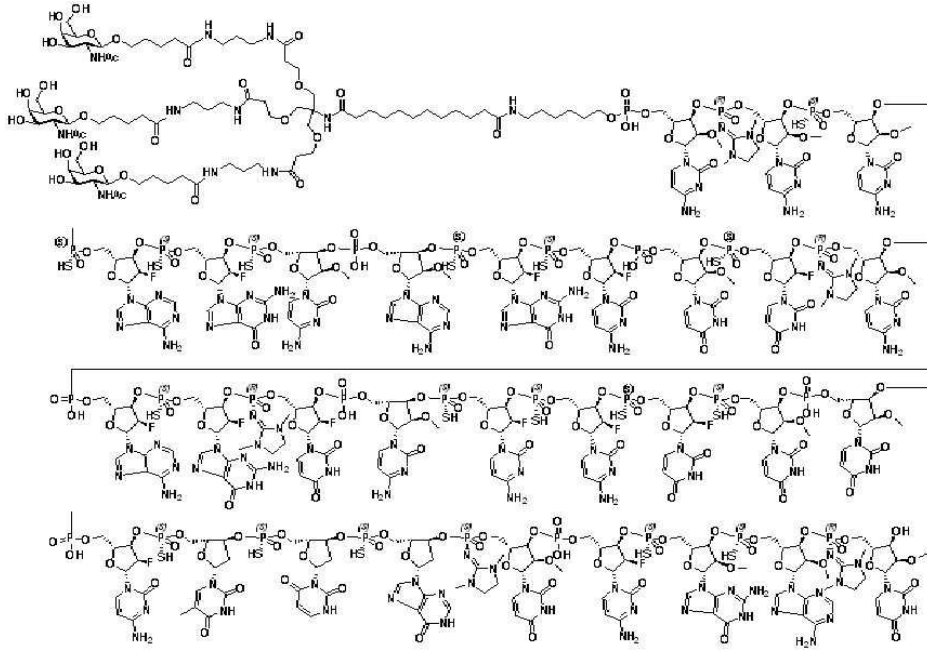
**청구항 33**

제32항에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.

**청구항 34**

화학식 A-1 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

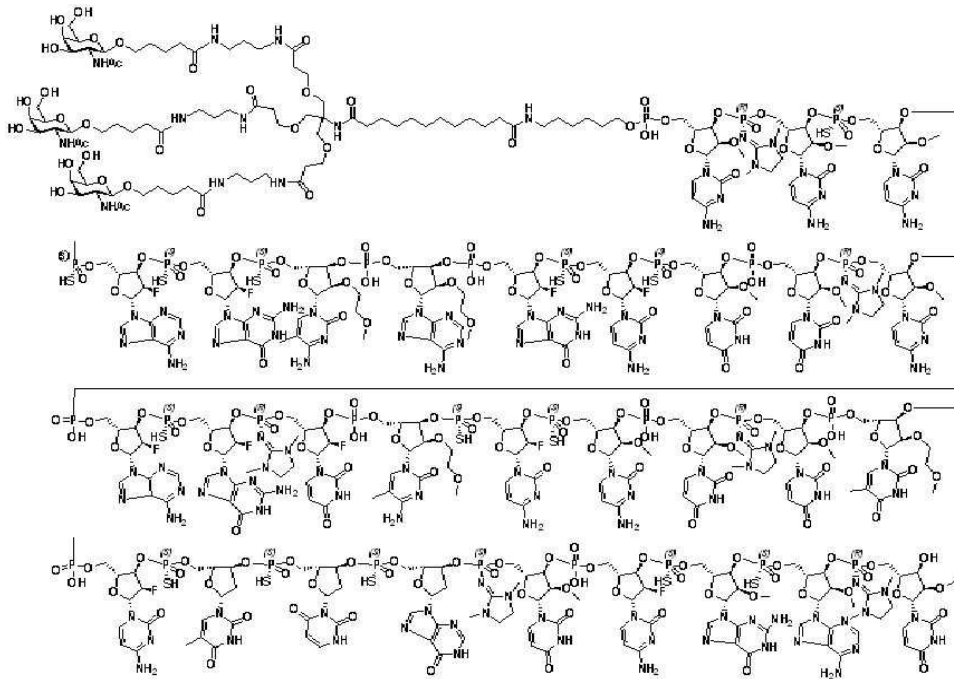
[화학식 A-1]



청구항 35

화학식 A-2 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

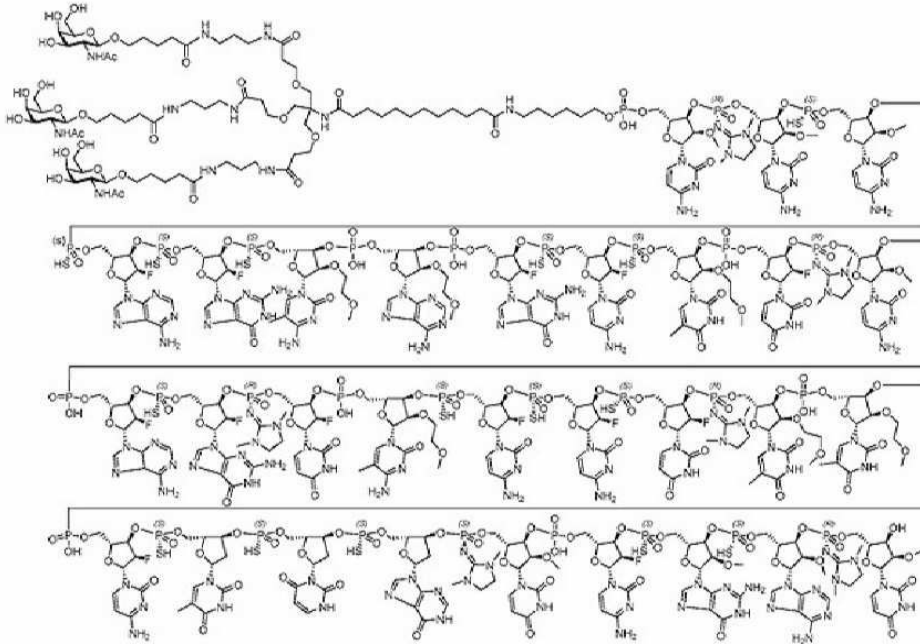
[화학식 A-2]



청구항 36

화학식 A-3 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

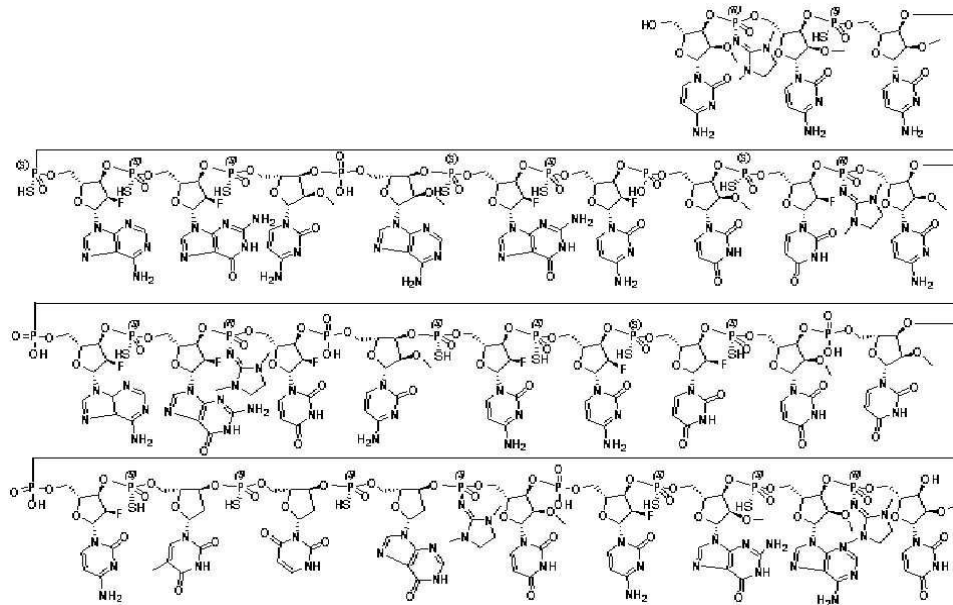
[화학식 A-3]



청구항 37

화학식 B-1 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

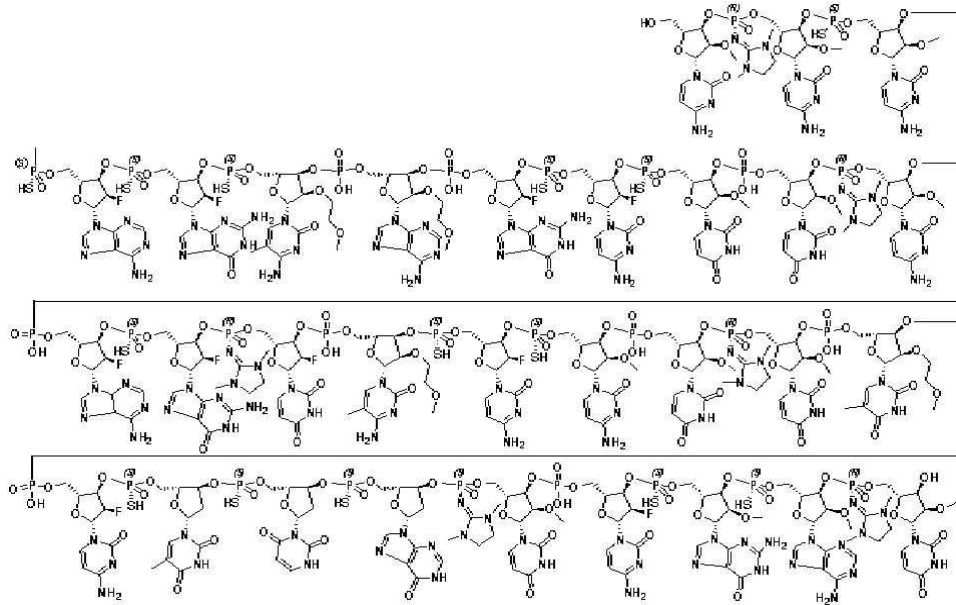
[화학식 B-1]



청구항 38

화학식 B-2 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

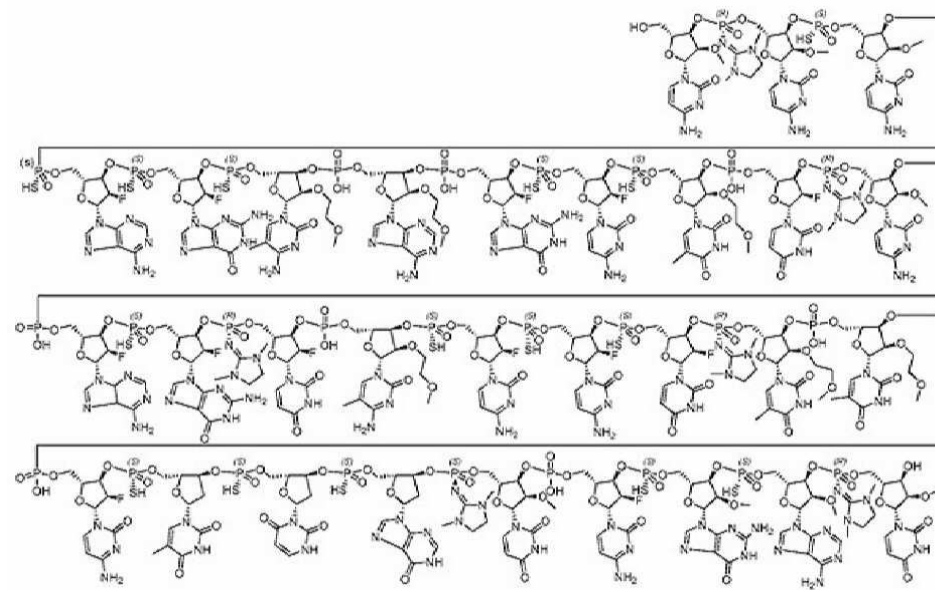
[화학식 B-2]



**청구항 39**

화학식 B-3 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

[화학식 B-3]



**청구항 40**

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항의 화합물과 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체인 화합물.

**청구항 41**

제40항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.

**청구항 42**

제40항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 화합물.

**청구항 43**

제40항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 화합물.

**청구항 44**

제40항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc을 포함하는 화합물.

**청구항 45**

제34항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 제약상 허용가능한 염 형태인 화합물.

**청구항 46**

제34항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 나트륨 염 형태인 화합물.

**청구항 47**

제34항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 90%~100%(예를 들어, 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.

**청구항 48**

제34항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.

**청구항 49**

제34항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 약 10%~100%(예를 들어, 약 10%~95%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 약 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 화합물.

**청구항 50**

제34항 내지 제49항 중 어느 한 항의 화합물 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 51**

제50항에 있어서, 화합물은 제약상 허용가능한 염 형태로 존재하는 것인 조성물.

**청구항 52**

제50항 또는 제51항에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.

**청구항 53**

표적 핵산에서 표적 아데노신을 변형시키는 방법으로서, 표적 핵산을 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오타이드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법; 또는

특정 핵산의 산물을 생성하거나, 특정 핵산의 산물 수준을 복원 또는 증가시키는 방법으로서, 표적 핵산을 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오타이드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고, 특정 핵산은 표적 아데노신 대신 I 또는 G를 갖는다는 점에서 표적 핵산과 상이하고, 표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법; 또는

표적 핵산의 산물 수준을 감소시키는 방법으로서, 표적 핵산을 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클

레오티드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고, 표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법; 또는

방법으로서,

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물을 표적 핵산 및 아데노신 디아미나제를 포함하는 샘플과 접촉시키는 단계를 포함하고, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고;

표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A이고;

표적 아데노신은 변형되는 방법.

#### 청구항 54

병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.

#### 청구항 55

제54항에 있어서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신 결핍증인 방법.

#### 청구항 56

대상체의 간에서 Z-AAT를 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법; 또는

대상체에서 간 염증을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법; 또는

대상체에서 엘라스타제를 억제하는 방법으로서, 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법; 또는

대상체의 혈청 또는 혈액에서 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법; 또는

대상체의 혈청 또는 혈액에서 돌연변이체 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.

#### 청구항 57

제54항 또는 제55항에 있어서, 대상체는 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 동형접합성인 방법.

#### 청구항 58

제54항 또는 제55항에 있어서, 대상체는 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성인 방법.

#### 청구항 59

제54항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 간에서 야생형 A1AT의 수준 또는 활성을 증가시키거나 복원하고/거나, Z-AAT 응집을 감소시키고/거나, 간 손상을 감소시키거나 예방하고/거나, 간경변을 감소시키거나 예방하고/거나, 혈액 내 야생형 AAT의 수준을 증가시키고/거나, 혈액 내 순환하는 폐 결합 야생형 AAT의 수준을 증가시

키고/거나, 프로테아제로부터 폐 손상을 감소시키거나 예방하고/거나, 폐 염증을 감소시키거나 예방하는 방법.

**청구항 60**

제54항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 61**

제54항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제34항 내지 제39항 중 어느 한 항의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 62**

제54항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 63**

제54항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제37항 내지 제39항 중 어느 한 항의 화합물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 64**

제54항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드 또는 화합물은 대상체에게 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염과 각각 올리고뉴클레오티드 또는 화합물의 접합체의 유효량을 투여함으로써 전달되는 방법.

**청구항 65**

제64항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.

**청구항 66**

제64항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 방법.

**청구항 67**

제64항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 방법.

**청구항 68**

제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 올리고뉴클레오티드와 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 69**

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 화합물과 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 70**

제68항 또는 제69항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 방법.

**청구항 71**

제68항 또는 제69항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 방법.

**청구항 72**

제68항 또는 제69항에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 방법.

**청구항 73**

제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 제1항 내지 제10항에 기재된 상응하는 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 74**

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 제34항 내지 제36항에 기재된 상응하는 화합물을 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 75**

제68항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 시스템은 인간인 방법.

**청구항 76**

제68항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 시스템은 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.

**청구항 77**

제68항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 전사체의 1024 G>A(E342K)는 편집되는 방법.

**청구항 78**

제53항 내지 제77항 중 어느 한 항의 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.

**청구항 79**

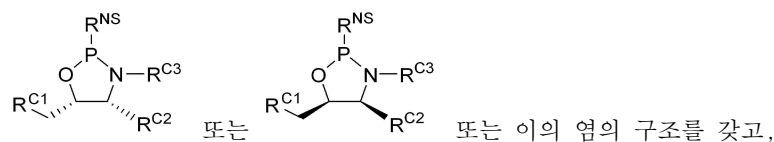
제53항 내지 제77항 중 어느 한 항의 방법을 위한 의약을 제조하기 위한, 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.

**청구항 80**

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드 또는 제34항 내지 제49항 중 어느 한 항의 화합물을 제조하는 방법으로서, 키랄 보조체를 포함하는 포스포아미다이트를 하이드록실 기와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 81**

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오티드 또는 제34항 내지 제49항 중 어느 한 항의 화합물을 제조하는 방법으로서, 포스포아미다이트를 하이드록실 기와 커플링시키는 단계를 포함하고, 포스포아미다이트는



R<sup>NS</sup>는 임의로 보호된 뉴클레오시드 모이어티이고;

R<sup>C1</sup>은 R, -Si(R)<sub>3</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R이고;

각각의 R<sup>C2</sup> 및 R<sup>C3</sup>는 독립적으로 R이고;

각각의 R은 독립적으로 -H이거나, C<sub>1-20</sub> 지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>1-20</sub> 헤테로지방족, C<sub>6-20</sub> 아릴, C<sub>6-20</sub> 아릴지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>6-20</sub> 아릴헤테로지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 5~20원 헤테로아릴, 및 1~10개의 헤테로원자를 갖는 3~20원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이거나;

2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 함께 공유 결합을 형성하거나, 또는

동일한 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 해당 원자와 함께, 해당 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~20원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성하거나;

2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 해당 개재된 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~30원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성하는 방법.

**청구항 82**

제81항에 있어서, R<sup>C2</sup>와 R<sup>C3</sup>는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에는 헤테로원자를 갖지 않는 임의로 치환된 5원 포화 고리를 형성하는 방법.

**청구항 83**

제80항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 포스포아미다이트에 대해, R<sup>C1</sup>은 -SiPh<sub>2</sub>Me인 방법.

**청구항 84**

제80항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 포스포아미다이트에 대해, R<sup>C1</sup>은 -SO<sub>2</sub>R이고, R은 페닐인 방법.

**청구항 85**

제80항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, C-6 아미노 링커와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 86**

제80항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, GalNAc 함유 산과의 접합을 포함하는 방법.

**청구항 87**

제80항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 임의로 치환된 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 포스포아미다이트와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 88**

구현예 1 내지 425 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오타이드, 화합물, 조성물, 또는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 9월 26일 출원된 미국 가출원 제63/248,520호, 2022년 4월 15일 출원된 제63/331,756호 및 2022년 8월 11일 출원된 제63/397,320호 및 2021년 11월 8일 출원되고, 2022년 5월 12일 WO2022/099159로 공개된 PCT 출원 제PCT/US2021/058495호에 대한 우선권을 주장하며, 상기 문헌 각각의 전체는 본원에 참고로 포함된다.

**배경 기술**

[0003] 올리고뉴클레오타이드는 다양한 응용분야, 예를 들어 치료, 진단, 및/또는 연구 응용분야에서 유용하다. 예를 들어, 다양한 유전자를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드는 이러한 표적 유전자와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료에 유용할 수 있다. SERPINA1 유전자는 세린 프로테아제 억제제 알파-1 항트립신(A1AT)을 암호화한다. A1AT는 호중구 엘라스타제를 비롯한 특정 염증성 효소로부터 조직을 보호하는 것으로 보고되었다. A1AT 결핍증(알파-1 항트립신 결핍증, A1AD)은 호중구 엘라스타제에 의한 폐 내 엘라스틴의 과도한 분해를 초래할 수 있다. 이는

폐의 탄력성을 감소시키고 폐기종 및 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD)을 포함한 후속 호흡기 합병증을 유발할 수 있다. 돌연변이 A1AT는 간에도 축적되어 간경변과 간부전을 일으킬 수 있다.

**발명의 내용**

[0004] 무엇보다도, 본 발명은 간부전 /또는 폐기종을 초래할 수 있는 알파 1 항트립신 결핍증(A1AD)을 치료하기 위해 SERPINA1의 병원성 돌연변이, 예를 들어 1024 G>A(A1AT의 E342K)를 교정하기 위한 새로운 치료 및 요법에 대한 필요성을 인식하고 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 SERPINA1에서 1024 G>A(A1AT의 E342K)와 연관된 병태, 장애 또는 질환을 예방하거나 치료하기 위한 기술, 예를 들어 올리고뉴클레오티드, 화합물, 조성물, 방법 등을 제공한다.

[0005] 특히, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 변형(예를 들어, 핵염기 당, 및/또는 뉴클레오티드간 연결, 및 이의 패턴에 대한 변형)을 포함하는 설계된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공한다. 본원의 일부 구현예에는 알파 1 항트립신 결핍증(A1AD)을 치료하기 위해 SERPINA1 유전자를 선택적이고 효율적으로 편집하고 유전자의 병원성 돌연변이를 교정하기 위한 화합물 및 방법이 있다. 또한 SERPINA1 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 증상을 예방하거나 개선하는 데 유용한 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 본 발명(예: 올리고뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 조성물, 방법 등)의 기술(화합물(예: 올리고뉴클레오티드), 조성물, 방법 등)은 핵산의 편집, 예를 들어 핵산의 부위-지정 편집(예: 표적 아데노신의 편집)에 특히 유용하다. 일부 구현예에서, 본원에 나타난 바와 같이, 제공된 기술은 핵산 편집, 예를 들어 A에서 I로의 변환과 같은 하나 이상의 A 잔기의 변형의 효율을 현저히 개선시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 RNA의 편집(예: A 잔기의 변형, 예를 들어 A에서 I로의 변환) 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 전사체(예: mRNA)의 편집(예: A 잔기의 변형, 예를 들어 A에서 I로의 변환) 기술을 제공한다. 특히, 제공된 기술은 핵산 편집, 예를 들어 A 변형(예: G에서 A로의 돌연변이의 결과로서)을 위한 ADAR(Adenosine Deaminases Acting on RNA) 단백질(예: ADAR1 및/또는 ADAR2)과 같은 내인성 단백질 활용의 이점을 제공한다. 당업자는 내인성 단백질의 이러한 활용이 외인성 구성요소(예: 단백질(예를 들어, 올리고뉴클레오티드(및/또는 표적 핵산과의 듀플렉스)에 결합하여 원하는 활성을 제공하도록 조작된 것), 단백질을 암호화하는 핵산, 바이러스 등)의 전달을 필요로 하는 기술과 비교하여 많은 어려움을 회피하고/하거나 다양한 이점을 제공할 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 SERPINA1 전사체를 편집하고/하거나 대상체의 SERPINA1 돌연변이, 예를 들어 1024 G>A와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 치료 또는 예방하기 위한 올리고뉴클레오티드, 화합물, 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물은 RNA(ADAR) 매개 아데노신에 작용하는 아데노신 디아미나제에 영향을 미쳐 전사체에서 이노신으로 변경시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 탈아미노화는 SERPINA1에서 병원성 돌연변이 1024 G>A를 교정하고/하거나, A1AT 폴리펩티드에서 E342K 돌연변이를 다시 야생형으로 역전시키고/시키거나, 1024 G>A 관련 병태, 장애 또는 질환 및 환자가 경험하는 관련 증상을 역전시키거나 둔화시킨다.

[0006] 특히, 일부 구현예에서, 제공된 기술의 올리고뉴클레오티드는 유용한 당 변형 및/또는 이의 패턴(예: 특정 변형의 존재 및/또는 부재), 핵염기 변형 및/또는 이의 패턴(예: 특정 변형의 존재 및/또는 부재), 뉴클레오티드간 연결 변형 및/또는 입체화학 및/또는 이의 패턴[예: 키랄 연결 인의 유형, 변형, 및/또는 배열(Rp 또는 Sp) 등] 등을 포함하고, 이들은 본원에 기재된 하나 이상의 다른 구조적 요소(예: 추가의 화학적 모이어티)와 조합되는 경우, 높은 활성 및/또는 다양한 원하는 특성, 예를 들어 높은 효율의 핵산 편집, 높은 선택성, 높은 안정성, 높은 세포 흡수, 낮은 면역 자극, 낮은 독성, 개선된 분포, 개선된 친화성 등을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 예를 들어, 아데노신 편집에 사용되는 천연 RNA 당 및/또는 2'-변형 당의 비율이 높은 올리고뉴클레오티드에 비해 높은 안정성을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 높은 활성, 예를 들어 아데노신 편집 활성을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 높은 선택성을 제공한다. 예를 들어 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 동일한 표적 핵산 내의 다른 아데노신에 비해 표적 핵산 내의 표적 아데노신의 선택적인 변형(예를 들어, 표적 핵산 내의 다른 아데노신 또는 모든 다른 아데노신보다 표적 아데노신에서 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20배 이상의 변형)을 제공한다.

[0007] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 키랄 연결 인의 입체화학은 조성물에서 제어된다. 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 제공하며, 복수의 올리고뉴클레오티드는 하나 이상(예를 들어, 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결의 약 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 1~15, 1~10, 5~50, 5~40, 5~30, 5~25, 5~20, 5~15, 5~10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,

17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 이상, 또는 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 키랄 뉴클레오티드간 연결("키랄 제어 뉴클레오티드간 연결")에서 독립적으로 공통 염기 서열, 및 동일한 배열의 연결 인(예를 들어, 키랄 연결 인에 대해 모두 Rp이거나 모두 Sp임)을 공유한다. 일부 구현예에서, 이들은 각각의 키랄 연결 인에서 동일한 입체화학을 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 구성을 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 뉴클레오티드간 연결을 제외하고는 구조적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 구조적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 공통 염기 서열을 공유하는 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 복수의 올리고뉴클레오티드의 백본 키랄 중심 패턴을 공유한다. 일부 구현예에서, 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 공통 염기 서열을 공유하는 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 공통 염기 서열을 공유하는 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 복수의 올리고뉴클레오티드이다.

[0008] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드의 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공하며, 올리고뉴클레오티드와 동일 구성의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 형태(예: 산 형태, 염 형태(예를 들어, 제약상 허용가능한 염 형태; 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드가 염인 경우, 올리고뉴클레오티드의 상응하는 산 또는 염기 형태의 다른 염 형태) 등)이다.

[0009] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물(특히, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물)의 제조 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드, 화합물 및 이의 조성물은 고순도이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 키랄 뉴클레오티드간 연결의 연결 인에서 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 입체화학적으로 순수하다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 입체선택적으로 제조되고 입체이성체가 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 동일한 키랄 연결 인 입체화학 패턴의 동일한 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 제공된 조성물(예를 들어, Rp 및/또는 Sp 중 하나 이상을 포함하고, 각각의 키랄 연결 인은 독립적으로 Rp 또는 Sp임)에서, 복수의 올리고뉴클레오티드와 동일한 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%는 동일한 키랄 연결 인 입체화학 패턴을 공유하거나 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 동일한 키랄 연결 인 입체화학 패턴의 동일한 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 제공된 조성물에서, 복수의 올리고뉴클레오티드와 동일한 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%는 동일한 키랄 연결 인 입체화학 패턴을 공유하거나 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 각 키랄 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%이다. 일부 구현예에서, 각 키랄 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, 각 키랄 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, 각 키랄 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 약 또는 적어도 약  $(DS)^{nc}$ 이고, 여기서 DS는 90%~100%이고, nc는 키랄 연결 인의 수이다. 일부 구현예에서, DS는 약 90% 이상이다. 일부 구현예에서, DS는 약 95% 이상이다. 일부 구현예에서, DS는 약 96% 이상이다. 일부 구현예에서, DS는 약 97% 이상이다. 일부 구현예에서, DS는 약 98% 이상이다. 일부 구현예에서, DS는 약 99% 이상이다.

[0010] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-46312, WV-47606, WV-47608, WV-49085, WV-49086, WV-49087, WV-49088, WV-49089, WV-49090 또는 WV-49092이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-46312이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-47606이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-47608이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49085이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49086이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49087이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49088이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49089이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49090이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 WV-49092이다.

[0011] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 제약상 허용가능한 염을 포함하는 올리고머 화합물로서, 올리고뉴클레오티드는 하기 식의 올리고뉴클레오티드이다:

[0012]  $Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SiN001SmUfC*SmG*SmAn001RmU;$

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0013] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0014] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0015] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0016] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0017] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU

또는

Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU.

[0018] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 제약상 허용가능한 염을 포함하는 올리고머 화합물로서, 올리고뉴클레오티드는 하기 식의 올리고뉴클레오티드이다:

[0019] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0020] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0021] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0022] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0023] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU;

[0024] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU

또는

mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU.

[0025] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 및 조성물은 다양한 형태로 제공/활용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 형태, 예를 들어 산 형태(예를 들어, 천연 포스페이트 연결이 -O(P(O)(OH)-O-로 존재하는 경우, 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 -O(P(O)(SH)-O-로 존재), 염기 형태, 염 형태(예를 들어, 천연 포스페이트 연결이 염 형태(예: 나트륨염(-O(P(O)(O<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>)-O-))로 존재하는 경우, 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 염 형태(예: 나트륨염(-O(P(O)(S<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>)-O-))으로 존재) 등

을 포함하는 조성물을 제공한다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염을 비롯한 다양한 염 형태로 존재할 수 있으며, 용액(예를 들어, 다양한 수성 완충 시스템)에서, 양이온은 음이온과 분리될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 제공된 올리고뉴클레오티드 및/또는 이의 하나 이상의 제약상 허용가능한 염, 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다.

[0026] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염 형태와 같은 다양한 염 형태를 포함하는 다양한 형태로 제공, 투여 또는 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 염 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 다수의 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 다수의 염 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 다수의 제약상 허용가능한 염 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 다수의 형태는 함께 유효량의 올리고뉴클레오티드에 해당한다.

[0027] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 추가의 모이어티, 예를 들어 표적화 모이어티, 탄수화물 모이어티 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 모이어티는 GalNAc 또는 이의 유도체이거나 GalNAc 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함한다. 특히, 추가의 모이어티는 특정 표적 위치, 예를 들어 세포, 조직, 기관 등(예를 들어, 추가의 모이어티와 상호작용하는 수용체를 포함하는 위치)로의 전달을 촉진할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가의 모이어티는 간으로의 전달을 촉진한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드를 전달하기 위해, 추가의 화학적 모이어티를 갖는 이러한 올리고뉴클레오티드를 포함하는 접합체 올리고뉴클레오티드가 투여된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체를 투여함으로써 전달된다.

[0028] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0029] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0030] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0031] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*

ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0032] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0033] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0034] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0035] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0036] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0037] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 이러한 올리고뉴클레오티드의 접합체인 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU 또는 이의 염이다.

[0038] 제공된 기술은 다양한 목적을 위해 활용될 수 있다. 예를 들어, 당업자는 제공된 기술이 아데노신의 변형, 예를 들어 G에서 A로의 돌연변이의 교정, 특정 핵산 및/또는 그에 의해 암호화된 생성물의 수준 조절 등과 관련된 많은 목적에 유용하다는 것을 이해할 것이다.

[0039] 일부 구현예에서, 본 발명은 아데노신 변형(예: A에서 I 또는 G로의 변환)이 잘 일어나는 병태, 장애 또는 질환

을 예방 또는 치료하기 위한 기술을 제공한다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, I는 예를 들어 염기쌍 형성, 번역 등에서 G의 하나 이상의 기능을 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, A에서 I로의 변환을 통해 G에서 A로의 돌연변이를 교정하여 G-버전 핵산의 하나 이상의 산물(예: 단백질)을 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하기 위한 기술로서, 이러한 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 돌연변이를 편집할 수 있는 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하기 위한 기술로서, 이러한 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 A를 변형할 수 있는 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 전사체(예를 들어, RNA 전사체)에서 A를 변형한다. 일부 구현예에서, A는 I로 변환된다. 일부 구현예에서, 번역 중에 단백질 합성 기구는 I를 G로 판독한다. 일부 구현예에서, A 형태는 상응하는 G 형태에 의해 암호화된 것과 비교하여 하나 이상의 더 높은 원하는 활성 및/또는 하나 이상의 더 우수한 원하는 특성을 갖는 하나 이상의 단백질을 암호화한다. 일부 구현예에서, A 형태는 상응하는 G 형태에 비해, 하나 이상의 더 높은 원하는 활성 및/또는 하나 이상의 더 우수한 원하는 특성을 갖는 하나 이상의 단백질의 더 높은 수준을 제공한다. 일부 구현예에서, A 형태에 의해 암호화된 산물은 상응하는 G 형태에 의해 암호화된 것과 구조적으로 다르다(예를 들어, 더 길고, 일부 구현예에서는 전장 단백질임). 일부 구현예에서, A 형태는 상응하는 G 형태와 비교하여 구조적으로 동일한 산물(예: 단백질)을 제공한다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 SERPINA1에서 1024 G>A이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 SERPINA1에서 1024 G>A와 관련된다.

[0040] 본 출원은 참고로 2020년 11월 8일 출원된 미국 가출원 제63/111,079호, 2021년 4월 14일 출원된 제63/175,036호, 2021년 5월 13일 출원된 제63/188,415호, 2021년 6월 2일 출원된 제63/196,178호, 2021년 9월 26일 출원된 제63/248,520호, 2022년 4월 15일 출원된 제63/331,756호, 및 2022년 8월 11일 출원된 제63/397,320호, 그리고 WO 2021/071858 및 WO 2022/099159를 본원에 포함한다.

### 도면의 간단한 설명

[0041] 도 1. 제공된 기술은 지속적인 생체내 편집을 제공할 수 있다. hADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 피하 투여를 통해 10 mg/kg 용량으로 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 마우스 혈청을 처리 후 표시된 날에 매주 채혈을 통해 수집하였다. (a) ELISA에 의해 인간 AAT 단백질의 수준을 측정하였다. . 데이터는 평균 ± sem으로 제시되어 있다. 통계: 일치된 2원 ANOVA; ns: 유의하지 않음, \*\*: P<0.01, \*\*\*: P<0.001. (b) 질량 분석법 및 ELISA를 사용하여 야생형(WT/M-AAT) 및 돌연변이체(Z-AAT/돌연변이체) AAT 단백질의 상대적인 비율을 결정하였다.

도 2. 제공된 기술은 편집을 제공할 수 있다. hADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 1차 마우스 간세포를 표시된 농도의 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 표시된 GalNAc 접합 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 처리 후 48시간 후에 RNA를 단리하고, RNA 편집을 Sanger 시퀀싱(n=2 생물학적 복제)으로 측정하였다.

도 3. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. hADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 피하 투여를 통해 5 mg/kg 용량으로 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 처리 후 제7일에 마우스 간 생검을 수집하였다. RNA 편집을 수컷(왼쪽 막대) 및 암컷(오른쪽 막대) 마우스(성별당 n=3마리)에서 Sanger 시퀀싱으로 측정하였다.

도 4. 제공된 기술은 편집을 제공할 수 있다. hADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 1차 마우스 간세포를 표시된 농도의 SERPINA-Z 대립유전자를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 처리 후 48시간 후에 RNA를 단리하고, RNA 편집을 Sanger 시퀀싱(n=3 생물학적 복제)으로 측정하였다.

도 5. 제공된 기술은 생체 내에서 기능적 편집된 폴리펩티드를 제공할 수 있다. hADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 피하 투여를 통해 10 mg/kg 용량으로 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 마우스 혈청을 표시된 날에 매주 채혈을 통해 수집하였다. 야생형(PiM/WT, 왼쪽 막대) 및 돌연변이체(PiZ/돌연변이체, 오른쪽 막대) AAT 단백질의 상대적인 비율을 평가하기 위해 인간 AAT 단백질의 수준을 ELISA 및 질량 분석법으로 정량화하였다.

도 6. 제공된 기술은 편집을 제공할 수 있다. 염기 변형(예를 들어, b008U 등), 연결 변형(예를 들어, PS(포스포티오에이트), PN(예를 들어, n001과 같은 포스포릴 구아닌딘 연결) 등), 당 변형(예를 들어, 2'-F, 2'-OMe,

2' -MOE 등) 등의 다양한 변형을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 조성물을 제조하고 평가하였다. 인간 ADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 1차 마우스 간세포에서 SERPINA1-Z 대립유전자의 표적 아데노신의 편집이 확인되었다(N=2 생물학적 복제).

도 7. 제공된 기술은 편집을 제공할 수 있다. 염기 변형(예를 들어, b008U 등), 연결 변형(예를 들어, PS(포스포로티오에이트), PN(예를 들어, n001과 같은 포스포릴 구아니딘 연결) 등), 당 변형(예를 들어, 2'-F, 2'-OMe, 2' -MOE 등) 등의 다양한 변형을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 조성물을 제조하고 평가하였다. 인간 ADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 1차 마우스 간세포에서 SERPINA1-Z 대립유전자의 표적 아데노신의 편집이 확인되었다(N=2 생물학적 복제).

도 8. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. 인간 ADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스에서 SERPINA1-Z 대립유전자의 표적 아데노신의 생체내 편집을 확인하였다. 처리된 마우스에서 AAT의 혈청 수준도 증가했다.

도 9. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. 다양한 핵염기(예를 들어, b008U, 하이포잔틴 등), 연결(예를 들어, PO, PS, PN(예를 들어, n001과 같은 포스포릴 구아니딘 연결) 등), 당 변형(예를 들어, 2'-F, 2'-OMe, 2' -MOE 등) 등 및 이의 패턴을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 제조하였다. 표적 아데노신의 편집 및 혈청 AAT의 증가를 확인하였다(N=군당 4마리). 상단: 제10일의 SERPINA1 편집. 하단: 혈청 AAT 배수 변화.

도 10. 제공된 기술은 표적 전사체의 편집을 제공할 수 있다. SERPINA1-Z 대립유전자의 편집이 확인되었다(N=2 생물학적 복제). ZZ 유전자형을 갖는 인간 환자 iPSC 유래 간세포를 제0일에 플레이팅하고 제2일에 표시된 올리고뉴클레오타이드(예: WV-46312, WV-49090, WV-49092)를 다양한 농도(각 올리고뉴클레오타이드에 대해 왼쪽에서 오른쪽으로, 5, 1.25, 0.31 및 0.08  $\mu$ M)로 처리하였다. 배지는 2일마다(예: 제4일, 제6일, 제8일에) 새로 공급하였다. 제10일에 RNA를 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다.

도 11. 제공된 기술은 표적 전사체의 편집을 제공할 수 있다. SERPINA1-Z 대립유전자의 편집이 확인되었다(N=2 생물학적 복제). ZZ 유전자형을 갖는 인간 환자 iPSC 유래 간세포를 제0일에 플레이팅하고 제2일에 표시된 올리고뉴클레오타이드(왼쪽 WV-46312, 오른쪽 WV-44515)를 다양한 농도(예: 5, 1.25, 0.31 및 0.08  $\mu$ M)로 처리하였다. 배지를 2일마다(예: 제4일, 제6일, 제8일에) 교환하고, 표시된 올리고뉴클레오타이드를 2일마다(예: 제4일, 제6일, 제8일에) 다시 투여하였다. 제10일에 RNA를 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다.

도 12. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터 전사체의 편집이 확인되었다. 7주령의 NSG-PiZ 마우스(JAX 스톡 #028842; 처리군당 N=5)에게 표시된 올리고뉴클레오타이드 조성물(예: WV-49090)을 용량당 10 mg/kg으로 피하 투여하였다. 한 마우스군은 제1주 동안(제0일, 제2일, 제4일에) 부하 용량을 투여받았고, 다른 군은 제1주 동안(제0일에) 단일 용량을 투여받았다(부하 용량 없음). 이후 이들 군은 2주마다(예: 제2주, 제4주, 제6주, 제8주, 제10주, 제12주 동안) 추가 용량을 투여받았다. 마우스의 대조군은 PBS를 투여받았다. 처리 후 제13주에 마우스 간 생검을 수집하였다. 간 생검으로부터 RNA를 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다. 1원 ANOVA와 다중 비교에 대한 조정(Tukey)을 사용하여 부하 용량과 부하 용량 없음 사이의 편집(%) 차이를 검정하였다(ns: 유의하지 않음).

도 13. 제공된 기술은 생체내에서 SERPINA1 mRNA 수준을 증가시킬 수 있다. 7주령의 NSG-PiZ 마우스(JAX 스톡 #028842; 처리군당 N=5)에게 표시된 올리고뉴클레오타이드 조성물(예: WV-49090)을 용량당 10 mg/kg으로 피하 투여하였다. 한 마우스군은 제1주 동안(제0일, 제2일, 제4일에) 부하 용량을 투여받았고, 다른 군은 제1주 동안(제0일에) 단일 용량을 투여받았다(부하 용량 없음). 이후 이들 군은 2주마다(예: 제2주, 제4주, 제6주, 제8주, 제10주, 제12주 동안) 추가 용량을 투여받았다. 처리 후 제13주에 마우스 간 생검을 수집하였다. 마우스의 대조군은 PBS를 투여받았다. 간 생검으로부터 RNA를 수집하고, qPCR을 사용하여 상대 SERPINA1 mRNA 수준(SERPINA1/HPRT)을 정량화하였다. 상대 SERPINA1 mRNA의 기준선 측정치는 투여 전(제0주) 수집된 마우스 생검으로부터 결정하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다. 1원 ANOVA와 반복 측정 및 다중 비교에 대한 조정(Dunnett)을 사용하여 상대 SERPINA1 mRNA 수준 차이를 검정하였다(\*\*\*\*: P-값 < 0.001; ns: 유의하지 않음).

도 14. 제공된 기술은 돌연변이 Z-AAT 단백질 수준을 감소시키고 혈청에서 야생형(M) AAT 단백질 수준을 증가시

킬 수 있다. 7주령의 NSG-PiZ 마우스(JAX 스톡 #028842; 처리군당 N=5)에게 표시된 올리고뉴클레오티드 조성물(예: WV-49090)을 용량당 10 mg/kg으로 피하 투여하였다. 한 마우스군은 제1주 동안(제0일, 제2일, 제4일에) 부하 용량을 투여받았고, 다른 군은 제1주 동안(제0일에) 단일 용량을 투여받았다(부하 용량 없음). 이후 이들 군은 2주마다(예: 제2주, 제4주, 제6주, 제8주, 제10주, 제12주 동안) 추가 용량을 투여받았다. 마우스의 대조군은 PBS를 투여받았다. 처리 후 제13주에 마우스로부터 혈청을 수집하였다. Z(돌연변이체) 대 M(야생형) AAT 동형의 상대 존재비를 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS)으로 결정하였다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다.

도 15. 다양한 제공된 올리고뉴클레오티드 조성물에 의한 편집은 기능성 야생형 AAT 단백질을 생성할 수 있다. 7주령의 NSG-PiZ 마우스(JAX 스톡 #028842; 처리군당 N=5)에게 표시된 올리고뉴클레오티드 조성물을 용량당 10 mg/kg으로 피하 투여하였다. 한 마우스군은 제1주 동안(제0일, 제2일, 제4일에) 부하 용량을 투여받았고, 다른 군은 제1주 동안(제0일에) 단일 용량을 투여받았다. 이후 이들 군은 2주마다(예: 제2주, 제4주, 제6주, 제8주, 제10주, 제12주 동안) 추가 용량을 투여받았다. 마우스의 대조군은 PBS를 투여받았다. 투여 전 및 처리 후 제13주에 마우스로부터 혈청을 수집하였다. 혈청의 상대 엘라스타제 억제 활성을 시판되는 키트를 사용하여 시험관 내 반응으로 결정하였다. 치료군은 각 시점에 대해 왼쪽에서 오른쪽으로 다음과 같다: PBS 대조군, WV-49090(제0일, 제2일, 제4일의 부하 용량 있음), WV-49090(부하 용량 없음). 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)를 나타낸다. 2원 ANOVA와 다중 비교에 대한 조정(Bonferroni)을 사용하여 표시된 올리고뉴클레오티드 조성물을 투여받은 처리군 대 PBS 대조군에 대한 혈청 내 엘라스타제 억제 활성의 차이를 검정했다. (\*\*\*\*: P-값 < 0.001; ns: 유의하지 않음).

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0042] 본 발명의 기술은 특정 구현예에 대한 다음의 상세한 설명을 참조하여 보다 쉽게 이해될 수 있다.
- [0043] 정의
- [0044] 본원에서 사용되는 바와 같이, 달리 지시되지 않는 한 다음의 정의가 적용될 것이다. 본 발명의 목적상, 화학 원소는 문헌[Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed.]에 따라 확인된다. 또한, 유기 화학의 일반적인 원리가 문헌["Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999], 및 문헌["March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001]에 기재되어 있다.
- [0045] 본 발명에서 본원에서 사용되는 바와 같이, 문맥상 달리 명백하지 않는 한, (i) 단수형 용어("a" 또는 "an")는 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해될 수 있고; (ii) "또는"이라는 용어는 "및/또는"을 의미하는 것으로 이해될 수 있고; (iii) "포함하는", "포함하다", "함유하는"("~에 한정되지 않는"과 함께 사용되든지 그렇지 않든지 간에) 및 "함유하다"("~에 한정되지 않는"과 함께 사용되든지 그렇지 않든지 간에)라는 용어는 단독으로 제공되든지 하나 이상의 추가의 구성 요소 또는 단계와 함께 제공되든지 간에 항목별 구성 요소 또는 단계를 포함하는 것으로 이해될 수 있고; (iv) "또 다른"이라는 용어는 적어도 추가의/두 번째의 하나 이상을 의미하는 것으로 이해될 수 있고; (v) "약" 및 "대략"이라는 용어는 당업자에 의해 이해되는 바와 같은 표준 변동을 허용하는 것으로 이해될 수 있고; (vi) 범위가 제공되는 경우 중점이 포함된다.
- [0046] 달리 명시되지 않는 한, 올리고뉴클레오티드 및 이의 요소(예를 들어, 염기 서열, 당 변형, 뉴클레오티드간 연결, 연결 인 입체화학, 이의 패턴 등)에 대한 설명은 5'에서 3' 방향이다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 염 형태, 특히 제약상 허용가능한 염 형태, 예를 들어 나트륨 염으로서 제공 및/또는 이용될 수 있다. 당업자가 또한 인식할 수 있는 바와 같이, 일부 구현예에서, 조성물 내의 개별 올리고뉴클레오티드는, 비록 그러한 조성물(예를 들어, 액체 조성물) 내에서 특정한 이러한 올리고뉴클레오티드가 특정 순간에 상이한 염 형태(들)로 존재할 수 있다 해도(그리고 용해될 수 있고 올리고뉴클레오티드 사슬이 음이온 형태로 존재할 수 있다 해도(예를 들어 액체 조성물일 때)) 동일 구성 및/또는 구조인 것으로 간주될 수 있다. 예를 들어, 당업자는 주어진 pH에서 올리고뉴클레오티드 사슬을 따른 개별 뉴클레오티드간 연결이 산(H) 형태, 또는 복수의 가능한 염 형태(예를 들어, 나트륨 염, 또는 상이한 양이온의 염(어떤 이온이 제제 또는 조성물에 존재할 수 있는지에 따라 다름))로 존재할 수 있음을 인식할 것이며, 그의 산 형태(예를 들어, 모든 양이온(만약에 있다면)이 H<sup>+</sup>로 대체됨)가 동일한 구성 및/또는 구조의 것이기만 하다면, 이러한 개별 올리고뉴클레오티드는 적절하게는 동일한 구성 및/또는 구조의 것으로 간주될 수 있다.
- [0047] 지방족: 본원에서 사용되는 바와 같이, "지방족"은 완전히 포화되거나 하나 이상의 불포화 단위를 함유하는 직

쇄(즉, 비분지형) 또는 분지형, 치환 또는 비치환 탄화수소 사슬, 또는 완전히 포화되거나 하나 이상의 불포화(그러나 방향족은 아님) 단위를 함유하는 치환 또는 비치환 단환, 이환 또는 다환 탄화수소 고리(그러나 방향족은 아님), 또는 이들의 조합을 의미한다. 일부 구현예에서, 지방족 기는 1~50개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 일부 구현예에서, 지방족 기는 1~20개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~10개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~9개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~8개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~7개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~6개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 지방족 기는 1~5개의 지방족 탄소 원자를 포함하고, 또 다른 구현예에서, 지방족 기는 1, 2, 3, 또는 4개의 지방족 탄소 원자를 포함한다. 적합한 지방족 기는 선형 또는 분지형, 치환 또는 비치환 알킬, 알케닐, 알킬닐 기 및 이의 하이브리드, 예컨대 (시클로알킬)알킬, (시클로알케닐)알킬 또는 (시클로알킬)알케닐을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0048] 알케닐: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "알케닐"은 하나 이상의 이중 결합을 갖는 본원에 정의된 바와 같은 지방족 기를 지칭한다.

[0049] 알킬: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "알킬"은 당업계에서의 통상적인 의미가 주어지며, 직쇄 알킬 기, 분지쇄 알킬 기, 시클로알킬(지환족) 기, 알킬 치환 시클로알킬 기 및 시클로알킬 치환 알킬 기를 포함하는 포화 지방족 기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 알킬은 1~100개의 탄소 원자를 갖는다. 특정 구현예에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 그의 백본 내에 약 1~20개의 탄소 원자(예를 들어, 직쇄의 경우 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, 분지쇄의 경우 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>), 대안적으로 약 1~10개의 탄소 원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 시클로알킬 고리는 그의 고리 구조(여기서 이러한 고리는 단환, 이환 또는 다환임) 내에 약 3~10개의 탄소 원자, 대안적으로 약 5, 6 또는 7개의 탄소를 갖는다. 일부 구현예에서, 알킬 기는 저급 알킬 기일 수 있으며, 여기서, 저급 알킬 기는 1~4개의 탄소 원자를 포함한다(예를 들어, 직쇄 저급 알킬의 경우 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>).

[0050] 알킬닐: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "알킬닐"은 하나 이상의 삼중 결합을 갖는 본원에 정의된 바와 같은 지방족 기를 지칭한다.

[0051] 유사체: 용어 "유사체"는 기준 화학적 모이어티 또는 모이어티 클래스와 구조적으로 상이하지만 이러한 기준 화학적 모이어티 또는 모이어티 클래스의 적어도 하나의 기능을 수행할 수 있는 임의의 화학적 모이어티를 포함한다. 비제한적인 예로서, 뉴클레오티드 유사체는 뉴클레오티드와 구조적으로 상이하지만 뉴클레오티드의 하나 이상의 기능을 수행하고; 핵염기 유사체는 핵염기와 구조적으로 상이하지만 핵염기의 하나 이상의 기능을 수행하고; 기타 등등이다.

[0052] 동물: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동물"은 동물계의 임의의 구성원을 지칭한다. 일부 구현예에서, "동물"은 임의의 발달 단계의 인간을 지칭한다. 일부 구현예에서, "동물"은 임의의 발달 단계의 비인간 동물을 지칭한다. 특정 구현예에서, 비인간 동물은 포유동물(예를 들어, 설치류, 마우스, 래트, 토끼, 마우스, 개, 고양이, 양, 소, 영장류, 및/또는 돼지)이다. 일부 구현예에서, 동물은 포유동물, 조류, 파충류, 양서류, 어류, 및/또는 벌레를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 동물은 트랜스제닉 동물, 유전자 조작 동물, 및/또는 클론일 수 있다.

[0053] 아릴: 본원에서 사용되는 바와 같이, 단독으로, 또는 "아르알킬", "아르알콕시", 또는 "아릴옥시알킬"에서와 같이 더 큰 모이어티의 일부로서 사용되는 "아릴"이라는 용어는 총 5~30개의 고리 구성원을 갖는 단환, 이환, 또는 다환 고리 시스템을 지칭하며, 여기서, 상기 시스템에서의 적어도 하나의 고리는 방향족이다. 일부 구현예에서, 아릴 기는 총 5~14개의 고리 구성원을 갖는 단환, 이환 또는 다환 고리 시스템이며, 여기서, 상기 시스템에서의 적어도 하나의 고리는 방향족이고, 상기 시스템에서의 각각의 고리는 3~7개의 고리 구성원을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 단환 고리 단위는 방향족이다. 일부 구현예에서, 아릴 기는 바이아릴 기이다. 용어 "아릴"은 용어 "아릴 고리"와 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, "아릴"은 하나 이상의 치환기를 가질 수 있는 페닐, 바이페닐, 나프틸, 바이나프틸, 안트라실 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 방향족 고리 시스템을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "아릴"의 범주 내에는 방향족 고리가 하나 이상의 비방향족 고리에 융합된 기, 예컨대 인다닐, 프탈이미딜, 나프티미딜, 페난트리디닐, 또는 테트라하이드로나프틸 등도 포함된다.

[0054] 특징부: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특징부"는 가장 넓은 의미에서 물질의 특정 특징, 속성 또는 활성의 존재(또는 부재)의 존재(또는 부재)와 상관관계가 있는 물질의 부분을 지칭한다. 일부 구현예에서, 물질의

특징 부분은 특정 특징, 속성 또는 활동을 공유하지만 특정 특징, 속성 또는 활동을 공유하지 않는 물질 및 관련 물질에서 발견되는 부분이다. 특정 구현예에서, 특징부는 온전한 물질과 적어도 하나의 기능적 특징을 공유한다. 예를 들어 일부 구현예에서, 단백질 또는 폴리펩티드의 "특징부"는 함께 단백질 또는 폴리펩티드의 특징인 아미노산의 연속 스트레치 또는 아미노산의 연속 스트레치의 집합을 함유하는 것이다. 일부 구현예에서, 각각의 이러한 연속 스트레치는 일반적으로 적어도 2, 5, 10, 15, 20, 50개 이상의 아미노산을 함유한다. 일반적으로 물질(예: 단백질, 항체 등)의 특징부는 위에 명시된 서열 및/또는 구조적 동일성에 추가하여 관련 온전한 물질과 적어도 하나의 기능적 특징을 공유하는 부분이다. 일부 구현예에서, 특징부는 생물학적으로 활성일 수 있다.

[0055] 키랄 제어: 본원에서 사용되는 바와 같이, "키랄 제어"는 올리고뉴클레오타이드 내의 키랄 뉴클레오타이드간 연결에서의 키랄 연결 인의 입체화학적 지정의 제어를 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 키랄 뉴클레오타이드간 연결은 연결 인이 키랄인 뉴클레오타이드간 연결이다. 일부 구현예에서, 제어는 올리고뉴클레오타이드의 당 및 염기 모이어티가 부재하는 키랄 요소를 통해 달성되며, 예를 들어, 일부 구현예에서, 제어는 올리고뉴클레오타이드 제조 동안의 하나 이상의 키랄 보조체의 사용을 통해 달성되는데, 상기 키랄 보조체는 종종 올리고뉴클레오타이드 제조 동안 사용되는 키랄 포스포아미다이트의 일부이다. 키랄 제어와 대조적으로, 당업자는 키랄 보조체를 사용하지 않는 종래의 올리고뉴클레오타이드 합성이 키랄 뉴클레오타이드간 연결을 형성하는 데 사용되는 경우 이러한 종래의 올리고뉴클레오타이드 합성은 키랄 뉴클레오타이드간 연결에서 입체화학을 제어할 수 없음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 내의 각각의 키랄 뉴클레오타이드간 연결에서의 각각의 키랄 연결 인의 입체화학적 지정이 제어된다.

[0056] 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물", "키랄 제어 핵산 조성물" 등은 공통 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오타이드(또는 핵산)를 포함하는 조성물을 지칭하며, 여기서, 복수의 올리고뉴클레오타이드(또는 핵산)는 하나 이상의 키랄 뉴클레오타이드간 연결에서 동일한 연결 인 입체화학(키랄 제어 또는 입체정의 뉴클레오타이드간 연결(이의 키랄 연결 인은 조성물에서, 비-키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결로서의 무작위 Rp 및 Sp 조합이 아닌, Rp 또는 Sp임("입체정의됨")))을 공유한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 1) 공통 염기 서열, 2) 공통 백본 연결 패턴, 및 3) 공통 백본 인 변형 패턴을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오타이드(또는 핵산)를 포함하고, 복수의 올리고뉴클레오타이드(또는 핵산)는 하나 이상의 키랄 뉴클레오타이드간 연결에서 동일한 연결 인 입체화학(키랄 제어 또는 입체정의 뉴클레오타이드간 연결(이의 키랄 연결 인은 조성물에서, 비-키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결로서의 무작위 Rp 및 Sp 조합이 아닌, Rp 또는 Sp임("입체정의됨")))을 공유한다. 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물 중 복수의 올리고뉴클레오타이드(또는 핵산)의 수준은 비-키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물의 무작위 수준과 비교하여, (예를 들어, 하나 이상의 키랄 뉴클레오타이드간 연결을 입체선택적으로 형성하기 위해 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 제조를 통해) 미리 결정/제어되거나 풍부하다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의 약 1%~100%(예를 들어, 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80~100%, 90~100%, 95~100%, 50%~90%, 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%, 또는 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)가 복수의 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 공통 염기 서열, 공통 백본 연결 패턴, 및 공통 백본 인 변형 패턴을 공유하는 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의 약 1%~100%(예를 들어, 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80~100%, 90~100%, 95~100%, 50%~90%, 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%, 또는 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)는 복수의 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 수준은 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의, 또는 (예를 들어, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 또는 올리고뉴클레오타이드 유형의) 공통 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의, 또는 공통 염기 서열, 공통 백본 연결 패턴, 및 공통 백본 인 변형 패턴을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의, 또는 공통 염기 서열, 공통 염기 변형 패턴, 공통 당 변형 패턴, 공통 뉴클레오타이드간 연결 유형 패턴, 및/또는 공통 뉴클레오타이드간 연결 변형 패턴을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오타이드의 약 1%~100% (예를 들어, 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80~100%, 90~100%, 95~100%, 50%~90%, 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%, 또는 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)이다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오

티드는 약 1~50개(예를 들어, 약 1~10, 1~20, 5~10, 5~20, 10~15, 10~20, 10~25, 10~30개, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개)의 키랄 뉴클레오티드간 연결에서 동일한 입체화학을 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 약 1%~100%(예를 들어, 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80~100%, 90~100%, 95~100%, 50%~90%, 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%, 또는 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%)의 키랄 뉴클레오티드간 연결에서 동일한 입체화학을 공유한다. 일부 구현예에서, 임의의 경우 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)는 동일한 패턴의 당 및/또는 핵염기 변형을 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)는 동일한 올리고뉴클레오티드의 다양한 형태(예를 들어, 동일한 올리고뉴클레오티드의 산 및/또는 다양한 염)이다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)는 동일한 구성을 갖는다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)의 수준은 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)와 동일한 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)의 약 1%~100%(예를 들어, 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80~100%, 90~100%, 95~100%, 50%~90%, 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%, 또는 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%)이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이고, 조성물은 완전히 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)는 구조적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%, 일반적으로는 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 95%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 96%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 97%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 98%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 99%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 수준의 백분율은  $(DS)^{nc}$  이상이고, DS는 본 발명에 기재된 바와 같은 부분입체순도(예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고, nc는 본 발명에 기재된 바와 같은 키랄 연결 인의 수(예를 들어, 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 5~50, 5~40, 5~30, 5~25, 5~20, 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 이상)이다. 일부 구현예에서, 수준의 백분율은  $(DS)^{nc}$  이상이고, DS는 본 발명에 기재된 바와 같은 부분입체순도(예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고, nc는 본 발명에 기재된 바와 같은 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 수(예를 들어, 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 5~50, 5~40, 5~30, 5~25, 5~20, 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 이상)이다. 일부 구현예에서, 수준의 백분율은  $(DS)^{nc}$  이상이고, DS는 95%~100%이다. 예를 들어, DS가 99%이고 nc가 10인 경우, 백분율은 90% 이상이다( $(99\%)^{10} \approx 0.90 = 90\%$ ). 일부 구현예에서, 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 수준은 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 연결 인의 부분입체순도의 곱으로 표시된다. 일부 구현예에서, 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 수준은 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도의 곱으로 표시된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)에 있는 2개의 뉴클레오시드를 연결하는 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도는 상기 2개의 뉴클레오시드를 연결하는 이량체의 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도로 표시되고, 이러한 이량체는 비견되는 조건들, 일부 경우에 동일한 합성 사이클 조건들을 사용하여 제조된다(예를 들어, 올리고뉴클레오티드  $\dots N_x N_y \dots$ 에서  $N_x$ 와  $N_y$  사이의 연결의 경우, 이량체는  $N_x N_y$ 임). 일부 구현예에서, 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결이 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 아니며, 조성물은 부분적으로 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다. 일부 구현예에서, 비-키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 입체무작위 올리고뉴클레오티드 조성물에서 일반적으로 관찰되는 바와 같이(예를 들어, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 기존의 올리고뉴클레오티드 합성, 예를 들어 포스포아미다이트 방법으로부터), 약 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55% 미만의, 또는 약 50%의 부분입체순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)는 동일 유형의 것이다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 비무작위 또는 제어된 수준의 개별 올리고뉴클레오티드 또는 핵산 유형을 포함한다. 예를 들어 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 하나 이하의 올리고뉴클레오티드 유형

을 포함한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 하나 초과와 올리고뉴클레오티드 유형을 포함한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 다수의 올리고뉴클레오티드 유형을 포함한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 소정 올리고뉴클레오티드 유형의 올리고뉴클레오티드의 조성물이고, 이 조성물은 상기 올리고뉴클레오티드 유형의 비무작위 또는 제어된 수준의 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0057] 비견되는: 본원에서 용어 "비견되는"은 수득된 결과 또는 관찰된 현상의 비교를 가능하게 하기 위하여 서로 충분히 유사한 두 세트(또는 그 이상의 세트)의 조건 또는 상황을 설명하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 비견되는 조건 또는 상황 세트는 복수의 실질적으로 동일한 특징 및 하나 이하의 다양한 특징을 특징으로 한다. 당업자는, 상이한 조건 또는 상황 세트 하에서 수득된 결과 또는 관찰된 현상의 차이가 다양한 특징의 변동에 의해 야기되거나 상기 변동을 나타낸다는 합리적인 결론을 보증하기에 충분한 수 및 유형의 실질적으로 동일한 특징을 특징으로 하는 경우 조건들의 세트들이 서로에 비견되는 것임을 이해할 것이다.

[0058] 지환족: 용어 "지환족", "탄소환", "카보시클릴", "탄소환 라디칼", 및 "탄소환 고리"는 상호교환가능하게 사용되며, 본원에서 사용되는 바와 같이 포화 또는 부분 불포화, 비방향족, 환형 지방족 단환, 이환, 또는 다환 고리 시스템(본원에 기재된 바와 같으며, 달리 특정되지 않는 한, 3~30개의 고리 구성원을 가짐)을 지칭한다. 지환족 기는 제한 없이, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥센일, 시클로헥세닐, 시클로헥싨일, 시클로헥테닐, 시클로옥틸, 시클로옥테닐, 노르보르닐, 아다만틸, 및 시클로옥타디에닐을 포함한다. 일부 구현예에서, 지환족 기는 3~6개의 탄소를 갖는다. 일부 구현예에서, 지환족 기는 포화되며 시클로알킬이다. 또한 용어 "지환족"은 데카하이드로나프틸 또는 테트라하이드로나프틸과 같은 하나 이상의 방향족 또는 비방향족 고리에 융합된 지방족 고리를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지환족 기는 이환이다. 일부 구현예에서, 지환족 기는 삼환이다. 일부 구현예에서, 지환족 기는 다환이다. 일부 구현예에서, "지환족"은 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 단환 탄화수소, 또는 완전 포화되거나 하나 이상의 불포화 단위를 포함하지만 방향족이 아니고, 분자의 나머지에 대한 단일 부착점을 갖는 C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> 이환 또는 다환 탄화수소, 또는 완전 포화되거나 하나 이상의 불포화 단위를 포함하지만 방향족이 아니고, 분자의 나머지에 대한 단일 부착점을 갖는 C<sub>9</sub>-C<sub>16</sub> 다환 탄화수소를 지칭한다.

[0059] 헤테로지방족: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로지방족"은 당업계에서의 이의 통상적인 의미가 주어져지며, 하나 이상의 탄소 원자가 독립적으로 하나 이상의 헤테로원자(예를 들어, 산소, 질소, 황, 규소, 인 등)로 대체된 본원에 기재된 바와 같은 지방족 기를 지칭한다. 일부 구현예에서, C, CH, CH<sub>2</sub>, 및 CH<sub>3</sub>으로부터 선택되는 하나 이상의 단위는 독립적으로 하나 이상의 헤테로원자(이의 산화된 형태 및/또는 치환된 형태를 포함함)로 대체된다. 일부 구현예에서, 헤테로지방족 기는 헤테로알킬이다. 일부 구현예에서, 헤테로지방족 기는 헤테로알케닐이다.

[0060] 헤테로알킬: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로알킬"은 당업계에서의 이의 통상적인 의미가 주어져지며, 하나 이상의 탄소 원자가 독립적으로 하나 이상의 헤테로원자(예를 들어, 산소, 질소, 황, 규소, 인 등)로 대체된 본원에 기재된 바와 같은 알킬 기를 지칭한다. 헤테로알킬 기의 예는 알콕시, 폴리(에틸렌 글리콜)-, 알킬-지환 아미노, 테트라하이드로푸라닐, 피페리디닐, 모르폴리닐 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0061] 헤테로아릴: 본원에서 사용되는 바와 같이, 단독으로 또는 더 큰 모이어티의 일부로서(예를 들어, "헤테로아릴 알킬" 또는 "헤테로아릴알콕시") 사용되는 "헤테로아릴" 및 "헤테로아르-"라는 용어는 총 5~30개의 고리 구성원을 갖는 단환, 이환, 또는 다환 고리 시스템을 지칭하며, 여기서, 상기 시스템에서의 적어도 하나의 고리는 방향족이고, 적어도 하나의 방향족 고리 원자는 헤테로원자이다. 일부 구현예에서, 헤테로아릴 기는 5~10개의 고리 원자(즉, 단환, 이환 또는 다환), 일부 구현예에서 5, 6, 9, 또는 10개의 고리 원자를 갖는 기이다. 일부 구현예에서, 각각의 단환 고리 단위는 방향족이다. 일부 구현예에서, 헤테로아릴 기는 환형 어레이에서 공유되는 6, 10 또는 14개의 π 전자를 가지며; 탄소 원자 외에 1~5개의 헤테로원자를 갖는다. 헤테로아릴 기는 제한 없이 티에닐, 푸라닐, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 티아디아졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 인돌리지닐, 퓨리닐, 나프티리디닐, 및 프테리디닐을 포함한다. 일부 구현예에서, 헤테로아릴은 헤테로바이아릴 기, 예컨대 바이피리디닐 등이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로아릴" 및 "헤테로아르-"는 또한 헤테로방향족 고리가 하나 이상의 아릴, 지환족, 또는 헤테로시클릴 고리에 융합된 기를 포함하며, 여기서, 라디칼 또는 부착점은 헤테로방향족 고리 상에 있다. 비제한적 예는 인돌릴, 이소인돌릴, 벤조티에닐, 벤조푸라닐, 디벤조푸라닐, 인다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 벤즈티아졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 신놀리닐, 프탈라지닐, 퀴나졸리닐, 퀴놀살리닐, 4H-퀴놀리지닐, 카바졸릴, 아크리디닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 테트라하이드로

퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 및 피리도[2,3-b]-1,4-옥사진-3(4H)-온을 포함한다. 헤테로아릴 기는 단환, 이환, 또는 다환일 수 있다. 용어 "헤테로아릴"은 용어 "헤테로아릴 고리", "헤테로아릴 기", 또는 "헤테로방향족"과 상호교환가능하게 사용될 수 있으며, 상기 용어 중 임의의 것은 임의로 치환된 고리를 포함한다. 용어 "헤테로아르알킬"은 헤테로아릴 기로 치환된 알킬 기를 지칭하며, 여기서, 알킬 및 헤테로아릴 부분은 독립적으로 임의로 치환된다.

[0062] 헤테로원자: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로원자"는 탄소 또는 수소가 아닌 원자를 의미한다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 붕소, 산소, 황, 질소, 인 또는 규소(산화된 형태의 질소, 황, 인 또는 규소; 하전된 형태의 질소(예를 들어, 4차화된 형태, 이미늄 기에서와 같은 형태 등), 인, 황, 산소 등을 포함함)이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 규소, 인, 산소, 황 또는 질소이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 규소, 산소, 황 또는 질소이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 산소, 황 또는 질소이다.

[0063] 복소환: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "복소환", "헤테로시클릴", "복소환 라디칼" 및 "복소환 고리"(본원에서 사용되는 바와 같음)는 상호교환가능하게 사용되며, 포화 또는 부분 불포화되고 하나 이상의 헤테로원자 고리 원자를 갖는 단환, 이환, 또는 다환 고리 모이어티(예를 들어, 3~30원)를 지칭한다. 일부 구현예에서, 헤테로시클릴 기는, 상기에 정의된 바와 같이, 포화 또는 부분 불포화되고, 탄소 원자에 더하여 하나 이상의, 바람직하게는 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 안정한 5 내지 7원 단환 또는 7 내지 10원 이환 복소환 모이어티이다. 복소환의 고리 원자와 관련하여 사용되는 경우, 용어 "질소"는 치환된 질소를 포함한다. 일례로서, 산소, 황 및 질소로부터 선택되는 0~3개의 헤테로원자를 갖는 포화 또는 부분 불포화 고리에서, 질소는 N(3,4-디하이드로-2H-피롤릴에서와 같이), NH(피롤리디닐에서와 같이), 또는 <sup>+</sup>NR(N-치환 피롤리디닐에서와 같이)일 수 있다. 복소환 고리는 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자에서 이의 펜던트 기에 부착될 수 있으며(이는 안정한 구조를 초래함) 임의의 고리 원자는 임의로 치환될 수 있다. 이러한 포화 또는 부분 불포화 복소환 라디칼의 예는 제한 없이 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로티에닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피롤리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 옥사졸리디닐, 피페라지닐, 디옥사닐, 디옥솔라닐, 디아제피닐, 옥사제피닐, 티아제피닐, 모르폴리닐, 및 퀴놀리디닐을 포함한다. 용어 "복소환", "헤테로시클릴", "헤테로시클릴 고리", "복소환 기", "복소환 모이어티" 및 "복소환 라디칼"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 또한 헤테로시클릴 고리가 하나 이상의 아릴, 헤테로아릴, 또는 지환족 고리에 융합된 기, 예컨대 인돌리닐, 3H-인돌릴, 크로마닐, 페난트리디닐, 또는 테트라하이드로퀴놀리닐을 포함한다. 헤테로시클릴 기는 단환, 이환, 또는 다환일 수 있다. 용어 "헤테로시클릴알킬"은 헤테로시클릴로 치환된 알킬 기를 지칭하며, 여기서, 알킬 및 헤테로시클릴 부분은 독립적으로 임의로 치환된다.

[0064] 동일성: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동일성"은 중합체 분자 사이, 예를 들어 핵산 분자(예를 들어, 올리고뉴클레오티드, DNA, RNA 등) 사이 및/또는 폴리펩티드 분자 사이의 전반적인 관련성을 지칭한다. 일부 구현예에서, 중합체 분자는 이들의 서열이 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일한 경우 서로 "실질적으로 동일"한 것으로 간주된다. 예를 들어, 2개의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 동일성 퍼센트의 계산은 최적의 비교의 목적을 위해 상기 2개의 서열을 정렬함으로써 수행될 수 있다(예를 들어, 갭이 최적의 정렬을 위해 제1 및 제2 서열 중 하나 또는 이들 둘 다에 도입될 수 있으며, 동일하지 않은 서열들은 비교 목적에 대해 무시될 수 있다). 특정 구현예에서, 비교 목적으로 정렬되는 서열의 길이는 기준 서열의 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 실질적으로 100%이다. 그 후, 상응하는 위치들의 뉴클레오티드들이 비교된다. 제1 서열에서의 위치가 제2 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 잔기(예를 들어, 뉴클레오티드 또는 아미노산)에 의해 점유된다면, 분자들은 그 위치에서 동일하다. 두 서열 사이의 퍼센트 동일성은 상기 서열들이 공유하는 동일한 위치의 수의 함수로서, 이는 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 각각의 갭의 길이 및 갭의 수를 고려한다. 서열 비교 및 두 서열 사이의 동일성 퍼센트의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 성취될 수 있다. 예를 들어, 두 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 퍼센트는 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 Meyers와 Miller의 알고리즘(문헌[CABIOS, 1989, 4: 11-17])을 사용하여 결정될 수 있다. 일부 예시적인 구현예에서, ALIGN 프로그램으로 이루어진 핵산 서열 비교는 PAM120 가중 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 사용한다. 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 퍼센트는 대안적으로 NWSgapdna.CMP 매트릭스를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다.

[0065] 뉴클레오티드간 연결: 본원에서 사용되는 바와 같이, 어구 "뉴클레오티드간 연결"은 일반적으로, 올리고뉴클레오티드 또는 핵산의 뉴클레오티드 단위들을 연결시키는 연결을 지칭한다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드간 연결은 포스포디에스테르 연결이며, 이는 천연 발생 DNA 및 RNA 분자에서 광범위하게 발견되는 바와 같다(당업자

에 의해 이해되는 바와 같이 염 형태로 존재할 수 있는 천연 포스페이트 연결 ( $-OP(=O)(OH)O^-$ ). 일부 구현예에서, 뉴클레오티드간 연결은 변형 뉴클레오티드간 연결(천연 포스페이트 연결이 아님)이다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드간 연결은 포스포디에스테르 연결의 적어도 하나의 산소 원자 또는  $-OH$ 가 상이한 유기 또는 무기 모이어티로 대체된 "변형 뉴클레오티드간 연결"이다. 일부 구현예에서, 이러한 유기 또는 무기 모이어티는  $=S$ ,  $=Se$ ,  $=NR'$ ,  $-SR'$ ,  $-SeR'$ ,  $-N(R')_2$ ,  $B(R')_3$ ,  $-S-$ ,  $-Se-$ , 및  $-N(R')-$ 로부터 선택되며, 여기서, 각각의  $R'$ 는 독립적으로 본 발명에 정의되고 기술된 바와 같다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드간 연결은 포스포트리에스테르 연결, 포스포로티오에이트 연결(또는 포스포로티오에이트 디에스테르 연결,  $-OP(=O)(SH)O^-$ (이는 당업자에 의해 인식되는 바와 같이 염 형태로 존재할 수 있음), 또는 포스포로티오에이트 트리에스테르 결합이다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드간 연결은 예를 들어 PNA(캡티드 핵산) 또는 PMO(포스포로디아미메이트 모르폴리노 올리고머) 연결 중 하나이다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 음으로 하전되지 않은 뉴클레오티드간 연결이다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 중성 뉴클레오티드간 연결(예를 들어, 제공된 특정 올리고뉴클레오티드들에서의 n001)이다. 당업자는 뉴클레오티드간 연결이 연결에서의 산 또는 염기 모이어티의 존재로 인해 주어진 pH에서 음이온 또는 양이온으로 존재할 수 있음을 이해한다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 WO 2017/210647에 기재된 바와 같이 s, s1, s2, s3, s4, s5, s6, s7, s8, s9, s10, s11, s12, s13, s14, s15, s16, s17 및 s18로 표기되는 변형 뉴클레오티드간 연결이다.

[0066] 시험관내: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "시험관내"는 유기체(예를 들어, 동물, 식물 및/또는 미생물) 내에서라기보다는 인공 환경에서, 예를 들어, 시험관 또는 반응 용기, 세포 배양 등에서 일어나는 사건을 지칭한다.

[0067] 생체내: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "생체내"는 유기체(예를 들어, 동물, 식물 및/또는 미생물) 내에서 일어나는 사건을 지칭한다.

[0068] 연결 인: 본원에 정의된 바와 같이, 어구 "연결 인"은 언급된 특정 인 원자가 뉴클레오티드간 연결에 존재하는 인 원자임을 나타내는 데 사용되며, 상기 인 원자는 천연 발생 DNA 및 RNA에서 나타나는 포스포디에스테르 뉴클레오티드간 연결의 인 원자에 상응한다. 일부 구현예에서, 연결 인 원자는 변형 뉴클레오티드간 연결에 존재하며, 여기서, 포스포디에스테르 연결의 각각의 산소 원자는 임의로, 그리고 독립적으로 유기 또는 무기 모이어티로 대체된다. 일부 구현예에서, 연결 인 원자는 키랄이다(예: 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결에서와 같이). 일부 구현예에서, 연결 인 원자는 아키랄 원자이다(예를 들어, 천연 포스페이트 연결에서와 같이).

[0069] 변형 핵염기: 용어 "변형 핵염기", "변형 염기" 등은 핵염기와 화학적으로 구별되지만 핵염기의 하나 이상의 기능을 수행할 수 있는 화학적 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 변형을 포함하는 핵염기이다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 핵염기의 하나 이상의 기능이 가능하며, 예를 들어, 적어도 상보성 염기 서열을 포함하는 핵산에 대하여 염기쌍을 형성할 수 있는 중합체에서의 모이어티를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 치환된 A, T, C, G, 또는 U, 또는 A, T, C, G, 또는 U의 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 맥락에서 변형 핵염기는 A, T, C, G 또는 U가 아닌 핵염기를 지칭한다.

[0070] 변형 뉴클레오시드: 용어 "변형 뉴클레오시드"는 천연 뉴클레오시드로부터 유도되거나 천연 뉴클레오시드와 화학적으로 유사하지만, 천연 뉴클레오시드와 구별되는 화학적 변형을 포함하는 모이어티를 지칭한다. 변형 뉴클레오시드의 비제한적인 예는 염기 및/또는 당에서의 변형을 포함하는 것을 포함한다. 변형 뉴클레오시드의 비제한적인 예는 당에서의 2' 변형을 갖는 것을 포함한다. 변형 뉴클레오시드의 비제한적인 예는 또한 (핵염기가 결합된) 무염기 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 뉴클레오시드의 적어도 하나의 기능을 할 수 있으며, 예를 들어 적어도 상보적인 염기 서열을 포함하는 핵산에 대해 염기쌍을 형성할 수 있는 중합체에서 모이어티를 형성할 수 있다.

[0071] 변형 뉴클레오티드: 용어 "변형 뉴클레오티드"는 천연 뉴클레오티드와 구조적으로 다르지만 천연 뉴클레오티드의 적어도 하나의 기능을 수행할 수 있는 임의의 화학적 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드는 당, 염기, 및/또는 뉴클레오티드간 연결에서의 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드는 변형 당, 변형 핵염기, 및/또는 변형 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드는 뉴클레오티드의 적어도 하나의 기능을 할 수 있으며, 예를 들어 적어도 상보적인 염기 서열을 포함하는 핵산에 대해 염기쌍을 형성할 수 있는 중합체에서 서브유닛을 형성할 수 있다.

[0072] 변형 당: 용어 "변형 당"은 당을 대체할 수 있는 모이어티를 지칭한다. 변형 당은 당의 공간적 배열, 전자적 특성 또는 몇몇의 다른 물리화학적 특성을 모방한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 기재된 바와 같이, 변형 당은

치환된 리보스 또는 데옥시리보스이다. 일부 구현예에서, 변형 당은 2'-변형을 포함한다. 유용한 2'-변형의 예는 당업계에서 널리 이용되고 본원에 설명되어 있다. 일부 구현예에서, 2'-변형은 2'-F이다. 일부 구현예에서, 2'-변형은 2'-OR이고, R은 임의로 치환된 C<sub>1-10</sub> 지방족이다. 일부 구현예에서, 2'-변형은 2'-OMe이다. 일부 구현예에서, 2'-변형은 2'-MOE이다. 일부 구현예에서, 변형 당은 이환 당(예를 들어, LNA, BNA 등에 사용되는 당)이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타드와 관련하여, 변형 당은 천연 RNA 또는 DNA에서 일반적으로 발견되는 리보스 또는 데옥시리보스가 아닌 당이다.

[0073] 핵산: 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 임의의 뉴클레오타드 및 이의 중합체를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오타드"는 임의의 길이의 리보뉴클레오타드(RNA) 또는 데옥시리보뉴클레오타드(DNA) 또는 이들의 조합의 뉴클레오타드의 중합체 형태를 지칭한다. 이들 용어는 분자의 일차 구조를 지칭하며, 따라서 이중 가닥 및 단일 가닥 DNA, 및 이중 가닥 및 단일 가닥 RNA를 포함한다. 이들 용어는 등가물로서 메틸화, 보호 및/또는 캡핑된 뉴클레오타드 또는 폴리뉴클레오타드와 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 변형된 뉴클레오타드 및/또는 변형된 폴리뉴클레오타드를 포함하는 RNA 또는 DNA의 유사체를 포함한다. 상기 용어는 폴리- 또는 올리고-리보뉴클레오타드(RNA) 및 폴리- 또는 올리고-데옥시리보뉴클레오타드(DNA); 핵염기 및/또는 변형 핵염기의 N-글리코시드 또는 C-글리코시드로부터 유도된 RNA 또는 DNA; 당 및/또는 변형 당으로부터 유도된 핵산; 및 포스페이트 가교 및/또는 변형 뉴클레오타드간 연결로부터 유도된 핵산을 포함한다. 상기 용어는 핵염기, 변형 핵염기, 당, 변형 당, 포스페이트 가교 또는 변형 뉴클레오타드간 연결의 임의의 조합을 함유하는 핵산을 포함한다. 예는 리보스 모이어티를 함유하는 핵산, 데옥시-리보스 모이어티를 함유하는 핵산, 리보스 및 데옥시리보스 모이어티 둘 다를 함유하는 핵산, 리보스 및 변형 리보스 모이어티를 함유하는 핵산을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 접두어 폴리-는 2 내지 약 10,000개의 뉴클레오타드 단량체 단위를 함유하는 핵산을 지칭하고, 접두어 올리고-는 2 내지 약 200개의 뉴클레오타드 단량체 단위를 함유하는 핵산을 지칭한다.

[0074] 핵염기: 용어 "핵염기"는 서열 특이적 방식으로 하나의 핵산 가닥을 또 다른 상보성 가닥에 결합시키는 수소 결합에 관여하는 핵산 부분을 지칭한다. 가장 일반적인 천연 발생 핵염기는 아데닌(A), 구아닌(G), 우라실(U), 시토신(C), 및 티민(T)이다. 일부 구현예에서, 천연 발생 핵염기는 변형된 아데닌, 구아닌, 우라실, 시토신, 또는 티민이다. 일부 구현예에서, 천연 발생 핵염기는 메틸화 아데닌, 구아닌, 우라실, 시토신, 또는 티민이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 고리 원자가 질소인 헤테로아릴 고리를 포함하고, 뉴클레오시드에 있을 때 질소는 당 모이어티에 결합된다. 일부 구현예에서, 핵염기는 고리 원자가 질소인 복소환 고리를 포함하고, 뉴클레오시드에 있을 때 질소는 당 모이어티에 결합된다. 일부 구현예에서, 핵염기는 아데닌(A), 구아닌(G), 우라실(U), 시토신(C), 및 티민(T) 이외의 핵염기인 "변형 핵염기"이다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 치환된 A, T, C, G 또는 U이다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 A, T, C, G, 또는 U의 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 메틸화 아데닌, 구아닌, 우라실, 시토신 또는 티민이다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 핵염기의 공간적 배열, 전자적 특성 또는 몇몇의 다른 물리화학적 특성을 모방하며, 서열 특이적 방식으로 하나의 핵산 가닥을 또 다른 것에 결합시키는 수소 결합의 특성을 보유한다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 용융 거동, 세포내 효소에 의한 인식 또는 올리고뉴클레오타드 듀플렉스의 활성화에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 모든 5 가지 천연 발생 염기(우라실, 티민, 아데닌, 시토신 또는 구아닌)와 쌍을 형성할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "핵염기"는 또한 변형 핵염기 및 핵염기 유사체와 같은, 천연 또는 천연 발생 뉴클레오타드 대신에 사용되는 구조적 유사체를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵염기는 임의로 치환된 A, T, C, G, 또는 U, 또는 A, T, C, G 또는 U의 임의로 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, "핵염기"는 올리고뉴클레오타드 또는 핵산에서의 핵염기 단위를 지칭한다(예를 들어, 올리고뉴클레오타드 또는 핵산에서와 같이 A, T, C, G 또는 U).

[0075] 뉴클레오시드: 용어 "뉴클레오시드"는 핵염기 또는 변형 핵염기가 당 또는 변형 당에 공유 결합된 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 뉴클레오시드는 천연 뉴클레오시드, 예를 들어, 아데노신, 데옥시아데노신, 구아노신, 데옥시구아노신, 티미딘, 우라딘, 시티딘 또는 데옥시시티딘이다. 일부 구현예에서, 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어, 치환된 천연 뉴클레오시드(아데노신, 데옥시아데노신, 구아노신, 데옥시구아노신, 티미딘, 우라딘, 시티딘 및 데옥시시티딘으로부터 선택됨)이다. 일부 구현예에서, 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드, 예를 들어, 아데노신, 데옥시아데노신, 구아노신, 데옥시구아노신, 티미딘, 우라딘, 시티딘, 및 데옥시시티딘으로부터 선택되는 천연 뉴클레오시드의 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, "뉴클레오시드"는 올리고뉴클레오타드 또는 핵산에서의 뉴클레오시드 단위를 지칭한다.

[0076] 뉴클레오타드: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "뉴클레오타드"는 핵염기, 당 및 하나 이상의 뉴클레오타드간 연결(예를 들어, 천연 DNA 및 RNA에서의 포스페이트 연결)로 이루어진 폴리뉴클레오타드의 단량체 단위를 지

칭한다. 천연 발생 염기[구아닌(G), 아데닌(A), 시토신(C), 티민(T), 및 우라실(U)]는 퓨린 또는 피리미딘의 유도체이지만, 천연 발생 및 천연 비-발생 염기 유사체도 포함됨이 이해되어야 한다. 천연 발생 당은 펜토스(오탄당) 데옥시리보스(이는 DNA를 형성함) 또는 리보스(이는 RNA를 형성함)이지만, 천연 발생 및 천연 비-발생 당 유사체도 포함됨이 이해되어야 한다. 뉴클레오티드는 뉴클레오티드간 연결을 통해 연결되어 핵산 또는 폴리뉴클레오티드를 형성한다. (포스페이트, 포스포로티오에이트, 보라노포스페이트 등과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는) 많은 뉴클레오티드간 연결이 당엽계에 공지되어 있다. 인공 핵산은 PNA(펩티드 핵산), 포스포트리에스테르, 포스포로티오네이트, H-포스포네이트, 포스포아미네이트, 보라노포스페이트, 메틸포스포네이트, 포스포노아세테이트, 티오포스포노아세테이트 및 천연 핵산의 포스페이트 백본의 다른 변이체, 예컨대 본원에 기재된 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 천연 뉴클레오티드는 천연 발생 염기, 당 및 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "뉴클레오티드"는 또한 변형 뉴클레오티드 및 뉴클레오티드 유사체와 같은, 천연 또는 천연 발생 뉴클레오티드 대신에 사용되는 구조적 유사체를 포함한다. 일부 구현예에서, "뉴클레오티드"는 올리고뉴클레오티드 또는 핵산에서의 뉴클레오티드 단위를 지칭한다.

[0077] 올리고뉴클레오티드: 용어 "올리고뉴클레오티드"는 뉴클레오티드의 중합체 또는 올리고머를 지칭하며, 천연 및 비-천연 핵염기, 당, 및 뉴클레오티드간 연결의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0078] 올리고뉴클레오티드는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 단일 가닥 올리고뉴클레오티드는 이중 가닥 영역(단일 가닥 올리고뉴클레오티드의 두 부분에 의해 형성됨)을 가질 수 있고, 2개의 올리고뉴클레오티드 사슬을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 상기 두 올리고뉴클레오티드 사슬이 서로 상보성이 아닌 영역에서 단일 가닥 영역을 가질 수 있다. 예시적인 올리고뉴클레오티드는 구조적 유전자, 제어 및 종결 영역을 포함하는 유전자, 바이러스 또는 플라스미드 DNA와 같은 자가 복제 시스템, 단일 가닥 및 이중 가닥 RNAi 에이전트 및 기타 RNA 간섭 시약(RNAi 에이전트 또는 iRNA 에이전트), shRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임, 마이크로RNA, 마이크로RNA 모방체, 수퍼미르(supermir), aptamer(안타머), antimir(안티미르), antagomir(안타고미르), U1 어댑터(adaptor), 트리플렉스-형성 올리고뉴클레오티드, G-쿼드루플렉스 올리고뉴클레오티드, RNA 활성화자, 번역자극 올리고뉴클레오티드 및 데코이(decoy) 올리고뉴클레오티드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0079] 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 다양한 길이를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 2 내지 약 200개 뉴클레오티드 범위의 길이일 수 있다. 다양한 관련 구현예에서, 단일가닥, 이중가닥, 또는 삼중가닥 올리고뉴클레오티드는 약 4 내지 약 10개 뉴클레오티드, 약 10 내지 약 50개 뉴클레오티드, 약 20 내지 약 50개 뉴클레오티드, 약 15 내지 약 30개 뉴클레오티드, 또는 약 20 내지 약 30개 뉴클레오티드 범위의 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 9 내지 약 39개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 25 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 26 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 27 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 28 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 29 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 30 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 31 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 32 내지 약 70개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 25 내지 약 60개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 25 내지 약 50개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 25 내지 약 40개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 약 30 내지 약 40개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 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, 또는 30개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 4개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 5개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 6개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 7개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 8개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 9개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 10개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 11개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 12개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 15개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 15개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 16개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 17개 뉴클레오티드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 18개 뉴클레오티드

의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 19개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 20개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 25개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 26개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 27개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 28개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 29개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 30개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 31개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 32개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 33개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 34개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 35개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 36개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 37개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 38개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 39개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 40개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 25개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 26개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 27개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 28개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 29개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 30개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 31개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 32개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 33개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 34개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 35개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 36개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 37개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 38개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 39개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 40개 뉴클레오시드의 길이이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 길이로 계수된 각각의 뉴클레오시드는 독립적으로 적어도 하나의 질소 고리 원자를 갖는 고리를 포함하는 핵염기를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 길이에서 카운팅되는 각각의 뉴클레오시드는 독립적으로 A, T, C, G, 또는 U, 또는 임의로 치환된 A, T, C, G 또는 U, 또는 A, T, C, G 또는 U의 임의로 치환된 호변이성체를 포함한다.

[0080] 올리고뉴클레오티드 유형: 본원에서 사용되는 바와 같이, 어구 "올리고뉴클레오티드 유형"은 특정 염기 서열, 백본 연결 패턴(즉, 뉴클레오티드간 연결 유형, 예를 들어 포스페이트, 포스포로티오에이트, 포스포로티오에이트 트리에스테르 등의 패턴), 백본 키랄 중심의 패턴(즉, 연결 인 입체화학의 패턴(Rp/Sp)), 및 백본 인 변형의 패턴을 갖는 올리고뉴클레오티드를 정의하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 공통 표기 "유형"의 올리고뉴클레오티드는 서로 구조적으로 동일하다.

[0081] 당업자는 본 발명의 합성 방법이 올리고뉴클레오티드 가닥의 합성 동안 어느 정도의 제어를 제공하여 올리고뉴클레오티드 가닥의 각각의 뉴클레오티드 단위가 연결 인에서의 특정 입체화학 및/또는 연결 인에서의 특정 변형 및/또는 특정 염기 및/또는 특정 당을 갖도록 미리 설계되고/되거나 선택될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 가닥은 연결 인에서 입체중심들의 특정 조합을 갖도록 미리 설계되고/되거나 선택된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 가닥은 연결 인에서 변형들의 특정 조합을 갖도록 설계되고/되거나 결정된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 가닥은 염기들의 특정 조합을 갖도록 설계되고/되거나 선택된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 가닥은 상기 구조적 특징들 중 하나 이상의 특정 조합을 갖도록 설계되고/되거나 선택된다. 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드 분자를 포함하거나 이로 이루어진 조성물(예를 들어, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물)을 제공한다. 일부 구현예에서, 이러한 모든 분자는 동일한 유형의 것이다(즉, 서로 구조적으로 동일하다). 그러나 일부 구현예에서, 제공된 조성물은 상이한 유형의 복수의 올리고뉴클레오티드를 전형적으로 소정의 상대적인 양으로 포함한다.

[0082] 임의로 치환된: 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 화합물, 예를 들어 올리고뉴클레오티드는 임의로 치환된 모이어티 및/또는 치환된 모이어티를 포함할 수 있다. 일반적으로, "임의로"라는 용어가 선행하든지 아니든지 간에, "치환된"이라는 용어는 표기된 모이어티의 하나 이상의 수소가 적합한 치환기로 대체됨을 의미한다. 달리 지시되지 않는 한, "임의로 치환된" 기는 기의 각각의 치환가능한 위치에 적합한 치환기를 가질 수 있고, 임의의 주어진 구조에서 하나 초과와 위치가 특정 기로부터 선택된 하나 초과와 치환기로 치환될 수 있는 경우, 치환기는 모든 위치에서 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 구현예에서, 임의로 치환된 기는 비치환이다. 본 발명

에 의해 구상되는 치환기들의 조합은 바람직하게는 안정하거나 화학적으로 실현가능한(chemically feasible) 화합물을 생성하는 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "안정한"은 화합물의 생성, 검출, 및 특정 구현에 있어서, 화합물의 회수, 정제, 및 본원에 개시된 목적 중 하나 이상을 위한 용도를 가능하게 하기 위한 조건을 가할 경우 실질적으로 변경되지 않는 화합물을 지칭한다. 특정 치환기는 아래에 기재되어 있다.

[0083] 치환가능한 원자, 예를 들어 적합한 탄소 원자 상의 적합한 1가 치환기는 독립적으로 할로젠;  $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$ ;  $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$ ,  $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$ ;  $R^\circ$  로 치환될 수 있는  $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ;  $R^\circ$  로 치환될 수 있는  $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ;  $R^\circ$  로 치환될 수 있는  $-CH=CHPh$ ;  $R^\circ$  로 치환될 수 있는  $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -피리딜;  $-NO_2$ ;  $-CN$ ;  $-N_3$ ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$ ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ;  $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ;  $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$ ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ;  $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ;  $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ;  $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$ ;  $-C(S)R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$ ;  $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$ ,  $-SC(S)SR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$ ;  $-C(S)NR^\circ_2$ ;  $-C(S)SR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$ ;  $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$ ;  $-C(O)C(O)R^\circ$ ;  $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$ ;  $-C(NOR^\circ)R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$ ;  $-S(O)_2NR^\circ_2$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$ ;  $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$ ;  $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$ ;  $-N(OR^\circ)R^\circ$ ;  $-C(NH)NR^\circ_2$ ;  $-Si(R^\circ)_3$ ;  $-OSi(R^\circ)_3$ ;  $-B(R^\circ)_2$ ;  $-OB(R^\circ)_2$ ;  $-OB(OR^\circ)_2$ ;  $-P(R^\circ)_2$ ;  $-P(OR^\circ)_2$ ;  $-P(R^\circ)(OR^\circ)$ ;  $-OP(R^\circ)_2$ ;  $-OP(OR^\circ)_2$ ;  $-OP(R^\circ)(OR^\circ)$ ;  $-P(O)(R^\circ)_2$ ;  $-P(O)(OR^\circ)_2$ ;  $-OP(O)(R^\circ)_2$ ;  $-OP(O)(OR^\circ)_2$ ;  $-OP(O)(OR^\circ)(SR^\circ)$ ;  $-SP(O)(R^\circ)_2$ ;  $-SP(O)(OR^\circ)_2$ ;  $-N(R^\circ)P(O)(R^\circ)_2$ ;  $-N(R^\circ)P(O)(OR^\circ)_2$ ;  $-P(R^\circ)_2[B(R^\circ)_3]$ ;  $-P(OR^\circ)_2[B(R^\circ)_3]$ ;  $-OP(R^\circ)_2[B(R^\circ)_3]$ ;  $-OP(OR^\circ)_2[B(R^\circ)_3]$ ;  $-(C_{1-4}$  직쇄 또는 분지형 알킬렌) $O-N(R^\circ)_2$ ; 또는  $-(C_{1-4}$  직쇄 또는 분지형 알킬렌) $C(O)O-N(R^\circ)_2$  이고, 각각의  $R^\circ$  는 본원에 정의된 바와 같이 치환될 수 있고, 독립적으로 수소,  $C_{1-20}$  지방족, 질소, 산소, 황, 규소, 및 인으로부터 독립적으로 선택되는 1~5개의 헤테로원자를 갖는  $C_{1-20}$  헤테로지방족,  $-CH_2-(C_{6-14}$  아릴),  $-O(CH_2)_{0-1}(C_{6-14}$  아릴),  $-CH_2-(5\sim 14$ 원 헤테로아릴 고리), 5~20원, 단환, 이환, 또는 다환, 포화, 부분 불포화 또는 아릴 고리(질소, 산소, 황, 규소, 및 인으로부터 독립적으로 선택되는 0~5개의 헤테로원자를 가짐)이거나, 또는 상기 정의에도 불구하고, 2개의 독립적으로 존재하는  $R^\circ$  는 이들의 사이에 개재된 원자(들)와 함께 5~20원, 단환, 이환, 또는 다환, 포화, 부분 불포화 또는 아릴 고리(질소, 산소, 황, 규소, 및 인으로부터 독립적으로 선택되는 0~5개의 헤테로원자를 가짐)를 형성하고, 이는 하기에 정의된 바와 같이 치환될 수 있다.

[0084]  $R^\circ$  (또는 2개의 독립적으로 존재하는  $R^\circ$  를 이의 개재 원자와 함께 취함으로써 형성되는 고리) 상의 적합한 1가 치환기는 독립적으로 할로젠,  $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$ ,  $-(\text{할로}R^\bullet)$ ,  $-(CH_2)_{0-2}OH$ ,  $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$ ,  $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$ ;  $O(\text{할로}R^\bullet)$ ,  $-CN$ ,  $-N_3$ ,  $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$ ,  $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ ,  $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$ ,  $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$ ,  $-(CH_2)_{0-2}SH$ ,  $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ ,  $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$ ,  $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-SiR^\bullet_3$ ,  $-OSiR^\bullet_3$ ,  $-C(O)SR^\bullet$ ,  $-(C_{1-4}$  직쇄 또는 분지형 알킬렌) $C(O)OR^\bullet$ , 또는  $-SSR^\bullet$  이며, 여기서, 각각의  $R^\bullet$  는 비치환되거나, 또는 "할로"가 선행하는 경우, 단지 하나 이상의 할로젠으로 치환되고, 독립적으로  $C_{1-4}$  지방족,  $-CH_2Ph$ ,  $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ , 및 5~6원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 고리(독립적으로 질소, 산소, 및 황으로부터 선택되는 0~4개의 헤테로원자를 가짐)로부터 선택된다.  $R^\circ$  의 포화 탄소 원자 상의 적합한 2가 치환기는 =O 및 =S를 포함한다.

[0085] 예를 들어 적합한 탄소 원자 상의 적합한 2가 치환기는 독립적으로 다음의 것이다: =O, =S, =N $R^*$ , =NNHC(O)R $^*$ , =NNHC(O)OR $^*$ , =NNHS(O) $_2R^*$ , =NR $^*$ , =NOR $^*$ ,  $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ , 또는  $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$ (여기서, 각각 독립적으로 존재하는  $R^*$ 는 수소, 하기에 정의된 바와 같이 치환될 수 있는  $C_{1-6}$  지방족, 및 비치환 5~6원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 고리(독립적으로 질소, 산소, 및 황으로부터 선택되는 0~4개의 헤테로원자를 가짐)로부터 선택됨). "임의로 치환된" 기의 인접한 치환가능 탄소에 결합되는 적합한 2가 치환기는 다음을 포함한다:  $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$ (여기서, 각각 독립적으로 존재하는  $R^*$ 는 수소, 하기에 정의된 바와 같이 치환될 수 있는  $C_{1-6}$  지방족, 및 비치환 5~6원 포화, 부분 불포화, 및 아릴 고리(독립적으로 질소, 산소, 및 황으로부터 선택되는 0~4개

의 헤테로원자를 가짐)로부터 선택된다.

[0086] R<sup>\*</sup>의 지방족 기 상의 적합한 치환기는 독립적으로 할로젠, -R<sup>•</sup>, -(할로R<sup>•</sup>), -OH, -OR<sup>•</sup>, -O(할로R<sup>•</sup>), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR<sup>•</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>•</sup>, -NR<sub>2</sub><sup>•</sup>, 또는 -NO<sub>2</sub>이고, 각각의 R<sup>•</sup>는 비치환이거나, 또는 앞에 "할로"가 있는 경우, 하나 이상의 할로젠으로만 치환되고, 독립적으로 C<sub>1-4</sub> 지방족, -CH<sub>2</sub>Ph, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>Ph, 또는 5-6원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 고리(질소, 산소, 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 0-4개의 헤테로원자를 가짐)이다.

[0087] 일부 구현예에서, 치환가능 질소 상의 적합한 치환기는 독립적으로 -R<sup>†</sup>, -NR<sub>2</sub><sup>†</sup>, -C(O)R<sup>†</sup>, -C(O)OR<sup>†</sup>, -C(O)C(O)R<sup>†</sup>, -C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>†</sup>, -S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>, -S(O)<sub>2</sub>NR<sub>2</sub><sup>†</sup>, -C(S)NR<sub>2</sub><sup>†</sup>, -C(NH)NR<sub>2</sub><sup>†</sup>, 또는 -N(R<sup>†</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>이고, 각각의 R<sup>†</sup>는 독립적으로 수소, 하기에 정의된 바와 같이 치환될 수 있는 C<sub>1-6</sub> 지방족, 비치환 -OPh, 또는 비치환 5-6원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 고리(질소, 산소, 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 0-4개의 헤테로원자를 가짐)이거나, 또는 상기 정의에도 불구하고, 2개의 독립적으로 존재하는 R<sup>†</sup>는 이들의 사이에 개재된 원자(들)와 함께, 비치환 3-12원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 단환 또는 이환 고리(질소, 산소, 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 0-4개의 헤테로원자를 가짐)를 형성한다.

[0088] R<sup>†</sup>의 지방족 기 상의 적합한 치환기는 독립적으로 할로젠, -R<sup>•</sup>, -(할로R<sup>•</sup>), -OH, -OR<sup>•</sup>, -O(할로R<sup>•</sup>), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR<sup>•</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>•</sup>, -NR<sub>2</sub><sup>•</sup>, 또는 -NO<sub>2</sub>이고, 각각의 R<sup>•</sup>는 비치환이거나, 또는 앞에 "할로"가 있는 경우, 하나 이상의 할로젠으로만 치환되고, 독립적으로 C<sub>1-4</sub> 지방족, -CH<sub>2</sub>Ph, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>Ph, 또는 5-6원 포화, 부분 불포화, 또는 아릴 고리(질소, 산소, 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 0-4개의 헤테로원자를 가짐)이다.

[0089] P-변형: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "P-변형"은 입체화학적 변형 이외의 연결 인에서의 임의의 변형을 지칭한다. 일부 구현예에서, P-변형은 연결 인에 공유적으로 부착된 펜던트 모이어티의 부가, 치환 또는 제거를 포함한다.

[0090] 부분 불포화된: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "부분 불포화된"은 적어도 하나의 이중 또는 삼중 결합을 포함하는 고리 모이어티를 지칭한다. 용어 "부분 불포화된"은 다수의 불포화 부위를 갖는 고리를 포함하고자 하지만, 본원에 정의된 바와 같은 아릴 또는 헤테로아릴 모이어티를 포함하고자 하는 것은 아니다.

[0091] 제약 조성물: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제약 조성물"은 하나 이상의 제약상 허용가능한 담체와 함께 제형화된 활성제를 지칭한다. 일부 구현예에서, 활성제는 관련 집단에 투여되는 경우 통계적으로 유의한, 소정 치료 효과의 달성 확률을 나타내는 치료 요법에서의 투여에 적절한 양의 단위 용량으로 존재한다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 다음을 위한 것으로 수정된 것을 비롯하여 고체 또는 액체 형태로 투여하기 위한 것으로 특별히 제형화 될 수 있다: 예를 들어, 드렌치(수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액), 정제, 예를 들어 협착, 설하, 및 전신 흡수용으로 표적화된 것, 볼루스, 산제, 과립, 허에의 적용을 위한 페이스트와 같은 경구 투여용; 예를 들어, 살균 용액 또는 현탁액, 또는 서방형 제형으로서, 예를 들어 피하, 근육내, 정맥내 또는 경막외 주사에 의한 비경구 투여용; 예를 들어, 피부, 폐 또는 구강에 적용되는 크림, 연고 또는 제어 방출 패치 또는 스프레이로서의 국소 적용용; 예를 들어 페서리, 크림 또는 폼으로서의 질내 또는 직장내 투여용; 설하 투여용; 눈 투여용; 경피 투여용; 또는 비강, 폐 및 다른 점막 표면 투여용.

[0092] 제약상 허용가능한: 본원에서 사용되는 바와 같이, "제약상 허용가능한"이라는 어구는 건전한 의학적 판단의 범주 내에서, 합리적인 이익/위험 비에 상응하여, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0093] 제약상 허용가능한 담체: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제약상 허용가능한 담체"는 하나의 기관, 또는 신체 일부로부터 또 다른 기관 또는 신체 일부로 대상 화합물을 운반 또는 수송하는 데 관여하는 제약상 허용가능한 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 또는 용매 캡슐화 물질을 의미한다. 각각의 담체는 제형의 다른 성분과 상용성이고 환자에게 해롭지 않다는 의미에서 "허용가능"해야 한다. 제약상 허용가능한 담체로서의 역할을 할 수 있는 물질의 일부 예는 다음을 포함한다: 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로오스 및 그의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트; 분말형 트래거캔스; 맥아; 젤라틴; 활석; 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제 왁스; 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및

대두유; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; 알긴산; 무발열원 물; 등장 염수; 링거액(Ringer's solution); 에틸 알코올; pH 완충 용액; 폴리에스테르, 폴리카르보네이트 및/또는 폴리언하이드라이드; 및 제약 제형에 이용되는 다른 비독성 상용성 물질.

[0094]

제약상 허용가능한 염: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제약상 허용가능한 염"은 의약품 맥락에서 사용하기에 적절한 화합물의 염, 즉, 건전한 의학적 판단의 범주 내에서 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 등이 없이 인간 및 더 하등한 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고, 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 염을 지칭한다. 제약상 허용가능한 염은 본 기술 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, S. M. Berge 등은 제약상 허용가능한 염을 문헌[J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977)]에서 상세히 기술한다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산 및 과염소산과 같은 무기 산 또는 아세트산, 말레산, 타르타르산, 시트르산, 숙신산 또는 말론산과 같은 유기 산에 의해 형성되거나 또는 이온 교환과 같은 본 기술 분야에서 사용되는 다른 방법을 사용하여 형성된 아미노기의 염인 비독성 산 부가염을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 바이셀페이트, 보레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포르설포네이트, 시트레이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설포네이트, 에탄설포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 글루코네이트, 헤미셀페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시-에탄설포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설포네이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼셀페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 설포네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, p-톨루엔설포네이트, 운데카노에이트, 발레레이트 염 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 화합물은 하나 이상의 산성 기, 예를 들어, 올리고뉴클레오티드를 포함하며, 제약상 허용가능한 염은 알칼리, 알칼리 토금속, 또는 암모늄(예를 들어, N(R)<sub>3</sub>의 암모늄 염(여기서, 각각의 R은 독립적으로 정의되며, 본 발명에 기재되어 있음)) 염이다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리 토금속 염은 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등을 포함한다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 나트륨 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 칼륨 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 칼슘 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은, 적절한 경우, 할라이드, 하이드록시드, 카복실레이트, 설포네이트, 포스페이트, 니트레이트, 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬, 설포네이트 및 아릴 설포네이트와 같은 반대 이온을 사용하여 형성되는 비독성 암모늄, 4차 암모늄 및 아민 양이온을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 화합물은 하나 초과인 산 기를 포함하고, 예를 들어 올리고뉴클레오티드는 2개 이상의 산성 기를 포함할 수 있다(예를 들어, 천연 포스페이트 연결 및/또는 변형 뉴클레오티드간 연결에서). 일부 구현예에서, 이러한 화합물의 제약상 허용가능한 염, 또는 일반적으로 염은 동일하거나 상이할 수 있는 2개 이상의 양이온을 포함한다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염(또는 일반적으로 염)에서, 산성 기에서의 모든 이온화가능 수소(예를 들어, 약 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2 이하; 일부 구현예에서 약 7 이하; 일부 구현예에서 약 6 이하; 일부 구현예에서 약 5 이하; 일부 구현예에서 약 4 이하; 일부 구현예에서 약 3 이하의 pKa를 갖는 수용액에서)는 양이온으로 대체된다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포리티오에이트 및 포스페이트 기는 독립적으로 그의 염 형태로 존재한다(예를 들어, 나트륨 염인 경우 각각 -O-P(O)(SNa)-O- 및 -O-P(O)(ONa)-O-). 일부 구현예에서, 각각의 포스포리티오에이트 및 포스페이트 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 그의 염 형태로 존재한다(예를 들어, 나트륨 염인 경우 각각 -O-P(O)(SNa)-O- 및 -O-P(O)(ONa)-O-). 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 각각의 산성 포스페이트 및 변형된 포스페이트 기(예를 들어, 포스포리티오에이트, 포스페이트 등)가, 만약에 있다면, 염 형태(모두 나트륨 염)로 존재하는 올리고뉴클레오티드의 나트륨 염이다.

[0095]

미리 결정된: 미리 결정된(또는 미리-결정된)이라는 것은, 예를 들어 무작위로 일어나는, 무작위의, 또는 제어 없이 달성되는 것과는 대조적으로, 고의로 선택되거나 비-무작위이거나 제어됨을 의미한다. 당업자라면, 본 명세서를 읽고서 본 발명 내용이 특정 화학 및/또는 입체화학 특징을 선택하여 올리고뉴클레오티드 조성물 내에 포함시키는 것을 가능하게 하는 기술을 제공하며, 추가로 이러한 화학 및/또는 입체화학 특징을 갖는 올리고뉴클레오티드 조성물의 제어된 제조를 가능하게 함을 이해할 것이다. 이러한 제공된 조성물은 본원에 기재된 바와 같이 "미리 결정된" 것이다. 특정 올리고뉴클레오티드를 함유할 수 있는 조성물은 특정 화학 및/또는 입체화학 특징을 의도적으로 생성하도록 제어되는 것이 아닌 공정을 통해 우연히 생성되었기 때문에 "미리 결정된" 조성물이 아니다. 일부 구현예에서, 미리 결정된 조성물은 의도적으로 재현될 수 있는 조성물이다(예를 들어, 제어

된 공정의 반복을 통해). 일부 구현예에서, 조성물 중 미리 결정된 수준의 복수의 올리고뉴클레오티드는 조성물 중 복수의 올리고뉴클레오티드의 절대적인 양 및/또는 상대적인 양(비, 백분율 등)이 제어됨을 의미한다. 일부 구현예에서, 조성물 중 미리 결정된 수준의 복수의 올리고뉴클레오티드는 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 제조를 통하여 달성된다.

[0096]

보호기: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "보호기"는 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 문헌[Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, 1999]에 상세하게 기술된 것을 포함하는데, 상기 문헌 전체는 본원에 참고로 포함된다. 문헌[Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, edited by Serge L. Beaucage et al. 06/2012](제2장 전체가 본원에 참고로 포함됨)에 기재된 것들과 같은 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드 화학을 위하여 특별히 수정된 보호기가 또한 포함된다. 적합한 아미노 보호기는 메틸 카바메이트, 에틸 카바메이트, 9-플루오레닐메틸 카바메이트(Fmoc), 9-(2-설포)플루오레닐메틸 카바메이트, 9-(2,7-디브로모)플루오레닐메틸 카바메이트, 2,7-디-t-부틸-[9-(10,10-디옥소-10,10,10-테트라하이드로티옥산틸)]메틸 카바메이트(DBD-Tmoc), 4-메톡시페나실 카바메이트(Phenoc), 2,2,2-트리클로로에틸 카바메이트(Troc), 2-트리메틸실릴에틸 카바메이트(Teoc), 2-페닐에틸 카바메이트(hZ), 1-(1-아다만틸)-1-메틸에틸 카바메이트(Adpoc), 1,1-디메틸-2-할로에틸 카바메이트, 1,1-디메틸-2,2-디브로모에틸 카바메이트(DB-t-BOC), 1,1-디메틸-2,2,2-트리클로로에틸 카바메이트(TCBOC), 1-메틸-1-(4-바이페닐)에틸 카바메이트(Bpoc), 1-(3,5-디-t-부틸페닐)-1-메틸에틸 카바메이트(t-Bumeoc), 2-(2'- 및 4'-피리딜)에틸 카바메이트(Pyoc), 2-(N,N-디시클로헥실카복사미도)에틸 카바메이트, t-부틸 카바메이트(BOC), 1-아다만틸 카바메이트(Adoc), 비닐 카바메이트(Voc), 알릴 카바메이트(Alloc), 1-이소프로필알릴 카바메이트(Ipaoc), 신나밀 카바메이트(Coc), 4-니트로신나밀 카바메이트(Noc), 8-퀴놀릴 카바메이트, N-하이드록시피페리딘 카바메이트, 알킬디티오 카바메이트, 벤질 카바메이트(Cbz), p-메톡시벤질 카바메이트(Moz), p-니트로벤질 카바메이트, p-브로모벤질 카바메이트, p-클로로벤질 카바메이트, 2,4-디클로로벤질 카바메이트, 4-메틸설피닐벤질 카바메이트(Msz), 9-안티메틸 카바메이트, 디페닐메틸 카바메이트, 2-메틸티오에틸 카바메이트, 2-메틸설포닐에틸 카바메이트, 2-(p-톨루엔설포닐)에틸 카바메이트, [2-(1,3-디티아닐)]메틸 카바메이트(Dmoc), 4-메틸티오페닐 카바메이트(Mtpc), 2,4-디메틸티오페닐 카바메이트(Bmpc), 2-포스포니오에틸 카바메이트(Peoc), 2-트리페닐포스포니오이소프로필 카바메이트(Ppoc), 1,1-디메틸-2-시아노에틸 카바메이트, m-클로로-p-아실옥시벤질 카바메이트, p-(디하이드록시보릴)벤질 카바메이트, 5-벤즈이속사졸릴메틸 카바메이트, 2-(트리플루오로메틸)-6-크로모닐메틸 카바메이트(Tcroc), m-니트로페닐 카바메이트, 3,5-디메톡시벤질 카바메이트, o-니트로벤질 카바메이트, 3,4-디메톡시-6-니트로벤질 카바메이트, 페닐(o-니트로페닐)메틸 카바메이트, 페노티아지닐-(10)-카보닐 유도체, N'-p-톨루엔설포닐아미노카보닐 유도체, N'-페닐아미노티오카보닐 유도체, t-아밀 카바메이트, S-벤질 티오카바메이트, p-시아노벤질 카바메이트, 시클로부틸 카바메이트, 시클로헥실 카바메이트, 시클로펜틸 카바메이트, 시클로프로필메틸 카바메이트, p-데실옥시벤질 카바메이트, 2,2-디메톡시카보닐비닐 카바메이트, o-(N,N-디메틸카복사미도)벤질 카바메이트, 1,1-디메틸-3-(N,N-디메틸카복사미도)프로필 카바메이트, 1,1-디메틸프로피닐 카바메이트, 디(2-피리딜)메틸 카바메이트, 2-푸라닐메틸 카바메이트, 2-요오도에틸 카바메이트, 이소보르닐 카바메이트, 이소부틸 카바메이트, 이소니코티닐 카바메이트, p-(p'-메톡시페닐아조)벤질 카바메이트, 1-메틸시클로부틸 카바메이트, 1-메틸시클로헥실 카바메이트, 1-메틸-1-시클로프로필메틸 카바메이트, 1-메틸-1-(3,5-디메톡시페닐)에틸 카바메이트, 1-메틸-1-(p-페닐아조페닐)에틸 카바메이트, 1-메틸-1-페닐에틸 카바메이트, 1-메틸-1-(4-피리딜)에틸 카바메이트, 페닐 카바메이트, p-(페닐아조)벤질 카바메이트, 2,4,6-트리-t-부틸페닐 카바메이트, 4-(트리메틸암모늄)벤질 카바메이트, 2,4,6-트리메틸벤질 카바메이트, 포름아미드, 아세트아미드, 클로로아세트아미드, 트리클로로아세트아미드, 트리플루오로아세트아미드, 페닐아세트아미드, 3-페닐프로판아미드, 피롤린아미드, 3-피리딜카복사미드, N-벤조일페닐알라닐 유도체, 벤즈아미드, p-페닐벤즈아미드, o-니트로페닐 아세트아미드, o-니트로페녹시아세트아미드, 아세트아세트아미드, (N'-디티오벤질옥시카보닐아미노)아세트아미드, 3-(p-하이드록시페닐)프로판아미드, 3-(o-니트로페닐)프로판아미드, 2-메틸-2-(o-니트로페녹시아)프로판아미드, 2-메틸-2-(o-페닐아조페녹시아)프로판아미드, 4-클로로부탄아미드, 3-메틸-3-니트로부탄아미드, o-니트로신나미드, N-아세틸메티오닌 유도체, o-니트로벤즈아미드, o-(벤조일옥시메틸)벤즈아미드, 4,5-디페닐-3-옥사졸린-2-온, N-프탈아미드, N-디티아숙신아미드(Dts), N-2,3-디페닐말레이미드, N-2,5-디메틸피롤, N-1,1,4,4-테트라메틸디실릴아자시클로펜탄 부가물(STABASE), 5-치환 1,3-디메틸-1,3,5-트리아자시클로헥산-2-온, 5-치환 1,3-디벤질-1,3,5-트리아자시클로헥산-2-온, 1-치환 3,5-디니트로-4-피리돈, N-메틸아민, N-알릴아민, N-[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸아민(SEM), N-3-아세톡시프로필아민, N-(1-이소프로필-4-니트로-2-옥소-3-피롤린-3-일)아민, 4차 암모늄염, N-벤질아민, N-디(4-메톡시페닐)메틸아민, N-5-디벤조수베틸아민, N-트리페닐메틸아민(Tr), N-[4-메톡시페닐]디페닐메틸]아민(MMTr), N-9-페닐플루오레닐아민(PhF),

N-2,7-디클로로-9-플루오레닐메틸렌아민, N-페로세닐메틸아미노(Fcm), N-2-피콜릴아미노 N'-옥사이드, N-1,1-디메틸티오메틸렌아민, N-벤질리덴아민, N-p-메톡시벤질리덴아민, N-디페닐메틸렌아민, N-[(2-피리딜)메시틸]메틸렌아민, N-(N',N'-디메틸아미노메틸렌)아민, N,N'-이소프로필리덴디아민, N-p-니트로벤질리덴아민, N-살리실리덴아민, N-5-클로로살리실리덴아민, N-(5-클로로-2-하이드록시페닐)페닐메틸렌아민, N-시클로헥실리덴아민, N-(5,5-디메틸-3-옥소-1-시클로헥세닐)아민, N-보란 유도체, N-디페닐보란산 유도체, N-[페닐(펜타카보닐크로뎀-또는 텅스텐)카보닐]아민, N-구리 킬레이트, N-아연 킬레이트, N-니트로아민, N-니트로소아민, 아민 N-옥사이드, 디페닐포스포아미드(Dpp), 디메틸티오포스포아미드(Mpt), 디페닐티오포스포아미드(Ppt), 디알킬 포스포아미데이트, 디벤질 포스포아미데이트, 디페닐 포스포아미데이트, 벤젠설펜아미드, o-니트로벤젠설펜아미드(Nps), 2,4-디니트로벤젠설펜아미드, 펜타클로로벤젠설펜아미드, 2-니트로-4-메톡시벤젠설펜아미드, 트리페닐메틸설펜아미드, 3-니트로피리딘설펜아미드(Npys), p-톨루엔설펜아미드(Ts), 벤젠설펜아미드, 2,3,6,-트리메틸-4-메톡시벤젠설펜아미드(Mtr), 2,4,6-트리메톡시벤젠설펜아미드(Mtb), 2,6-디메틸-4-메톡시벤젠설펜아미드(Pme), 2,3,5,6-테트라메틸-4-메톡시벤젠설펜아미드(Mte), 4-메톡시벤젠설펜아미드(Mbs), 2,4,6-트리메틸벤젠설펜아미드(Mts), 2,6-디메톡시-4-메틸벤젠설펜아미드(iMds), 2,2,5,7,8-펜타메틸크로만-6-설펜아미드(Pmc), 메탄설펜아미드(Ms), β-트리메틸실릴에탄설펜아미드(SES), 9-안트라센설펜아미드, 4-(4',8'-디메톡시나프틸메틸)벤젠설펜아미드(DNMBs), 벤질설펜아미드, 트리플루오로메틸설펜아미드, 및 페나실설펜아미드를 포함한다.

[0097] 적절하게 보호된 카복실산은 추가로 실릴-, 알킬-, 알케닐-, 아릴-, 및 아릴알킬-보호된 카복실산을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 적합한 실릴 기의 예는 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리아이소프로필실릴 등을 포함한다. 적합한 알킬 기의 예는 메틸, 벤질, p-메톡시벤질, 3,4-디메톡시벤질, 트리틸, t-부틸, 테트라하이드로피란-2-일을 포함한다. 적합한 알케닐 기의 예는 알릴을 포함한다. 적합한 아릴기의 예는 임의로 치환된 페닐, 바이페닐, 또는 나프틸을 포함한다. 적합한 아릴알킬 기의 예는 임의로 치환된 벤질(예를 들어, p-메톡시벤질(MPM), 3,4-디메톡시벤질, O-니트로벤질, p-니트로벤질, p-할로벤질, 2,6-디클로로벤질, p-시아노벤질), 및 2- 및 4-피콜릴을 포함한다.

[0098] 적합한 하이드록실 보호기는 메틸, 메톡시메틸(MOM), 메틸티오메틸(MTM), t-부틸티오메틸, (페닐디메틸실릴)메톡시메틸(SMOM), 벤질옥시메틸(BOM), p-메톡시벤질옥시메틸(PMBM), (4-메톡시페녹시)메틸(p-AOM), 과이어콜메틸(GUM), t-부톡시메틸, 4-펜테닐옥시메틸(POM), 실록시메틸, 2-메톡시에톡시메틸(MEM), 2,2,2-트리클로로에톡시메틸, 비스(2-클로로에톡시)메틸, 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸(SEMOR), 테트라하이드로피라닐(THP), 3-브로모테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로티오피라닐, 1-메톡시시클로헥실, 4-메톡시테트라하이드로피라닐(MTHP), 4-메톡시테트라하이드로티오피라닐, 4-메톡시테트라하이드로티오피라닐 S,S-디옥사이드, 1-[(2-클로로-4-메틸)페닐]-4-메톡시피페리딘-4-일(CTMP), 1,4-디옥산-2-일, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로티오푸라닐, 2,3,3a,4,5,6,7,7a-옥타하이드로-7,8,8-트리메틸-4,7-메타노벤조푸란-2-일, 1-에톡시에틸, 1-(2-클로로에톡시)에틸, 1-메틸-1-메톡시에틸, 1-메틸-1-벤질옥시에틸, 1-메틸-1-벤질옥시-2-플루오로에틸, 2,2,2-트리클로로에틸, 2-트리메틸실릴에틸, 2-(페닐셀레닐)에틸, t-부틸, 알릴, p-클로로페닐, p-메톡시페닐, 2,4-디니트로페닐, 벤질, p-메톡시벤질, 3,4-디메톡시벤질, o-니트로벤질, p-니트로벤질, p-할로벤질, 2,6-디클로로벤질, p-시아노벤질, p-페닐벤질, 2-피콜릴, 4-피콜릴, 3-메틸-2-피콜릴 N-옥시도, 디페닐메틸, p,p'-디니트로벤즈하이드릴, 5-디벤조수베릴, 트리페닐메틸, α-나프틸디페닐메틸, p-메톡시페닐디페닐메틸, 디(p-메톡시페닐)페닐메틸, 트리(p-메톡시페닐)메틸, 4-(4'-브로모페나실옥시페닐)디페닐메틸, 4,4',4''-트리스(4,5-디클로로프탈이미도페닐)메틸, 4,4',4''-트리스(레볼리노일옥시페닐)메틸, 4,4',4''-트리스(벤조일옥시페닐)메틸, 3-(이미다졸-1-일)비스(4',4''-디메톡시페닐)메틸, 1,1-비스(4-메톡시페닐)-1'-피레닐메틸, 9-안트릴, 9-(9-페닐)잔테닐, 9-(9-페닐-10-옥소)안트릴, 1,3-벤조디티올란-2-일, 벤즈이소티아졸릴 S,S-디옥시도, 트리메틸실릴(TMS), 트리에틸실릴(TEs), 트리아이소프로필실릴(TIPS), 디메틸이소프로필실릴(IPDMS), 디에틸이소프로필실릴(DEIPS), 디메틸택실실릴, t-부틸디메틸실릴(TBDMS), t-부틸디페닐실릴(TBDPS), 트리벤질실릴, 트리-p-자일릴실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴(DPMS), t-부틸메톡시페닐실릴(TBMPS), 포르메이트, 벤조일포르메이트, 아세테이트, 클로로아세테이트, 디클로로아세테이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 메톡시아세테이트, 트리페닐메톡시아세테이트, 페녹시아세테이트, p-클로로페녹시아세테이트, 3-페닐프로피오네이트, 4-옥소펜타노에이트(레볼리네이트), 4,4-(에틸렌디티오)펜타노에이트(레볼리노일디티오아세탈), 피발로에이트, 아다만토에이트, 크로토네이트, 4-메톡시크로토네이트, 벤조에이트, p-페닐벤조에이트, 2,4,6-트리메틸벤조에이트(메시토에이트), 알킬 메틸 카보네이트, 9-플루오레닐메틸 카보네이트(Fmoc), 알킬 에틸 카보네이트, 알킬 2,2,2-트리클로로에틸 카보네이트(Troc), 2-(트리메틸실릴)에틸 카보네이트(TMSEC), 2-(페닐설폰) 에틸 카보네이트(Psec), 2-(트리페닐포스포니오) 에틸 카보네이트(Peoc), 알킬 이소부틸 카보네이트, 알킬 비닐 카보네이트 알킬 알릴 카보네이트, 알킬 p-니트로페닐 카보네이트, 알킬 벤질 카보네이트, 알킬 p-메톡시벤질 카보네이트, 알

킬 3,4-디메톡시벤질 카보네이트, 알킬 o-니트로벤질 카보네이트, 알킬 p-니트로벤질 카보네이트, 알킬 S-벤질 티오카보네이트, 4-에톡시-1-나프틸 카보네이트, 메틸 디티오카보네이트, 2-요오도벤조에이트, 4-아지도부티레이트, 4-니트로-4-메틸펜타노에이트, o-(디브로모메틸)벤조에이트, 2-포르밀벤젠설포네이트, 2-(메틸티오메톡시)에틸, 4-(메틸티오메톡시)부티레이트, 2-(메틸티오메톡시메틸)벤조에이트, 2,6-디클로로-4-메틸페녹시아세테이트, 2,6-디클로로-4-(1,1,3,3-테트라메틸부틸)페녹시아세테이트, 2,4-비스(1,1-디메틸프로필)페녹시아세테이트, 클로로디페닐아세테이트, 이소부티레이트, 모노숙시노에이트, (E)-2-메틸-2-부테노에이트, o-(메톡시카보닐)벤조에이트, α-나프토에이트, 니트레이트, 알킬 N,N,N',N'-테트라메틸포스포로디아미데이트, 알킬 N-페닐카바메이트, 보레이트, 디메틸포스포노티오일, 알킬 2,4-디니트로페닐설포네이트, 설포에이트, 메탄설포네이트(메실레이트), 벤질설포네이트, 및 토실레이트(Ts)를 포함한다. 1,2- 또는 1,3-디올 보호의 경우, 보호기는 메틸렌 아세탈, 에틸리덴 아세탈, 1-t-부틸에틸리덴 케탈, 1-페닐에틸리덴 케탈, (4-메톡시페닐)에틸리덴 아세탈, 2,2,2-트리클로로에틸리덴 아세탈, 아세토니드, 시클로헥틸리덴 케탈, 시클로헥실리덴 케탈, 시클로헥틸리덴 케탈, 벤질리덴 아세탈, p-메톡시벤질리덴 아세탈, 2,4-디메톡시벤질리덴 케탈, 3,4-디메톡시벤질리덴 아세탈, 2-니트로벤질리덴 아세탈, 메톡시메틸렌 아세탈, 에톡시메틸렌 아세탈, 디메톡시메틸렌 오르토 에스테르, 1-메톡시에틸리덴 오르토 에스테르, 1-에톡시에틸리덴 오르토 에스테르, 1,2-디메톡시에틸리덴 오르토 에스테르, α-메톡시벤질리덴 오르토 에스테르, 1-(N,N-디메틸아미노)에틸리덴 유도체, α-(N,N'-디메틸아미노)벤질리덴 유도체, 2-옥사시클로헥틸리덴 오르토 에스테르, 디-t-부틸실릴렌 기(DTBS), 1,3-(1,1,3,3-테트라이소프로필디실록사닐리덴) 유도체(TIPDS), 테트라-t-부톡시디실록산-1,3-디일리덴 유도체(TBDS), 환형 카보네이트, 환형 보로네이트, 에틸 보로네이트, 및 페닐 보로네이트를 포함한다.

[0099] 일부 구현예에서, 하이드록실 보호기는 아세틸, t-부틸, t-부톡시메틸, 메톡시메틸, 테트라하이드로피라닐, 1-에톡시에틸, 1-(2-클로로에톡시)에틸, 2-트리메틸실릴에틸, p-클로로페닐, 2,4-디니트로페닐, 벤질, 벤조일, p-페닐벤조일, 2,6-디클로로벤질, 디페닐메틸, p-니트로벤질, 트리페닐메틸(트리틸), 4,4'-디메톡시트리틸, 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리페닐실릴, 트리아이소프로필실릴, 벤조일포르메이트, 클로로아세틸, 트리클로로아세틸, 트리플루오로아세틸, 피발로일, 9-플루오레닐메틸 카보네이트, 메실레이트, 토실레이트, 트리플레이트, 트리틸, 모노메톡시트리틸(MMTr), 4,4'-디메톡시트리틸(DMTr) 및 4,4',4''-트리메톡시트리틸(TMTr), 2-시아노에틸(CE 또는 Cne), 2-(트리메틸실릴)에틸(TSE), 2-(2-니트로페닐)에틸, 2-(4-시아노페닐)에틸 2-(4-니트로페닐)에틸(NPE), 2-(4-니트로페닐설포닐)에틸, 3,5-디클로로페닐, 2,4-디메틸페닐, 2-니트로페닐, 4-니트로페닐, 2,4,6-트리메틸페닐, 2-(2-니트로페닐)에틸, 부틸티오카보닐, 4,4',4''-트리스(벤조일옥시)트리틸, 디페닐카바모일, 레불리닐, 2-(디브로모메틸)벤조일(Dbmb), 2-(이소프로필티오메톡시메틸)벤조일(Ptmt), 9-페닐잔텐-9-일(픽실) 또는 9-(p-메톡시페닐)잔텐-9-일(MOX)이다. 일부 구현예에서, 각각의 하이드록실 보호기는 독립적으로 아세틸, 벤질, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 및 4,4'-디메톡시트리틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 하이드록실 보호기는 트리틸, 모노메톡시트리틸, 및 4,4'-디메톡시트리틸 기로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 인 연결 보호기는 올리고뉴클레오티드 합성 전체에 걸쳐 인 연결(예를 들어, 뉴클레오티드간 연결)에 부착되어 있는 기이다. 일부 구현예에서, 보호기는 포스포로티오에이트 기의 황 원자에 부착된다. 일부 구현예에서, 보호기는 뉴클레오티드간 포스포로티오에이트 연결의 산소 원자에 부착된다. 일부 구현예에서, 보호기는 뉴클레오티드간 포스포에이트 연결의 산소 원자에 부착된다. 일부 구현예에서, 보호기는 2-시아노에틸(CE 또는 Cne), 2-트리메틸실릴에틸, 2-니트로에틸, 2-설포닐에틸, 메틸, 벤질, o-니트로벤질, 2-(p-니트로페닐)에틸(NPE 또는 Npe), 2-페닐에틸, 3-(N-tert-부틸카복사미도)-1-프로필, 4-옥소펜틸, 4-메틸티오-1-부틸, 2-시아노-1,1-디메틸에틸, 4-N-메틸아미노부틸, 3-(2-피리딜)-1-프로필, 2-[N-메틸-N-(2-피리딜)]아미노에틸, 2-(N-포르밀,N-메틸)아미노에틸, 또는 4-[N-메틸-N-(2,2,2-트리플루오로아세틸)아미노]부틸이다.

[0100] 대상체: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체" 또는 "테스트 대상체"는, 화합물(예를 들어, 올리고뉴클레오티드) 또는 조성물이 예를 들어, 실험, 진단, 예방 및/또는 치료 목적을 위하여 본 발명에 따라 투여되는 임의의 유기체를 지칭한다. 전형적인 대상체는 동물(예를 들어, 포유동물, 예컨대 마우스, 래트, 토끼, 비인간 영장류, 및 인간; 곤충류; 충류 등) 및 식물을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 질환, 장애 및/또는 병태를 앓고 있고/있거나 이에 걸리기 쉬울 수 있다.

[0101] 실질적으로: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로"는 관심있는 특징 또는 특성의 전체 또는 거의 전체의 범위 또는 정도를 나타내는 정성적 상태를 지칭한다. 제2 서열에 실질적으로 동일하거나 상보적인 염기 서열은 제2 서열과 완전히 동일하거나 상보적이지 않지만, 제2 서열과 대부분 동일하거나 또는 거의 동일하거나 상보적이다. 일부 구현예에서, 다른 올리고뉴클레오티드 또는 핵산에 대해 실질적으로 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오티드는 완전히 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오티드와 유사한 방식으로 올리고뉴클레오티드

또는 핵산과 듀플렉스를 형성한다. 게다가, 생물학 및/또는 화학 분야의 통상의 기술자는 생물학적 및 화학적 현상이 완료되는 경우가 거의 없고/없거나 완전성을 달성하거나 절대 결과를 달성 또는 회피하는 경우가 거의 없다는 것을 이해할 것이다. 따라서 용어 "실질적으로"는 많은 생물학적 및/또는 화학적 현상에 내재된 완전성의 잠재적 결핍을 포착하기 위해 본원에서 사용된다.

[0102] 당: 용어 "당"은 폐쇄 및/또는 개방 형태의 단당류 또는 다당류를 지칭한다. 일부 구현예에서, 당은 단당류이다. 일부 구현예에서, 당은 다당류이다. 당은 리보스, 데옥시리보스, 펜토푸라노스, 펜토피라노스 및 헥소피라노스 모이어티를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "당"은 또한 통상적인 당 분자 대신 사용되는 구조적 유사체, 예컨대 글리콜(이의 중합체는 핵산 유사체의 백본을 형성함), 글리콜 핵산("GNA") 등을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "당"은 또한 천연 또는 천연 발생 뉴클레오티드 대신 사용되는 구조적 유사체, 예컨대 변형 당 및 뉴클레오티드 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 당은 RNA 또는 DNA 당(리보스 또는 데옥시리보스)이다. 일부 구현예에서, 당은 변형된 리보스 또는 데옥시리보스 당, 예를 들어 2'-변형된 것, 5'-변형된 것 등이다. 본원에 기재된 바와 같이, 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및/또는 핵산에서 사용되는 경우, 변형 당은 하나 이상의 원하는 특성, 활성 등을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 당은 임의로 치환된 리보스 또는 데옥시리보스이다. 일부 구현예에서, "당"은 올리고뉴클레오티드 또는 핵산에서의 당 단위를 지칭한다.

[0103] 걸리기 쉬운: 질환, 장애 및/또는 병태에 "걸리기 쉬운" 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태의 발병 위험이 일반 대중 구성원보다 더 높은 개체이다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태를 갖는 성향이 있다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태가 진단된 적이 없을 수 있다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태의 증상을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태의 증상을 나타내지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태가 발병할 것이다. 일부 구현예에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 걸리기 쉬운 개체는 그 질환, 장애 및/또는 병태가 발병하지 않을 것이다.

[0104] 치료제: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료제"는 일반적으로, 대상체에게 투여되는 경우 원하는 효과(예를 들어, 원하는 생물학적, 임상적 또는 약리학적 효과)를 유발하는 임의의 약제를 지칭한다. 일부 구현예에서, 약제는 적절한 집단 전체에 걸쳐 통계적으로 유의한 효과를 나타내는 경우 치료제로 간주된다. 일부 구현예에서, 적절한 집단은 질환, 장애 또는 병태를 앓고 있고/있거나 이에 걸리기 쉬운 대상체의 집단이다. 일부 구현예에서, 적절한 집단은 모델 유기체의 집단이다. 일부 구현예에서, 적절한 집단은 연령 군, 성별, 유전적 배경, 기존 임상 상태, 요법에 대한 사전 노출과 같은 하나 이상의 기준에 의해 정의될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제는 유효량으로 대상체에게 투여되는 경우 대상체에서 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징을 경감시키고/시키거나, 개선시키고/시키거나, 완화시키고/시키거나, 억제하고/하거나, 예방하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 중증도를 감소시키고/시키거나 이의 발생을 감소시키는 물질이다. 일부 구현예에서, "치료제"는 인간 투여용으로 판매될 수 있기 전에 정부 기관에 의해 승인되었거나 승인을 받는 것이 요구되는 약제이다. 일부 구현예에서, "치료제"는 인간에게 투여하기 위해 의학적 처방이 요구되는 약제이다. 일부 구현예에서, 치료제는 제공된 화합물, 예를 들어 제공된 올리고뉴클레오티드이다.

[0105] 치료적 유효량: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적 유효량"은 치료 요법의 일부로서 투여되는 경우 원하는 생물학적 반응을 유발하는 물질(예를 들어, 치료제, 조성물 및/또는 제형)의 양을 의미한다. 일부 구현예에서, 물질의 치료적 유효량은 질환, 장애 및/또는 병태를 앓고 있거나 이것에 걸리기 쉬운 대상체에게 투여되는 경우 그 질환, 장애 및/또는 병태의 치료, 진단, 예방 및/또는 발병 지연에 충분한 양이다. 당업자에 의해 이해될 바와 같이, 물질의 유효량은 목적하는 생물학적 중점으로서 이러한 인자, 전달되는 물질, 표적 세포 또는 조직 등에 따라 다를 수 있다. 예를 들어 질환, 장애 및/또는 병태를 치료하기 위한 제형 중 화합물의 유효량은, 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징을 경감, 개선, 완화, 억제, 예방, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발생 감소시키는 양이다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 단위 용량으로 투여되며; 일부 구현예에서, 단위 용량이 치료적 유효량 전달에 필요하다.

[0106] 치료하다: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료", 또는 "치료하는"은 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 부분적이거나 완전한 경감, 개선, 완화, 억제, 예방, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발생 감소에 사용되는 임의의 방법을 지칭한다. 치료제는 질환, 장애 및/또는 병태의 징후를 나타내지 않는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제는 예를 들어 질환, 장애 및/또는 병태와 관련된 병상의 발생 위험을 감소시키기 위해 질환, 장애 및/또는 병태의 초기 징후만을 나타내는 대상체에게 투여될

수 있다.

- [0107] 불포화된: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "불포화된"은 모이어티가 하나 이상의 불포화 단위를 가짐을 의미한다.
- [0108] 야생형: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "야생형"은 (돌연변이, 병에 걸린, 변경된 등과 대조되는) "정상" 상태 또는 맥락에서 자연에서 발견되는 구조 및/또는 활성을 갖는 엔티티(entity)를 지칭하는 당업계에서 이해되는 의미를 갖는다. 당업자는 야생형 유전자 및 폴리펩티드가 종종 다수의 상이한 형태(예를 들어, 대립유전자)로 존재한다는 것을 이해할 것이다.
- [0109] 당업자가 이해하는 바와 같이, 제공된 화합물(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)과 관련하여 본원에 기재된 방법 및 조성물은 또한 이러한 화합물의 제약상 허용가능한 염에 일반적으로 적용된다.
- [0110] 특정 구현예의 설명
- [0111] 올리고뉴클레오타이드는 다양한 치료, 진단, 및 연구 응용분야에서 유용하다. 자연 발생적 핵산의 사용은 예를 들어, 엔도- 및 엑소-뉴클레아제에 대한 민감성으로 인해 제한된다. 따라서, 이러한 단점을 피하고/하거나 다양한 특성 및 활성을 더욱 개선시키기 위해 다양한 합성 대응물이 개발되었다. 이러한 대응물에는 화학적 변형, 예를 들어 염기 변형, 당 변형, 백본 변형 등을 포함하는 합성 올리고뉴클레오타이드(특히, 이러한 분자를 분해에 덜 민감하게 만들고 다른 특성 및/또는 활성을 개선시키는 것)가 포함된다.
- [0112] 구조적 관점에서, 뉴클레오타이드간 연결에 대한 변형은 키랄성을 도입할 수 있으며, 특정 특성 및 활성은 올리고뉴클레오타이드의 연결 인 원자의 배열에 의해 영향을 받을 수 있다. 예를 들어, 결합 친화성, 상보적 RNA에 대한 서열 특이적 결합, 뉴클레아제에 대한 안정성, 활성제 핵산의 절단, 전달, 약동학적 특성 등은 특히 백본 연결 인 원자의 키랄성에 의해 영향을 받을 수 있다.
- [0113] 특히, 본 발명은 올리고뉴클레오타이드에서 다양한 구조적 요소, 예를 들어 당 변형 및 이의 패턴, 핵염기 변형 및 이의 패턴, 변형 뉴클레오타이드간 연결 및 이의 패턴, 연결 인 입체화학 및 이의 패턴, 추가의 화학적 모이어티(일반적으로 올리고뉴클레오타이드 사슬에 있지 않은 모이어티) 및 이의 패턴 등을 제어하는 기술을 사용한다. 올리고뉴클레오타이드의 구조적 요소를 완전히 제어할 수 있는 능력을 이용하여, 본 발명은 예를 들어 치료제, 프로브 등으로서의 다양한 응용을 위한 개선되고/되거나 새로운 특성 및/또는 활성을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 제공한다. 예를 들어, 본원에 나타난 바와 같이, 제공된 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물은 일부 구현예에서 A를 I로 변환함으로써 G에서 A로의 돌연변이를 교정하기 위해 표적 핵산에서 표적 아데노신을 편집하는 데 특히 강력하다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 SERPINA1에서 1024 G>A 돌연변이를 할 수 있다.
- [0114] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 키랄 제어된다. 특히, 본 발명은 키랄 제어(일부 구현예에서, 입체화학적 순수) 올리고뉴클레오타이드의 제조 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 입체화학적으로 순수하다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 입체화학적으로 약 5%~100%, 10%~100%, 20%~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 60%~100%, 70%~100%, 80%~100%, 90%~100%, 95%~100%, 50%~90%, 또는 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%, 또는 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 순수하다.
- [0115] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물은 공통 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 올리고뉴클레오타이드에 있는 키랄 연결 인을 포함하는 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물은 동일한 구성의 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 여기서 하나 이상의 뉴클레오타이드간 연결은 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물은 동일 구성의 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 키랄 연결 인을 포함하는 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결이다. 일부 구현예에서, 모든 올리고뉴클레오타이드, 또는 공통 염기 서열의 모든 올리고뉴클레오타이드의 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 복수의 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물의 조성물에서, 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물의 각각의 키랄 인은 키랄 제어된다.
- [0116] 일부 구현예에서, 본 발명은 제공된 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물의 제조, 평가, 및/또는 활용 기술을 제공한다.
- [0117] 본 발명에서 사용되는 바와 같이, 일부 구현예에서, "하나 이상"은 1~200, 1~150, 1~100, 1~90, 1~80, 1~70,

1~60, 1~50, 1~40, 1~30, 또는 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, 또는 60개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 1개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 2개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 3개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 4개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 5개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 6개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 7개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 8개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 9개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 10개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 1개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 2개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 3개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 4개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 5개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 6개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 7개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 8개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 9개이다. 일부 구현예에서, "하나 이상"은 적어도 10개이다.

- [0118] 본 발명에서 사용되는 바와 같이, 일부 구현예에서, "적어도 하나"는 하나 이상이다.
- [0119] 변수, 예를 들어 R, R<sup>L</sup>, L 등에 대한 다양한 구현예가 예로서 기재된다. 변수, 예를 들어 R에 대해 기재된 구현예는 일반적으로 이러한 변수(예를 들어, R', R", R<sup>L</sup>, R<sup>L1</sup> 등)가 될 수 있는 모든 변수에 적용 가능하다.
- [0120] *올리고뉴클레오티드*
- [0121] 특히, 본 발명은 본 발명에 기재된 바와 같은 다양한 핵염기 및 이의 패턴, 당 및 이의 패턴, 뉴클레오티드간 연결 및 이의 패턴, 및/또는 추가의 화학적 모이어티 및 이의 패턴을 포함할 수 있는 다양한 설계의 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에서 A에서 I로의 편집을 지시할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 표적 RNA 서열 내의 아데노신의 부위-지정 편집(A에서 I로의 변환)을 할 수 있는 단일가닥 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 SERPINA1에서 1024 G>A를 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 더 낮은 수준의 2'-F 변형당을 함유하고 천연 RNA 당은 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 높은 수준의 활성(예: SERPINA1에서 1024 G>A의 편집) 및 안정성을 제공한다.
- [0122] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 전달을 촉진하고, 제조 복잡성 및/또는 원하는 특성과 활성의 유지(예: 아데노신의 편집) 비용을 줄이기에 충분히 짧다.
- [0123] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 추가의 화학적 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 탄수화물 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 표적화 모이어티를 포함한다.
- [0124] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 표적 서열 또는 이의 산물 내의 G에서 A로의 돌연변이의 교정을 지시할 수 있다. 일부 구현예에서, G에서 A로의 돌연변이의 교정은 A에서 I로의 변환이거나 이를 포함하고, I는 번역 또는 다른 생물학적 과정 중에 G로 판독될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 ADAR 매개 탈아미노화를 통해 표적 서열 또는 이의 산물 내의 G에서 A로의 돌연변이의 교정을 지시할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 (예를 들어, 표적 세포에서) 내인성 ADAR을 보충하고 ADAR 매개 탈아미노화를 촉진함으로써 ADAR 매개 탈아미노화를 통해 표적 서열 또는 이의 산물 내의 G에서 A로의 돌연변이의 교정을 지시할 수 있다.
- [0125] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 부위(예: 표적 서열)의 센스 가닥에서 유래된 전사체의 2가지 이상의 변이체에 혼성화된다.
- [0126] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 증가된 수준의 하나 이상의 동위원소를 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 하나 이상의 원소, 예를 들어 수소, 탄소, 질소 등의 하나 이상의 동위원소로 표시된다. 일부 구현예에서, 제공된 조성물 내의 제공된 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 복수의 조성물의 올리고뉴클레오티드는 염기 변형, 당 변형, 및/또는 뉴클레오티드간 연결 변형을 포함하고, 올리고뉴클레오티드는 강화된 수준의 중수소를 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 위치에서 중수소로 표시된다(<sup>1</sup>H를 <sup>2</sup>H로 대체). 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 사슬 또는 올리고뉴클레오티드 사슬에 접합된 임의의 모이어티(예를 들어, 표적화 모이어티 등)의 하나 이상의 <sup>1</sup>H는 <sup>2</sup>H로 치환된다. 이

러한 올리고뉴클레오티드는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 사용될 수 있다.

[0127] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 시스템(예를 들어, ADAR 매개 탈아미노화 시스템)에서 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산과 접촉될 때, 표적 아데노신의 변형(예를 들어, 표적 A의 탈아미노화)은 기준 조건(예를 들어, 조성물의 부재, 기준 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 존재, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택)에서 관찰되는 것에 비해 개선되는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 변형, 예를 들어 ADAR 매개 탈아미노화(예: 내인성 ADAR 매개 탈아미노화)은 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 또는 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, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000배 이상 증가된다.

[0128] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 염 형태로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 이의 염 형태로 존재하는 염으로 하전된 뉴클레오티드간 연결(예를 들어, 포스포포티오에이트 뉴클레오티드간 연결, 천연 포스페이트 연결 등)을 포함하는 염으로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염으로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 금속 염으로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 나트륨 염으로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 암모늄 염으로 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 금속염, 예를 들어 나트륨 염으로 제공, 투여 또는 전달되며, 염으로 하전된 각각의 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 염 형태(예를 들어, 나트륨 염에 있어서, 포스포포티오에이트 뉴클레오티드간 연결의 경우  $-O-P(O)(SNa)-O-$ , 천연 포스페이트 연결의 경우  $-O-P(O)(ONa)-O-$  등)이다.

[0129] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결을 포함하며 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 인은 독립적으로 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물은 키랄 인과 관련하여 다른 입체이성체가 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물은 다른 입체이성체가 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 본 발명은 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다.

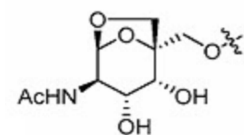
[0130] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 고순도(예를 들어, 약 50%~100%)로 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 높은 입체화학적 순도(예를 들어, 약 50%~100%)를 갖는다. 일부 구현예에서, 제공된 조성물 내의 올리고뉴클레오티드는 높은 입체화학적 순도(예를 들어, 동일한 올리고뉴클레오티드의 다른 입체이성체에 비해 높은 비율(예를 들어, 50%~100%)의 입체이성체)을 갖는다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 75%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 85%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 또는 약 95%이다.

[0131] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는  
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUteofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfUn001RteofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfUn001RteofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUm5Ceo*SfC*SfUn001RteofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sm5CeoTeo*SmUn001Rm5CeoF*A*SfGn001RmUm5CeoM5Ceo*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCteo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUm5CeoM5Ceo*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCteo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmCmC*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU,$   
 $mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SI$   
 $n001Sm$

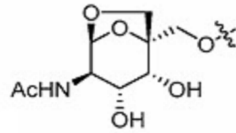
UfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는  
mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001S  
mUfC\*SmG\*SmAn001RmU이다.

[0132] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1을 표적으로 하고 추가의 화학적 모이어티를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1을 표적으로 하고 L001을 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 임의의 Mod를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 Mod001을 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 Mod012를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 Mod001 또는 Mod012를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1D 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1E 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-42934 내지 WV-44247 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44248 내지 WV-44277 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44349 내지 WV-44362 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44363 내지 WV-44390 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44482 내지 WV-44515 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-46406 내지 WV-47042 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47339 내지 WV-47483 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47495 내지 WV-47496 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47610 내지 WV-47631 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-48455 내지 WV-48459 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-49094 내지 WV-49096 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 10 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는다.

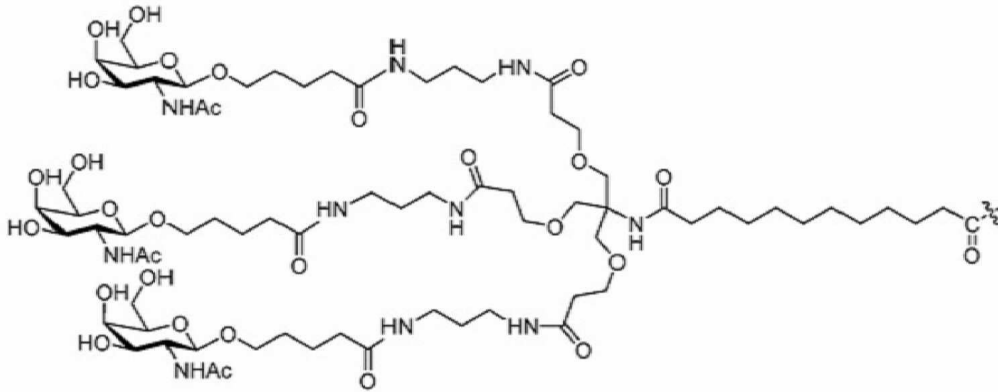
[0133] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 본원에 기재된 바와 같은 추가의 화학적 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 전달을 촉진한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 탄수화물 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 지질 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 하나 이상의 수용체의 하나 이상의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 하나 이상의 수용체의 리간드이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 아시알로당단백질 수용체에 대한 하나 이상의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 모이어티를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이다. 일부 구현예에서, 리간드는 GalNAc 또는 이의



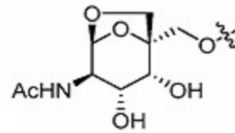
유도체이다. 일부 구현예에서, 리간드는 GalNAc이다. 일부 구현예에서, 리간드는 또는



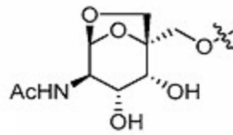
이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 리간드는 이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 GalNAc를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는



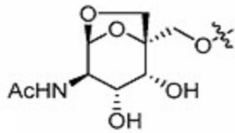
이거나 이를 포함한



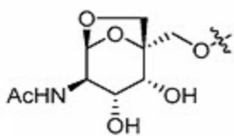
다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 이거나 이를 포함한다. 일부



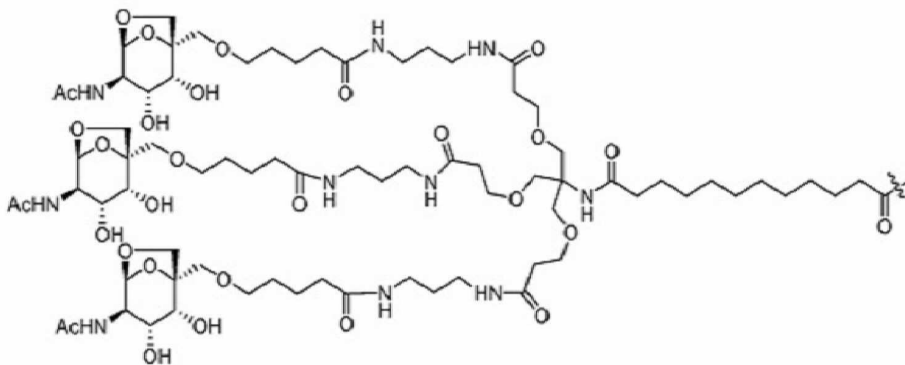
구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티



는 다수의 를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의



를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는



이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬에 직접 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬에 링커를 통해 접합된다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬에 링커를 통해 접합된다. 일부 구현예에서, 링커는 L001이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 다가 링커이다. 일부 구현예에서, 다가 링커는 2개 이상의 추가의 화학적

모이어티를 접합시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 4가 링커는 3개의 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어, 3개의 GalNAc를 올리고뉴클레오타이드 사슬의 단일 지점에 연결할 수 있다. 추가의 화학적 모이어티는 독립적으로 그리고 임의로 링커를 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 다양한 위치에 독립적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 3'-말단에 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 중간에 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 당에 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 핵염기에 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 뉴클레오타이드간 연결에 접합된다. 일부 구현예에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단 5' -탄소에 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 3'-말단 3' -탄소에 연결된다. 일부 구현예에서, 링커, 예를 들어, L001은 포스페이트 기를 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 예를 들어, 5'-말단 5' -탄소에 연결된다. 일부 구현예에서, 이는 포스포로티오에이트 기를 통한 것이다.

[0134]

일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUm001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeotoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoteofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoteofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU,  
 Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 본원에 참고로 포함된 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1을 표적으로 하고 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 범을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1을 표적으로 하고 L001을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖고, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1을 표적으로 하고 Mod001을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1D 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1E 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-46312 내지 WV-46323 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47597 내지 WV-47609 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47641 내지 WV-48454 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47643 내지 WV-47648 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-48453 내지 WV-48454 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 1F의 WV-49085 내지 WV-49093 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 WO 2022/099159의 표 10 또는 이의 범으로부터 선택된 구조를 갖는다.

[0135]

본원에 기재된 바와 같이, 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어 Mod001은 올리고뉴클레오타이드

의 전달을 촉진할 수 있다. 일부 구현예에서, 전달 후 추가의 화학적 모이어티가 절단된다. 일부 구현예에서, 전달 또는 투여 후에 추가의 모이어티가 방출되어 전달될 올리고뉴클레오타이드를 제공한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티를 접합하기 위한 링커(예를 들어, L001)가 절단된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 추가의 화학적 모이어티 및 임의로 링커를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 올리고뉴클레오타이드 사슬의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오타이드로부터 추가의 화학적 모이어티가 절단된 후 방출된 올리고뉴클레오타이드의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 링커, 예를 들어 L001은 또한 올리고뉴클레오타이드로부터 절단된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 올리고뉴클레오타이드 사슬로부터 추가의 화학적 모이어티를 절단함으로써 형성된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드가 세포 내로 전달된 후 추가의 화학적 모이어티가 절단된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드가 대상체에게 투여된 후 추가의 화학적 모이어티가 절단된다.

[0136] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 올리고뉴클레오타이드의 접합체를 투여하는 단계를 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 전달하기 위한 기술을 제공하며, 여기서 접합체는 전달될 올리고뉴클레오타이드 및 본원에 기재된 추가의 화학적 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 독립적으로 그리고 임의로 하나 이상의 링커를 통해 하나 이상의 추가의 화학적 모이어티와 접합된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 링커를 통해 추가의 화학적 모이어티와 접합된다.

[0137] 올리고뉴클레오타이드, 화합물, 모이어티, 예를 들어 추가의 화학적 모이어티, 링커 모이어티 등은 본원에 기재된 R' 또는 R일 수 있거나 이를 포함할 수 있는 기를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, R'은 R이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)R이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)OR이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)N(R)<sub>2</sub>이다. 일부 구현예에서, R'은 -SO<sub>2</sub>R이다.

[0138] 일부 구현예에서, 다양한 구조의 R'은 보호기(예: 아미노, 하이드록실 등의 경우), 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 합성에 적합한 것이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 페닐이다. 일부 구현예에서, R은 페닐이다. 일부 구현예에서, R은 4-니트로페닐이다. 일부 구현예에서, R은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(4-니트로페닐)이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)NPh<sub>2</sub>이다.

[0139] 일부 구현예에서, 각각의 R은 독립적으로 -H이거나, C<sub>1-10</sub> 지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>1-10</sub> 헤테로지방족, C<sub>6-14</sub> 아릴, C<sub>6-20</sub> 아릴지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>6-20</sub> 아릴헤테로지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 5~14원 헤테로아릴, 및 1~5개의 헤테로원자를 갖는 3~10원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이거나, 또는

[0140] 2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 함께 공유 결합을 형성하거나, 또는

[0141] 동일한 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 해당 원자와 함께, 해당 원자 외에도 0~10개(예를 들어, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~15원 단환, 이환, 또는 다환 고리를 형성하거나; 또는

[0142] 2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 해당 개재된 원자 외에도 0~10개(예를 들어, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~15원 단환, 이환, 또는 다환 고리를 형성한다.

[0143] 일부 구현예에서, 각각의 R은 독립적으로 -H이거나, C<sub>1-20</sub> 지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>1-20</sub> 헤테로지방족, C<sub>6-30</sub> 아릴, C<sub>6-30</sub> 아릴지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>6-30</sub> 아릴헤테로지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 5~20원 헤테로아릴, 및 1~10개의 헤테로원자를 갖는 3~30원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이다. 일부 구현예에서, 각각의 R은 독립적으로 -H이거나, C<sub>1-10</sub> 지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>1-10</sub> 헤테로지방족, C<sub>6-14</sub> 아릴, C<sub>6-20</sub> 아릴지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 C<sub>6-20</sub> 아릴헤테로지방족, 1~5개의 헤테로원자를 갖는 5~14원 헤테로아릴, 및 1~5개의 헤테로원자를 갖는 3~10원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이다. 일부 구현예에서, 2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 함께 공유 결합을 형성한다. 일부 구현예에서, 동일한 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 해당 원자와 함께, 해당 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~20원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, 동일한 원자 상의 2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 해당 원자와 함께, 해당 원자 외에도 0~10개의 헤테로원

자를 갖는 임의로 치환된 3~20원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 해당 개재된 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~30원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 원자 상의 2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 해당 개재된 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~30원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 단환이다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 이환이다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 다환이다. 일부 구현예에서, 각각의 단환 고리 단위는 독립적으로 3~10원(예를 들어, 3~8, 3~7, 3~6, 5~10, 5~8, 5~7, 5~6, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10원 등)이고, 독립적으로 포화, 부분 포화, 또는 방향족이고, 독립적으로 0~5개의 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 고리는 포화되어 있다. 일부 구현예에서, 고리는 부분적으로 포화되어 있다. 일부 구현예에서, 고리는 방향족이다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 1~5개의 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 1개의 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 형성된 고리는 2개의 헤테로원자를 갖는다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 질소이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 산소이다.

- [0144] 일부 구현예에서, R은 -H이다.
- [0145] 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>1-20</sub>, C<sub>1-15</sub>, C<sub>1-10</sub>, C<sub>1-8</sub>, C<sub>1-6</sub>, C<sub>1-5</sub>, C<sub>1-4</sub>, C<sub>1-3</sub>, 또는 C<sub>1-2</sub> 지방족이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 알킬이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 메틸이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 시클로지방족이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 시클로알킬이다.
- [0146] 일부 구현예에서, R은 1~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 C<sub>1-20</sub> 헤테로지방족이다.
- [0147] 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>6-20</sub> 아릴이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 페닐이다. 일부 구현예에서, R은 페닐이다.
- [0148] 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>6-20</sub> 아릴지방족이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>6-20</sub> 아릴알킬이다. 일부 구현예에서, R은 벤질이다. 일부 구현예에서, R은 1~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 C<sub>6-20</sub> 아릴헤테로지방족이다.
- [0149] 일부 구현예에서, R은 1~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 5~20원 헤테로아릴이다. 일부 구현예에서, R은 1~4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 5원 헤테로아릴이다. 일부 구현예에서, R은 1~4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 6원 헤테로아릴이다. 일부 구현예에서, R은 1~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~20원 헤테로시클릴이다. 일부 구현예에서, R은 1~5개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~10원 헤테로시클릴이다. 일부 구현예에서, R은 1~5개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 5~6원 헤테로시클릴이다. 일부 구현예에서, 헤테로시클릴은 포화되어 있다. 일부 구현예에서, 헤테로시클릴은 부분적으로 포화되어 있다.
- [0150] 일부 구현예에서, 헤테로원자는 붕소, 질소, 산소, 황, 규소, 및 인으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 질소, 산소, 황, 및 규소로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 질소, 산소, 및 규소로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 질소이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 산소이다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 황이다.
- [0151] 본 발명에 언급된 특정 올리고뉴클레오티드 및/또는 조성물은 WO 2021/071858 또는 WO 2022/099159 또는 우선권 출원, 예를 들어 WO 2021/071858 또는 WO 2022/099159의 표 1 또는 우선권 출원에 기재되어 있다. WO 2021/071858 및 WO 2022/099159의 모든 올리고뉴클레오티드 및/또는 조성물은 본원에 참조로 포함된다.
- [0152] 특정 올리고뉴클레오티드 및/또는 조성물이 아래 표 1에 기재되어 있다.

[0153] [표 1] SERPINA1을 표적화하는 예시적인 올리고뉴클레오타이드 및/또는 조성물

ID	설명	염기 서열	입체화학/연결
WV-46312	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCU UCAGUCCCUU UCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOS nROSnROSSSSO OSSSnSOSSnR
WV-44515	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCU UCAGUCCCUU UCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSn ROSnROSSSSOO SSSnSOSSnR
WV-47606	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ce oAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCT UCAGUCCUTT CTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSO nROSnROSSSnR OOSSnSOSSnR
WV-46460	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ce oAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCT UCAGUCCUTT CTUIUCGAU	nRSSSSOOSSOn ROSnROSSSnRO OSSSnSOSSnR
WV-47608	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCU UCAGUCCCUU UCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSO nROSnROSSSnR OOSSnSOSSnR
WV-47037	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCU UCAGUCCCUU UCTUIUCGAU	nRSSSSOOSSOn ROSnROSSSnRO OSSSnSOSSnR
WV-49085	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ce oAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCT UCAGUCCUTT CTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSO nROSnROSSSnR OOSSnSOSSnR
WV-49085 b	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ce oAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCT UCAGUCCUTT CTUIUCGAU	nRSSSSOOSSOn ROSnROSSSnRO OSSSnSOSSnR
WV-49086	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ce oAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUm5Ce oSfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCT UCAGUCCUTT CTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSO nROSnROSSSnR OOSSnSOSSnR

[0154]

WV-49086b	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOnROSnROSSSnROOSSnSOSSnR
WV-49087	Mod001L00ImCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCTeo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmCmC*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-49087b	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCTeo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmCmC*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-49088	Mod001L00ImCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCTeo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUm5CcomC*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-50496	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCTeo*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUm5CcomC*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-49089	Mod001L00ImCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sm5CeoTeo*SmUn001Rm5CeofA*SfGn001RmUm5Ccom5Ceo*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-49089b	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sm5CeoTeo*SmUn001Rm5CeofA*SfGn001RmUm5Ccom5Ceo*SfC*SfU*STeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOSnROSnROSSSOOSSnSOSSnR
WV-49090	Mod001L00ImCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUteofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSOnROSnROSSOnROOSSnSOSSnR
WV-50497	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUteofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCUUTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOnROSnROSSOnROOSSnSOSSnR
WV-49092	Mod001L00ImCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSOnROSnROSSnROOSSnSOSSnR
WV-50498	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCUTTCTUIUCGAU	nRSSSSOOSOnROSnROSSnROOSSnSOSSnR

[0155]

[0156]

주:

[0157]

설명, 염기 서열 및 입체화학/연결은 이들의 길이로 인해 표 1에서 다수의 줄로 나눌 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 표 1의 모든 올리고뉴클레오티드는 단일가닥이다. 당염자에 의해 이해되는 바와 같이, 뉴클레오티드 단위는 비변형이며, 달리(예를 들어, r, m, m5, eo 등으로) 표시되지 않는 한, 비변형 핵염기 및 2'-데옥시 당을 함유하고; 연결은 달리 표시되지 않는 한, 천연 포스페이트 연결이며; 산성/염기성 기는 독립적으로 이들의 염 형태로 존재할 수 있다. 당이 명시되지 않은 경우, 당은 천연 DNA 당이고; 뉴클레오티드간 연결이 명시되지 않은 경우, 뉴클레오티드간 연결은 천연 포스페이트 연결이다. 모이어티 및 변형:

[0158]

m: 2'-OMe;

[0159]

I: 핵염기는 하이포잔틴임;

[0160]

f: 2'-F;

[0161]

eo: 2'-MOE (2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>);

[0162]

m5Ceo: 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C;

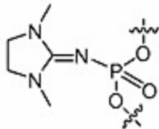
[0163]

O, PO: 포스포디에스테르(포스페이트). 이는 링커 또는 말단기(또는 이의 구성요소), 예를 들어 링커와 올리고뉴클레오티드 사슬 사이의 연결, 뉴클레오티드간 연결(천연 포스페이트 연결) 등일 수 있다. 포스포디에스테르

는 일반적으로 입체화학/연결 열에 "0"로 표시되고 일반적으로 설명 열에는 표시되지 않으며(말단기, 예를 들어 5'-말단기인 경우, 설명에 표시되며 일반적으로 입체화학/연결에는 표시되지 않음); 설명 열에 연결이 표시되지 않은 경우, 달리 표시되지 않는 한, 일반적으로 포스포디에스테르이다. 링커(예를 들어, L001)와 올리고뉴클레오티드 사슬 사이의 포스페이트 연결은 설명 열에 표시되지 않을 수 있지만, 입체화학/연결 열에 "0"로 표시될 수 있음에 유의;

[0164] \*, PS: 포스포로티오에이트. 이는 말단기(말단기, 예를 들어 5'-말단기인 경우, 설명에 표시되며 일반적으로 입체화학/연결에는 표시되지 않음), 또는 연결, 예를 들어 링커(예를 들어, L001)와 올리고뉴클레오티드 사슬 사이의 연결, 뉴클레오티드간 연결(포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결) 동일 수 있음;

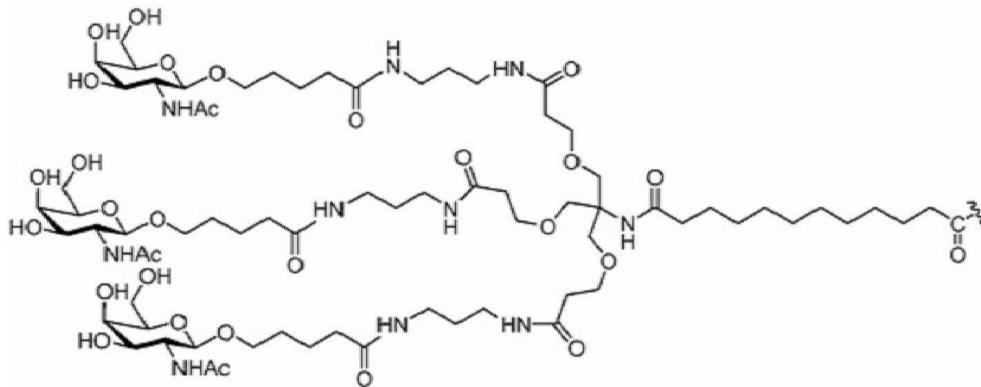
[0165] S, Sp: Sp 배열의 포스포로티오에이트. 설명의 \* S는 Sp 배열의 단일 포스포로티오에이트 연결을 나타냄에 유의;



[0166] n001: ;

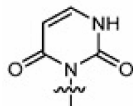
[0167] nR(n001에 사용될 때) 또는 n001R: Rp 배열의 n001;

[0168] nS(n001에 사용될 때) 또는 n001S: Sp 배열의 n001;



[0169] Mod001: ;

[0170] L001: -NH-를 통해 Mod(예를 들어, Mod001)에 연결되고, 다양한 경우에, 포스페이트 연결(O 또는 PO)을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>- 링커(C6 링커, C6 아민 링커 또는 C6 아미노 링커). 예를 들어 WV-39306에서, L001은 -NH-를 통해 Mod001에 연결되고(아미드기 -C(O)-NH-를 형성), 포스페이트 연결(O)을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬에 연결됨. Mod가 존재하지 않는 경우, -NH-는 -H에 결합됨;



[0171] b008U: 염기가 인 뉴클레오시드.

[0172] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 A-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-46312는 각각 독립적으로 화학식 A-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, WV-46312의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 A-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

[0173] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 A-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-49090는 각각 독립적으로 화학식 A-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, WV-49090의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 A-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

[0174] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 A-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-49092는 각각 독립적으로 화학식 A-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다.

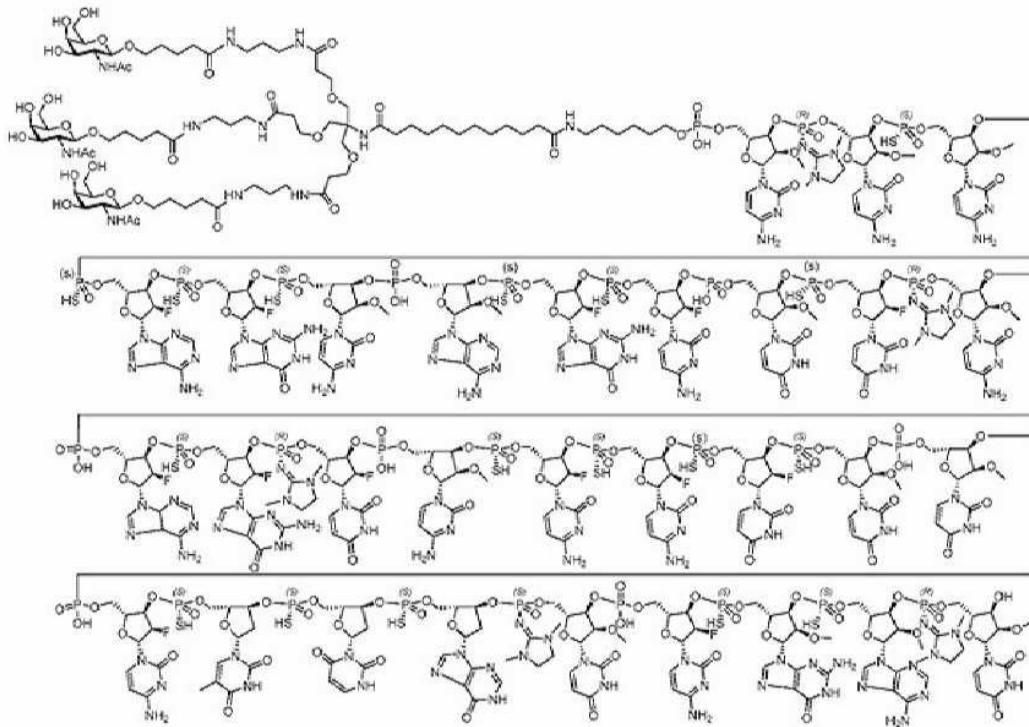
달된다. 일부 구현예에서, WV-49092의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 A-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

[0175] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 B-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-44515는 각각 독립적으로 화학식 B-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, WV-44515의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 B-1 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

[0176] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 B-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-50497는 각각 독립적으로 화학식 B-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, WV-50497의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 B-2 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

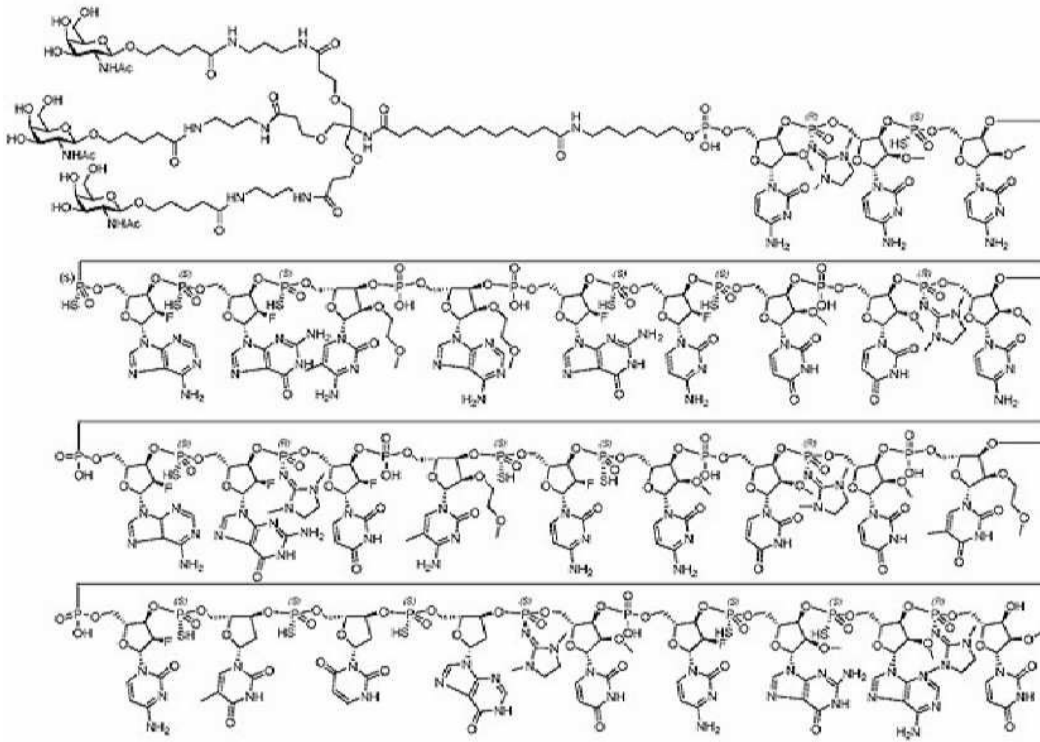
[0177] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 B-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물을 제공한다. 일부 구현예에서, WV-50498는 각각 독립적으로 화학식 B-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물로서 제공, 투여 또는 전달된다. 일부 구현예에서, WV-50498의 조성물은 각각 독립적으로 화학식 B-3 또는 이의 염의 구조를 갖는 하나 이상의 화합물을 포함한다.

[0178] 일부 구현예에서, 염은 제약상 허용가능한 염이다. 일부 구현예에서, 각각의 염은 독립적으로 제약상 허용가능한 염이다.



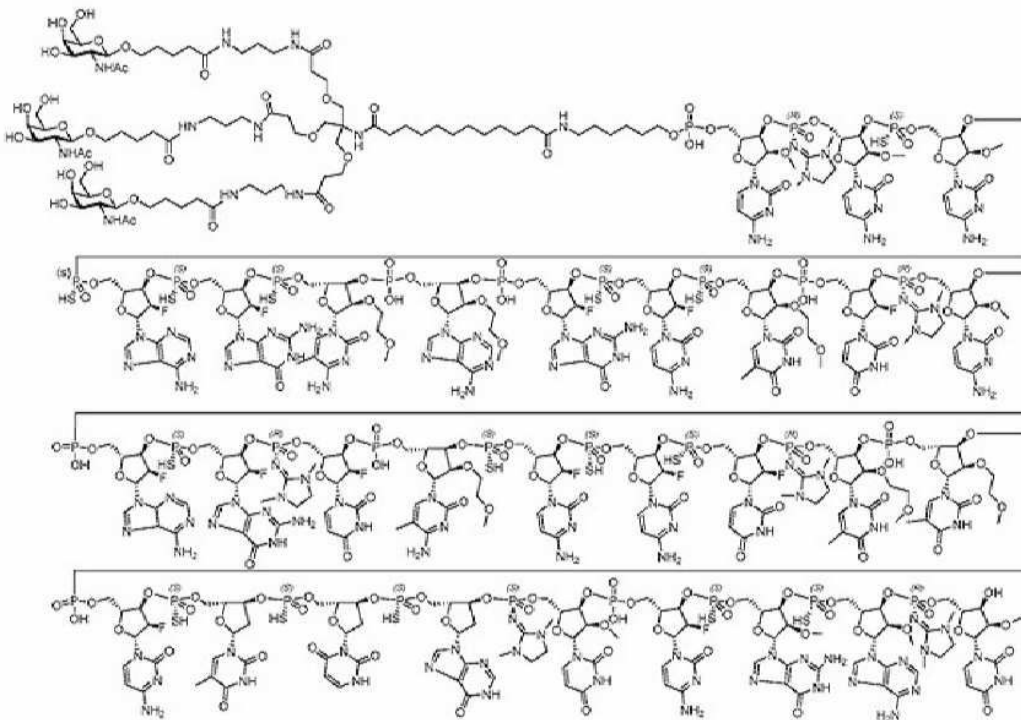
[0179]

[0180] A-1



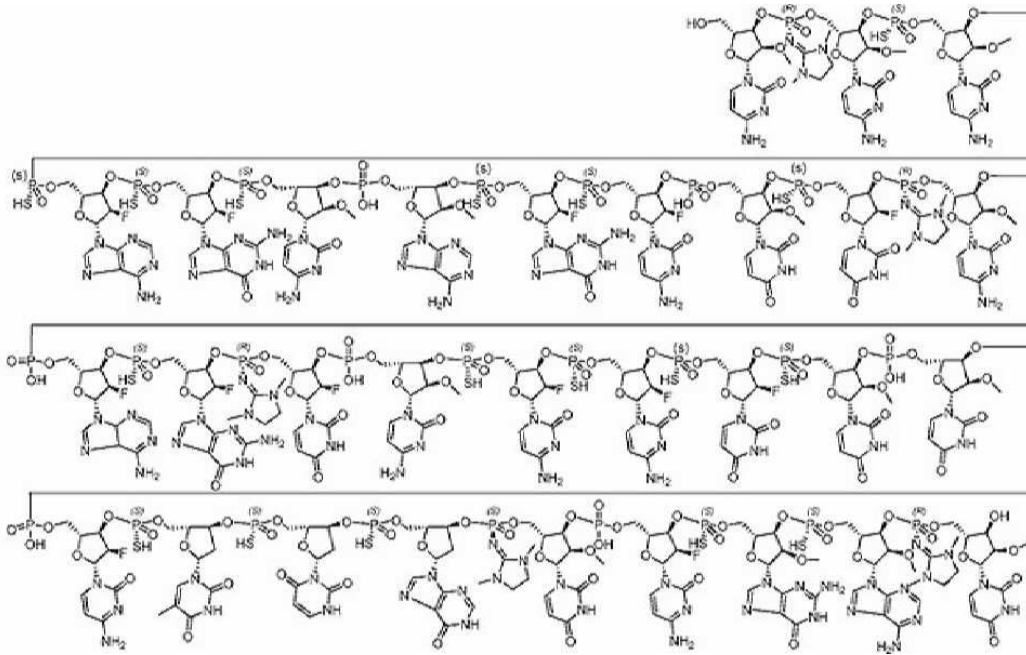
[0181]

[0182] A-2



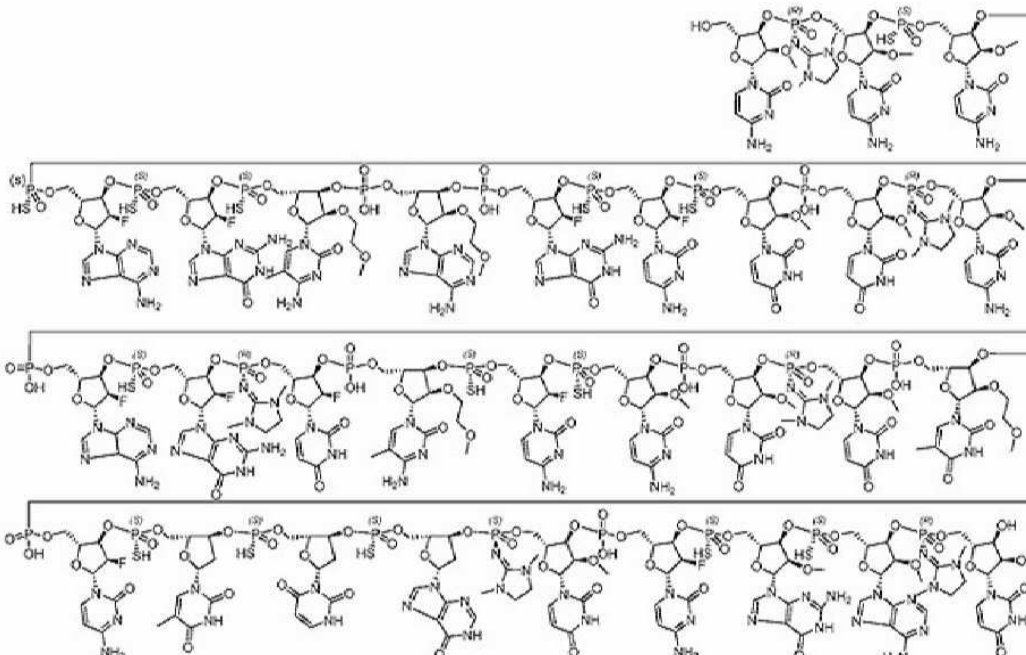
[0183]

[0184] A-3



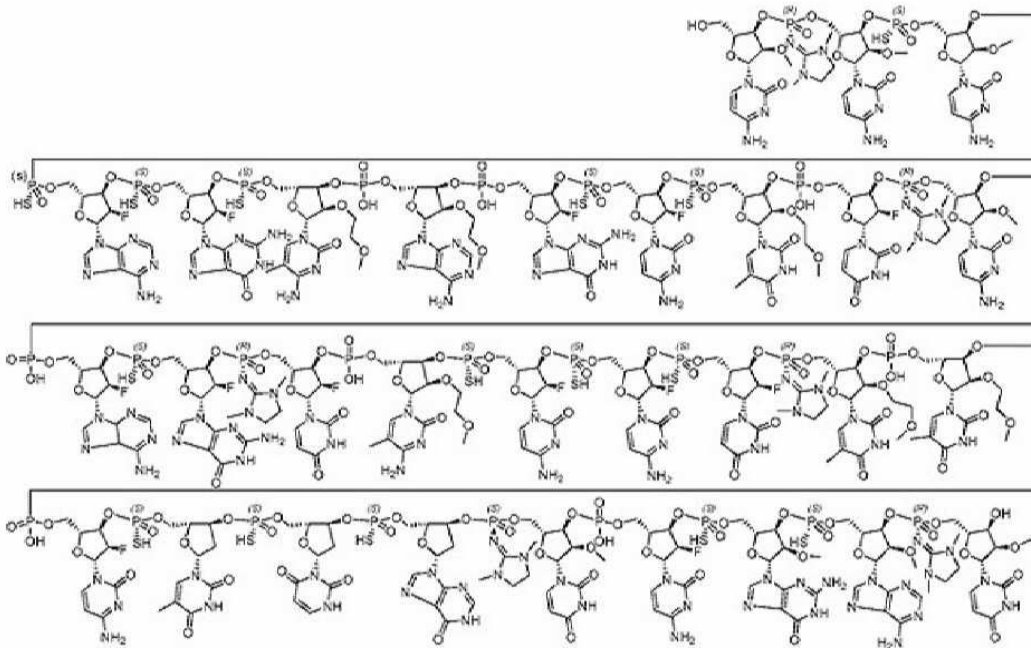
[0185]

[0186] B-1



[0187]

[0188] B-2



[0189]

[0190] B-3

[0191] 지그재그 선은 뉴클레오티드간 연결에서 3'의 산소와 인 사이의 연결을 나타낸다.

[0192] 화합물 및 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결, n001 연결 등과 같은 키랄 뉴클레오티드간 연결의 키랄 제어된 형성을 통해 본 발명에 따라 고순도로 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 화합물 또는 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>이다(DS는 약 85%~100%(예: 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수임). 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 90%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 91%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 92%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 93%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 94%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 96%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 98%이다. 일부 구현예에서, DS는 약 또는 적어도 약 99%이다. 일부 구현예에서, 부분입체순도는 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도의 곱으로서 결정된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)에 있는 2개의 뉴클레오티드를 연결하는 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도는 상기 2개의 뉴클레오티드를 연결하는 이량체의 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도로 표시되고, 이러한 이량체는 비견되는 조건들, 일부 경우에 동일한 합성 사이클 조건들을 사용하여 제조된다(예를 들어, 올리고뉴클레오티드 ...NxNy...에서 Nx와 Ny 사이의 연결의 경우, 이량체는 NxNy임).

[0193] 일부 구현예에서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적

으로 약 또는 적어도 약 98%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%이다.

[0194] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 화합물은 약 10%~100%(예를 들어, 약 10%~95%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 약 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는다. 일부 구현예에서 올리고뉴클레오티드는 약 50%~100%(예를 들어, 약 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 순도는 260 nM에서 분리 기술, 예를 들어 HPLC, UPLC 등의 UV 흔적의 면적(%)로 표시된다.

[0195] 올리고뉴클레오티드 조성물

[0196] 특히, 본 발명은 다양한 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 본원에 기재된 올리고뉴클레오티드의 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 조성물은 본 발명에 기재된 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 조성물은 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 조성물은 키랄 제어되지 않는다(입체무작위).

[0197] 천연 포스포이트 연결의 연결 인은 아키랄이다. 많은 변형 뉴클레오티드간 연결, 예를 들어 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결의 연결 인은 키랄이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 조성물의 제조 중에(예를 들어, 기존의 포스포아미다이트 올리고뉴클레오티드 합성에서), 키랄 연결 인의 배열은 의도적으로 설계 또는 제어되지 않아, 다양한 입체이성체의 복잡한 무작위 혼합물(부분입체이성체)인 비-키랄 제어(입체무작위) 올리고뉴클레오티드 조성물(실질적 라세미 체제)을 생성한다(n개의 키랄 뉴클레오티드간 연결(연결 인은 키랄임)을 갖는 올리고뉴클레오티드의 경우, 일반적으로  $2^n$ 개의 입체이성체(예를 들어, n이 10인 경우,  $2^{10} = 1,032$ ; n이 20인 경우,  $2^{20} = 1,048,576$ )). 이러한 입체이성체는 동일한 구성을 갖지만 연결 인의 입체 화학 패턴과 관련하여 상이하다.

[0198] 입체무작위 조성물 내의 입체이성체는 상이한 특성, 활성, 및/또는 독성을 가질 수 있어서, 특히 동일 구성의 올리고뉴클레오티드의 특정 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물과 비교하여 입체무작위 조성물에 의한 일관성 없는 치료 효과 및/또는 의도하지 않은 부작용을 초래할 수 있다.

[0199] 일부 구현예에서, 본 발명은 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물의 설계 및 제조 기술을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 예를 들어, 표 1의 올리고뉴클레오티드의, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 제어된/미리 결정된(입체무작위 조성물에서와 같이 무작위가 아님) 수준의 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 키랄 뉴클레오티드간 연결(키랄 제어 뉴클레오티드간 연결)에서 동일한 연결 인 입체화학을 공유한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 동일한 백본 키랄 중심 패턴(연결 인의 입체화학)을 공유한다. 일부 구현예에서, 백본 키랄 중심 패턴은 본 발명에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 구조적으로 동일하다.

[0200] 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공하며, 올리고뉴클레오티드는

[0201] 1) 공통 구성 및

- [0202] 2) 하나 이상(예를 들어, 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 이상)의 키랄 뉴클레오티드간 연결(키랄 제어 뉴클레오티드간 연결)에서 동일한 연결 인 입체화학을 공유하고,
- [0203] 조성물은 공통 구성의 올리고뉴클레오티드의 실질적 라세미 제제에 비해 복수의 올리고뉴클레오티드가 풍부하다.
- [0204] 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공하며, 복수의 올리고뉴클레오티드는
- [0205] 1) 공통 염기 서열 및
- [0206] 2) 하나 이상(예를 들어, 약 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 1~15, 1~10, 5~50, 5~40, 5~30, 5~25, 5~20, 5~15, 5~10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 이상)의 키랄 뉴클레오티드간 연결("키랄 제어 뉴클레오티드간 연결")에서 독립적으로 동일한 연결 인 입체화학을 공유하고,
- [0207] 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 연결 인의 입체화학적 순도는 독립적으로 80%~100%(예를 들어, 85~100%, 90~100%, 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%)이다.
- [0208] 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공하며, 올리고뉴클레오티드는
- [0209] 1) 공통 구성 및
- [0210] 2) 하나 이상(예를 들어, 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25개 이상)의 키랄 뉴클레오티드간 연결(키랄 제어 뉴클레오티드간 연결)에서 동일한 연결 인 입체화학을 공유하고,
- [0211] 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 연결 인의 입체화학적 순도는 독립적으로 80%~100%(예를 들어, 85~100%, 90~100%, 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%)이다.
- [0212] 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 핵염기 변형 및/또는 당 변형을 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 뉴클레오티드간 연결 변형을 공유한다(뉴클레오티드간 연결은 다양한 산, 염기, 및/또는 염 형태일 수 있음). 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 핵염기 변형, 당 변형, 및 뉴클레오티드간 연결 변형이 있는 경우 이를 공유한다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 형태, 예를 들어 산 형태, 염기 형태, 또는 특히 염 형태(예를 들어, 제약상 허용가능한 염 형태, 예를 들어 염 형태)이다. 일부 구현예에서, 조성물 내의 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 형태, 예를 들어 산 형태, 염기 형태, 및/또는 하나 이상의 염 형태로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 수용액에서(예를 들어, PBS와 같은 완충액에 용해된 경우), 음이온과 양이온이 분리될 수 있다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 동일한 구성을 갖는다. 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드는 구조적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공하고, 올리고뉴클레오티드는 공통 구성을 가지며, 하나 이상(예를 들어, 1~60, 1~50, 1~40, 1~30, 1~25, 1~20, 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, 60개 이상)의 키랄 뉴클레오티드간 연결(키랄 제어 뉴클레오티드간 연결)에서 동일한 연결 인 입체화학을 공유하고, 조성물은 공통 구성의 올리고뉴클레오티드의 실질적 라세미 제제에 비해 복수의 올리고뉴클레오티드가 풍부하다.
- [0213] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 개수는 적어도 3개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 4개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 5개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 6개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 7개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 8개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 9개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 10개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 11개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 12개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 13개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 14개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 15개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 20개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도 25개이다. 일부 구현예에서, 개수는 적어도

30개이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이다.

[0214] 일부 구현예에서, 모든 뉴클레오티드간 연결의 적어도 5%~100%(예를 들어, 약 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)는 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결의 적어도 5%~100%(예를 들어, 약 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)는 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 모든 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결의 적어도 5%~100%(예를 들어, 약 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)는 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어된다.

[0215] 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 복수의 각각의 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 복수의 각각의 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 제약상 허용가능한 염이다. 일부 구현예에서, 이러한 조성물은 특정 올리고뉴클레오티드의 실질적 라세미 체제에 비해 풍부하다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 복수의 올리고뉴클레오티드는 특정 올리고뉴클레오티드의 염기 서열인 공통 서열을 공유한다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드의 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%, 40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염의 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%, 40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 10%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 20%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 30%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 40%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 5~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 10~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 20~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~70%이다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드는 본원에 예시된 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 표 1

또는 다른 표의 올리고뉴클레오티드이다.

[0216] 일부 구현예에서, 실질적 라세미 제제에 비해 풍부함은, 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 복수의 공통 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 복수의 공통 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%, 40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%가 복수의 올리고뉴클레오티드인 것이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 10%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 20%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 30%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 40%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 5~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 10~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 20~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~70%이다.

[0217] 일부 구현예에서, 복수의 공통 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%, 40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 10%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 20%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 30%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 40%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 5~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 10~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 20~100%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 30~70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 40~70%이다.

[0218] 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 수준은 제어된다. 대조적으로, 비-키랄 제어(또는 입체무작위, 라세미) 올리고뉴클레오티드 조성물(또는 제제)에서, 올리고뉴클레오티드의 수준은 무작위이고 제어되지 않는다. 일부 구현예에서, 실질적 라세미 제제에 비해 풍부함은 본원에 기재된 수준이다.

[0219] 일부 구현예에서, 백분율로서의 수준(예를 들어, 제어된 수준, 미리 결정된 수준, 풍부함)은  $(DS)^{nc}$  이상이고,  $DS$ (개별 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도)는 90%~100%이고,  $nc$ 는 본 발명에 기재된 바와 같은 키랄 연결 인의 수(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상)이다. 일부 구현예에서, 백분율로서의 수준(예를 들어, 제어된 수준, 미리 결정된 수준, 풍부함)은  $(DS)^{nc}$  이상이고,  $DS$ (개별 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도)는 90%~100%이고,  $nc$ 는 본 발명에 기재된 바와 같은 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 수(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상)이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어되고,  $nc$ 는 키랄 뉴클레오티드간 연결의 수이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 90% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 91% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 92% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 93% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 94% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 95% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 96% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 97% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 98% 이상이다. 일부 구현예에서,  $DS$ 는 99% 이상이다. 일부 구현예에서, 수준(예를 들어, 제어된 수준, 미리 결정된 수준, 풍부함)은 동일한 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 백분율이고, 백분율은  $(DS)^{nc}$  이

상이다. 예를 들어, DS가 99%이고 nc가 10인 경우, 백분율은 90% 이상이다( $(99\%)^{10} \approx 0.90 = 90\%$ ). 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 입체무작위 체제에서 백분율은 일반적으로 약  $1/2^{nc}$ 이다(nc가 10일 때, 백분율은 약  $1/2^{10} \approx 0.001 = 0.1\%$ ). 일부 구현예에서, 풍부함(예를 들어, 실질적 라세미 체제에 비해), 수준 등은 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 복수의 공통 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드, 또는 복수의 공통 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약  $(DS)^{nc}$ 가 복수의 올리고뉴클레오티드라는 것이다. 일부 구현예에서, 이는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드 중이다. 일부 구현예에서, 이는 복수의 공통 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드 중이다. 일부 구현예에서, 이는 복수의 공통 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드 중이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 다양한 형태(예: 다양한 염 형태)는 동일한 구성을 갖는 것으로 적절하게 간주될 수 있다.

[0220] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 연결 인의 부분입체이성체 과잉(d.e)이 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 제어 키랄 뉴클레오티드간 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 키랄 연결 인을 포함하는 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결의 약 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 독립적으로 이러한 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이다. 일부 구현예에서, 약 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%의 포스포리티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 이러한 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포리티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 이러한 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이다. 일부 구현예에서, 키랄 연결 인을 포함하는 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 이러한 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 80%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 85%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 90%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 96%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, d.e.는 약 또는 적어도 약 98%이다.

[0221] 일부 구현예에서, 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도 수준은 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도의 곱으로서 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도 수준은 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도의 곱으로서 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드(또는 핵산)에 있는 2개의 뉴클레오시드를 연결하는 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도는 상기 2개의 뉴클레오시드를 연결하는 이량체의 뉴클레오티드간 연결의 부분입체순도로 표시되고, 이러한 이량체는 비견되는 조건들, 일부 경우에 동일한 합성 사이클 조건들을 사용하여 제조된다(예를 들어, 올리고뉴클레오티드  $\cdots N_x N_y \cdots$ 에서  $N_x$ 와  $N_y$  사이의 연결의 경우, 이량체는  $N_x N_y$ 임).

[0222] 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오티드를 2개 이상 포함하고, 각각의 복수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같은(예를 들어, 다양한 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물의) 복수의 올리고뉴클레오티드이다. 예를 들어 일부 구현예에서, 각각의 복수는 독립적으로 공통 염기 서열, 및 하나 이상의 키랄 뉴클레오티드간 연결에서 동일한 연결 인 입체화학을 공유하고, 각각의 복수는 독립적으로 복수의 입체무작위 체제에 비해 풍부하거나 각각의 복수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같은 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 복수 또는 각각의 복수는 독립적으로 상이한 아데노신을 표적화한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 복수 또는 각각의 복수는 독립적으로 동일한하거나 상이한 핵산의 상이한 전사체를 표적화한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 복수 또는 각각의 복수는 독립적으로 상이한 유전자의 전사체를 표적화한다. 특히, 이러한 조성물은 2개 이상의 표적을 일부 구현예에서 동시에 그리고 동일한 시스템에서 표적화하는 데 사용될 수 있다.

[0223] 일부 구현예에서, 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결은 키랄 제어되고, 조성물은 완전히 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다. 일부 구현예에서, 모든 키랄 뉴클레오티드간 연결이 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 아니며, 조성물은 부분적으로 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다.

[0224] 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물은 키랄 순수(또는 입체순수, 입체화학적 순수) 올리고뉴클레오티드 조성물이고, 올리고뉴클레오티드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 올리고뉴클레오티드들은 동일하고[각각의 키랄 연결 인을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 요소가 독립적으로 정의(입체정의)됨을 포함], 조성물은 다른 입체이성체를 포함하지 않는다. 올리고뉴클레오티드 입체이성체의 키랄

순수(또는 입체순수, 입체화학적 순수) 올리고뉴클레오타이드 조성물은 다른 입체이성체를 함유하지 않는다(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 하나 이상의 의도하지 않은 입체이성체가 불순물로서 존재할 수 있음).

[0225] 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물에 비해 많은 이점을 나타낼 수 있다. 특히, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 올리고뉴클레오타이드 구조와 관련하여 상응하는 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물보다 더 균일하다. 입체화학을 제어함으로써, 개별 입체이성체의 조성물을 제조하여 평가할 수 있어서, 원하는 특성 및/또는 활성을 갖는 입체이성체의 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물이 개발될 수 있다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 예를 들어 상응하는 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물에 비해 더 우수한 전달, 안정성, 제거, 활성, 선택성, 및/또는 독성 프로파일을 제공한다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 더 우수한 효능, 더 적은 부작용, 및/또는 더 편리하고 효과적인 투여 요법을 제공한다. 특히, 본원에 기재된 다른 구조적 특징, 예를 들어 핵염기, 당, 뉴클레오타이드간 연결의 변형 등과 임의로 조합된, 본원에 기재된 바와 같은 백본 키랄 중심 패턴은 고효율의 지시된 아데노신 편집을 제공하기 위해 사용될 수 있다.

[0226] 일부 구현예에서, 본 발명은 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 동일한 구성의 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 하나 이상의 키랄 뉴클레오타이드간 연결을 갖는다. 일부 구현예에서, 예를 들어 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오타이드는 표 1로부터 선택되는 복수의 올리고뉴클레오타이드(및/또는 이의 하나 이상의 다양한 염 형태)이고, 올리고뉴클레오타이드는 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결에 적어도 하나의 Rp 또는 Sp 연결 인을 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오타이드는 표 1로부터 선택되는 복수의 올리고뉴클레오타이드(및/또는 이의 하나 이상의 다양한 염 형태)이고, 올리고뉴클레오타이드에 있는 각각의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 키랄 제어된다(각각의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 Rp 또는 Sp이다). 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 조성물은, 단일 올리고뉴클레오타이드가 아닌 조성물 내의 올리고뉴클레오타이드가 단일 올리고뉴클레오타이드의 제조 공정에서, 일부 경우에는 특정 정제 절차 후에, 발생하는 불순물이라는 점에서 단일 올리고뉴클레오타이드의 실질적으로 순수한 제제이다.

[0227] 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 상응하는 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물에 비해 증가된 활성 및/또는 안정성, 증가된 전달, 및/또는 보체, TLR9 활성화 등과 같은 역효과를 유도하는 능력의 감소를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 입체무작위(비-키랄 제어) 올리고뉴클레오타이드 조성물은 상응하는 복수의 올리고뉴클레오타이드가 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결을 함유하지 않지만 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물이 그 외에는 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물과 동일하다는 점에서 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물과 상이하다.

[0228] 일부 구현예에서, 본 발명은 유전자(예를 들어, SERPINA1) 또는 이의 유전자 산물의 수준, 활성 또는 발현을 조절할 수 있는 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물에 관한 것이다. 기준 조건(예를 들어, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 및/또는 조성물의 부재, 및/또는 기준 올리고뉴클레오타이드 및/또는 올리고뉴클레오타이드 조성물(예를 들어, 염기 서열이 동일하지만 변형이 상이한 올리고뉴클레오타이드, 비견되는 구조(예: 염기 서열, 변형 등)이지만 입체화학 제어가 결여된 올리고뉴클레오타이드의 입체무작위 조성물 등)의 존재)에 비해, 일부 구현예에서, 유전자 또는 이의 유전자 산물의 수준, 활성 또는 발현은 증가되고(예를 들어, A에서 I로의 변환(예를 들어, SERPINA1에서 1024 G>A)을 통한 G에서 A로의 돌연변이 교정, 단백질 번역 수준의 증가, 특정 단백질 동형의 생성 증가, 특정 스플라이싱 산물 및 이에 의해 암호화된 단백질의 수준을 증가시키기 위한 스플라이싱의 조절 등), 일부 구현예에서, 유전자 또는 이의 유전자 산물의 수준, 활성 또는 발현은 감소된다(예를 들어, A에서 I로의 변환을 통한 종결 코돈의 생성 및/또는 코돈 변경(예를 들어, 돌연변이 A1AT에서 E342K 교정), 단백질 번역 수준의 감소, 특정 단백질 동형의 생성 감소, 특정 스플라이싱 산물 및 이에 의해 암호화된 단백질의 수준을 감소시키기 위한 스플라이싱의 조절 등).

[0229] 일부 구현예에서, 제공된 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물이다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 키랄 순수(또는 "입체화학적 순수") 올리고뉴클레오타이드 조성물이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표 1의 올리고뉴클레오타이드의 키랄 순수 올리고뉴클레오타이드 조성물을 제공하며, 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 키랄 제어된다(예를 들어, Rp 또는 Sp는 "입체화학/연결"에서 X가 아닌 R 또는 S로부터 결정될 수 있다). 당업자가 이해할 수 있는 바와 같이, 화학적 선택성은 완결성(절대적 100%)을 달성하는 경우가 거의 없다. 일부 구현예에서, 키랄 순수 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 복수

의 올리고뉴클레오티드는 구조적으로 동일하고 전부 동일한 구조(동일한 입체이성체 형태; 올리고뉴클레오티드와 관련하여, 올리고뉴클레오티드에는 일반적으로 다중 키랄 중심이 존재하기 때문에 일반적으로 동일한 부분입체이성체 형태)를 가지며, 키랄 순수 올리고뉴클레오티드 조성물은 임의의 다른 입체이성체(올리고뉴클레오티드와 관련하여, 올리고뉴클레오티드에는 일반적으로 다중 키랄 중심이 존재하기 때문에 일반적으로 부분입체이성체; 예를 들어, 입체선택적 제조에 의해 달성가능한 정도까지)를 포함하지 않는다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 입체무작위(또는 "라세미", "비-키랄 제어") 올리고뉴클레오티드 조성물은 많은 입체이성체의 무작위 혼합물이다(예를 들어,  $2^n$ 개의 부분입체이성체( $n$ 은 다른 키랄 중심들(예를 들어, 당에서의 탄소 키랄 중심들)이 키랄 제어되어 각각 독립적으로 하나의 배열로 존재하게 되고 키랄 연결 인 중심만이 키랄 제어되지 않는 올리고뉴클레오티드에 대한 키랄 연결 인의 수임)).

[0230] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 고체 지지체에 연결된다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 올리고뉴클레오티드 합성을 위한 지지체이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 유리를 포함한다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 CPG(제어된 기공 유리)이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 중합체이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 폴리스티렌이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 고도로 가교결합된 폴리스티렌(HCP)이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 제어 공극 유리(CPG)와 고도 가교 폴리스티렌(HCP)의 혼성 지지체이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 금속 폼이다. 일부 구현예에서, 고체 지지체는 수지이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 고체 지지체로부터 절단된다.

[0231] 일부 구현예에서, 키랄 연결 인 중심을 제외한 올리고뉴클레오티드의 모든 다른 키랄 중심이 입체정의된(예를 들어, 당의 탄소 키랄 중심, 이는 예를 들어 올리고뉴클레오티드 합성을 위한 포스포아미다이트에서 정의됨) 많은 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물의 순도, 특히 입체화학적 순도, 특히 부분입체이성체 순도는, 키랄 뉴클레오티드간 연결을 형성할 때 커플링 단계에서 키랄 연결 인에서의 입체선택성(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드가 하나 초과인 키랄 중심을 포함하는 올리고뉴클레오티드 합성의 많은 경우 부분입체선택성)에 의해 제어될 수 있다. 일부 구현예에서, 커플링 단계는 연결 인에서 60%의 입체선택성(다른 키랄 중심이 있는 경우 부분입체선택성)을 갖는다. 이러한 커플링 단계 후, 형성된 새로운 뉴클레오티드간 연결은 60%의 입체화학적 순도(올리고뉴클레오티드의 경우, 다른 키랄 중심의 존재를 고려할 때 일반적으로 부분입체이성체 순도)를 갖는 것으로 언급될 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 커플링 단계는 독립적으로 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%의 입체선택성을 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 일반적으로 적어도 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99.5% 또는 거의 100%(일부 구현예에서, 적어도 85%; 일부 구현예에서, 적어도 87%; 일부 구현예에서, 적어도 90%; 일부 구현예에서, 적어도 95%; 일부 구현예에서, 적어도 96%; 일부 구현예에서, 적어도 97%; 일부 구현예에서, 적어도 98%; 일부 구현예에서, 적어도 99%)의 입체선택성으로 형성된다. 일부 구현예에서, 입체선택성은 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 입체선택성은 적어도 87%이다. 일부 구현예에서, 입체선택성은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 각각의 커플링 단계는 독립적으로 거의 100%의 입체선택성을 갖는다.

[0232] 일부 구현예에서, 조성물 내의 키랄 중심, 예를 들어 키랄 연결 인의 입체순도는 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%이다. 일부 구현예에서, 입체순도는 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 입체순도는 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 입체순도는 적어도 87%이다. 일부 구현예에서, 입체순도는 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 입체순도는 거의 100%이다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 키랄 연결 인에서 적어도 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99.5% 또는 거의 100%(일부 구현예에서, 적어도 85%; 일부 구현예에서, 적어도 87%; 일부 구현예에서, 적어도 90%; 일부 구현예에서, 적어도 95%; 일부 구현예에서, 적어도 96%; 일부 구현예에서, 적어도 97%; 일부 구현예에서, 적어도 98%; 일부 구현예에서, 적어도 99%)의 입체화학적 순도(다중 키랄 중심을 갖는 올리고뉴클레오티드의 경우 일반적으로 부분입체이성체 순도)를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 적어도 90%의 입체화학적 순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 대부분은 독립적으로 적어도 90%의 입체화학적 순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 적어도 90%의 입체화학적 순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 각각의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 키랄 제어된다.

[0233] 입체선택성 및 입체순도는 다양한 기술에 의해 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 입체선택성 및/또는 입체순도는 조성물이 분석 방법(예: NMR, HPLC 등)에 의해 분석될 때 거의 모든 검출가능한 입체이성체가 의도된 입체화학을 갖는다는 점에서 거의 100%이다.

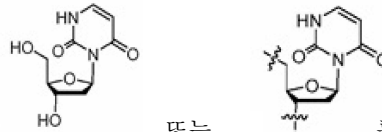
- [0234] 일부 구현예에서, 단량체(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 많은 구현예에서 올리고뉴클레오타이드 합성을 위한 포스포아미다이트) 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 커플링은 독립적으로 약 60%, 70%, 80%, 85%, 또는 90% 미만의 입체선택성[올리고뉴클레오타이드 합성의 경우, 일반적으로, 형성된 연결 인 키랄 중심(들)에 대한 부분입체선택성]을 갖는다.
- [0235] 일부 구현예에서, 입체무작위(또는 라세미) 제제(또는 입체무작위/비-키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물) 중 올리고뉴클레오타이드의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개의 키랄 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 뉴클레오타이드간 연결(들)의 키랄 연결 인에 대해 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 또는 85% 미만의 입체화학적 순도(다중 키랄 중심을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 경우 일반적으로 부분입체이성체 순도)를 갖는다. 일부 구현예에서, 입체화학적 순도(입체순도)는 약 60% 미만이다. 일부 구현예에서, 입체화학적 순도(입체순도)는 약 65% 미만이다. 일부 구현예에서, 입체화학적 순도(입체순도)는 약 70% 미만이다. 일부 구현예에서, 입체화학적 순도(입체순도)는 약 75% 미만이다. 일부 구현예에서, 입체화학적 순도(입체순도)는 약 80% 미만이다.
- [0236] 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, 키랄 보조체 등)은 다중 키랄 요소(예를 들어, 다중 탄소 및/또는 인(예를 들어, 키랄 뉴클레오타이드간 연결의 연결 인) 키랄 중심)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 화합물(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9개 이상의 키랄 요소는 각각 독립적으로 본원에 기재된 바와 같은 부분입체이성체 순도를 갖는다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 86%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 87%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 88%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 89%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 91%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 92%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 93%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 94%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 96%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 97%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 98%이다. 일부 구현예에서, 부분입체이성체 순도는 적어도 99%이다.
- [0237] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 일부 구현예에서, 커플링의 부분입체선택성 또는 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 순도는 이량체 형성의 부분입체선택성 또는 동일하거나 비견되는 조건에서 제조된 이량체의 부분입체이성체 순도를 통해 평가될 수 있고, 이러한 이량체는 동일한 5'- 및 3'-뉴클레오시드 및 뉴클레오타이드간 연결을 갖는다.
- [0238] 다양한 기술이 키랄 요소의 입체화학(예를 들어, 키랄 연결 인의 배열) 및/또는 백본 키랄 중심 패턴의 식별 또는 확인, 및/또는 입체선택성(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 합성에서 커플링 단계의 부분입체선택성) 및/또는 입체화학적 순도(예를 들어, 뉴클레오타이드간 연결, 화합물(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드) 등의 부분입체이성체 순도)의 평가에 활용될 수 있다. 예시적인 기술은 NMR(예를 들어, 1D(1차원) 및/또는 2D(2차원)  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  HETCOR(이핵 상관 분광법(heteronuclear correlation spectroscopy))), HPLC, RP-HPLC, 질량 분석법, LC-MS, 및 입체특이성 뉴클레아제 등에 의한 뉴클레오타이드간 연결의 절단(이는 개별적으로 또는 조합하여 사용될 수 있음)을 포함한다. 유용한 뉴클레아제의 예는 벤조나제, 미세구균 뉴클레아제, 및 svPDE(뱀독 포스포디에스테라제)(이들은 Rp 연결 인을 갖는 특정 뉴클레오타이드간 연결(예를 들어, Rp 포스포로티오에이트 연결)에 특이적임); 및 뉴클레아제 P1, 녹두 뉴클레아제, 및 뉴클레아제 S1(이들은 Sp 연결 인을 갖는 뉴클레오타이드간 연결(예를 들어, Sp 포스포로티오에이트 연결)에 특이적임)을 포함한다. 임의의 특정 이론에 구애되지 않음이 없이, 본 발명은 적어도 일부 경우에 특정 뉴클레아제에 의한 올리고뉴클레오타이드의 절단이 구조적 요소, 예를 들어 화학적 변형(예를 들어, 당의 2'-변형), 염기 서열, 또는 입체화학적 맥락에 의해 영향을 받을 수 있음에 주목한다. 예를 들어, 일부 경우에, Rp 연결 인을 갖는 뉴클레오타이드간 연결에 특이적인 벤조나제 및 미세구균 뉴클레아제는 Sp 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의해 플랭킹된 격리된 Rp 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 절단할 수 없었음이 관찰된다.
- [0239] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물은, 동일한 구성이지만 입체이성체가 아닌 조성물 내의 올리고뉴클레오타이드가 상기 올리고뉴클레오타이드의 제조 공정에서, 일부 경우에는 특정 정제 절차 후에, 발생하는 불순물이라는 점에서 단일 올리고뉴클레오타이드 입체이성체의 실질적으로 순수한 제제이다.

[0240] 편집 영역

[0241] 일부 구현예에서, 본 발명은 편집 영역, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'을 포함하거나 이로 구성된 영역을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 편집 영역은 (전형적으로, 최대 상보성을 위해 올리고뉴클레오티드의 염기 서열이 표적 서열과 정렬되고/되거나 올리고뉴클레오티드가 표적 핵산과 혼성화할 때) 표적 아데노신의 반대편 뉴클레오티드 및 이의 인접 뉴클레오티드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 편집 영역은 3개의 핵염기이거나 이를 포함하며, 여기서 중간의 핵염기는 표적 아데노신의 반대편 뉴클레오티드이다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신의 반대편 뉴클레오티드는 본원에 기재된 바와 같이 N<sub>0</sub>이다.

[0242] 일부 구현예에서, 표적 아데노신의 반대편 뉴클레오티드의 핵염기(BA<sub>0</sub>로 지칭될 수 있음)는 b008U이다. 일부 구현예에서, N<sub>0</sub>의 당은 천연 DNA 당이다. 예를 들어, 표 1의 다양한 올리고뉴클레오티드 참고. 일부 구현예에서, BA<sub>0</sub>로서의 b008U는 개선된 아데노신 편집 효율을 제공할 수 있음이 관찰되었다. 일부 구현예에서, 기준 핵염기는 U이다. 일부 구현예에서, 기준 핵염기는 T이다. 일부 구현예에서, 기준 핵염기는 C이다.

[0243] 일부 구현예에서, 표적 아데노신의 반대편 뉴클레오티드, 예를 들어, N<sub>0</sub>는 b008U(뉴클레오티드에 사용될 때 달

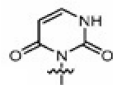


리 명시되지 않는 한 올리고뉴클레오티드 사슬 내의 또는 를 지칭함)이다. 예를 들어, 표 1의 다양한 올리고뉴클레오티드 참고. 일부 구현예에서, 예를 들어 표적 아데노신의 반대편 위치에서 dC와 비교할 때 b008U가 개선된 편집을 제공할 수 있음이 관찰되었다.

[0244] 일부 구현예에서, -1번 위치에서 구아닌을 하이포잔틴으로 대체하는 것(예를 들어, dG를 dI로 대체하는 것)은 개선된 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, N<sub>1</sub>, N<sub>0</sub>, 및 N<sub>-1</sub> 각각의 당은 독립적으로 천연 DNA 당이다. 예를 들어, 표 1의 다양한 올리고뉴클레오티드 참고.

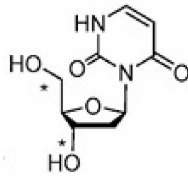
[0245] 핵염기

[0246] 올리고뉴클레오티드에서 다양한 핵염기가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 핵염기는 천연 핵염기이며, 가장 일반적으로 발생하는 것은 A, T, C, G, 및 U이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 A, T, C, G, 또는 U가 아니라는 점에서 변형 핵염기이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 임의로 치환된 A, T, C, G, 또는 U, 또는 A, T, C, G, 또는 U의 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 임의로 치환된 A, T, C, G, 또는 U, 예를 들어 5mC, 5-하이드록시메틸 C 등이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 A이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 T이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 C이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 G이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 U이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 5mC이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 치환된 A, T, C, G 또는 U이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 A, T, C, G, 또는 U의 치환된 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 변형



염기이다. 일부 구현예에서, 염기는 b008U( )이다. 일부 구현예에서, 염기는 임의로 치환된 b008U이다. 일부 구현예에서, 염기는 임의로 보호된 b008U이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 하이포잔틴이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 임의로 치환된 하이포잔틴 또는 이의 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 핵염기는 임의로 보호된 하이포잔틴 또는 이의 호변이성체이다. 일부 구현예에서, 치환은 올리고뉴클레오티드 합성 동안 원하지 않는 반응을 최소화하기 위해 핵염기의 특정 작용기를 보호한다. 올리고뉴클레오티드 합성에서 핵염기 보호에 적합한 기술은 당업계에 널리 알려져 있으며 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 핵염기는 올리고뉴클레오티드의 특성 및/또는 활성을 개선시킨다. 예를 들어 많은 경우에, C 대신 5mC를 사용하여 특성의 바람직하지 않은 생물학적 효과(예: 면역 반응)를 조절할 수 있다. 일부 구현예에서, 서열 동일성을 결정할 때, 동일한 수소 결합 패턴을 갖는 치환된 핵염기는 비치환 핵염기와 동일하게 처리되며, 예를 들어 5mC는 C와 동일하게 처리될 수 있다[예를 들어, C 대신 5mC를 갖는 올리고뉴클레오티드(예를 들어, AT5mCG)는 상응하는 위치(들)에 C를 갖는 올리고뉴클레오티드(예를 들어, ATCG)와 동일한 염기 서열을 갖는 것으로 간주된다].

[0247] 일부 구현예에서, 핵염기는 변형 염기이다.



[0248] 일부 구현예에서, 뉴클레오시드는 b008U( ) 또는 이의 염이고, 여기서 "\*"는 다양한 올리고뉴클레오티드에서 뉴클레오티드간 연결에 대한 연결을 나타낸다.

[0249] 특정 유용한 핵염기, 뉴클레오시드 등은 WO 2021/071858 및 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전문은 본원에 참고로 포함된다.

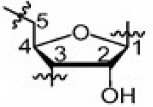
[0250] 당

[0251] 변형 당을 비롯한 다양한 당이 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드에 혼입되는 경우 개선된 특성 및/또는 활성을 제공할 수 있는 당 변형 및 이의 패턴(임의로 다른 구조적 요소(예를 들어, 뉴클레오티드간 연결 변형 및 이의 패턴, 이의 백본 키랄 중심 패턴 등)와 조합됨)을 제공한다.

[0252] 가장 흔한 자연 발생적 뉴클레오시드는 핵염기 아데노신(A), 시토신(C), 구아닌(G), 티민(T), 또는 우라실(U)에 연결된 리보스 당(예를 들어, RNA에서) 또는 데옥시리보스 당(예를 들어, DNA에서)을 포함한다. 일부 구현예에서, 당, 예를 들어 (달리 언급하지 않는 한) 표 1의 많은 올리고뉴클레오티드에 있는 다양한 당은



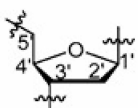
의 구조를 갖는 천연 DNA 당(DNA 핵산 또는 올리고뉴클레오티드에서)이고, 핵염기는 1' 위치에 부착되고, 3' 및 5' 위치는 뉴클레오티드간 연결에 연결된다(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 있는 경우, 5' 위치는 5'-말단기(예를 들어, -OH)에 연결될 수 있고, 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에 있는 경우, 3' 위치는 3'-말단기(예를 들어, -OH)에 연결될 수 있음). 일부 구현예에서, 당은



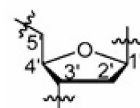
의 구조를 갖는 천연 RNA 당(RNA 핵산 또는 올리고뉴클레오티드에서)이고, 핵염기는 1' 위치에 부착되고, 3' 및 5' 위치는 뉴클레오티드간 연결에 연결된다(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드의 5'-말단에 있는 경우, 5' 위치는 5'-말단기(예를 들어, -OH)에 연결될 수 있고, 올리고뉴클레오티드의 3'-말단에 있는 경우, 3' 위치는 3'-말단기(예를 들어, -OH)에 연결될 수 있음). 일부 구현예에서, 당은 천연 DNA 당 또는 천연 RNA 당이 아니라는 점에서 변형 당이다. 특히, 변형 당은 개선된 안정성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 당을 사용하여 하나 이상의 혼성화 특성을 변경 및/또는 최적화할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 당을 사용하여 표적 핵산 인식을 변경 및/또는 최적화할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 당을 사용하여 Tm을 최적화할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형 당을 사용하여 올리고뉴클레오티드 활성을 개선할 수 있다.

[0253] 무엇보다도, 본 발명은 천연 DNA 당, 다양한 변형 당 등과 같은 다양한 비-천연 RNA 당이 본 발명에 따라 이용될 수 있음을 입증한다. 예를 들어, 표 1의 올리고뉴클레오티드는 천연 DNA 당, 2'-F 변형 당, 2'-OMe 변형 당 및 일부 경우에는 2'-MOE 변형 당을 포함한다. 무엇보다도, 본 발명은 표 1에 예시된 것과 같은 설계된 올리고뉴클레오티드가 짧은 길이 및 상대적으로 낮은 수준의 2'-F 변형 당(예를 들어, 모든 당의 약 50% 이하, 약 2'-OR 변형 당의 수준 이하(여기서 R은 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 지방족임) 및/또는 다수(예를 들어, 약 5개 이상)의 연속적인 2'-F 변형 당이 없음)으로 높은 편집 효율성을 제공할 수 있음을 보여준다.

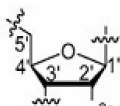
[0254] 일부 구현예에서, 당은 임의로 치환된 천연 DNA 또는 RNA 당이다. 일부 구현예에서, 당은 임의로 치환된



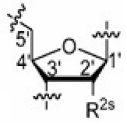
이다. 일부 구현예에서, 2' 위치는 임의로 치환된다. 일부 구현예에서, 당은



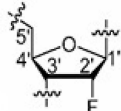
이다. 일



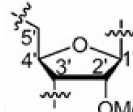
부 구현예에서, 2'-변형 당은 R<sup>2s</sup>의 구조를 가지며, R<sup>2s</sup>는 2'-변형이다. 일부 구현예에서, 당은



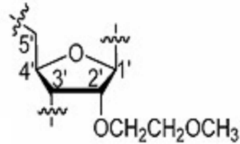
의 구조를 가지며,  $R^{2s}$ 는 -H, 할로젠, 또는 -OR이다(R은 임의로 치환된  $C_{1-6}$  지방족임). 일부 구현예에서,  $R^{2s}$ 는 -H이다. 일부 구현예에서,  $R^{2s}$ 는 -F이다. 일부 구현예에서,  $R^{2s}$ 는 -OMe이다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 mA, mT, mC, m5mC, mG, mU 등이고,  $R^{2s}$ 는 -OMe이다. 일부 구현예에서,  $R^{2s}$ 는 -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe이다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오시드는 Aeo, Teo, Ceo, m5Ceo, Geo, Ueo 등이고,  $R^{2s}$ 는 -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe이다. 일부 구현예에서,  $R^{2s}$ 는 -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 (예를 들어, fA, fT, fC, f5mC, fG,



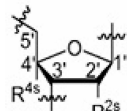
fU 등에서의와 같이) 의 구조를 갖는 2'-F 변형 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드



는 (예를 들어, mA, mT, mC, m5mC, mG, mU 등에서의와 같이) 의 구조를 갖는 2'-OMe 변형 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 (예를 들어, Aeo, Teo, Ceo, m5Ceo, Geo, Ueo 등에서의와 같이)



의 구조를 갖는 2'-MOE 변형 당을 포함한다.



[0255] 일부 구현예에서, 당은  $R^{2s}$ 와  $R^{4s}$ 의 구조를 가지며,  $R^{2s}$ 와  $R^{4s}$ 는 함께 -L<sup>s</sup>-를 형성하고, L<sup>s</sup>는 공유 결합 또는 임의로 치환된 2가  $C_{1-6}$  지방족 또는 1~4개의 헤테로원자를 갖는 헤테로지방족이다. 일부 구현예에서, 각각의 헤테로원자는 독립적으로 질소, 산소, 또는 황으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, L<sup>s</sup>는 임의로 치환된 C2-O-CH<sub>2</sub>-C4이다. 일부 구현예에서, L<sup>s</sup>는 C2-O-CH<sub>2</sub>-C4이다. 일부 구현예에서, L<sup>s</sup>는 C2-O-(R)-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-C4이다. 일부 구현예에서, L<sup>s</sup>는 C2-O-(S)-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-C4이다.

[0256] 일부 구현예에서, 당은 WO 2018/022473, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858 및/또는 WO 2022/099159에 기재된 바와 같은 당이고, 각각의 당 및 변형 당은 독립적으로 본원에 참조로 포함된다.

[0257] 뉴클레오티드간 연결

[0258] 무엇보다도, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공하기 위해 다른 구조적 요소, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 다양한 당과 함께 이용될 수 있는 다양한 변형 뉴클레오티드간 연결을 포함하는 다양한 뉴클레오티드간 연결을 제공한다.

[0259] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 염기 변형, 당 변형, 및/또는 뉴클레오티드간 연결 변형을 포함한다. 다양한 뉴클레오티드간 연결을 본 발명에 따라 사용하여 핵염기, 예를 들어 뉴클레오시드를 포함하는 단위들을 연결할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형 뉴클레오티드간 연결 및 하나 이상의 천연 포스페이트 연결 둘 다를 포함한다. 당염자에게 널리 알려진 바와 같이, 천연 포스페이트 연결은 천연 DNA 및 RNA 분자에서 널리 발견되며; 이들은 -OP(O)(OH)O-의 구조를 가지며, DNA 및 RNA의 뉴클레오시드에 있는 당들을 연결하고, 다양한 염 형태로 존재할 수 있다(예를 들어, 생리학적 pH(약 7.4)에서, 천연 포스

페이트 연결은 음이온이  $-OP(O)(O^-)O^-$ 인 염 형태로 주로 존재한다). 변형 뉴클레오타이드간 연결 또는 비천연 포스페이트 연결은 천연 포스페이트 연결 또는 이의 염 형태가 아닌 뉴클레오타이드간 연결이다. 변형 뉴클레오타이드간 연결은 구조에 따라 염 형태로도 존재할 수 있다. 예를 들어, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이,  $-OP(O)(SH)O^-$ 의 구조를 갖는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결은 다양한 염 형태로 존재할 수 있다(예를 들어 생리학적 pH(약 7.4)에서, 음이온은  $-OP(O)(S^-)O^-$ 임). 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드간 연결은 중성 형태, 예를 들어 생리학적 pH(약 7.4)에서 존재할 수 있다.

[0260] 일부 구현예에서, 연결은 산소 원자가 백본 당에 결합되지 않거나 백본 당의 일부가 아닌 산소 원자에 결합된 연결 인 원자를 함유한다("PO 연결", 예를 들어 천연 포스페이트 연결). 일부 구현예에서, 연결은 황 원자가 백본 당에 결합되지 않거나 백본 당의 일부가 아닌 황 원자에 결합된 연결 인 원자를 함유한다("PS 연결", 예를 들어 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결). 일부 구현예에서, 연결은 질소 원자가 백본 당에 결합되지 않거나 백본 당의 일부가 아닌 질소 원자에 결합된 연결 인 원자를 함유한다("PN 연결", 예를 들어 n001). 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 PO 연결, 하나 이상의 PS 연결, 및 하나 이상의 PN 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 천연 포스페이트 연결, 하나 이상의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및 하나 이상의 n001 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 연결 인은 독립적으로 키랄 제어된다.

[0261] 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드간 연결은 WO 2018/022473, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858 및/또는 WO 2022/099159에 기재되어 있고, 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 본원에 참조로 포함된다.

[0262] *추가 화학적 모이어티*

[0263] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 추가 화학적 모이어티를 포함한다. 다양한 추가 화학적 모이어티, 예를 들어 표적화 모이어티, 탄수화물 모이어티, 지질 모이어티 등이 당업계에 알려져 있으며, 제공된 올리고뉴클레오타이드의 특성 및/또는 활성, 예를 들어 안정성, 반감기, 활성, 전달, 약력학적 특성, 약동학적 특성 등을 조절하기 위해 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 추가 화학적 모이어티는 중추 신경계의 세포를 포함하는(이에 한정되지 않음) 원하는 세포, 조직 및/또는 기관으로의 올리고뉴클레오타이드의 전달을 촉진한다. 일부 구현예에서, 특정 추가 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드의 내재화를 촉진한다. 일부 구현예에서, 특정 추가 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 안정성을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 본 발명은 다양한 추가 화학적 모이어티를 올리고뉴클레오타이드에 혼입시키기 위한 기술을 제공한다.

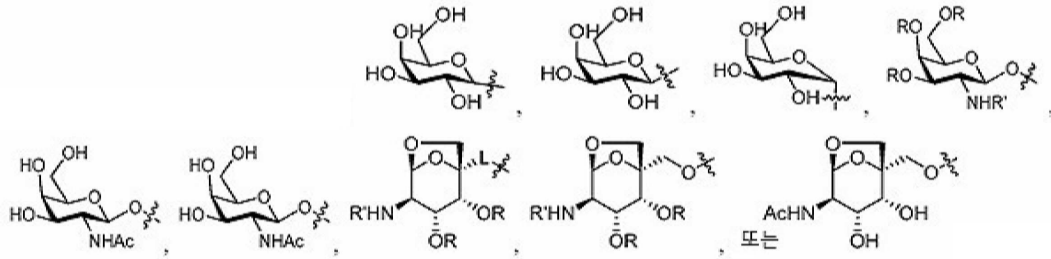
[0264] 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 소분자 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 소분자는 단백질(예를 들어, 수용체)의 리간드이다. 일부 구현예에서, 소분자는 폴리펩티드에 결합한다. 일부 구현예에서, 소분자는 폴리펩티드의 억제제이다. 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 펩티드 모이어티(예를 들어, 항체)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 핵산 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 새로운 특성 및/또는 활성을 제공한다. 일부 구현예에서, 핵산 모이어티는 원래의 올리고뉴클레오타이드 사슬(접합 전) 또는 이의 일부와 듀플렉스 또는 다른 2차 구조를 형성한다. 일부 구현예에서, 핵산은 동일하거나 상이한 표적을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드이거나 이를 포함하고, 동일하거나 상이한 메커니즘을 통해 이의 활동을 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산은 RNAi 에이전트이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 miRNA 에이전트이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 RNase H의 존성이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 gRNA이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산은 앵타머이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 본원에 기재된 바와 같은 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함한다. 많은 유용한 제제, 예를 들어 소분자, 펩티드, 탄수화물, 핵산 제제 등이 본 발명에 따라 본원에서 올리고뉴클레오타이드와 접합될 수 있다.

[0265] 일부 구현예에서 추가 화학적 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 기준 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 추가 화학적 모이어티를 갖지 않지만 그 외에는 동일한 기준 올리고뉴클레오타이드에 비해 증가된 조직으로의 전달 및/또는 조직에서의 활성을 제공한다.

[0266] 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드에 혼입될 때 하나 이상의 특성을 개선시킬 수 있는 탄수화물 모이어티, 표적화 모이어티 등이다. 일부 구현예에서, 추가 화학적 모이어티는 글루코스, GluNAc(N-아세틸 아민 글루코사민) 및 아니스아미드 모이어티로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고

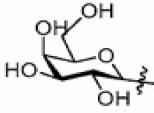
뉴클레오타이드는 2개 이상의 추가의 화학적 모이어티를 포함할 수 있고, 추가의 화학적 모이어티는 동일 카테고리의 것(예를 들어, 탄수화물 모이어티, 당 모이어티, 표적화 모이어티 등)이거나 동일 카테고리의 것이 아니다.

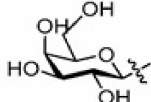
- [0267] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 예를 들어 세포 수용체, 예컨대 시그마 수용체, 아시알로당단백질 수용체 등에 대한 리간드 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드 모이어티는 시그마 수용체에 대한 리간드 모이어티일 수 있는 아니스아미드 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드 모이어티일 수 있는 GalNAc 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 간으로의 전달을 촉진한다.
- [0268] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 링커 및 추가의 화학적 모이어티(예를 들어, 표적화 모이어티)를 포함할 수 있고/있거나, 키랄 제어되거나 키랄 제어되지 않을 수 있고/있거나, 본원에 기재된 바와 같은 염기 서열 및/또는 하나 이상의 변형 및/또는 포맷을 가질 수 있다.
- [0269] 당업계에 알려진 많은 것을 비롯한, 다양한 링커, 탄수화물 모이어티 및 표적화 모이어티가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 탄수화물 모이어티는 표적화 모이어티이다. 일부 구현예에서, 표적화 모이어티는 탄수화물 모이어티이다.
- [0270] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 다양한 올리고뉴클레오타이드에 혼입된 다양한 추가의 화학적 모이어티의 예를 포함하여 실시예에 기재된 것 중 임의의 것이다.
- [0271] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드에 접합된 추가의 화학적 모이어티는 중추 신경계의 세포에 올리고뉴클레오타이드를 표적화할 수 있다.
- [0272] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 세포 수용체 리간드를 포함하거나 세포 수용체 리간드이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 단백질 바인더를 포함하거나 단백질 바인더이고, 예를 들어 세포 표면 단백질에 결합한다. 특히, 이러한 모이어티는 상응하는 수용체 또는 단백질을 발현하는 세포로의 올리고뉴클레오타이드의 표적화된 전달에 유용할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드의 추가의 화학적 모이어티는 아니스아미드 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함하고, 올리고뉴클레오타이드를 시그마 1 수용체와 같은 특정 수용체를 발현하는 세포에 표적화할 수 있다.
- [0273] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 표적을 발현하는 신체 세포 및/또는 조직에 투여하기 위해 제형화된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드에 접합된 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드를 세포에 표적화할 수 있다.
- [0274] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체(ASGPR) 리간드이거나 이를 포함한다. 임의의 특정 이론에 구애되지 않음에, 본 발명은 ASGPR1이 또한 마우스의 해마 영역 및/또는 소뇌 Purkinje 세포층에서 발현되는 것으로 보고되었음에 주목한다.
- [0275] 다양한 다른 ASGPR 리간드가 당업계에 공지되어 있고 본 발명에 따라 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 탄수화물이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 GalNAc 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 문헌[Sanhueza et al. J. Am. Chem. Soc., 2017, 139 (9), pp 3528-3536]에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 문헌[Mamidyala et al. J. Am. Chem. Soc., 2012, 134, pp 1978-1981]에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 US 20160207953에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 예를 들어 US 20160207953에 개시된 치환된-6,8-디옥사바이시클로[3.2.1]옥탄-2,3-디올 유도체이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 예를 들어 US 20150329555에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 예를 들어 US 20150329555에 개시된 치환된-6,8-디옥사바이시클로[3.2.1]옥탄-2,3-디올 유도체이다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드는 US 8877917, US 20160376585, US 10086081, 또는 US 8106022에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, 다양한 GalNAc 유도체 및 이의 용도가 WO 2022/076922에 기재되어 있고 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 이들 문헌에 기술된 ASGPR 리간드는 본원에 참고로 포함된다. 당업자는 ASGPR에 대한 화학적 모이어티의 결합을 평가하기 위해 이들 문헌에 기재된 것을 포함하여 다양한 기술이 당업계에 알려져 있고 본 발명에 따라 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 ASGPR 리간드에 접합된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 ASGPR 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, ASGPR 리간드를 포함하는 추가의 화학적 모이어티는

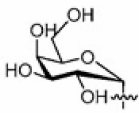
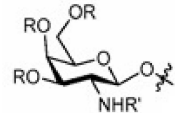


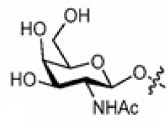
이고, 각각의 변 수는 독립적으로 본 발명에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, R은 -H이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)R이다.

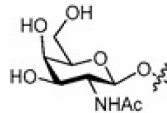
[0276]

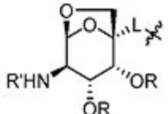
일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는

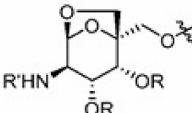
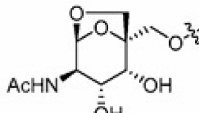
 이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는

 이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를

포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 임의로 치환된  이거나 이를 포함한다.

일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는

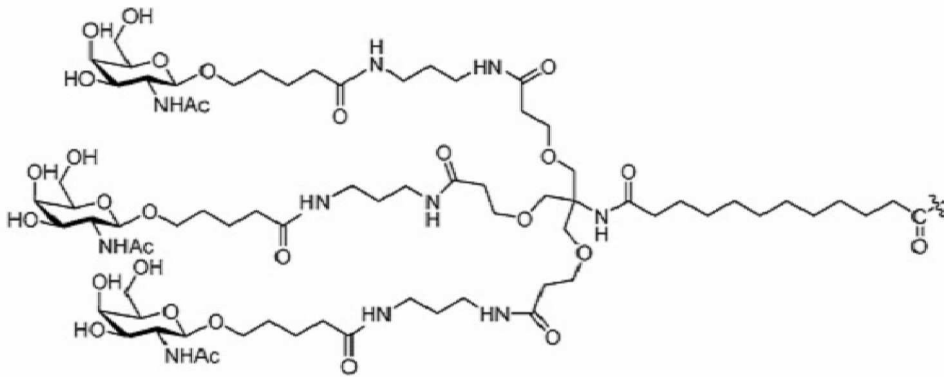
화학적 모이어티는  이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는

 이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를 포함한다.

[0277]

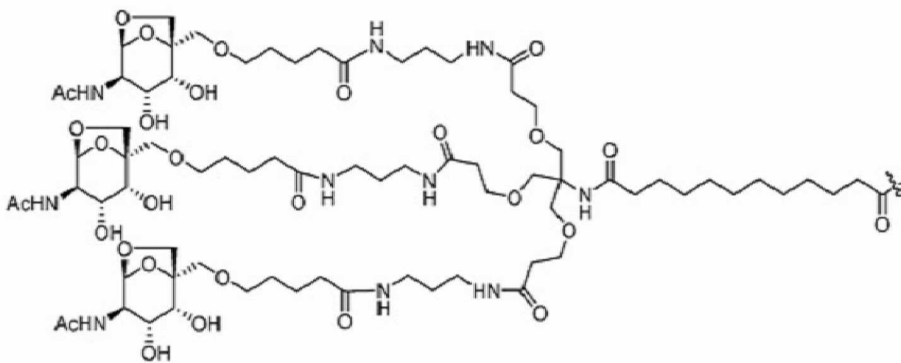
일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 표적 세포에 결합할 수 있는 하나 이상의 모이어티를 포함한다. 예를 들어 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티를 포함하고, 예를 들어 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 다중 모이어티(이들 각각은 독립적으로 ASGPR 리간드임)를 포함한다. 일부 구현예에서, Mod 001 및 Mod083에서와 같이, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 이러한 리간드를 포함한다.

[0278] Mod001:



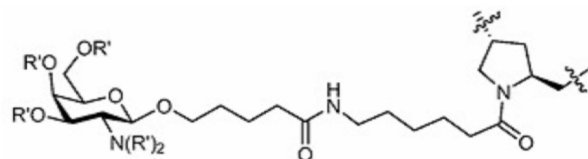
[0279]

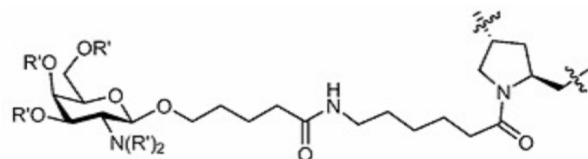
[0280] Mod083:

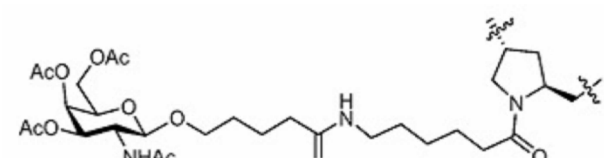


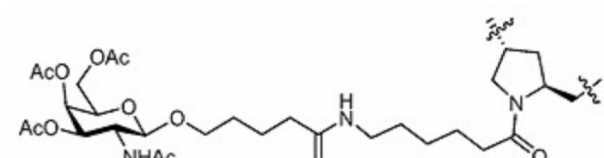
[0281]

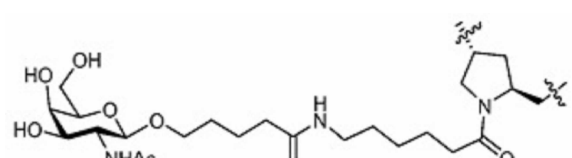
[0282]

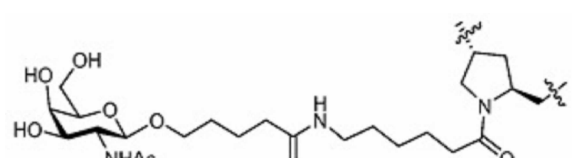
일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는  를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 각각의 -OR'은 -OAc이고, -N(R')<sub>2</sub>는 -NHAc

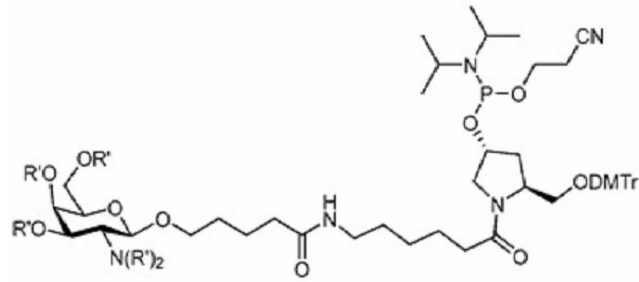


이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는  를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 R'은 -H이다. 일부 구현예에서, 각각의 -OR'은 -OH이고, 각각의 -N(R')<sub>2</sub>는 -NHC(O)R이다. 일부 구현예에서, 각각의 -OR'은 -OH이고, 각각의 -N(R')<sub>2</sub>는 -NHAc이다. 일부 구현예에서, 올리고



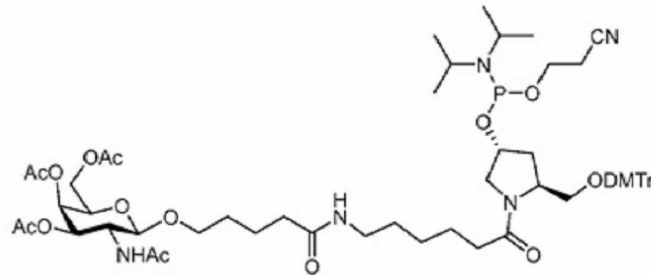
뉴클레오타이드는  (L025)를 포함한다. 일부 구현예에서, -CH<sub>2</sub>- 연결 부위는 당에서 C5 연결 부위로서 사용된다. 일부 구현예에서, 고리 상의 연결 부위는 당에서 C3 연결





결 부위로서 사용된다. 이러한 모이어티는

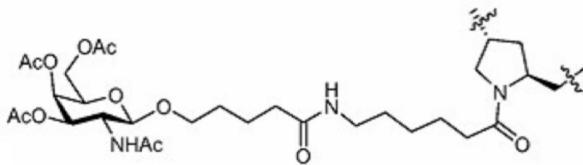
와 같은 포



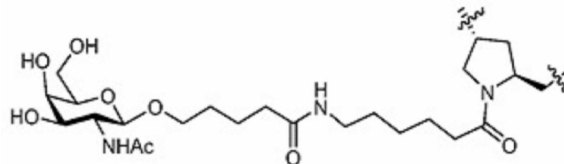
스포아미다이트, 예를 들어

를 사용하여 도입될 수

있다(당업자는 하나 이상의 다른 기, 예컨대 -OH, -NH<sub>2</sub>-, -N(i-Pr)<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN 등에 대한 보호기가 대안적으로 사용될 수 있고, 때로는 올리고뉴클레오타이드 탈보호 및/또는 절단 단계 중에, 다양한 적합한 조건에서 제거될 수 있음을 이해한다). 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 2개, 3개 이상(예를 들어, 3개 이하)의



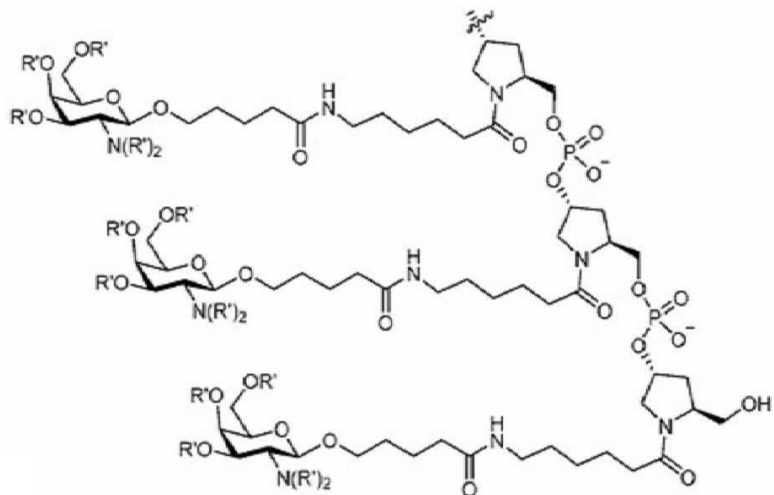
를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는



2개, 3개 이상(예를 들어, 3개 이하)의

를 포함한다. 일부

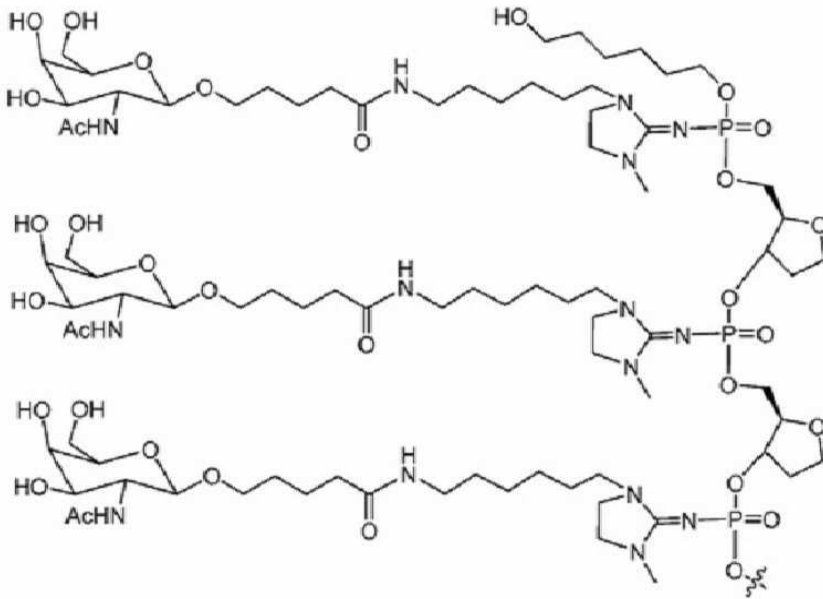
구현예에서, 이러한 모이어티의 카피는 본원에 기재된 바와 같은 뉴클레오타이드간 연결, 예를 들어 천연 포스페이트 연결에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 5'-말단에 있을 때, -CH<sub>2</sub>- 연결 부위는 -OH에 결합된다. 일부 구



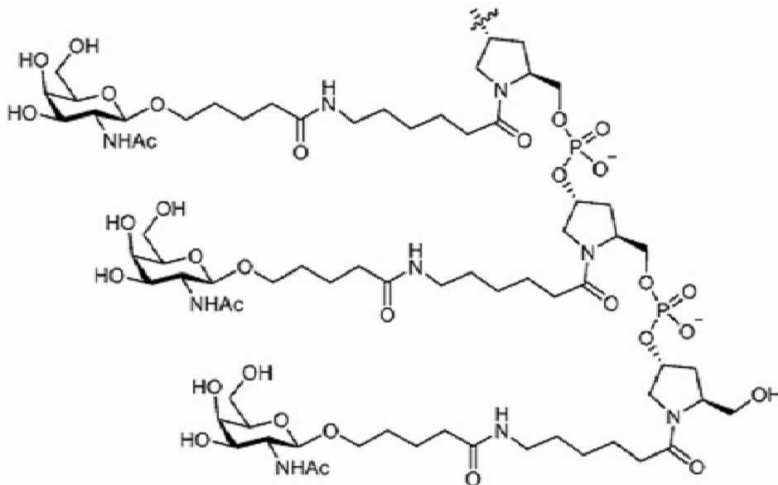
현예에서, 올리고뉴클레오타이드는  
한다. 일부

구현예에서,

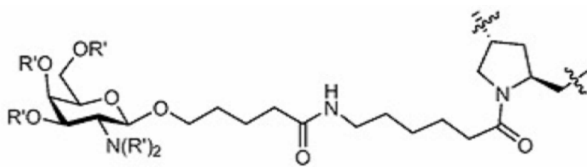
를 포함  
올리고뉴클레오타이드는



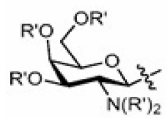
각의 -OR'은 -OAc이고, -N(R')<sub>2</sub>는 -NHAc이다. 일부 구현예에서, 각 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는



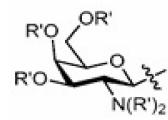
를 포함한다. 특히,



는 비견되고/되거나 더 우수한 활성 및/또는 특성을 갖는



를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 동일한 수의 (예를 들어, Mod001과 비교했을 때) 개선된 제조 효율 및/또는 더 낮은 비용을 제공한다.



에 대해

[0283] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 본원(예를 들어, 표 1)에 기재된 Mod 기이다.

[0284] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 Mod001이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 Mod083이다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어 Mod 기는 올리고뉴클레오타이드의 나머지에 직접(예를 들어, 링커 없이) 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드의 나머지에 링커를 통해 접합된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어 Mod 기는 올리고뉴클레오타이드의 핵염기, 당, 및/또는 뉴클레오타이드간 연결에 직접 및/또는 링커를 통해 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, Mod 기는 당에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, Mod 기는 5'-말단 당에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, Mod 기는 5' 탄소를 통해 5' 말단 당에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 예를 들어, 표

1의 다양한 올리고뉴클레오타이드를 참조한다. 일부 구현예에서, Mod 기는 3'-말단 당에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, Mod 기는 3' 탄소를 통해 3' 말단 당에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, Mod 기는 핵염기에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, Mod 기는 뉴클레오타이드간 연결에 직접 또는 링커를 통해 연결된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 L001을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결된 Mod001을 포함한다.

[0285] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 추가의 화학적 모이어티(예를 들어, 당, 염기, 뉴클레오타이드간 연결 등의) 다양한 위치, 예를 들어 5'-말단, 3'-말단, 또는 중간 위치에서 올리고뉴클레오타이드 사슬에 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 5'-말단에 연결된다. 일부 구현예에서, 이는 3'-말단에 연결된다. 일부 구현예에서, 이는 중간에서 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0286] Mod012, Mod039, Mod062, Mod085, Mod086, 및 Mod094 등과 같은 특정 추가의 화학적 모이어티(예: 지질 모이어티, 표적화 모이어티, 탄수화물 모이어티), 및 추가의 화학적 모이어티를 올리고뉴클레오타이드 사슬에 연결하기 위한 다양한 링커, 예컨대, L001, L003, L004, L008, L009, L010 등 및 이들의 용도는 WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 각각의 추가의 화학적 모이어티 및 링커 및 이들의 용도는 독립적으로 본원에 참조로 포함되고, 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 디곡시제닌 또는 비오틴 또는 이의 유도체이다.

[0287] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티(예를 들어, 링커, 지질, 가용화 기, 접합체 기, 표적화 기 및/또는 표적화 리간드)는 WO 2012/030683 또는 WO 2021/030778에 기재된 것이다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 WO 2012/030683, WO 2021/030778, WO 2019112485, US 20170362270, WO 2018156056, 또는 WO 2018056871, WO 2021/030778, WO 2020/154344, WO 2020/154343, WO 2020/154342, WO 2020/165077, WO 2020/201406, WO 2020/216637, 또는 WO 2020/252376에 기재된 화학적 구조(예를 들어, 링커, 지질, 가용화 기, 및/또는 표적화 리간드)를 포함한다.

[0288] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티(예를 들어, 표적화 기, 접합체 기 등) 및/또는 변형(예를 들어, 핵염기, 당, 뉴클레오타이드간 연결 등의 것)은 다음에 기재되어 있다: 미국 특허 제5,688,941호; 제6,294,664호; 제6,320,017호; 제6,576,752호; 제5,258,506호; 제5,591,584호; 제4,958,013호; 제5,082,830호; 제5,118,802호; 제5,138,045호; 제6,783,931호; 제5,254,469호; 제5,414,077호; 제5,486,603호; 제5,112,963호; 제5,599,928호; 제6,900,297호; 제5,214,136호; 제5,109,124호; 제5,512,439호; 제4,667,025호; 제5,525,465호; 제5,514,785호; 제5,565,552호; 제5,541,313호; 제5,545,730호; 제4,835,263호; 제4,876,335호; 제5,578,717호; 제5,580,731호; 제5,451,463호; 제5,510,475호; 제4,904,582호; 제5,082,830호; 제4,762,779호; 제4,789,737호; 제4,824,941호; 제4,828,979호; 제5,595,726호; 제5,214,136호; 제5,245,022호; 제5,317,098호; 제5,371,241호; 제5,391,723호; 제4,948,882호; 제5,218,105호; 제5,112,963호; 제5,567,810호; 제5,574,142호; 제5,578,718호; 제5,608,046호; 제4,587,044호; 제4,605,735호; 제5,585,481호; 제5,292,873호; 제5,552,538호; 제5,512,667호; 제5,597,696호; 제5,599,923호; 제7,037,646호; 제5,587,371호; 제5,416,203호; 제5,262,536호; 제5,272,250호; 또는 제8,106,022호.

[0289] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어 Mod는 링커를 통해 연결된다. 다양한 링커가 당업계에서 이용가능하고 본 발명에 따라 사용될 수 있다(예를 들어 다양한 모이어티와 단백질(예를 들어, 항체-약물 접합체를 형성하기 위한 항체), 핵산 등의 접합체에 사용되는 것). 특정의 유용한 링커는 US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 각각의 링커 모이어티는 독립적으로 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 링커는 비제한적인 예로서 L001, L004, L009 또는 L010이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 링커를 포함하지만, 링커 외에는 추가의 화학적 모이어티를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 링커를 포함하지만, 링커 외에는 추가의 화학적 모이어티를 포함하지 않으며, 링커는 L001, L004, L009, 또는 L010이다. 일부 구현예에서, 링커는 본원에 기재된 바와 같은 뉴클레오타이드간 연결의 구조를 갖는 모이어티이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커에서 이러한 모이어티

는 2개의 뉴클레오시드를 연결하지 않는다. 일부 구현예에서, 링커는 L의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 링커는 2가이다. 일부 구현예에서, 링커는 다가이다. 일부 구현예에서, 링커는 본원에 기재된 바와 같이 올리고뉴클레오타이드 사슬에 2개 이상의 추가의 화학적 모이어티를 연결할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 1개 또는 2개 또는 3개 이상의 추가의 화학적 모이어티, 예를 들어 GalNAc 모이어티는 다가 링커 모이어티를 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬(예를 들어, 5'-말단에서)에 연결된다.

[0290] 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 예를 들어 시스템, 세포, 조직, 기관, 대상체 등에 투여한 후 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 사슬의 나머지 부분으로부터 절단된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 특정 세포로의 전달을 촉진, 증가 및/또는 가속화하고, 올리고뉴클레오타이드를 이러한 세포로 전달한 후, 추가의 화학적 모이어티가 올리고뉴클레오타이드로부터 절단된다. 일부 구현예에서, 링커 모이어티는 바람직한 위치(예를 들어, 특정 유형의 세포 내, 리소좀 등과 같은 세포하 구획 등) 및/또는 시간에서 절단될 수 있는 하나 이상의 절단 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단 가능한 모이어티는 폴리펩티드, 예를 들어 뉴클레아제와 같은 효소에 의해 선택적으로 절단된다. 많은 유용한 절단 가능한 모이어티 및 절단 가능한 링커가 보고되어 있고 본 발명에 따라 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 절단 가능한 모이어티는 아미드, 에스테르, 에테르, 포스포디에스테르, 디설파이드, 카바메이트 등으로부터 선택되는 하나 이상의 작용기이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 WO 2012/030683, WO 2021/030778, WO 2020/154344, WO 2020/154343, WO 2020/154342, WO 2020/165077, WO 2020/201406, WO 2020/216637, 또는 WO 2020/252376에 기재된 바와 같다.

[0291] 본원에 나타난 바와 같이, 일부 구현예에서, 제공된 기술은 요구되고/되거나 필요한 것으로 보고된 특정 구조적 요소(예를 들어, 변형, 연결 배열 및/또는 패턴 등, 예를 들어 WO 2019/219581에 보고된 것)를 사용하지 않고 높은 수준의 활성 및/또는 원하는 특성을 제공할 수 있다(단, 이러한 특정 구조적 요소가 본 발명에 따른 다양한 다른 구조적 요소와 조합하여 올리고뉴클레오타이드에 혼입될 수 있음).

[0292] ADAR

[0293] 특히, 제공된 기술은 A를 I로 변환함으로써 표적 아데노신의 변형/편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 및/또는 올리고뉴클레오타이드와 표적 핵산에 의해 형성된 듀플렉스는 단백질, 예를 들어 ADAR 단백질과 상호작용한다. 일부 구현예에서, 이러한 단백질은 아데노신 변형 활성을 포함하고, 표적 핵산에서 표적 아데노신을 변형할 수 있다(예를 들어, 이들을 이노신으로 변환).

[0294] ADAR 단백질은 다양한 세포, 조직, 기관 및/또는 유기체에서 자연적으로 발견되는 단백질이다. 보고된 바에 따르면, ADAR1 및 ADAR2와 같은 일부 ADAR 단백질은 탈아미노화를 통해 아데노신을 편집할 수 있으며, 이는 아데노신을 이노신으로 변환하여, 번역 중에 G로 또는 G와 유사하게 판독되는 것을 비롯한 여러 기능을 제공할 수 있다. ADAR 매개 mRNA 편집(예: 탈아미노화)의 메커니즘은 보고되어 있다. 예를 들어, ADAR 단백질은 불일치가 있는 이중가닥 RNA 기질에서 아데노신의 이노신으로의 변환을 촉매하는 것으로 보고된다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 이노신은 세포 번역 및/또는 스플라이싱 기구에 의해 구아노신으로 인식될 수 있다. 따라서 ADAR은 핵산, 예를 들어 pre-mRNA 및 mRNA 기질의 기능적 아데노신에서 구아노신으로의 편집에 사용될 수 있다.

[0295] 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 핵산(예: RNA) 내의 표적 아데노신의 ADAR 매개 편집을 위한 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물을 제공한다. ADAR 매개 RNA 편집은 DNA 편집에 비해 몇 가지 이점을 제공할 수 있다. 예를 들어, Cas9와 같은 제2형 단백질의 발현이 필요하지 않기 때문에 전달이 단순화된다. ADAR1과 ADAR2는 둘 다 내인성 효소이므로, 올리고뉴클레오타이드의 세포 전달만으로도 편집에 충분할 수 있다. 오프-타겟 효과가 있더라도 일시적이며 게놈 DNA에 변화가 발생하지 않는다. 또한, ADAR 매개 편집은 유사분열 후 세포에서 사용될 수 있으며, 복원을 위해 HDR 주형이 필요하지 않다. 3개의 척추동물 ADAR 유전자가 공통 기능 도메인으로 보고되었다(Nishikura Nat Rev Mol Cell Biol. 2016 Feb; 17(2): 83-96.; Nishikura Annu Rev Biochem. 2010; 79: 321-349.; Thomas and Beal Bioessays. 2017 Apr;39(4)). 3개의 ADAR은 모두 dsRNA 기질과 접촉할 수 있는 dsRNA-결합 도메인(dsRBD)을 포함한다. 일부 ADAR1은 Z-DNA-결합 도메인을 또한 포함한다. ADAR1은 뇌, 폐, 신장, 간, 및 심장 등에서 유의하게 발견되는 것으로 보고되었으며, 2가지 동형으로 나타날 수 있다. 일부 구현예에서, 동형 p150은 인터페론에 의해 유도될 수 있는 반면, 동형 p110은 항시적으로 발견될 수 있다. 일부 구현예에서, p110은 모든 조직에서 항시적으로 발견되는 것으로 보고되므로 이를 사용하는 것이 유리할 수 있다. ADAR2는 예를 들어 뇌와 폐에서 고도로 발견될 수 있으며, 핵에만 국한되어 있는 것으로 보고된다. ADAR3는 촉매적으로 비활성화되어 뇌에서만 발견되는 것으로 보고된다. 치료 표적을 선택할 때 조직 발현의 잠재적인 차이를 고려할 수 있다.

- [0296] ADAR에 의한 RNA 편집을 위한 올리고뉴클레오타이드의 사용은 보고되어 있다. 특히, 본 발명은 이전에 보고된 기술이 일반적으로 낮은 안정성(예를 들어, 천연 RNA 당을 갖는 올리고뉴클레오타이드), 낮은 편집 효율, 낮은 편집 특이성(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드에 실질적으로 상보적인 표적 핵산의 일부에서 다수의 A가 편집됨), ADAR 인식/보충을 위한 올리고뉴클레오타이드의 특정 구조, 외인성 단백질(예를 들어, 편집을 위한 특정 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드 및/또는 이의 듀플렉스(예를 들어, 표적 핵산과의 듀플렉스)를 인식하도록 조작된 것) 등과 같은 하나 이상의 단점을 겪고 있음을 인식한다. 또한, 이전에 보고된 기술은 일반적으로 올리고뉴클레오타이드가 변형 뉴클레오타이드간 연결의 하나 이상의 키랄 연결 인을 포함할 때 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물을 사용한다.
- [0297] 예를 들어, 보고된 다양한 올리고뉴클레오타이드는 ADAR-보충 도메인을 포함한다. 문헌[Merkle et al., Nat Biotechnol. 2019 Feb;37(2):133-138]은 내인성 전사체를 편집하기 위해 내인성 인간 ADAR2를 보충하는 분자내 줄기 루프인 불완전한 20bp 헤어핀 ADAR-보충 도메인을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 개시하였다. 문헌[Mali et al., Nat Methods. 2019 Mar;16(3):239-242]에 보고된 올리고뉴클레오타이드는 표적 mRNA에 혼성화하는 특이성 도메인 외에도 ADAR 기질 GluR2 사전 메신저 RNA 서열 또는 MS2 헤어핀을 포함한다.
- [0298] 보고된 특정 편집 접근 방식은 외인성 또는 조작된 단백질(예: CRISPR/Cas9 시스템을 사용하는 단백질)을 활용한다. 예를 들어, 문헌[Nature 2016 volume 533, pages 420-424]은 프로그래밍 가능한 DNA 염기 편집기를 생성하기 위해 CRISPR-Cas9과 결합된 디아미나제를 개시하였다. 이는 외인성 편집 단백질에 관여하기 때문에 CRISPR/Cas9 시스템과 가이드 RNA 모두의 전달을 필요로 한다.
- [0299] 특히, 본 발명은 예를 들어 본원에 기재된 설계된 올리고뉴클레오타이드의 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물을 제공함으로써, 종래의 아데노신 편집 기술의 하나 이상의 또는 모든 단점을 해결하기 위해 당 변형, 염기 변형, 뉴클레오타이드간 연결 변형, 입체화학의 제어, 이의 다양한 패턴 등과 같은 하나 이상의 특징을 포함하는 기술을 제공한다. 예를 들어, 본원에 나타낸 바와 같이, ADAR-보충 루프는 제공된 기술에서 선택 사항이고 필수 사항이 아니다.
- [0300] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 이러한 유용한 특징 중 하나 이상을 사용하여 종래 기술의 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, WO 2016097212, WO 2017220751, WO 2018041973, WO 2018134301에 기재된 것, 각각의 올리고뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드 조성물은 독립적으로 참조로 포함됨)를 개선할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 본원에 기재된 하나 이상의 유용한 특징을 종래 보고된 올리고뉴클레오타이드 염기 서열에 적용함으로써 종래 기술의 개선을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 아데노신 편집에 유용할 수 있는 이전에 보고된 올리고뉴클레오타이드의 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물을 사용한 아데노신 편집을 수행함으로써 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물을 사용한 이전에 보고된 아데노신 편집의 개선을 제공한다.
- [0301] 보고된 바와 같이 ADAR 단백질은 다양한 동형을 가질 수 있다. 예를 들어, ADAR1은 특히 보고된 p110 동형 및 보고된 p150 동형을 갖는다. 일부 구현예에서, 특정 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 여러 동형(일부 구현예에서, p110 및 p150 동형 둘 다)을 사용하여 높은 수준의 아데노신 변형(예를 들어, A에서 I로의 변환)을 제공할 수 있는 반면, 입체무작위 조성물은 하나 이상의 동형(예를 들어, p110)에 대해 낮은 수준의 아데노신 변형을 제공하는 것을 관찰되었다. 일부 구현예에서, 키랄 제어 올리고뉴클레오타이드 조성물은 ADAR1의 p110 동형을 발현하거나 포함하는 시스템(예: 세포, 조직, 기관, 유기체, 대상체 등), 특히 p150 동형에 비해 ADAR1의 p110 동형을 높은 수준으로 발현하거나 포함하는 것, 또는 ADAR1 p150을 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 것에서의 아데노신 변형에 특히 유용하다.
- [0302] 일부 구현예에서, 본 발명은 구조에 줄기 루프를 필요로 하지 않는 Cis-작용(CisA) 올리고뉴클레오타이드를 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 염기쌍 형성을 통해 표적 mRNA와 dsRNA 구조를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 형성된 dsRNA 구조(임의로 2차 불일치 포함)는 ADAR 결합을 촉진하는 별지를 포함하므로, ADAR 매개 편집(예를 들어, 표적 아데노신의 탈아미노화)을 용이하게 할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 LSL 올리고뉴클레오타이드 또는 CSL 올리고뉴클레오타이드보다 짧고(예를 들어, 약 32 nt 이하, 약 31 nt 이하, 약 30 nt 이하, 약 29 nt 이하, 약 28 nt 이하, 약 27 nt 이하, 또는 약 26 nt 이하의 길이), 높은 편집 효율을 제공할 수 있다.
- [0303] *듀플렉스화 및 표적화 영역*
- [0304] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 듀플렉스화 영역 및 표적화 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 듀플렉스

스화 영역은 또 다른 핵산, 예를 들어, 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드와 듀플렉스를 형성한다. 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드를 포함하는 유용한 듀플렉스화 기술 및 제공된 올리고뉴클레오티드와의 이의 용도는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며 본원에 참조로 포함된다.

[0305] 올리고뉴클레오티드 및 조성물의 생성

[0306] 올리고뉴클레오티드 및 조성물의 생성을 위해 다양한 방법이 사용될 수 있고 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 예를 들어, 기존의 포스포아미다이트 화학(예를 들어  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$  및  $-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 를 포함하는 포스포아미다이트)을 사용하여 입체무작위 올리고뉴클레오티드 및 조성물을 제조할 수 있고, 특정 시약 및 키랄 제어 기술을 사용하여 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제조할 수 있으며, 이는 예를 들어 US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159에 기재된 바와 같고, 각각의 시약 및 방법은 본원에 참조로 포함된다.

[0307] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물의 키랄 제어/입체선택적 제조는 예를 들어, 단량체, 이량체(예를 들어, 분리로부터의 키랄 순수 이량체), 단량체 포스포아미다이트, 이량체 포스포아미다이트(예를 들어, 분리로부터의 키랄 순수 이량체) 등의 일부로서, 키랄 보조체의 이용을 포함한다. 이러한 키랄 보조 시약, 단량체, 이량체 및 포스포아미다이트의 예는 US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858 및/또는 WO 2022/099159에 기재되어 있고, 이들 각각의 키랄 보조 시약, 단량체, 이량체 및 포스포아미다이트는 독립적으로 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 키랄 보조체는 WO 2018/022473, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159 중 어느 하나에 기재된 키랄 보조체이고, 각각의 키랄 보조체는 독립적으로 본원에 참조로 포함된다.

[0308] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 합성 사이클, 시약 및 조건을 포함한 키랄 제어 제조 기술은 US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, 및 WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858 및/또는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 각각의 올리고뉴클레오티드 합성 방법, 사이클, 시약 및 조건은 독립적으로 본원에 참조로 포함된다.

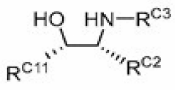
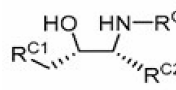
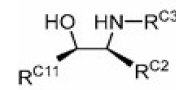
[0309] 일단 합성되면, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 조성물은 일반적으로 추가로 정제된다. 적합한 정제 기술은 당업자에게 널리 알려져 있고 당업자에 의해 실시되며, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159에 기재된 것을 포함하지만 이에 한정되지 않고, 각각의 정제 기술은 독립적으로 본원에 참조로 포함된다.

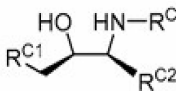
[0310] 일부 구현예에서, 사이클은 커플링, 캡핑, 변형 및 탈차단을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 사이클은 커플링, 캡핑, 변형, 캡핑 및 탈차단을 포함하거나 이로 이루어진다. 이러한 단계는 일반적으로, 나열된 순서대로 수행되지만, 일부 구현예에서는 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 특정 단계, 예를 들어 캡핑 및 변형의 순서가 변경될 수 있다. 원하는 경우, 당업자가 합성에서 종종 수행하는 바와 같이 변환율, 수율 및/또는 순도를 개선하기 위해 하나 이상의 단계가 반복될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서 커플링이 반복될 수 있으며; 일부 구현예에서, 변형(예를 들어, =O를 인스탈(install)하기 위한 산화, =S를 인스탈하기 위한 황화 등)이 반복될 수 있으며; 일부 구현예에서, 커플링은 P(III) 연결을 특정 상황에서 더 안정할 수 있는 P(V) 연결로 변환할 수 있는 변형 후에 반복되며, 커플링은 통상적으로 새로 형성된 P(III) 연결을 P(V) 연결로 변환하기 위한 변형이 뒤따른다. 일부 구현예에서, 단계들이 반복되는 경우 상이한 조건들(예를 들어, 농도, 온도, 시

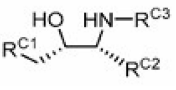
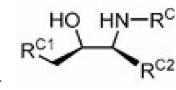
약, 시간 등)이 사용될 수 있다.

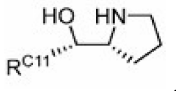
[0311] 예를 들어, 다양한 경로를 통해 대상체에 투여하기 위한, 제공된 올리고뉴클레오타이드를 제형화하고/하거나 제약 조성물을 제조하기 위한 기술은 당업계에서 용이하게 이용가능하고 본 발명에 따라 사용될 수 있다(예를 들어, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, 또는 WO 2018/237194 및 이들 문헌에 인용된 참고 문헌에 기재된 것).

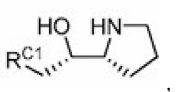
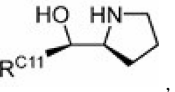
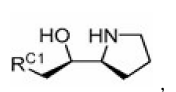
[0312] 예를 들어, 다양한 경로를 통해 대상체에 투여하기 위한, 제공된 올리고뉴클레오타이드를 제형화하고/하거나 제약 조성물을 제조하기 위한 기술은 당업계에서 용이하게 이용가능하고 본 발명에 따라 사용될 수 있다(예를 들어, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, 또는 WO 2018/237194 및 이들 문헌에 인용된 참고 문헌에 기재된 것).

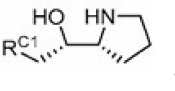
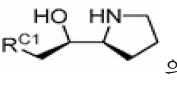
[0313] 일부 구현예에서, 유용한 키랄 보조체는 , ,  또는

, 또는 이의 염의 구조를 가지며, R<sup>C11</sup>은 -L<sup>C1</sup>-R<sup>C1</sup>이고, L<sup>C1</sup>은 임의로 치환된 -CH<sub>2</sub>-이고, R<sup>C1</sup>은 R, -Si(R)<sub>3</sub>, -SO<sub>2</sub>R 또는 전자 구인성 기이고, R<sup>C2</sup>와 R<sup>C3</sup>는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에도 0~2개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~10원 포화 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, 유용한 키랄 보조체는

, 또는  의 구조를 가지며, R<sup>C1</sup>은 R, -Si(R)<sub>3</sub>, 또는 -SO<sub>2</sub>R이고, R<sup>C2</sup>와 R<sup>C3</sup>는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에도 0~2개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~7원 포화 고리를 형

성한다. 형성된 고리는 임의로 치환된 5원 고리이다. 일부 구현예에서, 유용한 키랄 보조체는 ,

, , 또는 , 또는 이의 염의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 유용한

키랄 보조체는 , 또는  의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 유용한 키랄 보조체는 DPSE 키랄 보조체이다. 일부 구현예에서, 키랄 보조체의 순도 또는 입체화학적 순도는 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 96%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 97%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 98%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 99%이다.

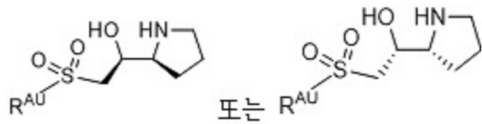
[0314] 일부 구현예에서, L<sup>C1</sup>은 -CH<sub>2</sub>-이다. 일부 구현예에서, L<sup>C1</sup>은 치환된 -CH<sub>2</sub>-이다. 일부 구현예에서, L<sup>C1</sup>은 단일치환된 -CH<sub>2</sub>-이다.

[0315] 일부 구현예에서, R<sup>C1</sup>은 R이다. 일부 구현예에서, R<sup>C1</sup>은 임의로 치환된 페닐이다. 일부 구현예에서, R<sup>C1</sup>은 -SiR<sub>3</sub>이다. 일부 구현예에서, R<sup>C1</sup>은 -SiPh<sub>2</sub>Me이다. 일부 구현예에서, R<sup>C1</sup>은 -SO<sub>2</sub>R이다. 일부 구현예에서, R은 수소가 아니다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 페닐이다. 일부 구현예에서, R은 페닐이다. 일부 구현예에서, R은 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 지방족이다. 일부 구현예에서, R은 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서, R은 메틸이다. 일부 구현예에서, R은 t-부틸이다.

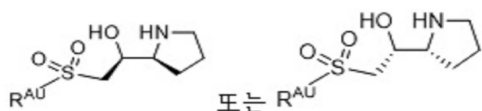
[0316] 일부 구현예에서,  $R^{C1}$ 은  $-C(O)R$ ,  $-OP(O)(OR)_2$ ,  $-OP(O)(R)_2$ ,  $-P(O)(R)_2$ ,  $-S(O)R$ ,  $-S(O)_2R$  등과 같은 전자 구인성 기이다. 일부 구현예에서, 전자 구인성 기  $R^{C1}$  기를 포함하는 키랄 보조체는 천연 RNA 당에 결합된 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결 및/또는 음으로 하전되지 않은 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결을 제조하는 데 특히 유용하다.

[0317] 일부 구현예에서,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에는 헤테로원자를 갖지 않는 임의로 치환된 3~10원(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10원) 포화 고리를 형성한다. 일부 구현예에서,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에는 헤테로원자를 갖지 않는 임의로 치환된 5원 포화 고리를 형성한다.

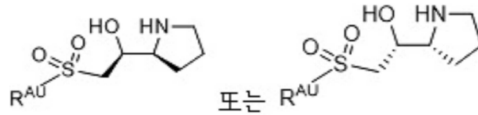
[0318] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및/또는 조성물 제조 방법은, 예를 들어 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결을 구성하기 위한 본원에 기재된 키랄 보조체를 사용하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 DPSE 키랄 보조체를 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 DPSE 키랄 보조체를 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로



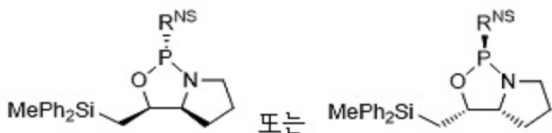
, 또는 이의 염을 사용하여 구성되고,  $R^{AU}$ 는 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 음으로 하전되지 않은 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결(예: n001)은 독립적으로



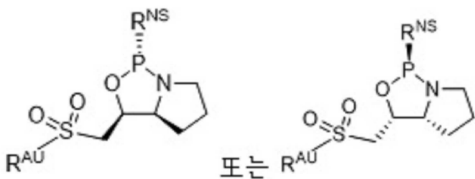
[0319] , 또는 이의 염을 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄



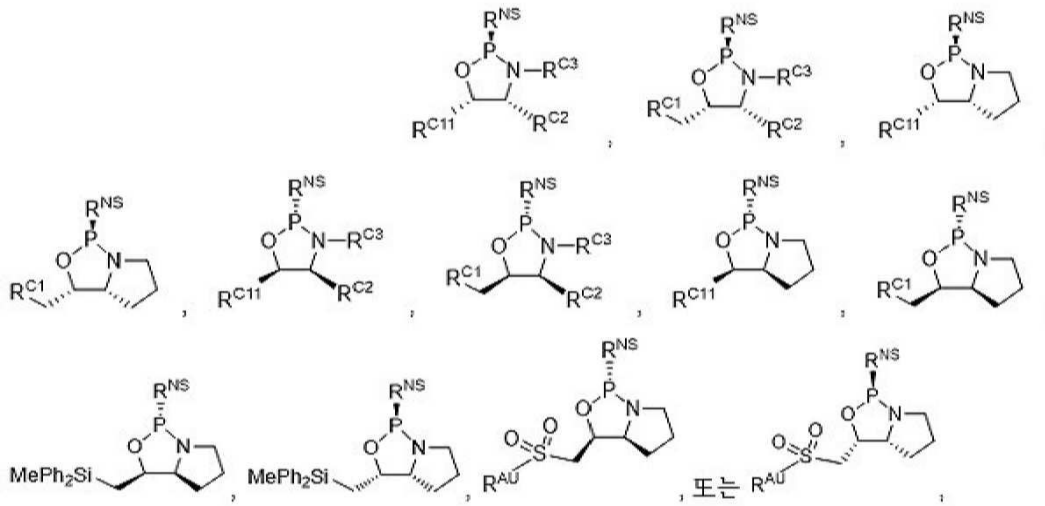
제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 , 또는 이의 염을 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 임의로 치환된  $C_{1-20}$ ,  $C_{1-10}$ ,  $C_{1-6}$ ,  $C_{1-5}$ , 또는  $C_{1-4}$  지방족이다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 임의로 치환된  $C_{1-20}$ ,  $C_{1-10}$ ,  $C_{1-6}$ ,  $C_{1-5}$ , 또는  $C_{1-4}$  알킬이다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 임의로 치환된 아릴이다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 페닐이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 PSM 키랄 보조체를 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서, 음으로 하전되지 않은 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결(예: n001)은 독립적으로 PSM 키랄 보조체를 사용하여 구성된다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 PSM 키랄 보조체를 사용하여 구성된다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 키랄 보조체는 올리고뉴클레오티드 제조를 위해 포스포아미다이트(예를 들어,



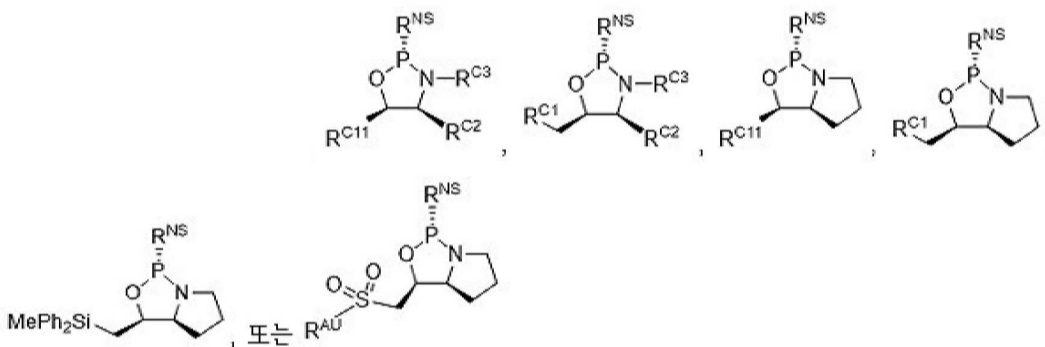
(DPSE 포스포아미다이트),



( $R^{AU}$ 는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같고;  $R^{AU}$ 가  $-Ph$ 인 경우, PSM 포스포아미다이트),  $R^{NS}$ 는 임의로 치환/보호된 뉴클레오시드임(예를 들어, 올리고뉴클레오티드 합성을 위해 임의로 보호됨), 또는 이의 염 등)에서 종종 사용된다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는

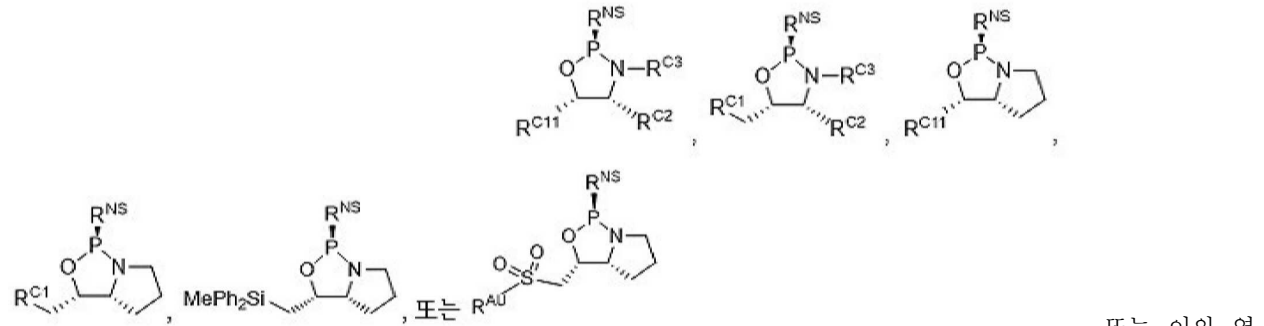


또는 이의 염의 구조를 갖는 화합물이고, 여기서 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 임의로 치환된 페닐이다. 일부 구현예에서,  $R^{AU}$ 는 페닐이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 하이포잔틴을 포함하는 임의로 치환되거나 보호된 뉴클레오시드이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 임의로 치환되거나 보호된 하이포잔틴을 포함한다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 임의로 치환되거나 보호된 이노신이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 임의로 치환되거나 보호된 데옥시이노신이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 임의로 치환되거나 보호된 2'-F 이노신(2'-F로 대체된 2'-OH)이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 임의로 치환되거나 보호된 2'-OR 변형 이노신(본원에 기재된 바와 같은 2'-OR 변형(예를 들어, 2'-OMe, 2'-MOE 등)으로 대체된 2'-OH)이다. 일부 구현예에서, 하이포잔틴은 보호된  $O^6$ 이다. 일부 구현예에서, 하이포잔틴은  $-L-Si(R)_3$ 으로 보호된  $O^6$ 이고, 여기서 L은 임의로 치환된  $-CH_2-CH_2$ 이고, 각각의 R은 독립적으로 본원에 기재된 바와 같고  $-H$ 가 아니다. 일부 구현예에서, 각각의 R은 독립적으로  $C_{1-6}$  지방족 및 페닐로부터 선택되는 임의로 치환된 기이다. 일부 구현예에서, 각각의 R은 독립적으로 임의로 치환된  $C_{1-6}$  알킬이다. 일부 구현예에서,  $-L-Si(R)_3$ 은  $-CH_2CH_2Si(Me)_3$ 이다. 일부 구현예에서,  $O^6$  보호된 하이포잔틴(예를 들어,  $-CH_2CH_2Si(Me)_3$ 을 가짐)을 포함하는 화합물은 상응하는  $O^6$  비보호 화합물보다 더 높은 용해도를 갖고 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드 합성에 이용될 때 다양한 이점 및 장점을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서,



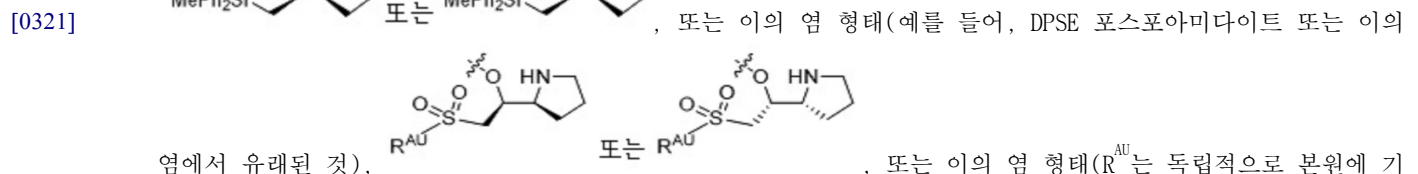
또는 이의 염 구조를 갖는 화합물에서,  $R^{NS}$ 는  $O^6$  보호된 하이포잔틴(예를 들어,  $-CH_2CH_2Si(Me)_3$ 을 가짐)을 포함한다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는  $O^6$ -보호된 이노신이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는  $O^6$ -보호된 데옥시이노신이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는  $O^6$ -보호된 2'-F 이노신이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 2'-OR 변형이 본원에 기재된 바와 같은(예를 들어, 2'-OMe, 2'-MOE 등)  $O^6$ -보호된 2'-OR 변형 이노신이다. 무엇보다도, 본 발명은 이러한 화합물이 올리고뉴클레오티드 합성에 충분한 용해도를 갖고 올리고뉴클레오티드 합성에 사용될 수 있는 반면  $O^6$  보호가 없는 상응하는 화합물은 효율적인 올리고뉴클레오티드 합성을 위한 충분한 용해도를 갖지 못할 수 있다는 인식을 포함한다. 일부

구현예에서, 포스포아미다이트는 (1S,3S,3aS)-1-(((2R,3S,5R)-2-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-5-(6-(2-(트리메틸실릴)에톡시)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로푸란-3-일)옥시)-3-((메틸디페닐실릴)메틸)테트라하이드로-1H,3H-피콜로[1,2-c][1,3,2]옥사자포스폴이다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는 (1S,3S,3aS)-1-(((2R,3S,5R)-2-((비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)메틸)-5-(6-(2-(트리메틸실릴)에톡시)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로푸란-3-일)옥시)-3-((페닐설포닐)메틸)테트라하이드로-1H,3H-피콜로[1,2-c][1,3,2]옥사자포스폴이다. 일부 구현예에서,

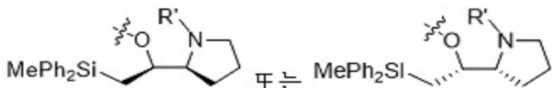
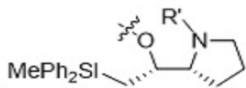


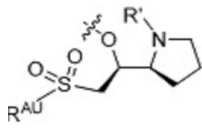
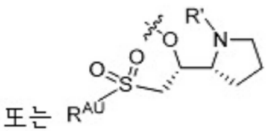
, 또는 이의 염 구조를 갖는 화합물에서, R<sup>NS</sup>는 0<sup>6</sup> 비보호 하이포잔틴을 포함한다. 일부 구현예에서, R<sup>NS</sup>는 임의로 치환되거나 보호된 이노신이고, 여기서 하이포잔틴은 보호되지 않는다. 일부 구현예에서, R<sup>NS</sup>는 임의로 치환되거나 보호된 테옥시이노신이고, 여기서 하이포잔틴은 보호되지 않는다. 일부 구현예에서, R<sup>NS</sup>는 임의로 치환되거나 보호된 2'-F 이노신이고, 여기서 하이포잔틴은 보호되지 않는다. 일부 구현예에서, R<sup>NS</sup>는 임의로 치환되거나 보호된 2'-OR 변형 이노신이고, 여기서 하이포잔틴은 보호되지 않고 이의 2'-OR 변형은 본원에 기재된 바와 같다(예를 들어, 2'-OMe, 2'-MOE 등). 무엇보다도, 본 발명은 이러한 화합물이 올리고뉴클레오타이드 합성에 충분한 용해도를 갖고 0<sup>6</sup> 보호 없이 올리고뉴클레오타이드 합성에 사용될 수 있다는 인식을 포함한다.

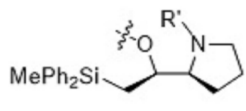
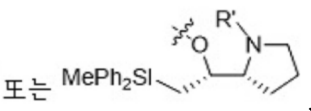
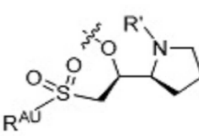
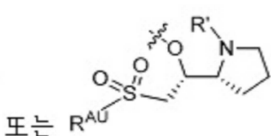
[0320] 일부 구현예에서, 방법은 DPSE 및/또는 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염을 제공하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 DPSE 및/또는 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염을 -OH(예를 들어, 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-OH)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 접촉은 인 결합이 형성되도록 다양한 적합한 조건에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결의 제조는 DPSE 또는 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염을 -OH(예를 들어, 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-OH)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결의 제조는 독립적으로 DPSE 포스포아미다이트 또는 이의 염을 -OH(예를 들어, 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-OH)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 음으로 하전되지 않은 각각의 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결(예를 들어, n001)의 제조는 독립적으로 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염을 -OH(예를 들어, 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-OH)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결의 제조는 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염을 -OH(예를 들어, 뉴클레오시드 또는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-OH)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 접촉은 2개의 당에 결합된 인 원자 및 키랄 보조 모이어티(예를 들어,

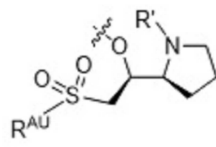
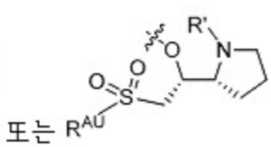


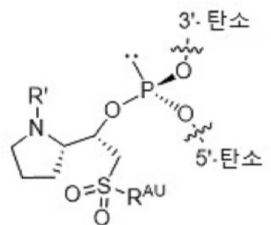
염에서 유래된 것), 또는 이의 염 형태(예를 들어, DPSE 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것), 또는 이의 염 형태(R<sup>AU</sup>는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것) 등을 포함하는 P(III) 연결을 형성한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 예를 들어 DPSE 또는 PSM 포스포아미다이트에서 유래된, 키랄 보조 모이어티를 포함하는 P(III) 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 키랄 보조 모이어티를 포함하는 P(III) 연결은 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 키랄 보조 모이어티는 예를 들어 P(III) 연결을 P(V) 연결로 변환하기 전(예를 들어, 황화, 아지드와의 반응 등 전)에 보호될 수 있다. 일부 구현예에서, 보호

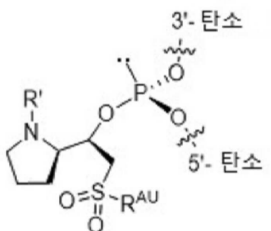
된 키랄 보조체는  또는  , 또는 이의 염 형태(예를 들어, R'은 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; 예를 들어, DPSE 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것), 또는

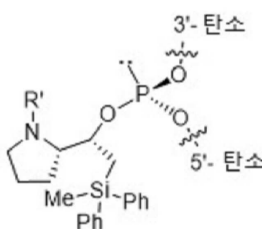
 또는  , 또는 이의 염 형태(각각의 R' 및 R<sup>AU</sup>는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것)의 구조를 가지며, 각각의 R'은 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)R이고, R은 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, R은 -CH<sub>3</sub>이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 보호된 키랄 보조체를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드에 있는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로

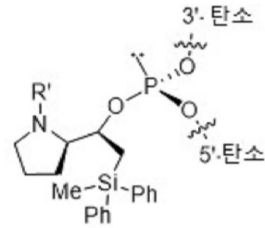
 또는  , 또는 이의 염 형태, 또는  또는  , 또는 이의 염 형태를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오

티드에 있는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로  또는  , 또는 이의 염 형태를 포함한다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)R이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)CH<sub>3</sub>이다. 일부

구현예에서, R<sup>AU</sup>는 Ph이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PIII-1)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서,

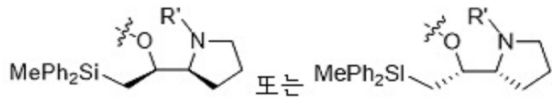
올리고뉴클레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PIII-2)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의

 또는 이의 염 형태(PIII-5)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된



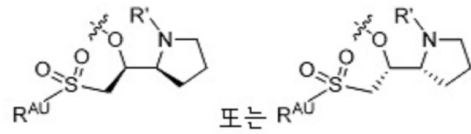
바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 또는 이의 염 형태 (PIII-6)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 5'-말단 뉴클레오타이드간 연결은 PIII-1, PIII-2, PIII-5, 또는 PIII-6이다. 일부 구현예에서, 5'-말단 뉴클레오타이드간 연결은 PIII-1 또는 PIII-2이다. 일부 구현예에서, R'은 -H이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)R이다. 일부 구현예에서, R'은 -C(O)CH<sub>3</sub>이다. 일부 구현예에서, R<sup>AU</sup>는 -Ph이다. 일부 구현예에서, P(III) 연결은 P(V) 연결로 변환된다. 일부 구현예에서, P(V) 연결은 2개의 당에 결합된 인 원자, 키랄 보조 모이어티(예를 들어,

[0322]

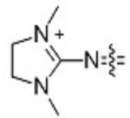


, 또는 이의 염 형태(R'은 본원에 기재된 바와 같음; 예를 들어 DPSE 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것),

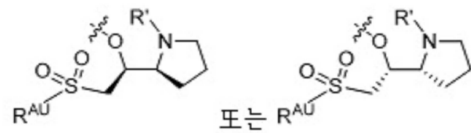
[0323]



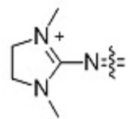
, 또는 이의 염 형태(R' 및 R<sup>AU</sup> 각각은 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것) 등), 및 S 또는



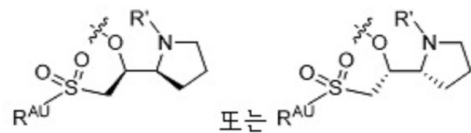
를 포함한다. 일부 구현예에서, P(V) 연결은 2개의 당에 결합된 인 원자,



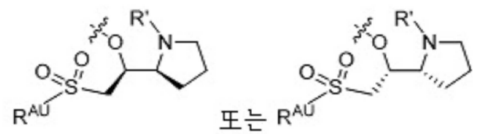
, 또는 이의 염 형태(각각의 R' 및 R<sup>AU</sup>는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것) 등), 및 S 또는



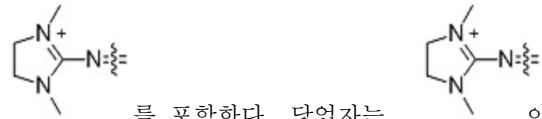
를 포함한다. 일부 구현예에서, P(V) 연결은 2개의 당에 결합된 인 원자,

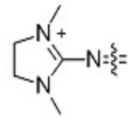
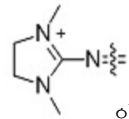


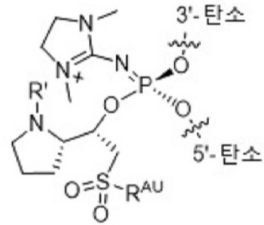
, 또는 이의 염 형태(각각의 R' 및 R<sup>AU</sup>는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM 포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것) 등), 및 S를 포함

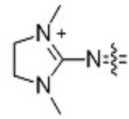


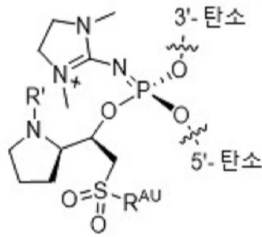
한다. 일부 구현예에서, P(V) 연결은 2개의 당에 결합된 인 원자, 또는 이의 염 형태(각각의 R' 및 R<sup>AU</sup>는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같음; R<sup>AU</sup>가 -Ph인 경우, 예를 들어 PSM



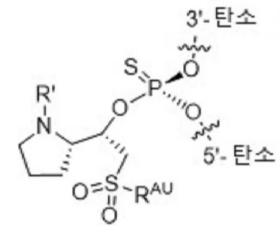
포스포아미다이트 또는 이의 염에서 유래된 것) 등), 및  를 포함한다. 당업자는  이 반대 이온(예를 들어 일부 구현예에서,  $PF_6^-$ )과 함께 존재할 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클

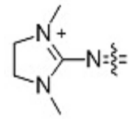


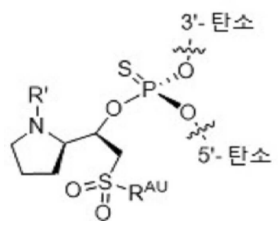
레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PV-1)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의



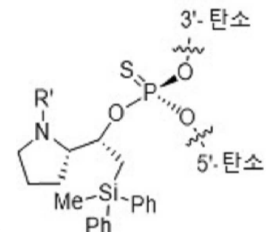
또는 이의 염 형태(PV-2)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바

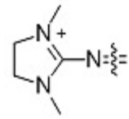


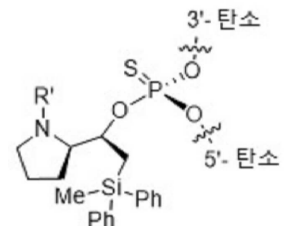
와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태 (PV-3)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드

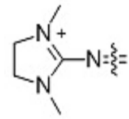


는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PV-4)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본

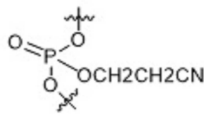


원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PV-5)를 포함하고, 각각의 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴



클레오티드는 하나 이상의  또는 이의 염 형태(PV-6)를 포함하고, 각각의 변수는 독

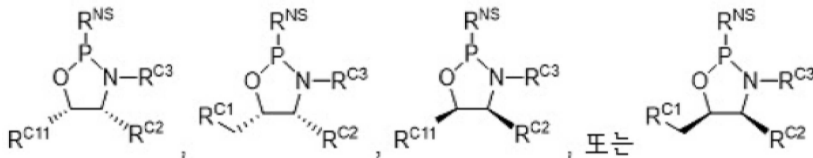
립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결, 또는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 PIII-1, PIII-2, PIII-5, PIII-6, PV-1, PV-2, PV-3, PV-4, PV-5, 및 PV-6으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결, 또는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 PIII-1, PIII-2, PV-1, PV-2, PV-3, 및 PV-4로부터 선택된다. 일부 구현예에서, PIII-1, PIII-2, PIII-5, 또는 PIII-6의 연결은 일반적으로 뉴클레오티드간 연결의 5'-말단이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결, 또는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 PV-1, PV-2, PV-3, PV-4, PV-5, 및 PV-6으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 키랄 뉴클레오티드간 연결, 또는 각각의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결은 독립적으로 PV-1, PV-2, PV-3, 또는 PV-4로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 표 1의 올리고뉴클레오티드이고, 각각의 \*S는 독립적으로 PV-3 또는 PV-5로 대체되고, 각각의 \*R은 독립적으로 PV-4 또는 PV-6으로 대체되고, 각각의 n001R은 독립적으로 PV-1로 대체되고, 각각의 n001S는 독립적으로 PV-2로 대체된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 표 1의 올리고뉴클레오티드이고, 각각의 \*S는 독립적으로 PV-3으로 대체되고, 각각의 \*R은 독립적으로 PV-4로 대체되고, 각각의 n001R은 독립적으로 PV-1로 대체되고, 각각의 n001S는 독립적으로 PV-2로 대체된다. 일부 구현예에서, 각각의 천연 포스페이트 연결은 독립적으로 전구체, 예



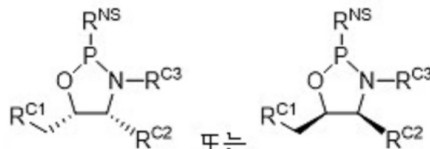
를 들어  $\text{R}'$ 로 대체된다. 일부 구현예에서,  $\text{R}'$ 은  $\text{-H}$ 이다. 일부 구현예에서,  $\text{R}'$ 은  $\text{-C(O)R}$ 이다. 일부 구현예에서,  $\text{R}'$ 은  $\text{-C(O)CH}_3$ 이다. 일부 구현예에서,  $\text{R}'^{\text{AU}}$ 는  $\text{-Ph}$ 이다. 일부 구현예에서, 방법은 포스포로티오에이트 및/또는 음으로 하전되지 않은 뉴클레오티드간 연결(예: n001)이 형성되도록 하나 이상의 키랄 보조 모이어티를 제거하는 것을 포함한다(예를 들어, V-1, PV-2, PV-3, PV-4, PV-5, PV-6 등으로부터). 일부 구현예에서, 키랄 보조체(예를 들어, PSM)의 제거는 무수 조건에서 올리고뉴클레오티드를 염기(예를 들어, DEA와 같은  $\text{N(R)}_3$ )와 접촉시키는 것을 포함한다.

[0324] 일부 구현예에서, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결의 제조를 위해, 단량체 또는 포스포아미다이트(예를 들어, DPSE 또는 PSM 포스포아미다이트)는 일반적으로 키랄적으로 풍부한 또는 순수한 형태(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 순도(예를 들어, 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%, 또는 약 100%))로 사용된다.

[0325] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물의 제조를 위한 유용한 시약을 제공한다. 일부 구현예에서, 단량체 및 포스포아미다이트는 본원에 기재된 바와 같은 뉴클레오시드, 핵염기, 및 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 당업자가 이해할 수 있는 바와 같이 핵염기 및 당은 올리고뉴클레오티드 합성을 위해 적절히 보호된다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는  $\text{R}^{\text{NS}}\text{-P(OR)N(R)}_2$ 의 구조를 가지며,  $\text{R}^{\text{NS}}$ 는 임의로 보호된 뉴클레오시드 모이어티이다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는  $\text{R}^{\text{NS}}\text{-P(OCH}_2\text{CH}_2\text{CN)N(i-Pr)}_2$ 의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는 키랄 보조 모이어티를 포함하고, 인은 키랄 보조 모이어티의 산소 및 질소 원자에 결합된다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는

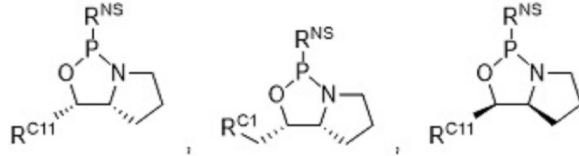


[0326] , 또는 이의 염의 구조를 가지며,  $\text{R}^{\text{NS}}$ 는 보호된 뉴클레오시드 모이어티(예를 들어, 올리고뉴클레오티드 합성을 위해 적절하게 보호된 5'-OH 및/또는 핵염기)이고, 각각의 다른 변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다.

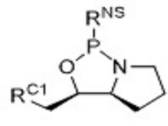


일부 구현예에서, 포스포아미다이트는  $\text{R}^{\text{NS}}$ 의 구조를 가지며,  $\text{R}^{\text{NS}}$ 는 보호된

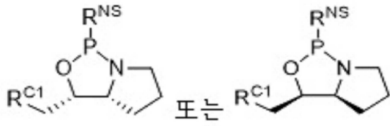
뉴클레오시드 모이어티(예를 들어, 올리고뉴클레오티드 합성을 위해 적절하게 보호된 5'-OH 및/또는 핵염기)이고,  $R^{C1}$ 은 R,  $-Si(R)_3$ , 또는  $-SO_2R$ 이고,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에도 0~2개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~7원 포화 고리를 형성하고, 커플링은 뉴클레오티드간 연결을 형성한다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 의 5'-OH는 보호된다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 의 5'-OH는 -ODMT로서 보호된다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 3'-O-를 통해 인에 결합된다. 일부 구현예에서,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 에 의해 형성되는 고리는 임의로 치환된 5



원 고리이다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는



, 또는 이의 염의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 포스포아미다이트는



의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같이  $R^{NS}$ 는 올리고뉴클레오티드 합성을 위해 임의로 보호되는 변형 핵염기(예를 들어, b001A, b002A, b003A, b008U, b001C 등)를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 -OH는 임의로 그리고 독립적으로 치환되거나 보호된다. 일부 구현예에서,  $BA^S$ 는 임의로 치환되거나 보호된 핵염기이고, 뉴클레오시드의 각각의 -OH는 독립적으로 보호되며, 여기서 적어도 하나의 -OH는 DMTrO-로서 보호된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 다른 단량체 또는 포스포아미다이트와의 커플링을 위한 -OH는 DMTrO-로서 보호된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 다른 단량체 또는 포스포아미다이트와의 커플링을 위한 -OH 기는 커플링을 위한 것이 아닌 -OH 기와 다르게 보호된다. 일부 구현예에서, DMTrO-가 탈보호될 때 보호가 유지되도록 비커플링 -OH가 보호된다. 일부 구현예에서, 비커플링 -OH는 올리고뉴클레오티드 합성 사이클 동안 보호가 유지되도록 보호된다. 일부 구현예에서,  $BA^S$ 는 A, T, C, G, U, b008U, 하이포잔틴 및 이의 호변이성체로부터 선택되는 임의로 보호된 핵염기이다. 일부 구현예에서,  $R^{NS}$ 는 본원에 기재된 임의로 치환되거나 보호된 핵염기 또는 이의 호변이성체 및 본원에 기재된 당을 포함한다.

[0327] 일부 구현예에서, 단량체 또는 포스포아미다이트의 순도 또는 입체화학적 순도는 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다.

[0328] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 제조 방법으로서, 올리고뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드의 자유 -OH, 예를 들어 자유 5'-OH를 본원에 기재된 바와 같은 단량체와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 제조 방법으로서, 올리고뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드의 자유 -OH, 예를 들어 자유 5'-OH를 본원에 기재된 바와 같은 포스포아미다이트와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0329] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드를 제공하고, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형 뉴클레오티드간 연결을 포함하고, 각각은 독립적으로  $-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$ 의 구조를 가지며,

[0330]  $P^L$ 은 P 또는 P(=W)이고,

[0331] W는 O, S, 또는 W<sup>N</sup>이고,

[0332] W<sup>N</sup>은 =N-C(-N(R<sup>1</sup>))<sub>2</sub>=N<sup>+</sup>(R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>Q<sup>-</sup>이고,

[0333] Q<sup>-</sup>는 음이온이고,

[0334]  $R^{CA}$ 는 임의로 캡핑된 키랄 보조 모이어티이거나 이를 포함하고,

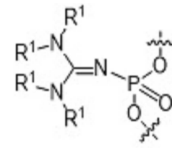
[0335]  $O^5$ 는 당의 5'-탄소에 결합된 산소이고,

[0336]  $O^3$ 는 당의 3'-탄소에 결합된 산소이다.

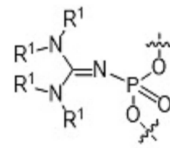
[0337] 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 임의로 키랄 제어된다. 일부 구현예에서, 변형 뉴클레오티드간 연결은 임의로 키랄 제어된다.

[0338] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 이러한 변형 뉴클레오티드간 연결로부터  $R^{CA}$ 를 제거하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 제거 후,  $R^{CA}$ 에 대한 결합은  $-OH$ 로 대체된다. 일부 구현예에서, 제거 후,  $R^{CA}$ 에 대한 결합은  $=O$ 로 대체되고,  $W$ 에 대한 결합은  $-N=C(N(R^1))_2$ 로 대체된다.

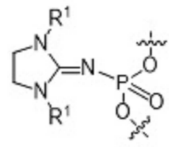
[0339] 일부 구현예에서,  $P^L$ 은  $P=S$ 이고,  $R^{CA}$ 가 제거될 때, 이러한 뉴클레오티드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결로 변환된다.



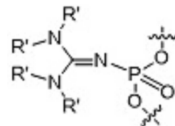
[0340] 일부 구현예에서,  $P^L$ 은  $P=W$ 이고,  $R^{CA}$ 가 제거될 때, 이러한 뉴클레오티드간 연결은



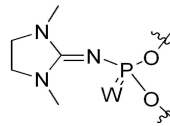
는 뉴클레오티드간 연결로 변환된다. 일부 구현예에서,



의 구조를 갖는다. 일부 구현예에서,

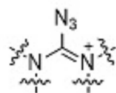


의 구조를 갖는 뉴클레오티드간 연결은



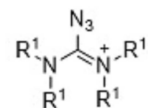
의 구조를 갖는다.

[0341] 일부 구현예에서,  $P^L$ 은  $P$ 이다(예를 들어, 포스포아미다이트와 5'-OH의 커플링으로부터 새로 형성된 뉴클레오티드간 연결에서). 일부 구현예에서,  $W$ 는  $O$  또는  $S$ 이다. 일부 구현예에서,  $W$ 는  $S$ 이다(예를 들어, 황화 후). 일부 구현예에서,  $W$ 는  $O$ 이다(예를 들어, 산화 후). 일부 구현예에서, 음으로 하전되지 않은 특정 뉴클레오티드간 연결 또는 중성 뉴클레오티드간 연결은 적합한 조건에서  $P(III)$  포스파이트 트리에스테르 뉴클레오티드간 연결을 아



지도 이미다졸리늄 염(예를 들어, 를 포함하는 화합물)과 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 일부 구

현예에서, 아지도 이미다졸리늄 염은  $PF_6^-$ 의 염이다. 일부 구현예에서, 아지도 이미다졸리늄 염은

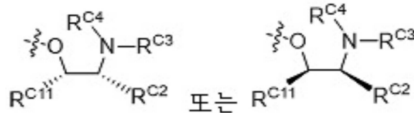


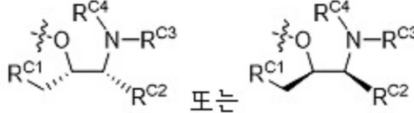
의 염이다. 일부 구현예에서, 아지도 이미다졸리늄 염은 2-아지도-1,3-디메틸이미다졸리늄 헥사플루오로포스페이트이다.

[0342] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이,  $Q^-$ 는 시스템에(예를 들어, 올리고뉴클레오티드 합성에서) 존재하는 다양한

적합한 음이온일 수 있고, 사이클, 공정 단계, 시약, 용매 등에 따라 올리고뉴클레오타이드 제조 공정 중에 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, Q는 PF<sub>6</sub><sup>-</sup>이다.

[0343]

일부 구현예에서, R<sup>CA</sup>는  이고, R<sup>C4</sup>는 -H 또는 -C(O)R'이고, 각각의 다른

변수는 독립적으로 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, R<sup>CA</sup>는  이고, R<sup>C1</sup>은 R, -Si(R)<sub>3</sub>, 또는 -SO<sub>2</sub>R이고, R<sup>C2</sup>와 R<sup>C3</sup>는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에도 0~2개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~7원 포화 고리를 형성하고, R<sup>C4</sup>는 -H 또는 -C(O)R'이다. 일부 구현예에서, R<sup>C4</sup>는 -H이다. 일부 구현예에서, R<sup>C4</sup>는 -C(O)CH<sub>3</sub>이다. 일부 구현예에서, R<sup>C2</sup>와 R<sup>C3</sup>는 함께, 임의로 치환된 5원 고리를 형성한다.

[0344]

일부 구현예에서, R<sup>C4</sup>는 -H이다(예를 들어, 포스포아미다이트와 5'-OH의 커플링으로부터 새로 형성된 뉴클레오타이드간 연결에서). 일부 구현예에서, R<sup>C4</sup>는 -C(O)R이다(예를 들어, 아민의 캡핑 후). 일부 구현예에서, R은 메틸이다.

[0345]

일부 구현예에서, 각각의 키랄 제어 포스포리티오에이트 뉴클레오타이드간 연결은 독립적으로 -O<sup>5</sup>-P<sup>L</sup>(W)(R<sup>CA</sup>)-O<sup>3</sup>-로부터 변환된다.

[0346]

일부 구현예에서, 링커(예를 들어, L001)는 적합한 포스포아미다이트와의 커플링을 통해 사이클을 통해 설치된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티(예를 들어, Mod001)는 링커(예를 들어, L001)에 커플링된다. 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티, 또는 추가의 화학적 모이어티 및 링커는 각각 추가의 화학적 모이어티, 또는 추가의 화학적 모이어티 및 링커를 포함하는 포스포아미다이트와의 커플링을 통해 사이클을 통해 설치된다.

[0347]

제공된 기술의 평가/특성화

[0348]

당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 다양한 기술이 본 발명에 따라 제공된 기술을 평가/특성화하기 위해 이용될 수 있다. 특성의 유용한 기술은 실시예에 설명되어 있으며; 나타난 바와 같이, 특히 본 발명은 제공된 기술을 평가하고 특성화하는 데 적합한 다양한 생체내 및 시험관내 기술을 설명한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 외인성 ADAR 폴리펩티드의 존재 또는 부재하에, 예를 들어 세포에서 평가/특성화된다. 추가적으로 또는 대안적으로 일부 구현예에서, 제공된 기술은 예를 들어 동물(예: 비인간 영장류 및 마우스)에서 평가/특성화된다.

[0349]

일부 구현예에서, 세포 및/또는 비인간 동물은 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부를 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 이러한 세포 및 인간은 제공된 기술을 평가하고 특성화하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 p110 폴리펩티드 또는 이의 특징부이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 p150 폴리펩티드 또는 이의 특징부이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 p110 펩티드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 p150 펩티드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1의 다음 도메인 중 하나 이상 또는 전부이거나 하나 이상 또는 전부를 포함한다: Z-DNA 결합 도메인, dsRNA 결합 도메인, 및 디아미나제 도메인. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 Z-DNA 결합 도메인 중 하나 또는 둘 다이거나 이를 포함하고; 대안적으로 또는 추가적으로 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 ADAR1 dsRNA 결합 도메인 중 1개, 2개, 또는 전부이거나 이를 포함하고; 대안적으로 또는 추가적으로 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 인간 디아미나

제 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부는 마우스 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부와 함께 발현될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 인간 dsRNA 결합 도메인은 마우스 디아미나제 도메인과 함께 발현되어 인간-마우스 하이브리드 ADAR1 폴리펩티드를 형성하도록 조작될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 및/또는 비인간 동물은 본원에 기재된 바와 같은 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함 및/또는 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 세포 및/또는 비인간 동물의 게놈은 본원에 기재된 바와 같은 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 세포 및/또는 비인간 동물의 생식계 게놈은 본원에 기재된 바와 같은 인간 ADAR1 폴리펩티드 또는 이의 특징부를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 세포 및 비인간 동물은 G에서 A로의 하나 이상의 돌연변이(각각은 독립적으로 병태, 장애 또는 질환과 관련됨)(예를 들어, A1AT 단백질의 아미노산 위치 342(E342K)에서 글루타메이트를 리신으로 치환하는 SERPINA1 유전자에서의 돌연변이(예: c. 1024G>A))를, 예를 들어 게놈(일부 구현예에서, 생식계 게놈)에, 포함하도록 조작된다. 본원에 나타난 바와 같이, 특히 이러한 세포 및 동물은 제공된 기술, 예를 들어 다양한 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을, 예를 들어 편집 특성 및/또는 활성(하나 이상의 병태, 장애 또는 질환에 대한 용도를 포함)에 대해 평가/특성화하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 세포는 설치류 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 마우스 세포이다. 일부 구현예에서, 동물은 설치류이다. 일부 구현예에서, 동물은 마우스이다.

[0350] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 인간 ADAR 폴리펩티드 또는 이의 특징부를 함유하거나 발현하지 않는 동물, 예를 들어 마우스 또는 이의 세포에서 평가된다. 일부 구현예에서, 세포, 동물 등은 G에서 A로의 돌연변이, 예를 들어 SERPINA1에서 1024 G>A를 포함하고/거나 발현하도록 조작된다.

[0351] 무엇보다도, 본 발명은 유사하거나 동일한 염기 서열이지만 기준 설계의 비견되는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 특성 및/또는 활성을 크게 개선할 수 있는, 당 변형, 염기 변형, 뉴클레오티드간 연결 변형, 연결 인 입체화학 및/또는 이의 패턴을 포함하는 올리고뉴클레오티드 설계를 제공한다. 예를 들어, 제공된 다양한 설계의 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물이 인간 ADAR 단백질을 발현하지 않는 마우스(예를 들어, 마우스 ADAR 단백질만을 발현하는 마우스)에서 높은 수준의 편집을 제공하고, 일부 구현예에서는 인간 ADAR 단백질을 발현하도록 조작된 마우스와 비슷하거나 이러한 마우스에서보다 낮지 않은 수준의 편집을 제공하는 한편, 기준 설계의 비견되는 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 인간 ADAR 단백질을 발현하지 않는 마우스(예를 들어, 마우스 ADAR 단백질만을 발현하는 마우스)에서 낮은 수준의 편집을 제공하고, 일부 구현예에서는 인간 ADAR 단백질을 발현하도록 조작된 마우스에서보다 상당히 낮은 수준의 편집을 제공함이 관찰되었다. 일부 구현예에서, 기준 설계는 WO 2016/097212, WO 2017/220751, WO 2018/041973, WO 2018/134301A1, WO 2019/158475, WO 2019/219581, WO 2020/157008, WO 2020/165077, WO 2020/201406 또는 WO 2020/252376에 보고된 설계이다. 일부 구현예에서, 기준 설계는 WO 2021/071858의 설계이다. 일부 구현예에서, 기준 설계는 WO 2022/099159의 설계이다.

[0352] 제공된 올리고뉴클레오티드, 화합물, 조성물, 방법 등을 평가하기 위한 특정 유용한 기술은 WO 2021/071858 및 WO 2022/099159에 기재되어 있고, 본원에 참조로 포함된다.

[0353] 사용 및 용도

[0354] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 올리고뉴클레오티드는 여러 목적에 유용하다. 일부 구현예에서, 제공된 기술(예를 들어, 올리고뉴클레오티드, 조성물, 방법 등)은 다양한 핵산(예를 들어, RNA) 및/또는 이에 의해 암호화된 산물(예를 들어, 단백질)의 수준 및/또는 활성을 조절하는 데 유용할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 바람직하지 않은(예를 들어, 바람직하지 않은 아데노신, 예를 들어, SERPINA1에서 1024 G>A를 포함하는) 표적 핵산 및/또는 이의 산물의 수준 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 원하는(예를 들어, 하나 이상의 위치에서 바람직하지 않은 아데노신 대신 I를 포함하는) 표적 핵산 및/또는 이의 산물의 수준 및/또는 활성을 증가시킬 수 있다.

[0355] 예를 들어 일부 구현예에서, 제공된 기술은 SERPINA1 전사체 내의 표적 아데노신의 부위-지정 편집을 위한 단일 가닥 올리고뉴클레오티드로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 발현 및 활성의 수준을 조절할 수 있다. 특히, 본 발명은 다양한 병태, 장애 또는 질환(예를 들어, G에서 A로의 돌연변이, 예컨대 SERPINA1에서 1024 G>A와 관련된 것)의 치료 및/또는 예방을 포함하는(이에 한정되지 않음) 다양한 원하는 생물학적 기능의 개선일 수 있는 제공된 기술에 의한 개선을 제공한다.

[0356] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 표적 유전자, 예를 들어, SERPINA1의 활성 및/또는 기능을 조절할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 1024 G>A가 없는 SERPINA1 전사체 및/또는 이에 의해 암호화된 산물의 수준을 증

가시키고/거나 1024 G>A가 있는 SERPINA1 전사체 및/또는 이에 의해 암호화된 산물의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0357]

일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 조성물은 병태, 장애 또는 질환과 관련된 표적 전사체(예를 들어, 1024 G>A를 포함하는 SERPINA1 전사체 및/또는 이에 의해 암호화된 산물(예를 들어, E342K A1AT)의 수준 및/또는 활성을 감소시킴으로써, 그리고 임의로 병태, 장애 또는 질환과 덜 관련되거나 관련되지 않은 전사체 및/또는 이에 의해 암호화된 산물을 제공함으로써(예를 들어, 표적 아데노신의 이노신으로의 변환에 의한 G에서 A로의 돌연변이 교정 등) 다양한 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 본 발명은 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 유효량을 이러한 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드(예: 표적 아데노신)의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물을 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오티드는 병태, 장애 또는 질환과 관련된 전사체의 일부에 부분적으로 또는 완전히 상보적인 염기 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 염기 서열은 병태, 장애 또는 질환과 관련되지 않은 다른 전사체보다 이러한 병태, 장애 또는 질환과 관련된 전사체에 우선적으로 결합하도록 하는 것이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 SERPINA1에서 G에서 A로의 돌연변이와 관련된다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이와 관련된다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 간 병태, 장애 또는 질환이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 대사성 간 병태, 장애 또는 질환이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신 결핍증이다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 절대량으로(예를 들어, 혈청 내 ng/mL) 및/또는 상대적으로(예를 들어, 총 단백질 또는 총 A1AT 단백질의 %로서) 원하는 산물(예를 들어, 혈청에서 적절하게 접힌 야생형 A1AT 단백질)의 수준, 특성 및/또는 활성을 증가시키고/시키거나 바람직하지 않은 산물(예를 들어, 혈청에서 돌연변이체(예를 들어, E342K) A1AT 단백질)의 수준, 특성 및/또는 활성을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본 발명은 대상체에게 유효량의 올리고뉴클레오티드 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 혈청 또는 혈액에서 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, A1AT 폴리펩티드는 기준 A1AT 폴리펩티드와 비교하여 하나 이상의 더 높은 활성을 제공한다. 일부 구현예에서, A1AT 폴리펩티드는 야생형 A1AT 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 방법은 혈청에서 A1AT 폴리펩티드의 양을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 방법은 혈청에서 기준 A1AT 폴리펩티드의 양을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 방법은 혈청 또는 혈액에서 기준 A1AT 폴리펩티드에 대한 A1AT 폴리펩티드의 비율을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 기준 A1AT 폴리펩티드는 돌연변이된다. 일부 구현예에서, 기준 A1AT 폴리펩티드는 적절하게 접히지 않는다. 일부 구현예에서, 기준 A1AT 폴리펩티드는 E342K A1AT 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 대상체에게 유효량의 올리고뉴클레오티드 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 혈청 또는 혈액에서 돌연변이체 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 대상체는 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓는다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신 결핍증이다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간 SERPINA1에 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 돌연변이에 대해 동형접합성이다. 일부 구현예에서, 대상체는 돌연변이에 대해 이형접합성이다.

[0358]

일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 G에서 A로의 돌연변이와 관련되지 않는다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 전사체(예를 들어, SERPINA1 전사체에서의 1024 G>A) 및/또는 암호화된 산물의 증가된 수준 및/또는 활성과 관련되고, 제공된 기술은 예를 들어, 전사체에 하나 이상의 A의 I화를 도입함으로써, 전사체 및/또는 암호화된 산물의 수준 및/또는 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 전사체 및/또는 암호화된 산물의 감소된 수준 및/또는 활성과 관련되고, 제공된 기술은 예를 들어, 전사체에 하나 이상의 A의 I화를 도입함으로써, 전사체(예를 들어, 야생형 SERPINA1 전사체) 및/또는 암호화된 산물의 수준 및/또는 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 스플라이싱과 관련되고, 제공된 기술은 전사체(예를 들어, 프리-mRNA)에 하나 이상의 A의 I화를 도입함으로써 스플라이싱 조절을 제공한다.

[0359]

일부 구현예에서, 제공된 방법의 올리고뉴클레오티드 조성물은 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 방법은 표적 전사체의 표적 서열에 상보적인 공통 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 특히, 본 발명은 시스템에서 표적 전사체와 접촉될 때, 조성물의 부재, 기준 조성물의 존재, 및 이들의 조합으로 이루어진 균으

로부터 선택되는 기준 조건에서 관찰되는 것에 비해 전사체의 아데노신 편집이 개선되는 특징으로 하는 본 발명에 기재된 바와 같은 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 올리고뉴클레오티드 조성물로서 투여하는 것을 포함하는 개선을 제공한다. 일부 구현예에서, 기준 조성물은 동일 서열 또는 구성의 올리고뉴클레오티드의 라세미 체제이다. 일부 구현예에서, 표적 전사체는 올리고뉴클레오티드 전사체이다.

[0360] 일부 구현예에서, 본 발명의 기술은 mRNA와 같은 핵산에서 A에서 I로의 편집과 같은 편집을 제공하고 이에 의해 암호화된 폴리펩티드에서 아미노산 잔기의 특성, 구조, 기능 등(예: 크기, 극성, 전하 등)을 변경할 수 있고, 폴리펩티드의 특성, 구조, 기능, 활성 수준 등을 조절할 수 있다. 예를 들어, SERPINA1에서 1024 G>A의 편집은 E342K를 교정한다. 당업자는 아미노산 잔기의 특성 조절을 통해 폴리펩티드의 다양한 특성, 기능, 구조 등, 예를 들어 안정성, 위치화, 가공, 접힘, 상호작용, 변형 등이 다양한 특성, 기능, 구조 등의 비견되는 수준으로의 증진, 감소 및/또는 유지를 독립적으로 포함하여 독립적으로 조절될 수 있음을 인식하고, 일부 구현예에서는 새로운 특성, 기능, 구조 등이 도입될 수 있다.

[0361] 일부 구현예에서, 본 발명은 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 당업자는 예를 들어 RNA에서 A와 같은 핵염기 편집을 통해 이에 의해 암호화되는 단백질이 편집될 수 있음을 이해한다. 일부 구현예에서, 아미노산 잔기는 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 일부 구현예에서, 발현, 수준, 기능, 안정성, 특성 및/또는 활성이 조절된다.

[0362] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 단백질 기능을 수정한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 핵산(예를 들어, 전사체) 및/또는 단백질의 하나 이상의 특성 및/또는 기능을 변경한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 핵산(예를 들어, 전사체) 및/또는 단백질의 하나 이상의 특성 및/또는 기능을 증가, 촉진 또는 증진시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 예를 들어, 핵산(예를 들어, 전사체) 및/또는 단백질의 하나 이상의 새로운 특성 및/또는 활성을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 핵산(예를 들어, 전사체) 및/또는 단백질의 하나 이상의 특성 및/또는 기능을 감소, 억제 또는 제거한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 단백질 프로세싱을 변경한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 프로테아제 절단 부위는 편집된다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 단백질-단백질 상호작용에 관련된 하나 이상의 잔기를 편집한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 단백질-단백질 상호작용 도메인에서 아미노산 잔기를 편집한다. 일부 구현예에서, 단백질을 암호화하는 mRNA를 편집함으로써, 폴리펩티드의 다양한 영역, 예를 들어, 프로테아제 절단 부위, 다양한 도메인(예를 들어, 단백질-단백질 상호작용 도메인), 변형 부위, miRNA 표적화 부위, 유비퀴틴화 부위 등에 있는 잔기가 편집될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 신호전달 경로를 조절한다.

[0363] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 기능성 단백질, 예를 들어, 야생형 A1AT의 수준을 복원, 증가 또는 증진시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 돌연변이체 또는 바람직하지 않은 핵산(예를 들어, SERPINA1 전사체에서의 1024 G>A) 및 단백질(예를 들어, E342K A1AT)의 수준 및/또는 활성을 감소시킨다.

[0364] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 효소 활성을 조절한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 예를 들어 효소 활성을 증가시킬 수 있는 아미노산 잔기를 암호화하는 코돈으로 코돈을 편집함으로써 효소 활성을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 효소 활성을 감소시킬 수 있는 아미노산 잔기를 암호화하는 코돈으로 코돈을 편집함으로써 효소 활성, 예를 들어 병태, 장애 또는 질환과 관련된 것들을 감소시킨다. 이러한 활성에 관련된 아미노산 잔기를 갖는 많은 경우에 다양한 효소 활성이 보고되어 있거나 확인 및 특성화될 수 있고 본 발명에 따라 조절될 수 있다. 일부 구현예에서, 활성은 키나제 활성이다.

[0365] 일부 구현예에서, (예를 들어, 하나 이상의 아미노산 잔기를 변경하기 위하여 이의 암호화 mRNA의 편집을 통한) 단백질의 편집은 해당 단백질 또는 이와 상호작용하는 단백질의 분해를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 이의 수준을 상향 조절한다. 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 단백질 프로세싱을 조절한다. 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 이의 접힘을 조절한다. 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 이의 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 단백질 변형을 조절한다(예를 들어, 변형 부위의 증가, 감소, 제거 또는 도입 등). 일부 구현예에서, 단백질의 편집은 번역 후 변형을 조절한다(예를 들어, 변형 부위의 증가, 감소, 제거 또는 도입 등). 일부 구현예에서, 제공된 기술은 치매, 가족성 간질, 신경병성 통증, 신경근 장애, 치매, 반수 결실 돌연변이 질환, 기능 상실 병태, 장애 또는 질환 등과 같은 관련 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 데 유용하다.

[0366] 일부 구현예에서, 본원의 기술은 핵산(예: 다양한 전사체와 같은 RNA)의 활성을 조절한다. 일부 구현예에서, 본원의 기술은 핵산(예를 들어, 다양한 전사체와 같은 RNA)의 활성 수준을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 본원의

기술은 핵산(예를 들어, 다양한 전사체와 같은 RNA)의 활성 수준을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 활성은 아데노신 편집 이전에는 관찰되지 않은 새로운 활성이다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신의 편집은 핵산(예를 들어, 다양한 전사체와 같은 RNA)과 다른 작용제, 예를 들어 핵산, 폴리펩티드 등과의 상호작용을 조절할 수 있다. 일부 구현예에서 상호작용은 증진된다. 일부 구현예에서는 상호작용은 감소된다. 당업자는 일부 구현예에서 핵산 상호작용이 독립적으로 조절될 수 있음을 인식한다. 일부 구현예에서, 핵산과 상호작용 물질 사이의 상호작용은 어떤 상황에서는 증진될 수 있지만 다른 상황에서는 비견되는 수준으로 감소되거나 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 상호작용은 아데노신 편집 이전에는 관찰되지 않는다. 일부 구현예에서, 기능적 모티프의 아데노신이 편집된다. 당업자는 다양한 기능적 모티프가 보고되었으며 기능적 모티프를 식별하기 위해 다양한 도구가 개발되었고/되었거나 개발될 수 있음을 인식한다. 일부 구현예에서, 본원의 기술은 다양한 기능성 모티프를 포함하는 다양한 핵산의 특성, 구조, 기능, 활성 수준 등을 조절하기 위해 다양한 기능성 모티프에서 아데노신을 편집하는 데 사용된다.

[0367] 본 발명의 기술은 다양한 유형의 세포, 조직, 기관 및/또는 유기체에서 효율적인 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간에서 효율적인 편집을 제공할 수 있다.

[0368] 특정 적용은 예를 들어 WO 2016/097212, WO 2017/220751, WO 2018/041973, WO 2018/134301A1, WO 2020/154344, WO 2020/154343, WO 2020/154342, WO 2020/165077, WO 2020/201406, WO 2020/216637, 또는 WO 2020/252376에 기재되어 있다.

[0369] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물이 시스템에서 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산과 접촉될 때, 표적 핵산 내의 표적 아데노신은 변형된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물이 시스템에서 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산과 접촉될 때, 표적 핵산의 수준은 산물의 부재 또는 기준 올리고뉴클레오티드의 존재에 비해 감소된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물이 시스템에서 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산과 접촉될 때, 표적 핵산 또는 이의 산물의 스플라이싱은 올리고뉴클레오티드의 부재 또는 기준 올리고뉴클레오티드의 존재에 비해 변경된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물이 시스템에서 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산과 접촉될 때, 표적 핵산의 산물의 수준은 산물의 부재 또는 기준 올리고뉴클레오티드의 존재에 비해 변경된다. 일부 구현예에서, 산물 수준이 증가되고, 산물은 표적 아데노신이 변형되는 것을 제외하고는 표적 핵산과 동일한 핵산이거나 이에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 산물 수준이 증가되고, 산물은 표적 아데노신이 이노신으로 대체되는 것을 제외하고는 표적 핵산과 동일한 핵산이거나 이에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 산물 수준이 증가되고, 산물은 표적 아데노신의 아데닌이 구아닌으로 대체되는 것을 제외하고는 표적 핵산과 동일한 핵산이거나 이에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 산물은 단백질이다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신은 구아닌으로부터의 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신은 동일한 위치의 구아닌보다 병태, 장애 또는 질환과 더 관련이 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산과 이중가닥 복합체를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 핵산 또는 이의 일부는 RNA이거나 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적은 아데노신은 RNA의 것이다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신이 변형되고, 변형은 표적 아데노신의 탈아미노화이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신이 변형되고, 변형은 표적 아데노신의 이노신으로의 변환이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 변형은 ADAR 단백질에 의해 촉진된다. 일부 구현예에서, 시스템은 ADAR 단백질을 포함하는 시험관내 또는 생체외 시스템이다. 일부 구현예에서, 시스템은 ADAR 단백질을 포함하거나 발현하는 세포이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 ADAR 단백질을 포함하거나 발현하는 세포를 포함하는 대상체이다. 일부 구현예에서, ADAR 단백질은 ADAR1이다. 일부 구현예에서, ADAR1 단백질은 p110 동형이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, ADAR1 단백질은 p150 동형이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, ADAR1 단백질은 p110 및 p150 동형이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, ADAR 단백질은 ADAR2이다. 본원에 나타난 바와 같이, 본 발명은 특히, 표적 부위(예를 들어, 표적 A를 포함하는 부위)에 효소를 보충하기 위한 기술로서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물을 이러한 표적 부위와 접촉시키거나, 이러한 표적 부위를 포함하는 폴리뉴클레오티드(예: RNA)를 포함하거나 발현하는 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 효소는 본원에 기재된 바와 같은 RNA-편집 효소, 예컨대 ADAR1, ADAR2 등이다.

[0370] 일부 구현예에서, 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 조성물은 비견되는 기준 올리고뉴클레오티드 조성물에서 관찰되는 것보다 더 큰 수준을 제공한다(예를 들어, 표적 아데노신이 더 큰 수준으로 변형됨). 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오티드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하지 않거나 더 낮은 수준으로 포함한다. 일부 구현예에서, 기준 조성물은 복수의 올리고뉴클레오티드와 동일한 구성을 갖는 올

리고뉴클레오타이드를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 기준 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드를 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 복수의 올리고뉴클레오타이드에 비해 더 낮은 수준의 2'-F 변형을 포함하는 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 복수의 올리고뉴클레오타이드에 비해 더 낮은 수준의 2'-OMe 변형을 포함하는 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 복수의 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 상이한 당 변형 패턴을 갖는 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 복수의 올리고뉴클레오타이드에 비해 더 낮은 수준의 변형 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 복수의 올리고뉴클레오타이드에 비해 더 낮은 수준의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 조성물이다. 일부 구현예에서, 조성물은 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 조성물은 복수의 올리고뉴클레오타이드와 동일한 구성의 올리고뉴클레오타이드의 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물이다.

[0371] 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 핵산에서 표적 아데노신을 변형시키는 기술로서, 표적 핵산을 본원에 기재된 바와 같은 제공된 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 핵산에서 표적 아데노신을 탈아미노화하는 방법으로서, 표적 핵산을 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오타이드 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 특정 핵산의 산물을 생성하거나, 특정 핵산의 산물 수준을 복원 또는 증가시키는 방법으로서, 표적 핵산을 제공된 올리고뉴클레오타이드 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고, 특정 핵산은 표적 아데노신 대신 I 또는 G를 갖는다는 점에서 표적 핵산과 상이한, 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 핵산의 산물 수준을 감소시키는 방법으로서, 표적 핵산을 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하는, 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 산물은 단백질이다. 일부 구현예에서, 산물은 mRNA이다.

[0372] 특히, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 설계, 예를 들어 핵염기, 당, 뉴클레오타이드간 연결 변형, 연결 인 입체화학의 제어, 및/또는 이의 패턴은 종래 기술을 개선하는 데 적용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 구조적 특징, 예를 들어 핵염기, 당, 뉴클레오타이드간 연결 변형, 연결 인 입체화학의 제어, 및/또는 이의 패턴을 종래 기술의 올리고뉴클레오타이드에 도입함으로써 종래 기술에 대한 개선을 제공한다. 일부 구현예에서, 개선은 연결 인 입체화학의 제어로부터의 개선이거나 이를 포함한다.

[0373] 일부 구현예에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 설계(예를 들어, 하나 이상의 변형 및/또는 이의 패턴)를 올리고뉴클레오타이드에 통합하는 것을 포함하는, 폴리펩티드, 예를 들어 ADAR1, ADAR2 등에 의한 아데노신 편집을 개선하기 위한 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 설계는 예를 들어, 표적 아데노신의 반대편 위치 및/또는 이의 인접 위치 중 하나 또는 둘 다에서 본원에 기재된 바와 같은 변형된 염기이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 설계는 하나 이상의 당 변형 및/또는 이의 패턴, 하나 이상의 염기 변형 및/또는 이의 패턴, 하나 이상의 변형 뉴클레오타이드간 연결 및/또는 이의 패턴, 및/또는 하나 이상의 위치에서의 제어된 입체화학 및/또는 이의 패턴이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 ADAR2보다 많이 ADAR1에 의한 편집을 개선한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 ADAR1보다 많이 ADAR2에 의한 편집을 개선한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 p150보다 많이 ADAR1 p110에 의한 편집을 개선한다(예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 위치에서 Rp (예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결의)). 일부 구현예에서, 제공된 기술은 p110보다 많이 ADAR1 p150에 의한 편집을 개선한다.

[0374] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 아데노신 편집 폴리펩티드, 예를 들어, ADAR1(p110 또는 p150) 또는 ADAR2, 또는 이의 일부의 수준을 증가시키는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 증가는 외인성 폴리펩티드의 발현을 통해 이루어진다.

[0375] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 조성물은 핵산의 현저한 분해를 일으키지 않는다(예를 들어, 최대 약 5%~100%(예를 들어, 최대 약 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)). 일부 구현예에서, 조성물은

표적 핵산에서 현저한 바람직하지 않은 엑손 스킵핑 또는 변경된 엑손 포함을 일으키지 않는다(예를 들어, 최대 약 5%~100%(예를 들어, 최대 약 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)).

[0376] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 높은 수준의 아데노신 편집(예를 들어, 이노신으로의 변환)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 아데노신 편집의 백분율은 약 10%~100%, 예를 들어 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 10%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 15%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 20%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 25%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 30%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 35%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 40%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 45%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 50%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 60%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 70%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 75%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 85%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 100%이다.

[0377] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물은 (예를 들어, 표적 아데노신을 이노신으로 변형하여) 표적 핵산 또는 이의 산물의 발현 또는 수준 감소를 매개할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물은 시험관내 세포에서 (예를 들어, 표적 아데노신을 이노신으로 변형하여) 표적 유전자 또는 이의 유전자 산물의 발현 또는 수준 감소를 매개할 수 있다. 일부 구현예에서, 발현 또는 수준은 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 유전자 또는 이의 유전자 산물의 발현 또는 수준은 예를 들어 시험관내 세포(들)에서 10 nM 이하 농도의 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물에 의해 지시된 ADAR 매개 탈아미노화에 의해 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%만큼 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물은 (예를 들어 시험관내 또는 생체내 세포에서 분석될 때) 1 nM, 5 nM, 10 nM 이하의 농도에서, 적합한 수준의 활성을 제공할 수 있다.

[0378] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 조성물의 활성은, 적합한 조건, 예를 들어 세포 기반 시험관내 분석에서 표적 핵산 또는 이의 산물의 수준을 50% 감소시키는 억제 농도인 IC50에 의해 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 예를 들어 세포 기반 분석으로 평가할 때, 최대 0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 50, 100, 200, 500, 또는 1000 nM의 IC50을 갖는다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 500 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 200 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 100 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 50 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 25 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 10 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 5 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 2 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 1 nM이다. 일부 구현예에서, IC50은 최대 약 0.5 nM이다.

[0379] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 표적 아데노신에서 다른 아데노신 잔기에 비해 선택적인 표적 아데노신 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 비-표적 아데노신에 대한 표적 아데노신의 선택성은 적어도 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100배 이상이다(예를 들어, 적합한 조건에서 비-표적 아데노신에 대한 표적 아데노신의 편집 수준에 의해, 또는 특정 편집 수준(예를 들어, 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% 등)에 대한 올리고뉴클레오티드 농도에 의해 측정). 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 2배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 3배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 4배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 5배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 10배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 25배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 50배이다. 일부 구현예에서, 선택성은 적어도 약 100배이다.

[0380] 일부 구현예에서, 본 발명은 집단 내에 하나 이상의 유사한 핵산 서열이 존재하는 표적 핵산 서열로부터의 전사체를 억제하는 방법을 제공하며, 표적 및 유사 서열은 각각 유사 서열에 대해 표적 서열을 정의하는 특징적 특징적 서열 요소를 포함하고, 상기 방법은 표적 핵산 서열의 전사체를 올리고뉴클레오티드, 또는 공통 염기 서열을 공유하는 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하고, 올리고뉴클레오티드의 염기 서열, 또는 복수의 올리고뉴클레오티드의 공통 염기 서열은 표적 핵산 서열을 정의하는 특징적 서열 요소에 상보적인 서열이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적 핵산 서열 및 유사한 핵산 서열 둘 다의 전사

체를 포함하는 시스템과 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물이 접촉될 때, 표적 핵산 서열의 전사체는 유사한 핵산 서열에 대해 관찰되는 억제 수준보다 더 큰 수준으로 억제된다. 일부 구현예에서, 표적 핵산 서열의 전사체의 억제는 유사한 핵산 서열에서 관찰되는 억제보다 1.1~100, 2~100, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10배 더 클 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 핵산 서열은 병태, 장애 또는 질환과 관련된다(또는 유사한 핵산 서열과 비교하여 더 많이 관련된다). 당업자가 이해할 수 있는 바와 같이, 병태, 장애 또는 질환과 관련되지 않거나 덜 관련된 전사체를 유지하면서, 병태, 장애 또는 질환과 관련된 전사체(및/또는 이의 산물)를 선택적으로 감소시키면, 하나 이상의 원하는 생물학적 기능(특히, 더 적거나 덜 심각한 부작용을 제공할 수 있음)을 유지하면서 질환 치료 및/또는 예방을 제공하는 것과 같은 많은 이점을 제공할 수 있다.

[0381] 일부 구현예에서, 본원에 나타낸 바와 같이, 선택성은 시스템, 예를 들어 본원에 기재된 리포터 분석에서 적어도 10배, 또는 20, 30, 40, 또는 50배 이상이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 시스템에서 야생형 단백질의 수준을 유지하면서(예를 들어, 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상의 야생형 단백질이 남아 있음), 돌연변이 단백질의 수준을 효과적으로 감소시킬 수 있다(예를 들어, 돌연변이 단백질의 적어도 50%, 60%, 70% 이상 감소). 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 다양한 생물학적 시스템, 예를 들어 마우스 뇌 균질액에서 안정적이다(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8일 후 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상 남아 있음). 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 낮은 독성을 갖는다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물, 예를 들어 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 TLR9을 유의하게 활성화하지 않는다(예를 들어, 기준 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물(예를 들어, 상응하는 입체무작위 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물)과 비교할 때). 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물, 예를 들어 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 보체 활성화를 유의하게 유도하지 않는다(예를 들어, 기준 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물(예를 들어, 상응하는 입체무작위 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물)과 비교할 때).

[0382] 다양한 용도에 있어서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및/또는 조성물은 제약 조성물로서 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 유효량을 포함하거나 전달하는 제약 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 올리고뉴클레오티드의 다양한 형태, 예를 들어 산, 염기, 다양한 제약상 허용가능한 염 형태를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 나트륨 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 칼륨 염이다. 일부 구현예에서, 제약상 허용가능한 염은 아민 염(예를 들어, N(R)<sub>3</sub>의 구조를 갖는 아민의 염)이다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 제약상 허용가능한 담체를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 액체 용액이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 액체 조성물은 예를 들어 생리학적 pH 또는 그 부근의 제어된 pH 범위를 갖는다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 헵크스 용액, 링거 용액, 뇌척수액, 인공 뇌척수액(aCSF) 또는 생리 식염수 완충액과 같은 생리학적으로 적합한 완충액 중 용액을 포함하거나 이로 제형화된다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 인공 뇌 척수액(aCSF) 중 용액을 포함하거나 이로 제형화된다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 주사가능한 현탁액 또는 용액이다. 특정 구현예에서, 적절한 액체 담체, 현탁제 등을 사용하여 주사가능한 현탁액 또는 용액을 제조한다. 제약 조성물은 다양한 적합한 경로로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 제약 조성물은 예를 들어, 드렌치(수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액), 정제, 예를 들어 협측, 설하, 및 전신 흡수용으로 표적화된 것, 볼루스, 산제, 과립, 혀의 적용을 위한 페이스트와 같은 경구 투여용; 예를 들어, 헵크스 용액, 링거 용액, 인공 뇌척수액(aCSF) 또는 생리 식염수 완충액과 같은 생리학적으로 적합한 완충액 중에서, 예를 들어, 살균 용액 또는 현탁액, 또는 서방형 제형으로서, 예를 들어 피하, 근육내, 정맥내, 척수강내, 뇌실내, 유리체강내, 망막하, 맥락막상 또는 경막외 주사에 의한 비경구 투여용; 예를 들어, 피부, 폐 또는 구강에 적용되는 크림, 연고 또는 제어 방출 패치 또는 스프레이로서의 국소 적용용; 예를 들어 폐서리, 크림 또는 폼으로서의 질내 또는 직장내 투여용; 설하 투여용; 눈 투여용; 경피 투여용; 또는 비강, 폐 및 다른 점막 표면 투여용으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 본원의 기술은 다양한 전달 이점, 예를 들어 높은 전달 효율, 지질 비히클 없는 전달 등을 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 비경구로 투여되거나 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 정맥내로 투여되거나 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 척수강내로 투여되거나 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 유리체강내로 투여되거나 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 피하로 투여되거나 전달된다.

[0383] 특히, 본 발명은 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하기 위한 기술을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 유효량을 투여 또는 전달하는 단계를 포함하는 방법

을 제공한다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 A에서 I로의 변환이 잘 일어난다(예를 들어, 그로부터 이익을 얻을 수 있다). 일부 구현예에서, 본 발명은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하기 위한 방법으로서, 이러한 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 G에서 A로의 돌연변이가 잘 일어나는 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하기 위한 방법으로서, 이러한 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 올리고뉴클레오티드 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 조성물 내의 올리고뉴클레오티드의 염기 서열은 표적 아데노신을 포함하는 표적 핵산의 염기 서열에 실질적으로 상보적이다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환과 관련된 세포, 조직 또는 기관은 ADAR 단백질을 포함하거나 발현한다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환과 관련된 세포, 조직 또는 기관은 ADAR1(예를 들어, p110 및/또는 p150 형태)을 포함하거나 발현한다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환과 관련된 세포, 조직 또는 기관은 ADAR2를 포함하거나 발현한다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 본원에 기재된 바와 같다. 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신 결핍증이다. 일부 구현예에서, 방법은 표적 아데노신을 I로 변환하는 단계를 포함한다.

[0384] 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 서열에 상보적인 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 부위-특이적(부위-지정이라고도 함) 편집(예: 탈아미노화)을 지시하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 ADAR(예를 들어, 내인성 ADAR)에 의해 매개되는 부위-특이적 아데노신 편집을 지시하는 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 다양한 제공된 올리고뉴클레오티드가 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 단일가닥 올리고뉴클레오티드로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 사용하여 표적 서열 내의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 예를 들어 표적 서열 내의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 대한 의약으로서 사용하기 위한 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 서열 내의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료에 사용하기 위한 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 서열 내의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료용 의약의 제조를 위한 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물을 제공한다.

[0385] 일부 구현예에서, 본 발명은 표적 서열 내의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에서 이를 예방, 치료 또는 개선하기 위한 방법으로서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 제약 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0386] 일부 구현예에서, 본 발명은 세포의 표적 서열에서 표적 아데노신을 탈아미노화하는 방법으로서, 세포를 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 세포의 표적 서열(예를 들어, 전사체)에서 표적 아데노신을 탈아미노화하는 방법으로서, 세포를 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 세포에서의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 단백질의 수준을 감소시키는 방법으로서, 세포를 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환과 관련된 전사체 및/또는 이에 의해 암호화된 산물의 수준을 선택적으로 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 표적 A의 위치에 G를 갖는 것 외에는 동일한 핵산에 비해 바람직하지 않은 A를 포함하는 표적 핵산, 예를 들어 전사체(예를 들어, G에서 A로의 돌연변이)를 선택적으로 편집할 수 있다.

[0387] 일부 구현예에서, 본 발명은 돌연변이 유전자(예를 들어, G에서 A로의 돌연변이) 발현의 감소를 필요로 하는 포유동물에서 이를 감소시키는 방법으로서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조성물을 포함하는 핵산-지질 입자를 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0388] 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오티드의 생체내 전달 방법으로서, 올리고뉴클레오티드 또는 이의 조

성물을 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

- [0389] 일부 구현예에서, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료에 적합한 대상체 또는 환자는 건강 관리 전문가에 의해 확인되거나 진단될 수 있다.
- [0390] 일부 구현예에서, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 증상은 A에서 I로의 변환으로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 병태, 장애 또는 질환일 수 있다.
- [0391] 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오타이드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 조성물은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환, 또는 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 증상을 예방, 치료, 개선하거나 그 진행을 늦출 수 있다.
- [0392] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 대상체에서의 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료를 위한 것일 수 있으며, 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 제약 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0393] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 증상을 감소시킬 수 있으며, 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 제약 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0394] 일부 구현예에서, 환자 또는 대상체에게 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 것은 다음 중 임의의 하나 이상을 매개할 수 있다: G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 진행을 늦추는 것; G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환 또는 이의 적어도 하나의 증상의 발병을 지연시키는 것; G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 하나 이상의 지표를 개선시키는 것; 및/또는 환자 또는 대상체의 생존기간 또는 수명을 증가시키는 것.
- [0395] 일부 구현예에서, 질환 진행을 늦추는 것은 본원에 기재된 것과 같은, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 개체에서의 하나 이상의 임상 파라미터의 임상적으로 바람직하지 않은 변화의 예방 또는 지연과 관련될 수 있다. 본원에 설명된 질환 평가 테스트 중 하나 이상을 사용하여, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 개체에서 질환 진행의 둔화를 확인하는 것은 의사의 능력 범위 내에 있다. 추가로, 의사는 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 개체의 질환 진행 속도를 평가하기 위해 본원에 기재된 것 이외의 진단 테스트를 개체에게 실시할 수 있음이 이해된다.
- [0396] 의사는 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 가족력, 또는 유사한 유전자 프로필을 가진 다른 환자와의 비교를 사용할 수 있다.
- [0397] 일부 구현예에서, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 지표는 병태, 장애 또는 질환의 진행을 진단하거나 측정하기 위해 의사와 같은 의료 전문가가 사용하는 파라미터를 포함한다.
- [0398] 일부 구현예에서, 대상체는 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 조성물 및 추가 제제 및/또는 방법, 예를 들어 추가 치료제 및/또는 방법을 투여받는다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 조성물은 단독으로 또는 하나 이상의 추가 치료제 및/또는 치료와 조합하여 투여될 수 있다. 조합하여 투여되는 경우, 각각의 성분은 동시에 투여되거나, 상이한 시점에 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 각각의 성분은 개별적으로 투여될 수 있지만 시간적으로 충분히 가깝게 투여되어 원하는 치료 효과를 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드 및 추가 치료 성분은 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드 및 추가 치료 성분은 하나의 조성물로서 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여되는 대상체는 제공된 올리고뉴클레오타이드 및 추가 성분 둘 다에 소정 시점에 동시에 노출될 수 있다.
- [0399] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물은 전달될 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물 및 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 접합체의 투여를 통해 예를 들어 세포, 조직, 기관 등에 전달된다. 일부 구현예에서, 전달될 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물 및 추가의 화학적 모이어티는 임의로 링커를 통해 접합된다. 일부 구현예에서, 전달될 올리고뉴클레오타이드 또는 화합물은 추가의 화학적 모이어티 및/또는 링커가 절단된 후 세포, 조직, 기관 등에서 방출된다.
- [0400] 일부 구현예에서, 추가 제제는 올리고뉴클레오타이드에 물리적으로 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 제제는 GalNAc이다. 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오타이드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오타이드는 추가 제제와 물리적으로 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 제제인 올리고뉴클레오

티드는 본 명세서에 기재된 바와 같은 염기 서열, 당, 핵염기, 뉴클레오타이드간 연결, 당, 핵염기, 및/또는 뉴클레오타이드간 연결 변형 패턴, 백본 키랄 중심 패턴 등, 또는 이들의 임의의 조합을 가질 수 있고, 각각의 T는 독립적으로 U로 대체될 수 있고 그 반대도 가능하다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적 서열의 발현, 활성 및/또는 수준을 (직접 또는 간접적으로) 감소시킬 수 있거나, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 데 유용한 제2 올리고뉴클레오타이드에 물리적으로 접합된다.

- [0401] 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오타이드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오타이드는 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환에 대한 하나 이상의 추가(또는 제2의) 치료제와 함께 투여될 수 있다.
- [0402] 일부 구현예에서, 대상체에는 올리고뉴클레오타이드 및 추가 치료제가 투여될 수 있고, 추가 치료제는 치료될 병태, 장애 또는 질환의 치료에 유용한 본원에 기재되거나 당업계에 알려진 제제이다.
- [0403] 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오타이드의 부위-지정 편집을 위한 제공된 단일가닥 올리고뉴클레오타이드는 병태, 장애 또는 질환, 또는 이의 증상에 대한 하나 이상의 치료(엡타머, lncRNA, lncRNA 억제제, 항체, 펩티드, 소분자, 다른 표적에 대한 다른 올리고뉴클레오타이드를 포함하지만, 이에 한정되지 않음)와 함께 공동 투여되거나 치료 요법의 일부로 사용될 수 있다.
- [0404] 일부 구현예에서, 추가 치료적 처치는 유전자 편집 방법이다.
- [0405] 일부 구현예에서, 추가 치료제는 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0406] 일부 구현예에서, 제2 또는 추가 치료제는 올리고뉴클레오타이드 이전에, 이와 동시에, 또는 이후에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 또는 추가 치료제는 대상체에게 다회 투여될 수 있고, 올리고뉴클레오타이드도 대상체에게 다회 투여되고, 투여는 임의의 순서로 이루어진다.
- [0407] 일부 구현예에서, 개선은 질환 상태에서 너무 높은 유전자 또는 유전자 산물의 발현, 활성 및/또는 수준을 감소시키는 것; 질환 상태에서 너무 낮은 유전자 또는 유전자 생성물의 발현, 활성 및/또는 수준을 증가시키는 것; 및/또는 유전자 또는 유전자 산물의 돌연변이 및/또는 질환-관련 변이체의 발현, 활성 및/또는 수준을 감소시키는 것을 포함할 수 있다.
- [0408] 일부 구현예에서, G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환의 치료, 개선 및/또는 예방에 유용한 올리고뉴클레오타이드 또는 조성물은 다양한 적합한 이용가능한 기술을 통해 (예를 들어, 대상체에게) 투여될 수 있다.
- [0409] 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오타이드의 부위-지정 편집을 위한 단일가닥 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어 병태, 장애 또는 질환의 치료, 개선 및/또는 예방을 위한, 제약 조성물로서 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 키랄 제어 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드 조성물은 키랄 제어된다.
- [0410] 특히, 본 발명의 기술, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물은 기준 기술(예를 들어, 키랄 제어의 부재 또는 낮은 수준(예를 들어, (예를 들어, 동일 염기 서열 또는 동일 구성 등의 올리고뉴클레오타이드의) 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물), 및/또는 특정 변형 및 이의 패턴(예를 들어, 2'-F, 음으로 하전되지 않은 뉴클레오타이드간 연결 등)의 부재 또는 낮은 수준)과 비교하여 다양한 개선 및 이점, 예컨대 개선된 안정성, 전달, 편집 효율, 약동학, 및/또는 약력학을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 동일 염기 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 동일 구성을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 입체무작위 올리고뉴클레오타이드 조성물이다(당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 일부 구현예에서, 다양한 염 형태는 동일한 구성을 갖는 것으로 적절하게 간주될 수 있음). 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드는 음으로 하전되지 않은 뉴클레오타이드간 연결을 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드는 n001을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 음으로 하전되지 않은 뉴클레오타이드간 연결을 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드의 조성물이다. 일부 구현예에서, 기준 올리고뉴클레오타이드 조성물은 n001을 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드의 조성물이다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 기준 기술에 비해 (예를 들어, 비견되거나 더 우수한 효과를 달성하기 위해) 더 낮은 단위 또는 총 용량으로 사용될 수 있고/있거나 더 적은 용량 및/또는 더 긴 용량 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 더 긴 편집 내구성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 일단 투여되면 일정 기간 동안, 예를 들어 마지막 투여 후 약 또는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60일 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, 또는 10개월 동안 활성, 예를 들어 표적 편집을 특정 수준(예를 들어, 특정 생물학적 및/또는 치료 효과를 제공하기에 유용하고/하거나 충분한 수준) 이상으로 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 낮은 독성을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 기존 기술에 비해 (예를 들어, 더 우수한 효과를 달성하기 위해) 더 높은 단위 또는 총 용량으로 사용될 수 있고/있거나 더 많은 용량 및/또는 더 짧은 용량 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 총 용량은 단일 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 총 용량은 2회 이상의 단일 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 단일 용량으로 투여되는 총 용량은 2회 이상의 단일 용량으로 투여할 때와 비교하여 더 높은 최대 편집 수준을 제공할 수 있다.

- [0411] 일부 경우에, 올리고뉴클레오티드를 의약으로 투여받은 환자는 혈소판 감소증, 신장 독성, 사구체신염 및/또는 응고 이상; 유전독성, 표적 기관의 반복투여독성 및 병리학적 영향; 용량 반응 및 노출 관계; 만성 독성; 발육기 독성; 생식 및 발달 독성; 심혈관 안전성; 주사 부위 반응; 사이토카인 반응 보체 효과; 면역원성; 및/또는 발암성을 포함한 특정 부작용 또는 역효과를 경험할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 투여의 부작용 또는 역효과를 해소하기 위해 추가 치료제가 투여된다. 일부 구현예에서, 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 특정 단일가닥 올리고뉴클레오티드는 표적 RNA 서열 내의 뉴클레오티드의 부위-지정 편집을 위한 상이한 단일가닥 올리고뉴클레오티드와 비교하여 감소된 부작용 또는 역효과 유도 능력을 가질 수 있다.
- [0412] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용 또는 역효과를 제어하거나 완화하기 위해 추가 치료제를 환자에게 투여할 수 있다.
- [0413] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및 하나 이상의 추가 치료제가 환자에게 (임의의 순서로) 투여될 수 있고, 올리고뉴클레오티드의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용 또는 역효과를 제어하거나 완화하기 위해 추가 치료제를 환자에게 투여할 수 있다.
- [0414] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및 하나 이상의 추가 치료제가 환자에게 (임의의 순서로) 투여될 수 있고, 올리고뉴클레오티드의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용 또는 역효과를 제어하거나 완화하기 위해 추가 치료제를 환자에게 투여할 수 있다.
- [0415] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 및 하나 이상의 추가 치료제가 환자에게 (임의의 순서로) 투여될 수 있고, 여기서, 올리고뉴클레오티드의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용 또는 역효과를 제어하거나 완화하기 위해 추가 치료제를 환자에게 투여할 수 있으며, 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 생화학적 메커니즘을 통해 작동한다: 표적 유전자 또는 이의 유전자 생성물의 수준, 발현 및/또는 활성의 감소, 표적 유전자 mRNA에서의 하나 이상의 엑손의 스킵의 증가 또는 감소, ADAR 매개 탈아미노화, RNase H 매개 메커니즘, 입체 장애 매개 메커니즘, 및/또는 RNA 간섭 매개 메커니즘(여기서, 올리고뉴클레오티드는 단일 또는 이중 가닥임).
- [0416] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 조성물 및 하나 이상의 추가 치료제가 환자에게 (임의의 순서로) 투여될 수 있고, 올리고뉴클레오티드 조성물의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용 또는 역효과를 제어하거나 완화하기 위해 추가 치료제를 환자에게 투여할 수 있으며, 올리고뉴클레오티드 조성물은 키랄 제어될 수 있거나, 또는 적어도 하나의 키랄 제어 뉴클레오티드간 연결(키랄 제어 포스포로티오에이트를 포함하지만 이에 한정되지 않음)을 포함한다.
- [0417] 일부 구현예에서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신(A1AT) 결핍증(AATD)이다.
- [0418] 알파-1 항트립신(A1AT) 결핍증(AATD)은 SERPINA1 유전자(PI; AIA; AAT; PI1; A1AT; PR02275; 및 알파1AT로도 알려짐)의 결함으로 인해 발생하는 것으로 보고된 유전 질환이다. 중증의 A1AT 결핍증은 폐 및 간 표현형을 포함한 다양한 표현형과 관련이 있다.
- [0419] A1AT 결핍증은 북유럽 혈통의 대상체에서 가장 흔한 유전 질환 중 하나인 것으로 보고된다. 중증 A1AT 결핍증의 유병률은 미국에서만 하더라도 80,000~100,000이다. 유사한 수치가 EU에서도 발견되는 것으로 추정된다. 중증 A1AT 결핍증에 대한 전 세계 추정치는 300만 명으로 고정되어 있다. A1AT 결핍증은 폐기종을 유발하며 대상체는 30대 또는 40대에 폐기종을 발병한다. A1AT 결핍증은 또한 간부전 및 간세포 암종을 유발할 수 있으며, 중증 A1AT 결핍증 대상체의 최대 30%는 간경변, 전격성 간부전, 및 간세포 암종을 비롯한 심각한 간 질환을 발생시킨다.
- [0420] SERPINA1 유전자의 돌연변이(즉, c. 1024G>A)는 성숙한 A1AT 단백질의 아미노산 위치 342(E342K, "Z 돌연변이")에서 글루탐레이트에서 라이신으로의 치환을 유도한다. 이러한 미스센스 돌연변이는 단백질 형태와 분비에

영향을 주어 순환하는 A1AT 수준을 감소시킨다. Z 돌연변이를 지닌 대립유전자는 PiZ 대립유전자로 식별된다. PiZ 대립유전자에 대해 동형접합성인 대상체를 PiZZ 보균자라고 하며, 이들은 혈청 A1AT의 정상 수준의 10~15%를 나타낸다. A1AT 결핍증의 증상이 있는 대상체의 약 95%는 PiZZ 유전자형을 가지고 있다. Z 돌연변이에 대해 이형접합성인 대상체를 PiMZ 돌연변이체라고 하며, 이들은 혈청 A1AT의 정상 수준의 60%를 나타낸다. 진단된 환자 중 중증 A1AT 결핍증 환자의 90%는 ZZ 돌연변이를 가지고 있다. 미국에서 약 30,000~50,000명의 개인이 PiZZ 유전자형을 가지고 있다.

[0421] A1AT 결핍증의 병태생리는 영향을 받는 기관에 따라 다를 수 있다. 간 질환은 기능 획득 기전으로 인해 발생하는 것으로 보고된다. 비정상적으로 접힌 A1AT, 특히 Z형 A1AT(Z-AT)는 간세포 내에서 응집되고 중합된다. A1AT 봉입체는 PiZZ 대상체에서 발견되며, 간경변 및 경우에 따라 간세포 암종을 유발하는 것으로 여겨진다. 간 질환에서 기능 획득 메커니즘에 대한 증거는 null 동형접합체에 의해 뒷받침된다. 이러한 대상체는 A1AT를 생산하지 않으며 간세포 봉입체나 간 질환을 일으키지 않는다.

[0422] A1AT 결핍증은 A1AT 대상체의 최대 약 50%에서 간 질환을 유발하고 대상체의 최대 약 30%에서 중증 간 질환으로 이어지는 것으로 보고된다. 간 질환은 (a) 자가 제한적인 소아기 간경변, (b) 간 이식이 필요하거나 사망에 이르는 소아기 또는 성인기의 중증 간경변 및 (c) 종종 치명적인 간세포 암종으로 나타날 수 있다. 간 질환의 발병은 주로 소아 또는 성인에게 영향을 미치는 바이모달인 것으로 보고된다. 소아기 질환은 많은 경우에 자가 제한적이지만 말기의 치명적인 간경변으로 이어질 수 있다. PiZZ 유전자형을 가진 대상체의 최대 약 18%가 소아기에 임상적으로 유의미한 간 이상이 발생할 수 있다고 보고된다. PiZZ 대상체의 약 2%는 소아기 사망에 이르는 심각한 간경변이 발생하는 것으로 보고된다(Sveger 1988; Volpert 2000). 성인 발병 간 질환은 모든 유전자형을 가진 대상체에 영향을 미칠 수 있지만 PiZZ 유전자형을 가진 대상체에서는 더 일찍 나타난다. A1AT 결핍 대상체의 약 2~10%에서 성인 발병 간 질환이 발생하는 것으로 보고된다.

[0423] A1AT 결핍증과 관련된 폐 질환은 현재 인간 유래 대체 A1AT 단백질의 정맥내 투여로 치료되지만, 비용이 많이 들고 대상체의 평생 동안 빈번한 주사를 필요로 하는 것 외에도 이 접근법은 부분적으로만 효과적이다. 간세포 암종이 있는 A1AT 결핍 대상체는 현재 화학요법과 수술로 치료받고 있지만 A1AT 결핍증의 잠재적으로 치명적인 간 징후를 예방하기 위한 만족스러운 접근 방식은 없다.

[0424] 특히, 본 발명은 A1AT 결핍증, 예를 들어 간 및 폐 징후를 비롯한 개선된 치료의 필요성을 인식한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 예를 들어 A 돌연변이를 단백질 번역 중 G로 판독될 수 있는 I로 변환할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 및/또는 조성물을 제공하여 단백질 번역에 대한 G에서 A로의 돌연변이를 교정함으로써 알파-1 항트립신(A1AT) 결핍증과 관련된 병태, 장애 또는 질환을 예방 또는 치료하는 기술을 제공한다. 특히, 하나 이상의 간세포에서 SERPINA1의 변형은 독성 Z 단백질(Z-AAT)의 생성을 감소 또는 제거함으로써 A1AT 결핍증이 있는 대상체에서 간 질환의 진행을 예방할 수 있다. 특정 구현예에서, Z 단백질 생성은 제공된 기술을 이용함으로써 제거되거나 감소된다. 특정 구현예에서, 질환은 치료를 받지 않은 대상체와 비교하여 치유되거나, 진행되지 않거나, 진행이 지연된다.

[0425] 일부 구현예에서, AATD 이중 병리가 간 및 폐에서 보고되었다. 일부 구현예에서, 중합된 Z-ATT를 분비할 수 없는 것은 예를 들어 간 손상/간경변을 유발하는 것으로 보고되었다. 일부 구현예에서, 한쪽 또는 양쪽 폐는 일부 구현예에서 염증 및 폐 손상을 유발하는 확인되지 않은 프로테아제에 개방되어 있다. 많은 환자(예를 들어, 미국과 EU에서 보고된 바에 따르면 약 200,000명)는 가장 일반적인 형태의 중증 AATD와 관련이 있는 것으로 보고된 동형접합성 ZZ 유전자형을 가지고 있다. 승인된 치료법은 폐 병리학을 가진 사람들에서 광범위형 AAT의 순환 수준을 완만하게 증가시키는 것으로 보고되었고, 간 병리를 다루는 치료법은 없다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간에서 야생형 AAT의 발현, 수준, 특성 및/또는 활성을 증가시키거나 복원한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 예를 들어, 간을 표적화하는 모이어티(예를 들어, 간에서 발현되는 수용체를 표적화하는 GalNAc과 같은 리간드)를 올리고뉴클레오타이드로 통합함으로써 간을 표적화한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간에서 야생형 AAT 생리학적 조절을 복원, 증가 또는 증진시킨다. 일부 구현예에서 제공된 기술은 Z-AAT 단백질 응집을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간에서 야생형 AAT 생리학적 조절을 복원, 증가 또는 증진시키고 Z-AAT 단백질 응집을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 혈류로의 분비를 증가시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 순환하는 야생형 AAT를 증가시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 순환하는 폐 결합 야생형 AAT를 증가시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 폐에서 야생형 AAT의 발현, 수준, 특성 및/또는 활성을 증가시키거나 복원한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 바람직하지 않은 프로테아제로부터 폐를 보호한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 염증 및/또는 폐 손상을 감소시키거나 예방한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간과 폐 모두에서 이점을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간 손상 또는 간경변을 감소

시키거나 예방하고, 염증 및/또는 폐 손상을 감소시키거나 예방한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, 간에서 발견되는 수용체를 표적화하는 리간드(예를 들어, GalNAc)와 같은 특정 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 간 및 폐에서 이점을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 동시에 간 및 폐에서 이점을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 AATD의 폐 및/또는 간 징후를 다룬다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 동시에 AATD의 폐 및 간 징후를 다룬다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 AATD를 유발하는 SERPINA1 Z 대립유전자에 의해 암호화된 mRNA에서 RNA 염기 돌연변이를 교정하기 위해 GalNAc 접합된 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물을 사용하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 돌연변이되고 잘못된 접힌 알파-1 단백질의 응집을 감소시키고 동시에 야생형 알파-1 항트립신 단백질의 순환 수준을 증가시키고, 일부 구현예에서 AATD의 간 및 폐 증상 모두를 다룬다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 DNA에 대한 영구적인 오프-타겟 변화의 위험을 피한다. 일부 구현예에서, 예를 들어 AATD를 예방 또는 치료하기 위한 올리고뉴클레오타이드 또는 조성물은 피하로 투여되거나 전달된다.

[0426] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 기술은 처리된 간세포 중 하나 이상의 생존에 대한 선택적 이점을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 표적 세포는 변형된다. 일부 구현예에서, 본원의 기술로 처리된 세포는 독성 Z 단백질을 생성하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 변형되지 않은 병든 세포는 독성 Z 단백질을 생성하고 Z 단백질 잘못접힘에 의해 유도된 소포체(ER) 스트레스에 이차적으로 아포토시스를 겪을 수 있다. 특정 구현예에서, 제공된 기술을 이용한 처리 후, 처리된 세포는 생존하고, 처리되지 않은 세포는 사멸할 것이다. 이러한 선택적 이점은 대부분이 SERPINA1 교정 세포인 간세포의 궁극적인 콜로니화를 유도할 수 있다.

[0427] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간에서 Z-AAT의 응집을 완화시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 간 염증을 완화시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 Z-AAT의 기능 획득 표현형, 예를 들어 Z-AAT 응집과 연관된 진행성 간 질환의 수준을 교정하거나 감소시킨다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 다양한 병태, 장애 또는 질환, 예를 들어 간 섬유증, 간경변 및 간세포 암종과 같은 Z-AAT와 관련된 것들을 예방하고/하거나, 중증도를 감소시키고/시키거나, 발병을 지연시키고/시키거나 진행을 늦춘다. 일부 구현예에서, 본 기술은 예를 들어 간에서 Z-AAT 응집을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 AAT 혈청 농도를 예를 들어 약 11 μM 이상으로 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 M-AAT 혈청 농도를 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 총 AAT 중 M-AAT 혈청 백분율을 예를 들어 약 60%, 65%, 70% 또는 75% 이상으로 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 엘라스타제를 억제하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 호중구 엘라스타제를 억제하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 엘라스타제 억제를 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 호중구 엘라스타제 억제를 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 억제제는 폐에서의 억제를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간 염증을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 소엽 염증을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간 PAS-D 양성 면적을 (예를 들어, 백분율로) 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간의 구형 직경을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간 섬유증을 예방하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간경변을 예방하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간세포 암종을 예방하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간 섬유증을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간경변을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 기술은 간세포 암종을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 유효량의 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 조성물을 대상체에게 투여 또는 전달하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 동형접합성이다. 일부 구현예에서, 대상체는 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성이다. 일부 구현예에서, 대상체는 PiZ 대립유전자를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 PiZZ 보유자이다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1에서 1024 G>A 돌연변이를 I로 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 SERPINA1에서 E342K 돌연변이를 교정할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 투여 또는 전달의 부재, 또는 기준 제제(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드가 없거나 동일한 아데노신을 편집하기 위해 설계되지 않은 올리고뉴클레오타이드가 있는, 달리 비전되거나 동일한 조성물)의 투여 또는 전달과 비교하여, 투여 또는 전달 후, 아데노신 편집, 편집된 AAT(예를 들어, M-AAT)의 생성, Z-AAT의 감소, 혈청 AAT의 증가, 혈청 편집된 AAT(예를 들어, M-AAT)의 증가(절대 농도 및 /또는 %), Z-AAT 응집 감소, 호중구 엘라스타제 억제 증가, 간 염증 감소, 간 PAS-D 양성 면적 감소, 간의 구형 직경 감소, 간 섬유증 감소 및/또는 간경변 감소가 달성된다.

[0428] 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 G에서 A로의 돌연변이와 관련된 병태, 장애 또는 질환을 앓고 있거나 이에 걸리기 쉬운 환자에게 투여되었을 때, 병태, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 증상을 감소시킬 수 있고/있

거나, 발병, 악화를 지연 또는 예방할 수 있고/있거나, 유전자 또는 유전자 산물 내의 G에서 A로의 돌연변이로 인한 병태, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 증상의 악화 속도 및/또는 정도를 감소시킬 수 있다.

[0429] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 시스템(예: 세포, 조직, 기관, 동물 등)에서 2개 이상 부위의 편집을 제공할 수 있다("다중 편집"). 일부 구현예에서, 제공된 기술은 동일한 전사체의 2개 이상 부위를 표적화할 수 있고 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 동일한 핵산 또는 상이한 핵산의 2개 이상의 상이한 전사체를 표적화할 수 있고 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 2개 이상의 상이한 핵산의 전사체를 표적화할 수 있고 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 2개 이상의 상이한 유전자의 전사체를 표적화할 수 있고 편집할 수 있다. 일부 구현예에서, 동시에 편집되는 표적 중 각각은 독립적으로 생물학적 및/또는 치료적 관련 수준이다. 일부 구현예에서, 다중 편집에 있어서 하나 이상의 또는 모든 표적은 독립적으로, 유사한 조건에서 개별적으로 수행되는 편집과 유사한 수준으로 편집된다. 일부 구현예에서, 다중 편집은 둘 이상의 개별 조성물을 사용하여 수행되고, 각각은 독립적으로 하나 이상의 표적을 표적화한다. 일부 구현예에서, 조성물들은 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물들은 적절한 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 조성물은 하나 이상의 다른 조성물 이전 또는 이후에 투여된다. 일부 구현예에서, 다중 편집은 단일 조성물, 예를 들어 둘 이상의 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 사용하여 수행되고, 복수는 상이한 표적을 표적화한다. 일부 구현예에서, 각각의 복수는 독립적으로 상이한 아데노신을 표적화한다. 일부 구현예에서, 각각의 복수는 독립적으로 상이한 전사체를 표적화한다. 일부 구현예에서, 각각의 복수는 독립적으로 상이한 유전자를 표적화한다. 일부 구현예에서, 둘 이상의 복수는 동일한 표적을 표적화할 수 있지만, 복수는 함께 원하는 표적을 표적화한다.

[0430] 본원에 기재된 바와 같이, 제공된 기술은 많은 이점을 제공할 수 있다. 예를 들어 일부 구현예에서, 제공된 기술은 (예를 들어, 용량 조절을 통해) 가역적이면서 조정가능한 RNA 편집을 제공할 수 있기 때문에, 제공된 기술은 DNA에 작용하는 기술보다 더 안전하다. 추가적으로 그리고 대안적으로, 본원에 나타낸 바와 같이, 제공된 기술은 내인성 ADAR 단백질을 발현하는 시스템에서 높은 수준의 편집을 제공하여 다양한 경우에 외인성 단백질의 도입 요건을 피할 수 있다. 또한, 제공된 기술은 특히 세포 배양 이외의 적용을 위해 많은 다른 기술에서 사용되는 바와 같이 바이러스 벡터 또는 지질 나노입자와 같은 보조 전달 비히클에 의존하는 복잡한 올리고뉴클레오티드를 필요로 하지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 내인성 ADAR 효소를 사용하여 고효율로 서열 특이적 A-I RNA 편집을 제공할 수 있고, 인공 전달체의 부재하에 다양한 시스템, 예를 들어 세포에 전달될 수 있다.

[0431] 본 개시내용을 읽은 당업자는 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물이 본 발명에 따른 여러 기술을 사용하여 전달될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 형질감염 또는 리포펙션을 통해 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 형질감염 또는 리포펙션에 사용되는 것과 같은 전달 보조제 없이 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 짐노틱 전달로 전달된다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드는 전달을 촉진할 수 있는 추가의 화학적 모이어티를 포함한다. 예를 들어 일부 구현예에서, 추가의 화학적 모이어티는 수용체(예: 아시알로당단백질 수용체)에 대한 리간드 모이어티(예: *N*-아세틸갈락토사민(GalNAc))이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물은 GalNAc 매개 전달을 통해 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 표적 세포 집단, 위치, 조직, 기관 등에 선택적으로 전달된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 또는 조성물은 예를 들어 GalNAc와 같은 리간드 모이어티를 사용하여 표적화된 전달을 통해 전달된다. 일부 구현예에서, 전달은 전신 전달이다. 일부 구현예에서, 전달은 국소 전달(예를 들어, IT, IVT 등을 통한)이다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 복잡한 전달 비히클이 없는 전달 및 편집을 포함하는 이점을 제공한다. 예를 들어, 일부 구현예에서 지질 또는 리간드 모이어티(예: GalNAc)가 없는 실질적인 전달 및 RNA 편집은 마우스에 대한 단일 피하 투여 후 심장, 신장, 폐, 비장, 백색 지방 조직(WAT), 갈색 지방 조직(BAT), 간 및 CD3+ 세포(T 세포 및 NK 세포의 하위 집합), EpCAM+ 세포(예: 간의 담관 세포), 간 동양 내피 세포(LSEC), 대식세포(예: 쿠퍼 세포) 등과 같은 다양한 간 관련 세포를 비롯한 여러 조직에서 관찰되었다.

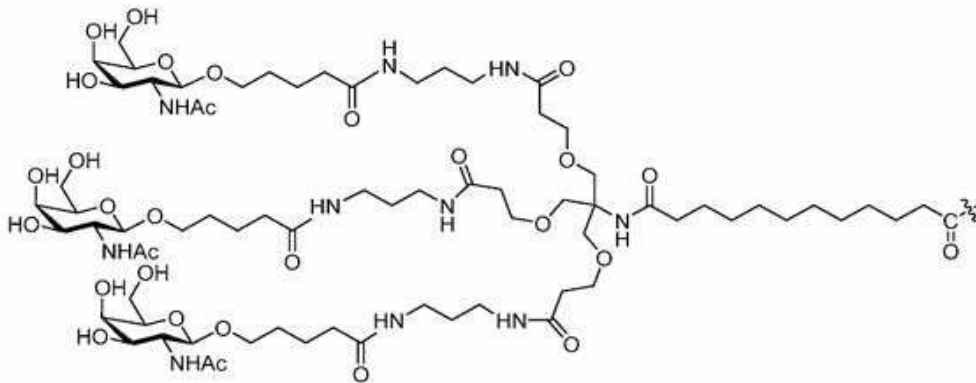
[0432] 일부 구현예에서, 제공된 기술, 예를 들어 방법, 투여 요법 등은 하나 이상의 부하 용량을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 부하 용량을 포함하는 기술은 이러한 부하 용량이 없는 것보다 더 빠르게 하나 이상의 원하는 효과 또는 결과를 제공할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서 편집 수준은 부하 용량이 없는 것보다 더 빠르게 증가되거나 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 부하 용량은 비부하 용량(예를 들어 유지 용량, 부하 용량 없이 요법으로 투여되는 용량 등)과 동일하다. 일부 구현예에서, 부하 용량은 비부하 용량과 거의 동일한 양의 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다. 일부 구현예에서, 부하 용량은 비부하 용량과 상이하다. 일부 구현예에서, 부하 용량은 비부하 용량에 비해 감소된 양의 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다.

일부 구현예에서, 부하 용량은 비부하 용량에 비해 증가된 양의 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 부하 용량이 이용되며, 이들 각각은 독립적으로 비부하 용량과 비교하여 거의 동량이거나, 더 적거나 더 많은 양의 작용제를 함유한다. 일부 구현예에서, 각각의 부하 용량은 거의 동일하다. 일부 구현예에서, 각각의 부하 용량은 비부하 용량과 거의 동일한 양의 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 부하 용량은 하나 이상의 다른 부하 용량과 상이하다. 일부 구현예에서, 하나 이상 또는 모든 부하 용량은 독립적으로 비부하 용량과 비교하여 더 많은 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다. 일부 구현예에서, 하나 이상 또는 모든 부하 용량은 독립적으로 비부하 용량과 비교하여 더 적은 작용제, 예를 들어 올리고뉴클레오티드를 함유한다. 일부 구현예에서, 각각의 비부하 용량은 거의 동일하다. 일부 구현예에서, 부하 용량이 없는 기술은 일정 기간(예: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10주 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개월 이상) 후에 비견되거나 거의 동일한 효과 또는 결과를 제공할 수 있다.

[0433] 특히, 본 발명은 다음의 예시적인 구현예를 제공한다:

[0434] 1. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0435] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,



[0436] Mod001은 을 나타내  
고;

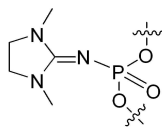
[0437] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0438] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

[0439] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0440] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

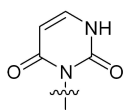
[0441] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0442] n001 연결은 의 구조를 갖고;

[0443] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0444] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



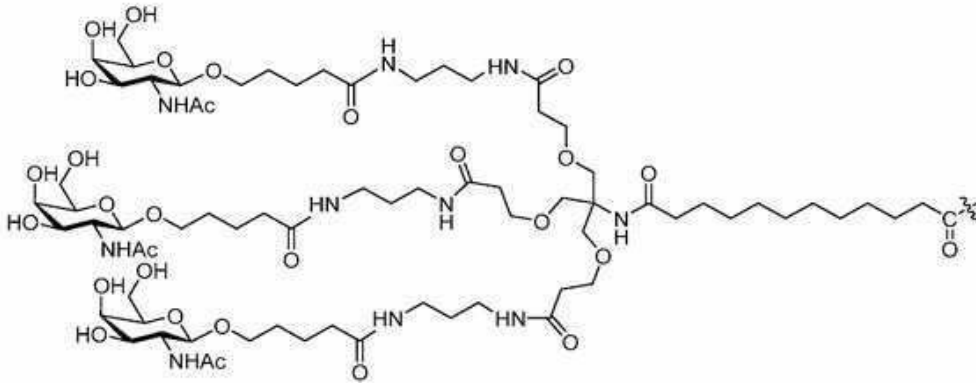
[0445] b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0446] 2. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0447] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoaefG\*SfC\*STeefUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*

ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0448] Mod001은



[0449] 을 나타내고;

[0450] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0451] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

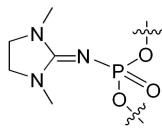
[0452] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0453] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0454] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0455] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

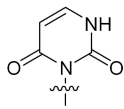
[0456] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0457] n001 연결은 의 구조를 갖고;

[0458] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0459] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

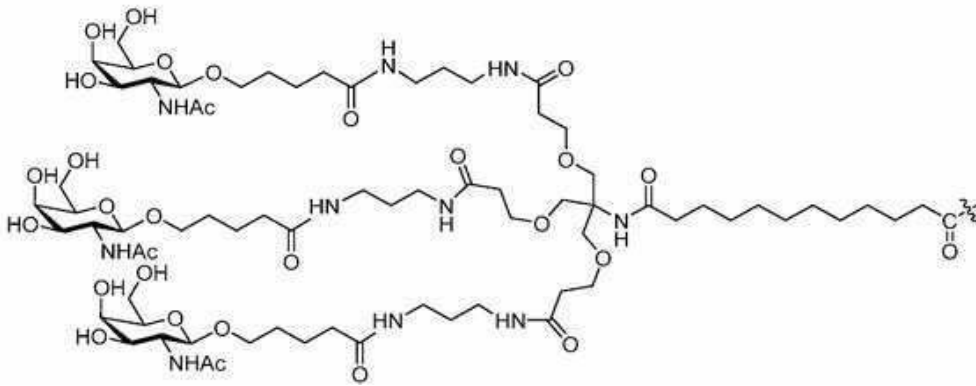


[0460] b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0461] 3. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0462] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0463] Mod001은



[0464]  
[0465] 을 나타내고;

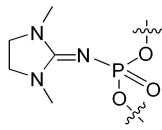
[0466] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0467] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

[0468] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0469] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

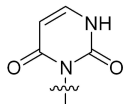
[0470] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0471] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0472] \*S는 Sp 포스포티오에이트 연결을 나타내고;

[0473] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

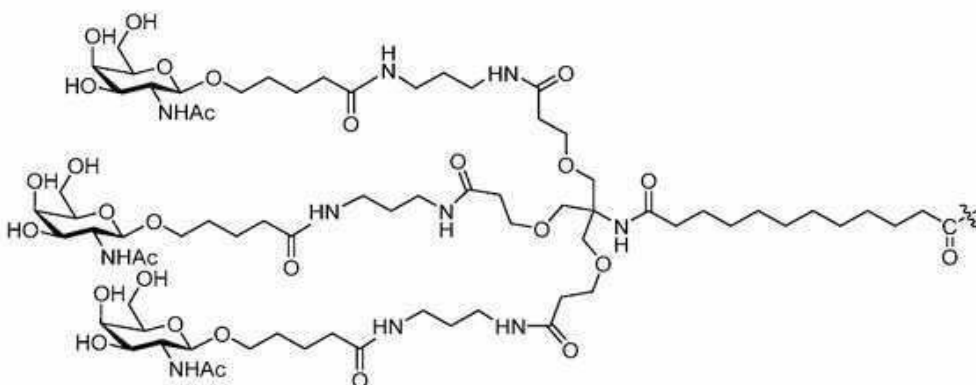


[0474] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0475] 4. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0476] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0477] Mod001은



[0478] 을 나타내고;

[0479] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0480] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

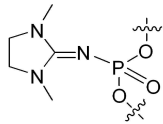
[0481] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0482] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0483] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0484] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

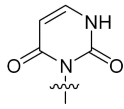
[0485] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0486] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0487] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0488] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

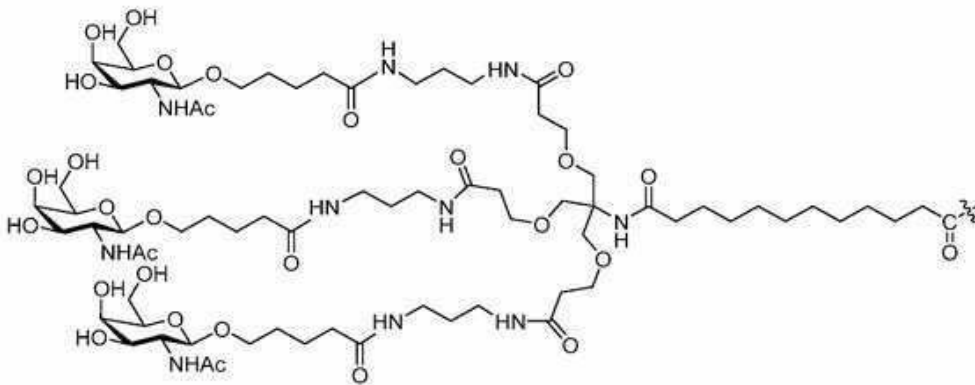


[0489] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0490] 5. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0491] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeo fC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0492] Mod001은



[0493] 을 나타내고;

[0494] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0495] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

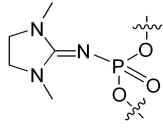
[0496] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0497] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0498] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0499] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

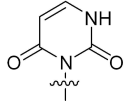
[0500] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0501] n001 연결은

[0502] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0503] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

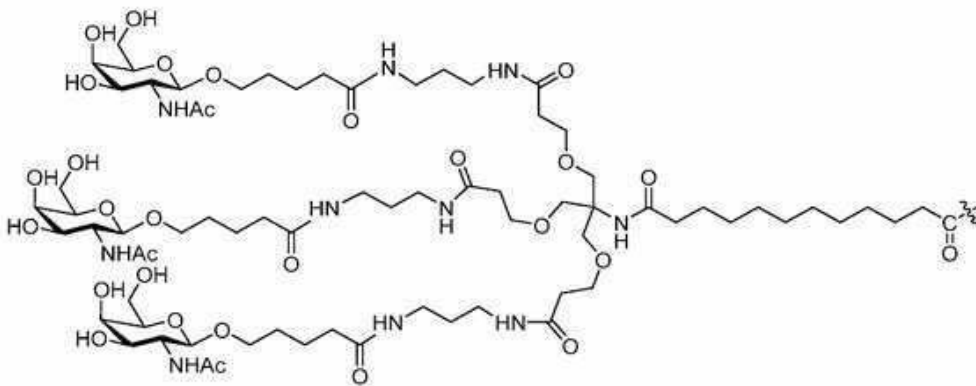


[0504] b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0505] 6. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0506] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*Sin001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0507] Mod001은



[0508] 을 나타내고;

[0509] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0510] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

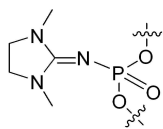
[0511] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0512] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0513] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0514] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

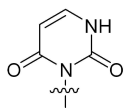
[0515] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0516] n001 연결은

[0517] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0518] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

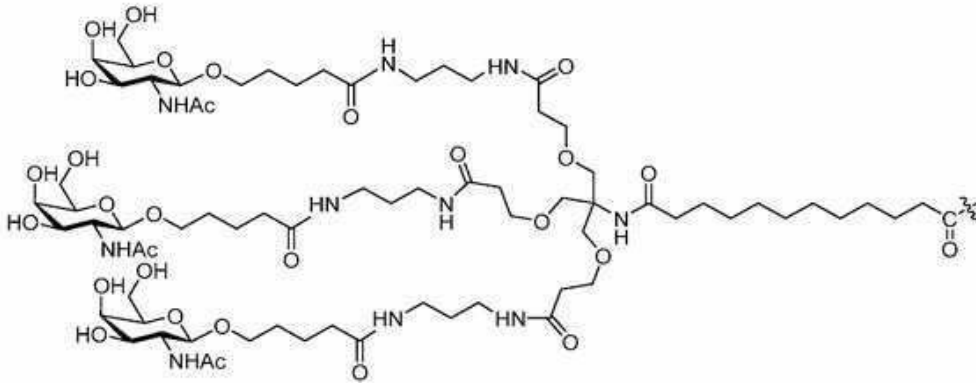


[0519] b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0520] 7. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0521] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST

[0522] Mod001은



[0523] 을 나타내고;

[0524] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0525] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

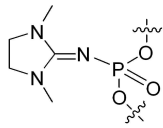
[0526] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0527] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0528] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0529] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

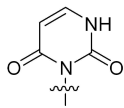
[0530] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0531] n001 연결은 의 구조를 갖고;

[0532] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0533] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

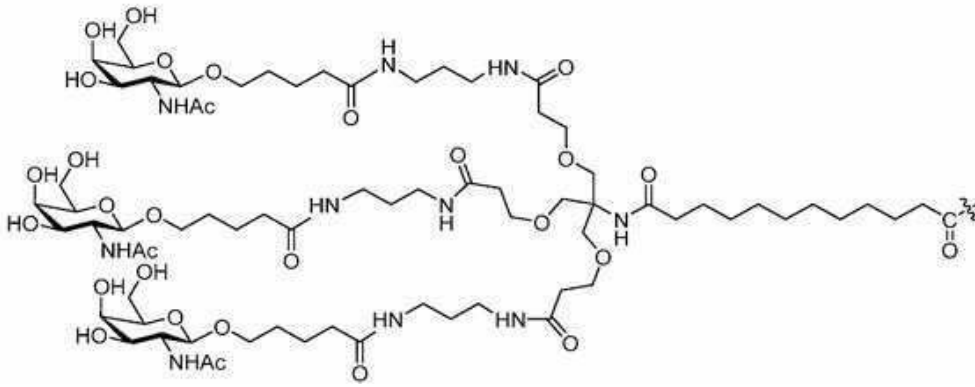


[0534] b008U는 이의 염기가 인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0535] 8. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0536] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0537] Mod001은



[0538] 을 나타내고;

[0539] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0540] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

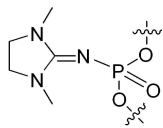
[0541] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0542] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0543] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0544] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

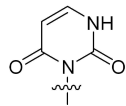
[0545] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0546] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0547] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0548] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

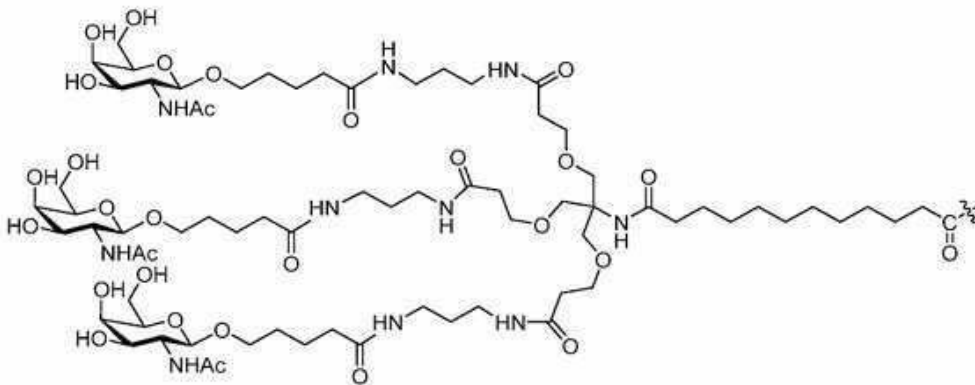


[0549] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0550] 9. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0551] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*S T\*Sb008U\*Sn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0552] Mod001은



[0553] 을 나타내고;

[0554] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0555] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

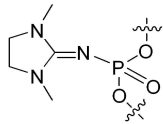
[0556] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0557] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0558] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0559] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

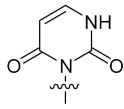
[0560] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0561] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0562] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0563] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

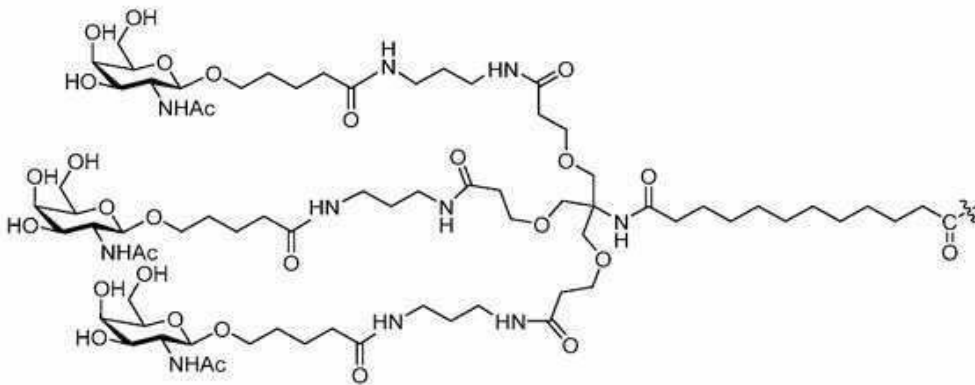


[0564] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0565] 10. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0566] Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeo fC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0567] Mod001은



[0568] 을 나타내고;

[0569] L001: -NH-를 통해 Mod001에 연결되고 포스페이트 연결을 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 연결되는 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-;

[0570] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

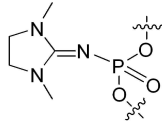
[0571] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0572] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0573] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0574] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

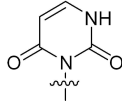
[0575] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0576] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0577] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0578] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0579] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0580] 11. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, SERPINA1을 표적으로 하고 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염을 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0581] 12. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, SERPINA1을 표적으로 하고 L001을 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0582] 13. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, SERPINA1을 표적으로 하고 Mod001을 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0583] 14. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1D 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0584] 15. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1E 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0585] 16. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0586] 17. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-46312 내지 WV-46323 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0587] 18. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47597 내지 WV-47609 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0588] 19. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47641 내지 WV-48454 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0589] 20. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47643 내지 WV-47648 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0590] 21. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-48453 내지 WV-48454 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0591] 22. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-49085 내지 WV-49093 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0592] 23. 구현예 11 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 10 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0593] 24. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드의 올리고뉴클레오티드 사슬의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0594] 25. 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드의 올리고뉴클레오티드 사슬로부터 추가의 화학적 모이어티를 절단함으로써 형성된 올리고뉴클레오티드.

[0595] 26. 구현예 25에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드가 세포 내로 전달된 후 절단되는 올리고뉴클레오티드.

[0596] 27. 구현예 25 또는 26에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클

레오티드가 대상체에게 투여된 후 절단되는 올리고뉴클레오티드.

[0597]

28. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0598]

$mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU$ , 또는 이의 염(여기서,

[0599]

Mod001은 을 나타내고

[0600]

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

[0601]

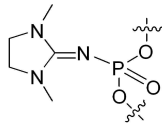
m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0602]

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

[0603]

n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0604]

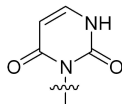
n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0605]

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0606]

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0607]

b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0608]

29. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0609]

$mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU$ , 또는 이의 염(여기서,

[0610]

f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

[0611]

m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0612]

eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0613]

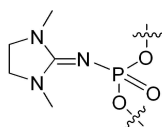
m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0614]

n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

[0615]

n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0616]

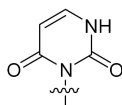
n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0617]

\*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0618]

I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0619]

b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

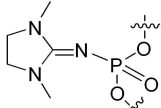
[0620]

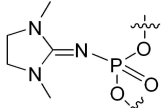
30. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

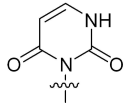
[0621]

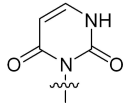
$mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU$ , 또는 이의 염(여기서,

- [0622] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;
- [0623] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;
- [0624] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;
- [0625] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



- [0626] n001 연결은  의 구조를 갖고;
- [0627] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;
- [0628] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;

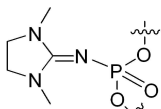


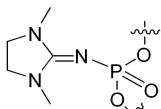
- [0629] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

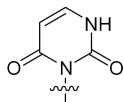
- [0630] 31. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0631] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*  
SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

- [0632] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;
- [0633] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;
- [0634] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;
- [0635] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;
- [0636] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;
- [0637] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



- [0638] n001 연결은  의 구조를 갖고;
- [0639] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;
- [0640] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



- [0641] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

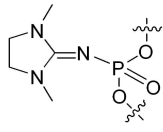
- [0642] 32. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0643] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb00  
8U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

- [0644] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;
- [0645] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;
- [0646] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;
- [0647] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0648] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

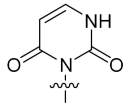
[0649] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0650] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0651] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0652] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0653] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0654] 33. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0655] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoaefG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0656] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

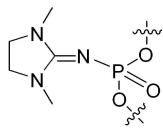
[0657] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0658] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0659] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0660] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

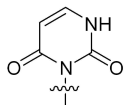
[0661] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0662] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0663] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0664] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0665] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0666] 34. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오타이드:

[0667] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0668] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

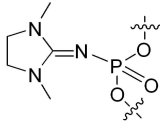
[0669] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0670] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0671] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0672] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

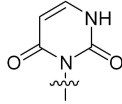
[0673] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0674] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0675] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0676] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0677] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0678] 35. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0679] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0680] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

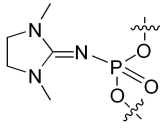
[0681] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

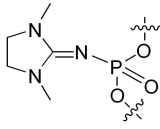
[0682] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0683] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0684] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

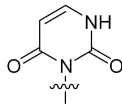
[0685] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0686] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0687] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0688] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0689] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0690] 36. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0691] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUTEofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0692] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

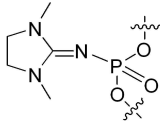
[0693] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0694] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0695] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0696] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

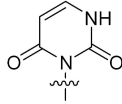
[0697] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0698] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0699] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0700] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0701] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0702] 37. 다음의 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드:

[0703] mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfUn001RTeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU, 또는 이의 염(여기서,

[0704] f는 뉴클레오시드에 대한 2' -F 변형을 나타내고;

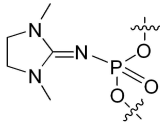
[0705] m은 뉴클레오시드에 대한 2' -OMe 변형을 나타내고;

[0706] eo는 뉴클레오시드에 대한 2' -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> 변형을 나타내고;

[0707] m5Ceo는 5-메틸 2'-O-메톡시에틸 C를 나타내고;

[0708] n001R은 Rp n001 연결을 나타내고;

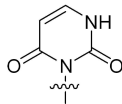
[0709] n001S는 Sp n001 연결을 나타내고;



[0710] n001 연결은  의 구조를 갖고;

[0711] \*S는 Sp 포스포로티오에이트 연결을 나타내고;

[0712] I는 핵염기가 하이포잔틴임을 나타내고;



[0713] b008U는 이의 염기가  인 뉴클레오시드를 나타냄).

[0714] 38. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, SERPINA1을 표적으로 하고 추가의 화학적 모이어티를 함유하지 않는 올리고뉴클레오티드.

[0715] 39. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, SERPINA1을 표적으로 하고 L001을 함유하지 않는 올리고뉴클레오티드.

[0716] 40. WO 2022/099159의 표 1 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드로서, Mod001 또는 Mod012를 함유하지 않는 올리고뉴클레오티드.

[0717] 41. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1D 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0718] 42. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1E 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

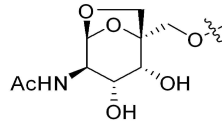
[0719] 43. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

[0720] 44. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-42934 내지 WV-44247 또는

이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.

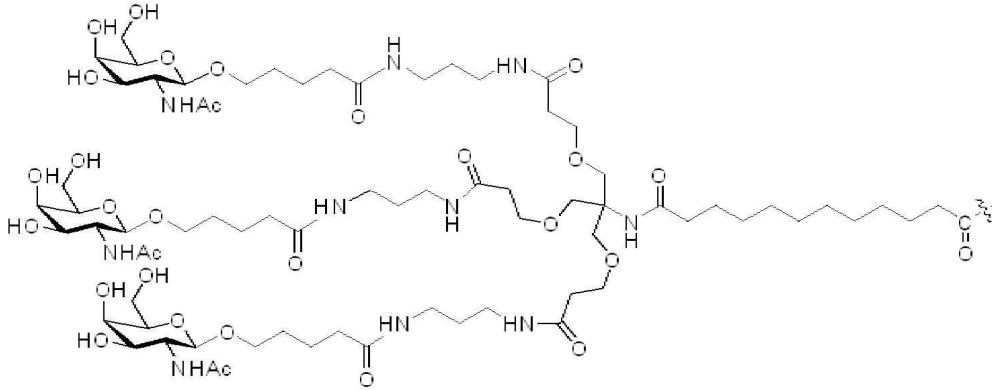
- [0721] 45. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44248 내지 WV-44277 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0722] 46. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44349 내지 WV-44362 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0723] 47. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44363 내지 WV-44390 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0724] 48. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-44482 내지 WV-44515 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0725] 49. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-46406 내지 WV-47042 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0726] 50. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47339 내지 WV-47483 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0727] 51. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47495 내지 WV-47496 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0728] 52. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-47610 내지 WV-47631 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0729] 53. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-48455 내지 WV-48459 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0730] 54. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 1F의 WV-49094 내지 WV-49096 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0731] 55. 구현예 38 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, WO 2022/099159의 표 10 또는 이의 염으로부터 선택된 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0732] 56. 구현예 24 내지 55 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드와 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체인 올리고뉴클레오티드.
- [0733] 57. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0734] 58. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0735] 59. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0736] 60. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0737] 61. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 둘 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0738] 62. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.
- [0739] 63. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 수용체의 리간드이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0740] 64. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [0741] 65. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 모이어티를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드인 올리고뉴클레오티드.
- [0742] 66. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0743] 67. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc을 포함하는 올리고뉴클레오티드.



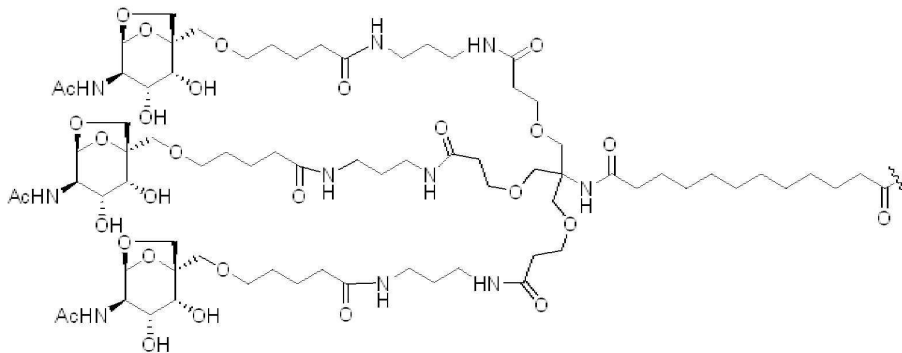
[0744] 68. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0745] 69. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



인 올리고뉴클레오티드.

[0746] 70. 구현예 56에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0747] 71. 구현예 56 내지 70 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드의 나머지에 직접 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0748] 72. 구현예 56 내지 70 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드의 나머지에 링커를 통해 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0749] 73. 구현예 72에 있어서, 링커는 L001이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0750] 74. 구현예 56 내지 73 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0751] 75. 구현예 56 내지 73 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 3'-말단에 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0752] 76. 구현예 56 내지 73 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 중간에 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0753] 77. 구현예 56 내지 76 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 당에 접합되는 올리고뉴클레오티드.

[0754] 78. 구현예 56 내지 76 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 핵염기에 접합되는 올리고뉴클레오티드.

- [0755] 79. 구현예 56 내지 76 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 뉴클레오티드간 연결에 접합되는 올리고뉴클레오티드.
- [0756] 80. 구현예 73에 있어서, L001은 포스페이트 기를 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단 5'-탄소에 연결되는 올리고뉴클레오티드.
- [0757] 81. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 염 형태인 올리고뉴클레오티드.
- [0758] 82. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 제약상 허용가능한 염 형태인 올리고뉴클레오티드.
- [0759] 83. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 나트륨 염 형태인 올리고뉴클레오티드.
- [0760] 84. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 85%~100%(예를 들어, 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0761] 85. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 90%~100%(예를 들어, 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0762] 86. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 95%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0763] 87. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 97%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0764] 88. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 98%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0765] 89. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 99%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 올리고뉴클레오티드.
- [0766] 90. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0767] 91. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0768] 92. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0769] 93. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0770] 94. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 올리고뉴클레오티드.
- [0771] 95. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 올리고뉴클레오티드.
- [0772] 96. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 올리고뉴클레오티드.
- [0773] 97. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 올리고뉴클레오티드.

- [0774] 98. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0775] 99. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 올리고뉴클레오티드.
- [0776] 100. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 올리고뉴클레오티드.
- [0777] 101. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 올리고뉴클레오티드.
- [0778] 102. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 올리고뉴클레오티드.
- [0779] 103. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 올리고뉴클레오티드.
- [0780] 104. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 약 10%~100%(예를 들어, 약 10%~95%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 약 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0781] 105. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 약 50%~100%(예를 들어, 약 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 올리고뉴클레오티드.
- [0782] 106. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제약 조성물.
- [0783] 107. 구현예 106에 있어서, 올리고뉴클레오티드는 제약상 허용가능한 염 형태로 존재하는 것인 조성물.
- [0784] 108. 구현예 106에 있어서, 올리고뉴클레오티드는 염 형태로 존재하는 것인 조성물.
- [0785] 109. 구현예 106에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 2개 이상의 염 형태를 포함하는 조성물.
- [0786] 110. 구현예 106에 있어서, 올리고뉴클레오티드의 2개 이상의 제약상 허용가능한 염 형태를 포함하는 조성물.
- [0787] 111. 구현예 106 내지 110 중 어느 한 구현예에 있어서, 액체인 조성물.
- [0788] 112. 구현예 106 내지 110 중 어느 한 구현예에 있어서, 물에 용해된 올리고뉴클레오티드이거나 이를 포함하는 조성물.
- [0789] 113. 구현예 106 내지 110 중 어느 한 구현예에 있어서, 완충액에 용해된 올리고뉴클레오티드이거나 이를 포함하는 조성물.
- [0790] 114. 구현예 106 내지 113 중 어느 한 구현예에 있어서, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 전달하는 조성물.
- [0791] 115. 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물로서, 복수의 각 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염이고, 특정 올리고뉴클레오티드는 구현예 1 내지 105 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드인 조성물.
- [0792] 116. 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물로서, 복수의 각 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염이고, 특정 올리고뉴클레오티드는 구현예 1 내지 105 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드이고, 특정 올리고뉴클레오티드의 염기 서열을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%,

40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 복수의 올리고뉴클레오티드인 조성물.

- [0793] 117. 복수의 올리고뉴클레오티드를 포함하는 조성물로서, 복수의 각 올리고뉴클레오티드는 독립적으로 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염이고, 특정 올리고뉴클레오티드는 구현예 1 내지 105 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드이고, 특정 올리고뉴클레오티드 또는 이의 염의 구성을 공유하는 조성물 내의 모든 올리고뉴클레오티드의 적어도 약 5%~100%, 10%~100%, 20~100%, 30%~100%, 40%~100%, 50%~100%, 5%~90%, 10%~90%, 20~90%, 30%~90%, 40%~90%, 50%~90%, 5%~85%, 10%~85%, 20~85%, 30%~85%, 40%~85%, 50%~85%, 5%~80%, 10%~80%, 20~80%, 30%~80%, 40%~80%, 50%~80%, 5%~75%, 10%~75%, 20~75%, 30%~75%, 40%~75%, 50%~75%, 5%~70%, 10%~70%, 20~70%, 30%~70%, 40%~70%, 50%~70%, 5%~65%, 10%~65%, 20~65%, 30%~65%, 40%~65%, 50%~65%, 5%~60%, 10%~60%, 20~60%, 30%~60%, 40%~60%, 50%~60%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 복수의 올리고뉴클레오티드인 조성물.
- [0794] 118. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 구성을 공유하는 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 올리고뉴클레오티드 수준은 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 85%~100%(예를 들어, 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 뉴클레오티드간 연결의 수입) 조성물.
- [0795] 119. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 복수의 올리고뉴클레오티드에 대해, 복수의 구성을 공유하는 조성물 내 복수의 올리고뉴클레오티드의 올리고뉴클레오티드 수준은 독립적으로 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 85%~100%(예를 들어, 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 뉴클레오티드간 연결의 수입) 조성물.
- [0796] 120. 구현예 118 또는 119에 있어서, DS는 약 90%~100%(예를 들어, 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)인 조성물.
- [0797] 121. 구현예 118 또는 119에 있어서, DS는 약 95%~100%인 조성물.
- [0798] 122. 구현예 118 또는 119에 있어서, DS는 약 97%~100%인 조성물.
- [0799] 123. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 수준은 적어도 약 10%~100%, 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%인 조성물.
- [0800] 124. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 수준은 적어도 약 50%~100%, 또는 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%인 조성물.
- [0801] 125. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0802] 126. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0803] 127. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 조성물.
- [0804] 128. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 조성물.
- [0805] 129. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 조성물.
- [0806] 130. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오티드의 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 조성물.

[0807] 131. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.

[0808] 132. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.

[0809] 133. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 조성물.

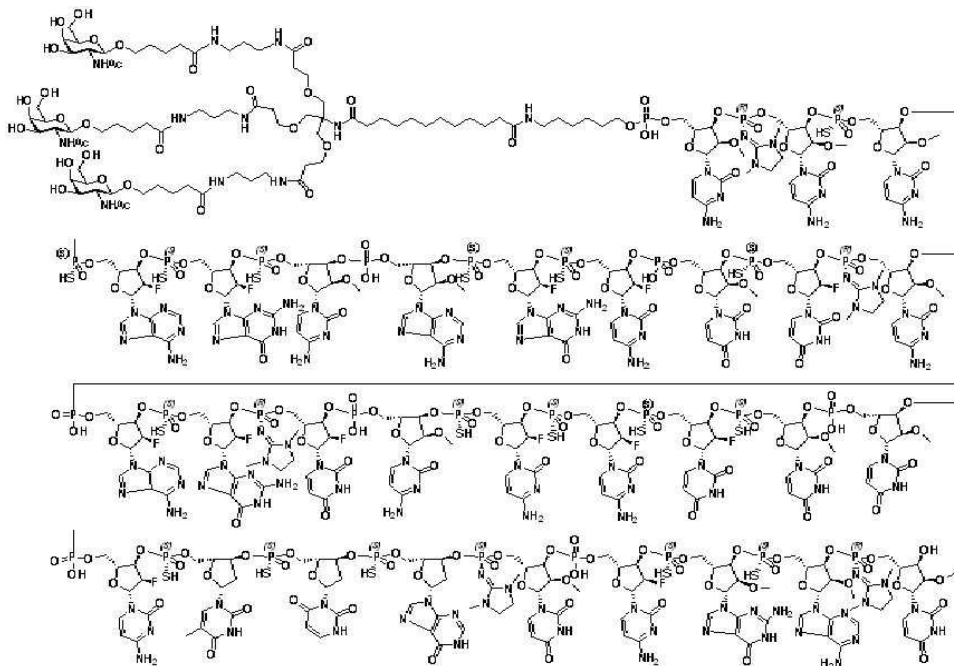
[0810] 134. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 조성물.

[0811] 135. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 조성물.

[0812] 136. 구현예 115 내지 117 중 어느 한 구현예에 있어서, 복수의 올리고뉴클레오타이드의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 조성물.

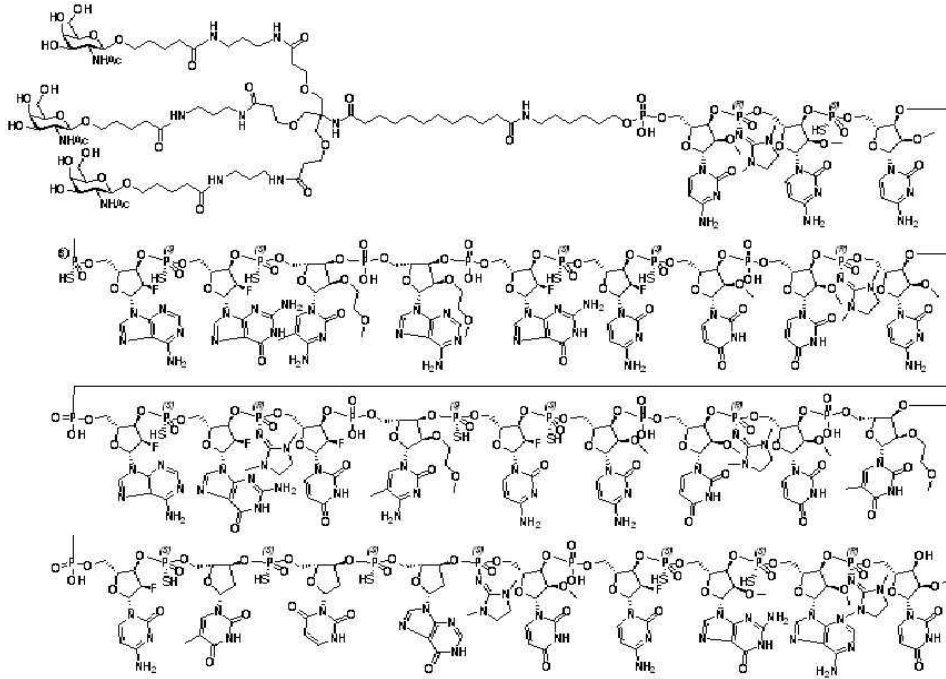
[0813] 137. 화학식 A-1 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

[0814] [화학식 A-1]



[0815] 138. 화학식 A-2 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

[0817] [화학식 A-2]



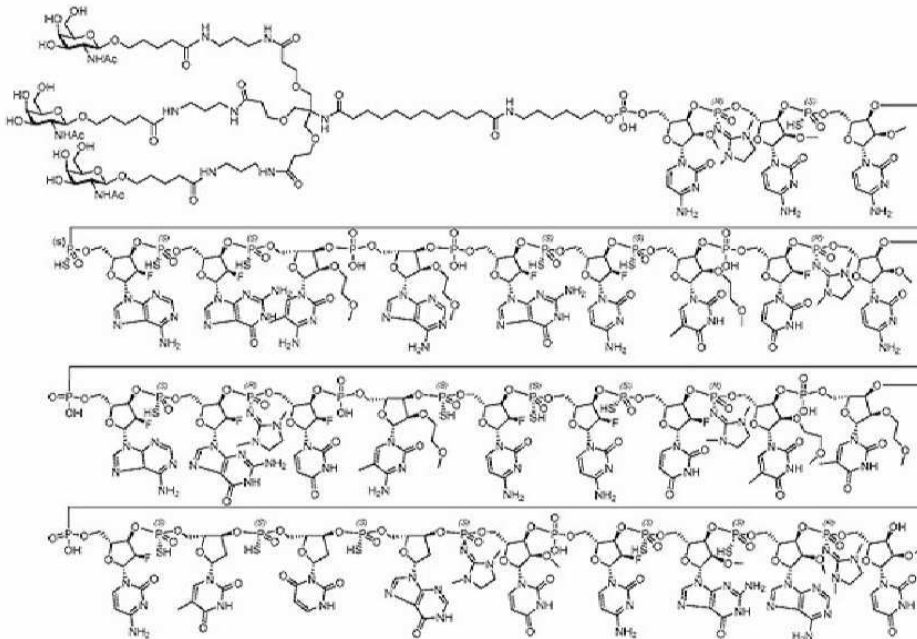
[0818]

[0819]

[0820]

139. 화학식 A-3 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

[화학식 A-3]



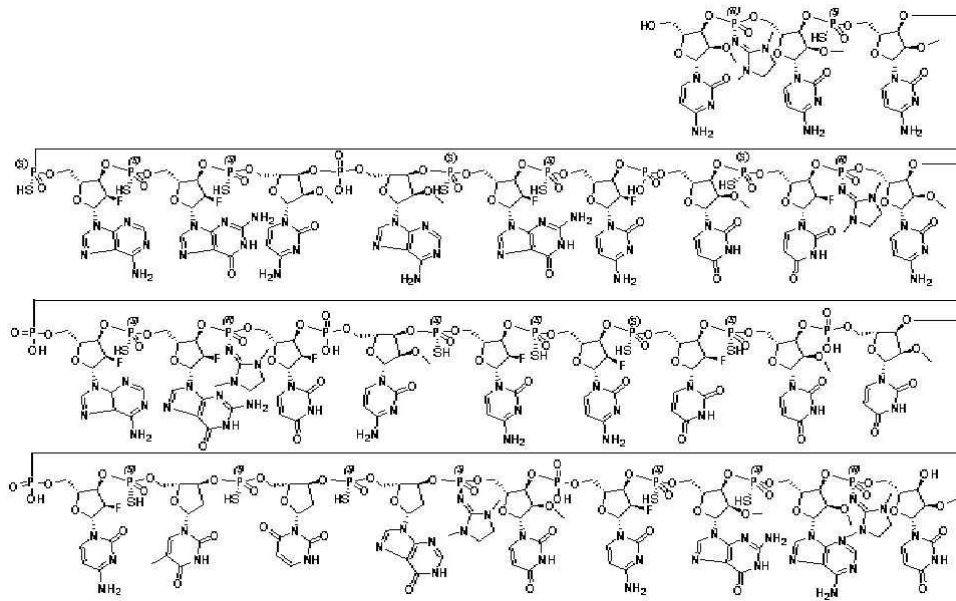
[0821]

[0822]

[0823]

140. 화학식 B-1 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

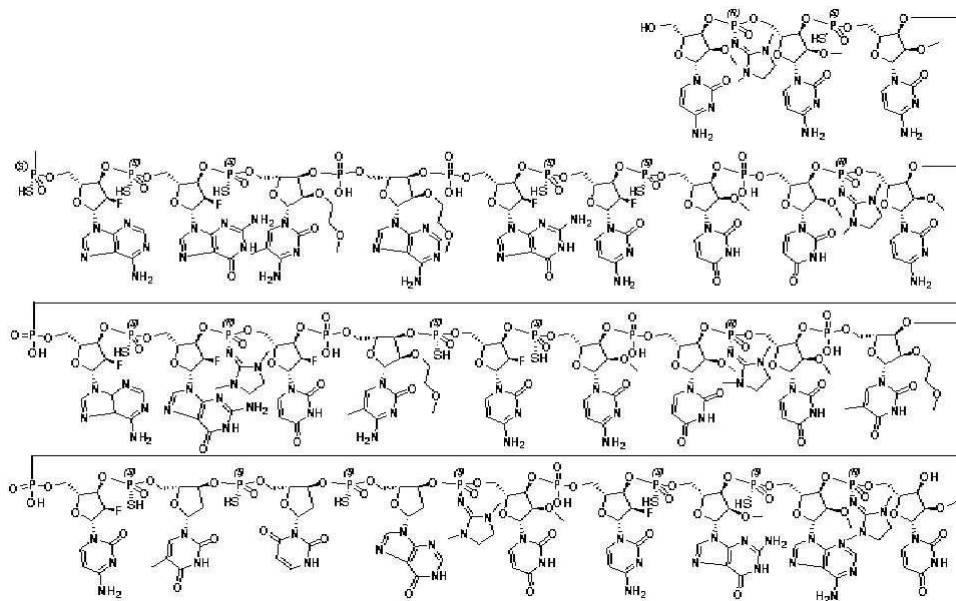
[화학식 B-1]



[0824]

[0825] 141. 화학식 B-2 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

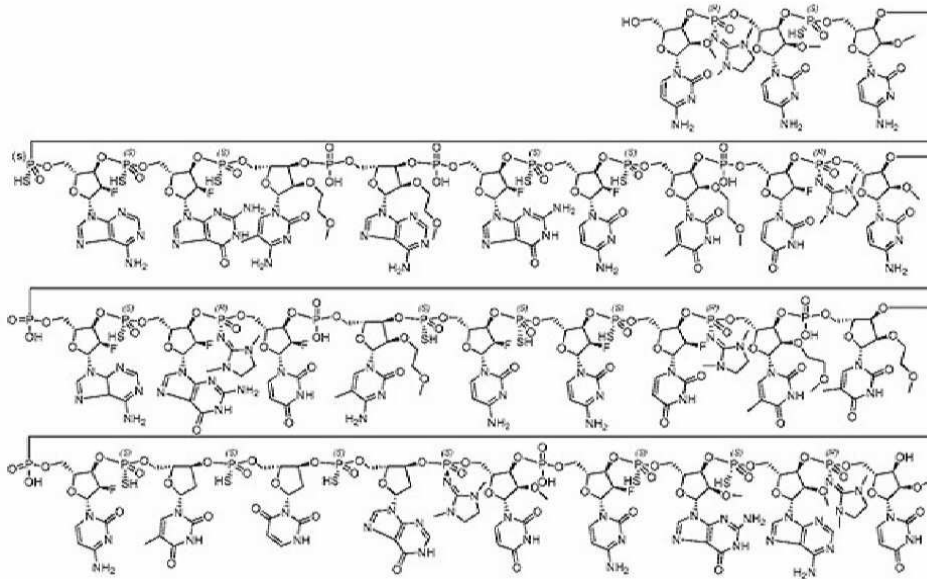
[0826] [화학식 B-2]



[0827]

[0828] 142. 화학식 B-3 또는 이의 제약상 허용가능한 염의 구조를 갖는 화합물:

[0829] [화학식 B-3]



[0830]

[0831]

143. 구현예 140 내지 142 중 어느 한 구현예의 화합물과 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체인 화합물.

[0832]

144. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티이거나 이를 포함하는 화합물.

[0833]

145. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함하는 화합물.

[0834]

146. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이거나 이를 포함하는 화합물.

[0835]

147. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 화합물.

[0836]

148. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 둘 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 화합물.

[0837]

149. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.

[0838]

150. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 수용체의 리간드이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[0839]

151. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 화합물.

[0840]

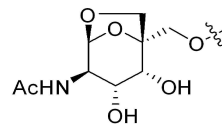
152. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 모이어티를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드인 화합물.

[0841]

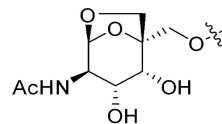
153. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 화합물.

[0842]

154. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc을 포함하는 화합물.

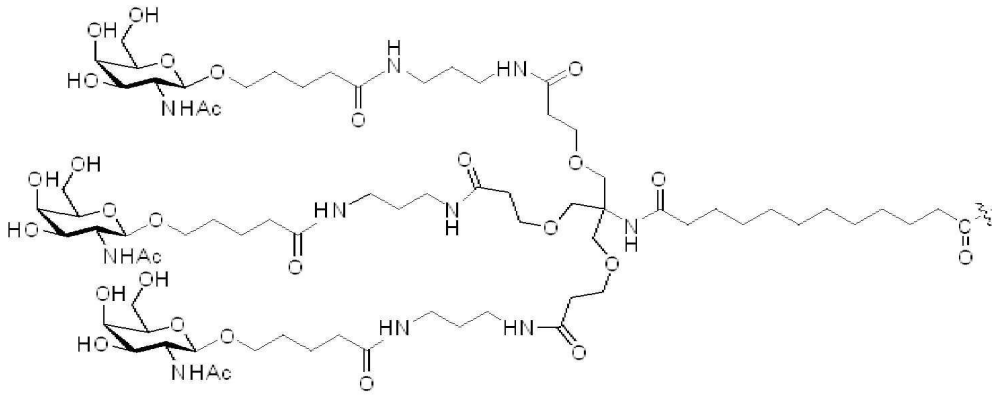


[0843]

155. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를 포함하는 화합물.

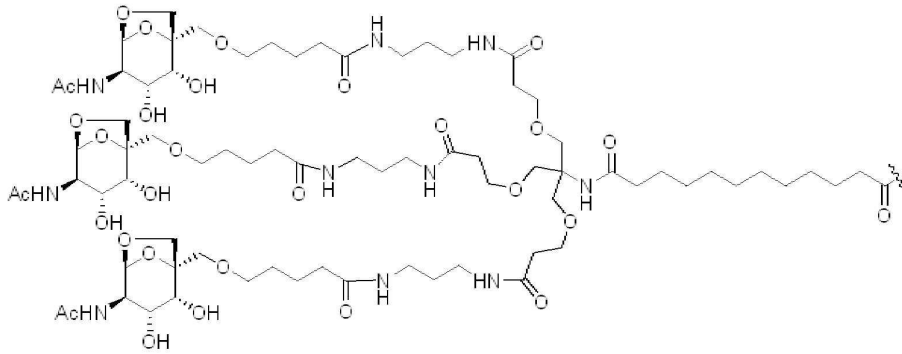
[0844]

156. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



인 화합물.

[0845] 157. 구현예 143에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



이거나 이를 포함하는

화합물.

[0846] 158. 구현예 143 내지 157 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 직접 접합되는 화합물.

[0847] 159. 구현예 143 내지 157 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 링커를 통해 접합되는 화합물.

[0848] 160. 구현예 159에 있어서, 링커는 L001이거나 이를 포함하는 화합물.

[0849] 161. 구현예 143 내지 160 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단에 접합되는 화합물.

[0850] 162. 구현예 143 내지 160 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 3'-말단에 접합되는 화합물.

[0851] 163. 구현예 143 내지 160 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 사슬의 중간에 접합되는 화합물.

[0852] 164. 구현예 143 내지 163 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 당에 접합되는 화합물.

[0853] 165. 구현예 143 내지 163 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 핵염기에 접합되는 화합물.

[0854] 166. 구현예 143 내지 163 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 뉴클레오타이드간 연결에 접합되는 화합물.

[0855] 167. 구현예 160에 있어서, L001은 포스페이트 기를 통해 올리고뉴클레오타이드 사슬의 5'-말단 5'-탄소에 연결되는 화합물.

[0856] 168. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 염 형태인 화합물.

[0857] 169. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 제약상 허용가능한 염 형태인 화합물.

[0858] 170. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 나트륨 염 형태인 화합물.

[0859] 171. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약

85%~100%(예를 들어, 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.

- [0860] 172. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 90%~100%(예를 들어, 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5% 이상)이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.
- [0861] 173. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 95%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.
- [0862] 174. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 97%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.
- [0863] 175. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 98%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.
- [0864] 176. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 부분입체순도는 약 또는 적어도 약 (DS)<sup>nc</sup>인(DS는 약 또는 적어도 약 99%이고 nc는 키랄 연결 인의 수입) 화합물.
- [0865] 177. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0866] 178. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 하나 이상(예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0867] 179. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0868] 180. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0869] 181. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 화합물.
- [0870] 182. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 화합물.
- [0871] 183. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 화합물.
- [0872] 184. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 포스포로티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 화합물.
- [0873] 185. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0874] 186. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 화합물.
- [0875] 187. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 화합물.
- [0876] 188. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 화합물.
- [0877] 189. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 화합물.

- [0878] 190. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 화합물.
- [0879] 191. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 약 10%~100%(예를 들어, 약 10%~95%, 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 약 또는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 화합물.
- [0880] 192. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 약 50%~100%(예를 들어, 약 50%~80%, 50%~85%, 50%~90%, 50%~95%, 60%~80%, 60%~85%, 60%~90%, 60%~95%, 60%~100%, 65%~80%, 65%~85%, 65%~90%, 65%~95%, 65%~100%, 70%~80%, 70%~85%, 70%~90%, 70%~95%, 70%~100%, 75%~80%, 75%~85%, 75%~90%, 75%~95%, 75%~100%, 80%~85%, 80%~90%, 80%~95%, 80%~100%, 85%~90%, 85%~95%, 85%~100%, 90%~95%, 90%~100%, 또는 적어도 약 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 등)의 순도를 갖는 화합물.
- [0881] 193. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 화합물 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제약 조성물.
- [0882] 194. 구현예 193에 있어서, 화합물은 제약상 허용가능한 염 형태로 존재하는 것인 조성물.
- [0883] 195. 구현예 193에 있어서, 화합물의 2개 이상의 제약상 허용가능한 염 형태를 포함하는 조성물.
- [0884] 196. 구현예 193 내지 195 중 어느 한 구현예에 있어서, 액체인 조성물.
- [0885] 197. 구현예 193 내지 196 중 어느 한 구현예에 있어서, 물에 용해된 화합물이거나 이를 포함하는 조성물.
- [0886] 198. 구현예 193 내지 196 중 어느 한 구현예에 있어서, 완충액에 용해된 화합물이거나 이를 포함하는 조성물.
- [0887] 199. 구현예 193 내지 198 중 어느 한 구현예에 있어서, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 화합물의 유효량을 전달하는 조성물.
- [0888] 200. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0889] 201. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0890] 202. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 조성물.
- [0891] 203. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 조성물.
- [0892] 204. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 조성물.
- [0893] 205. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 포스포리티오에이트 연결 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 조성물.
- [0894] 206. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심 인의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0895] 207. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 조성물.
- [0896] 208. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 95%인 조성물.
- [0897] 209. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체

과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 96%인 조성물.

- [0898] 210. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 97%인 조성물.
- [0899] 211. 구현예 193 내지 199 중 어느 한 구현예에 있어서, 화합물의 각각의 키랄 연결 인 중심의 부분입체이성체 과잉은 독립적으로 약 또는 적어도 약 98%인 조성물.
- [0900] 212. 표적 핵산에서 표적 아데노신을 변형시키는 방법으로서, 표적 핵산을 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법.
- [0901] 213. 표적 핵산에서 표적 아데노신을 탈아미노화하는 방법으로서, 표적 핵산을 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법.
- [0902] 214. 특정 핵산의 산물을 생성하거나, 특정 핵산의 산물 수준을 복원 또는 증가시키는 방법으로서, 표적 핵산을 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고, 특정 핵산은 표적 아데노신 대신 I 또는 G를 갖는다는 점에서 표적 핵산과 상이하고, 표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법.
- [0903] 215. 표적 핵산의 산물 수준을 감소시키는 방법으로서, 표적 핵산을 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하되, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고, 표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A인 방법.
- [0904] 216. 구현예 214 또는 215에 있어서, 산물은 단백질인 방법.
- [0905] 217. 구현예 214 또는 215에 있어서, 산물은 mRNA인 방법.
- [0906] 218. 구현예 212 내지 217 중 어느 한 구현예에 있어서, 표적 핵산은 샘플 내에 있는 방법.
- [0907] 219. 방법으로서,
- [0908] 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물을 표적 핵산 및 아데노신 디아미나제를 포함하는 샘플과 접촉시키는 단계를 포함하고, 표적 핵산은 표적 아데노신을 포함하고;
- [0909] 표적 핵산은 1024 G>A 돌연변이가 있는 인간 SERPINA1 전사체이고, 표적 아데노신은 인간 SERPINA1에서 1024 G>A이고;
- [0910] 표적 아데노신은 변형되는 방법.
- [0911] 220. 구현예 219에 있어서, 디아미나제는 ADAR 효소인 방법.
- [0912] 221. 구현예 219에 있어서, 디아미나제는 ADAR1인 방법.
- [0913] 222. 구현예 219에 있어서, 디아미나제는 ADAR2A인 방법.
- [0914] 223. 구현예 212 내지 222 중 어느 한 구현예에 있어서, 샘플은 세포인 방법.
- [0915] 224. 병태, 장애 또는 질환을 예방하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0916] 225. 병태, 장애 또는 질환을 예방하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0917] 226. 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.

- [0918] 227. 병태, 장애 또는 질환을 치료하는 방법으로서, 이에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0919] 228. 대상체의 간에서 Z-AAT를 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0920] 229. 대상체의 간에서 Z-AAT를 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0921] 230. 대상체에서 간 염증을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0922] 231. 대상체에서 간 염증을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0923] 232. 대상체에서 엘라스타제를 억제하는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0924] 233. 대상체에서 엘라스타제를 억제하는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0925] 234. 대상체의 혈청 또는 혈액에서 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0926] 235. 대상체의 혈청 또는 혈액에서 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0927] 236. 구현예 234 또는 235에 있어서, A1AT 폴리펩티드는 기준 A1AT 폴리펩티드와 비교하여 하나 이상의 더 높은 활성을 제공하는 방법.
- [0928] 237. 구현예 234 또는 235에 있어서, A1AT 폴리펩티드는 E342 A1AT 폴리펩티드와 비교하여 하나 이상의 더 높은 활성을 제공하는 방법.
- [0929] 238. 구현예 234 내지 237 중 어느 한 구현예에 있어서, A1AT 폴리펩티드는 야생형 A1AT 폴리펩티드인 방법.
- [0930] 239. 구현예 234 내지 238 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 내 A1AT 폴리펩티드의 양을 증가시키는 방법.
- [0931] 240. 구현예 234 내지 238 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 내 기준 A1AT 폴리펩티드의 양을 감소시키는 방법.
- [0932] 241. 구현예 234 내지 240 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 또는 혈액 내 기준 A1AT 폴리펩티드에 비해 A1AT 폴리펩티드의 비율을 증가시키는 방법.
- [0933] 242. 구현예 234 내지 241 중 어느 한 구현예에 있어서, 기준 A1AT 폴리펩티드는 돌연변이된 방법.
- [0934] 243. 구현예 234 내지 242 중 어느 한 구현예에 있어서, 기준 A1AT 폴리펩티드는 E342K A1AT 폴리펩티드인 방법.
- [0935] 244. 대상체의 혈청 또는 혈액에서 돌연변이체 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.

- [0936] 245. 대상체의 혈청 또는 혈액에서 돌연변이체 알파-1 항트립신(A1AT) 폴리펩티드의 수준 및/또는 활성을 감소시키는 방법으로서, 대상체에게 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하고, 대상체는 인간 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [0937] 246. 구현예 244 또는 245에 있어서, 돌연변이체 A1AT 폴리펩티드는 E342KA1AT 폴리펩티드인 방법.
- [0938] 247. 구현예 234 내지 246 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 병태, 장애 또는 질환에 걸리기 쉽거나 이를 앓고 있는 방법.
- [0939] 248. 구현예 224 내지 247 중 어느 한 구현예에 있어서, 병태, 장애 또는 질환은 알파-1 항트립신 결핍증인 방법.
- [0940] 249. 구현예 224 내지 248 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 동형접합성인 방법.
- [0941] 250. 구현예 224 내지 248 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성인 방법.
- [0942] 251. 구현예 224 내지 248 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성이고, 하나의 대립유전자는 야생형인 방법.
- [0943] 252. 구현예 224 내지 248 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 이형접합성 ZZ 유전자형을 갖는 방법.
- [0944] 253. 구현예 224 내지 248 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 동형접합성 ZZ 유전자형을 갖는 방법.
- [0945] 254. 구현예 224 내지 253 중 어느 한 구현예에 있어서, 간에서 야생형 A1AT의 수준 또는 활성을 증가시키거나 복원하는 방법.
- [0946] 255. 구현예 224 내지 254 중 어느 한 구현예에 있어서, Z-AAT 응집을 감소시키는 방법.
- [0947] 256. 구현예 224 내지 255 중 어느 한 구현예에 있어서, 간 손상을 감소시키거나 예방하는 방법.
- [0948] 257. 구현예 224 내지 256 중 어느 한 구현예에 있어서, 간경변을 감소시키거나 예방하는 방법.
- [0949] 258. 구현예 224 내지 257 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈액 내 야생형 AAT의 수준을 증가시키는 방법.
- [0950] 259. 구현예 224 내지 258 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈액 내 순환하는 폐 결합 야생형 AAT의 수준을 증가시키는 방법.
- [0951] 260. 구현예 224 내지 259 중 어느 한 구현예에 있어서, 폐 손상을 감소시키거나 예방하는 방법.
- [0952] 261. 구현예 224 내지 260 중 어느 한 구현예에 있어서, 프로테아제로부터 폐 손상을 감소시키거나 예방하는 방법.
- [0953] 262. 구현예 224 내지 261 중 어느 한 구현예에 있어서, 폐 염증을 감소시키거나 예방하는 방법.
- [0954] 263. 구현예 224 내지 253 중 어느 한 구현예에 있어서, 병태, 장애 또는 질환은 간 병태, 장애 또는 질환인 방법.
- [0955] 264. 구현예 224 내지 253 중 어느 한 구현예에 있어서, 병태, 장애 또는 질환은 대사성 간 병태, 장애 또는 질환인 방법.
- [0956] 265. 구현예 224 내지 264 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 투여된 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물은 표적화 모이어티를 포함하는 방법.
- [0957] 266. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0958] 267. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 1의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0959] 268. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 2의 올리고뉴클레오티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0960] 269. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 3의 올리고뉴클레오티드의 유효량을

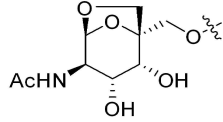
투여하는 단계를 포함하는 방법.

- [0961] 270. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 4의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0962] 271. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 5의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0963] 272. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 6의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0964] 273. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 7의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0965] 274. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 8의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0966] 275. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 9의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0967] 276. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 10의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0968] 277. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 28의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0969] 278. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 29의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0970] 279. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 30의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0971] 280. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 31의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0972] 281. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 32의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0973] 282. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 33의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0974] 283. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 34의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0975] 284. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 35의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0976] 285. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 36의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0977] 286. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 37의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0978] 287. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 137의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0979] 288. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 138의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0980] 289. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 139의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0981] 290. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 140의 화합물의 유효량을 투여하는

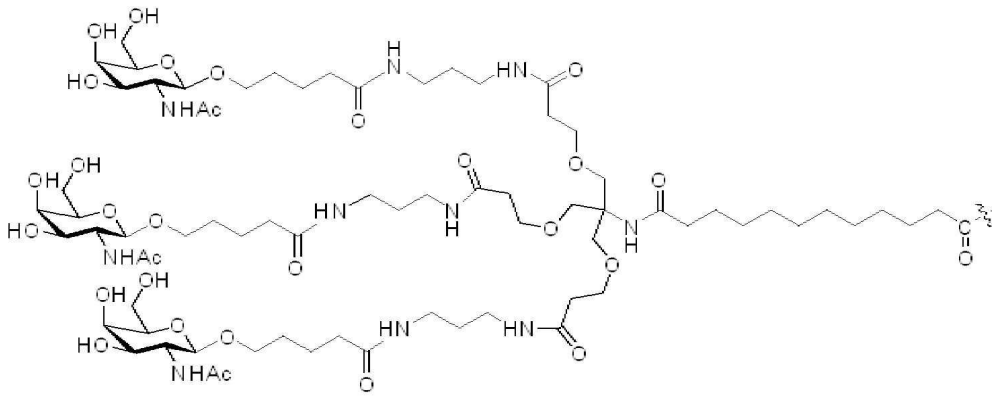
단계를 포함하는 방법.

- [0982] 291. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 141의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0983] 292. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 142의 화합물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0984] 293. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 24 내지 55 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0985] 294. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 28 내지 37 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0986] 295. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 28 내지 37 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0987] 296. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 28의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0988] 297. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 29의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0989] 298. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 30의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0990] 299. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 31의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0991] 300. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 32의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0992] 301. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 33의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0993] 302. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 34의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0994] 303. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 35의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0995] 304. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 36의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0996] 305. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 37의 올리고뉴클레오타드의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0997] 306. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 140의 화합물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0998] 307. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 141의 화합물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [0999] 308. 구현예 224 내지 265 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체에게 구현예 142의 화합물의 유효량을 전달하는 단계를 포함하는 방법.
- [1000] 309. 구현예 293 내지 308 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오타드 또는 화합물은 대상체에게 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염과 각각 올리고뉴클레오타드 또는 화합물의 접합체의 유효량을 투여함으로써 전달되는 방법.
- [1001] 310. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1002] 311. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.

- [1003] 312. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1004] 313. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1005] 314. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 둘 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1006] 315. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드.
- [1007] 316. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 수용체의 리간드이거나 이를 포함하는 올리고뉴클레오티드.
- [1008] 317. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 방법.
- [1009] 318. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 모이어티를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드인 방법.
- [1010] 319. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 방법.
- [1011] 320. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc을 포함하는 방법.

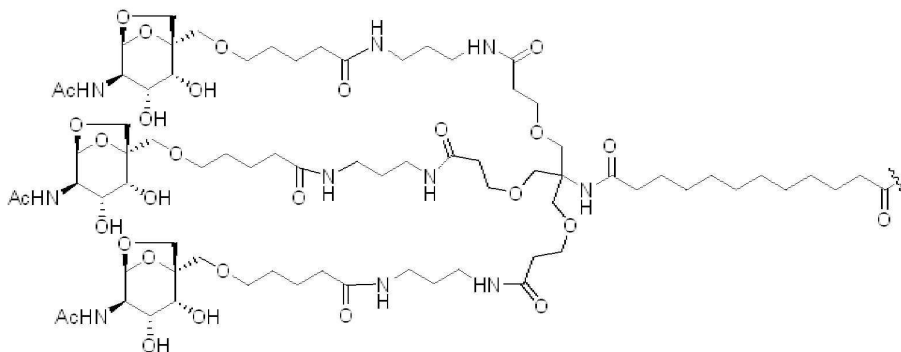
[1012] 321. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는  이거나 이를 포함하는 방법.

[1013] 322. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



인 방법.

[1014] 323. 구현예 309에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는

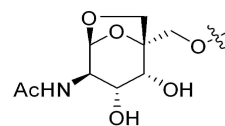


이거나 이를 포함하는 방법.

[1015] 324. 구현예 309 내지 323 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 직접 접합되는 방법.

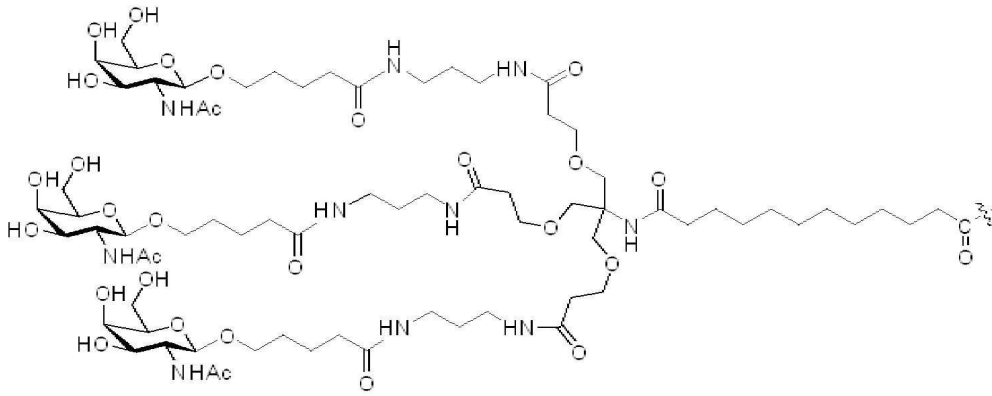
[1016] 325. 구현예 309 내지 323 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 링커를 통해 접합되는 방법.

- [1017] 326. 구현예 325에 있어서, 링커는 L001이거나 이를 포함하는 방법.
- [1018] 327. 구현예 309 내지 326 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 접합되는 방법.
- [1019] 328. 구현예 309 내지 326 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 3'-말단에 접합되는 방법.
- [1020] 329. 구현예 309 내지 326 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 중간에 접합되는 방법.
- [1021] 330. 구현예 309 내지 329 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 당에 접합되는 방법.
- [1022] 331. 구현예 309 내지 329 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 핵염기에 접합되는 방법.
- [1023] 332. 구현예 309 내지 329 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 뉴클레오티드간 연결에 접합되는 방법.
- [1024] 333. 구현예 326에 있어서, L001은 포스페이트 기를 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단 5'-탄소에 연결되는 방법.
- [1025] 334. 구현예 24 내지 55 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 올리고뉴클레오티드와 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1026] 335. 구현예 140 내지 142 중 어느 한 구현예의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 화합물과 추가의 화학적 모이어티 또는 이의 염의 접합체를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1027] 336. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 표적화 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1028] 337. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 탄수화물 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1029] 338. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 지질 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1030] 339. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 하나 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1031] 340. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 둘 이상의 단백질 리간드 모이어티이거나 이를 포함하는 방법.
- [1032] 341. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간을 표적으로 하는 방법.
- [1033] 342. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 간에서 발현된 수용체의 리간드이거나 이를 포함하는 방법.
- [1034] 343. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드이거나 이를 포함하는 방법.
- [1035] 344. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 다수의 모이어티를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 아시알로당단백질 수용체에 대한 리간드인 방법.
- [1036] 345. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 GalNAc이거나 이를 포함하는 방법.
- [1037] 346. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 3개의 GalNAc을 포함하는 방법.



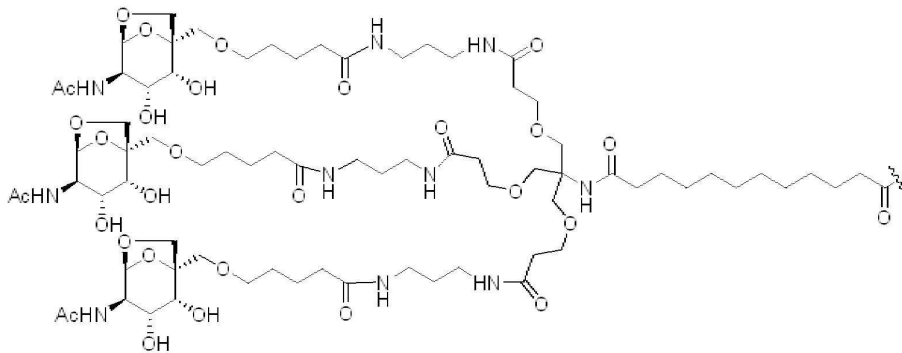
[1038] 347. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 이거나 이를 포함하는 방법.

[1039] 348. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



인 방법.

[1040] 349. 구현예 334 또는 335에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는



이거나 이를 포함하는 방법.

[1041] 350. 구현예 334 내지 349 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 직접 접합되는 방법.

[1042] 351. 구현예 334 내지 349 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 화합물의 나머지에 링커를 통해 접합되는 방법.

[1043] 352. 구현예 351에 있어서, 링커는 L001이거나 이를 포함하는 방법.

[1044] 353. 구현예 334 내지 352 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단에 접합되는 방법.

[1045] 354. 구현예 334 내지 352 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 3'-말단에 접합되는 방법.

[1046] 355. 구현예 334 내지 352 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 올리고뉴클레오티드 사슬의 중간에 접합되는 방법.

[1047] 356. 구현예 334 내지 355 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 당에 접합되는 방법.

[1048] 357. 구현예 334 내지 355 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 핵염기에 접합되는 방법.

[1049] 358. 구현예 334 내지 355 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 화학적 모이어티는 뉴클레오티드간 연결에 접합되는 방법.

[1050] 359. 구현예 352에 있어서, L001은 포스페이트 기를 통해 올리고뉴클레오티드 사슬의 5'-말단 5'-탄소에 연결되는 방법.

[1051] 360. 구현예 28 내지 37 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 1 내지 10에 기재된 상응하는 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[1052] 361. 구현예 28의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 1의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

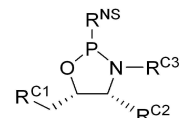
[1053] 362. 구현예 29의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 2의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

- [1054] 363. 구현예 30의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 3의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1055] 364. 구현예 31의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 4의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1056] 365. 구현예 32의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 5의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1057] 366. 구현예 33의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 6의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1058] 367. 구현예 34의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 7의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1059] 368. 구현예 35의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 8의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1060] 369. 구현예 36의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 9의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1061] 370. 구현예 37의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 10의 올리고뉴클레오티드를 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1062] 371. 구현예 140 내지 142 중 어느 한 구현예의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 137 내지 139에 기재된 상응하는 화합물을 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1063] 372. 구현예 140의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 137의 화합물을 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1064] 373. 구현예 141의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 138의 화합물을 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1065] 374. 구현예 142의 화합물을 시스템에 전달하는 방법으로서, 구현예 139의 화합물을 시스템에 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1066] 375. 구현예 334 내지 374 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 세포이거나 이를 포함하는 방법.
- [1067] 376. 구현예 334 내지 374 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 조직이거나 이를 포함하는 방법.
- [1068] 377. 구현예 334 내지 374 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 기관이거나 이를 포함하는 방법.
- [1069] 378. 구현예 334 내지 374 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 대상체인 방법.
- [1070] 379. 구현예 334 내지 374 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 인간인 방법.
- [1071] 380. 구현예 334 내지 379 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 방법.
- [1072] 381. 구현예 334 내지 380 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 동형접합성인 방법.
- [1073] 382. 구현예 334 내지 380 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성인 방법.
- [1074] 383. 구현예 334 내지 380 중 어느 한 구현예에 있어서, 시스템은 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이에 대해 이형접합성이고, 하나의 대립유전자는 야생형인 방법.
- [1075] 384. 구현예 334 내지 383 중 어느 한 구현예에 있어서, 전사체의 1024 G>A(E342K)는 편집되는 방법.
- [1076] 385. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드 또는 화합물은 제약상 허용되는 염 형태인 방법.
- [1077] 386. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드 또는 화합물은 하나 이상의 제약상 허용되

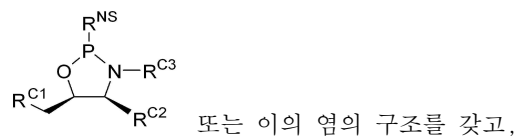
는 염 형태로 투여되는 방법.

- [1078] 387. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드 또는 화합물은 하나 이상의 제약상 허용되는 염 형태로 전달되는 방법.
- [1079] 388. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, SERPINA1 전사체의 1024 G>A(E342K) 돌연변이는 편집되는 방법.
- [1080] 389. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, E342K는 A1AT 폴리펩티드에서 교정되는 방법.
- [1081] 390. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 A1AT 수준은 투여 또는 전달 전의 수준과 비교하여 증가되는 방법.
- [1082] 391. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 E342 A1AT 수준은 투여 또는 전달 전의 수준과 비교하여 증가되는 방법.
- [1083] 392. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 혈청 E342K A1AT 수준은 투여 또는 전달 전의 수준과 비교하여 감소되는 방법.
- [1084] 393. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물은 부하 용량 없이 투여되는 방법.
- [1085] 394. 구현예 212 내지 393 중 어느 한 구현예에 있어서, 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물은 하나 이상의 부하 용량과 함께 투여되는 방법.
- [1086] 395. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 방법에 사용하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1087] 396. 상기 구현예 중 어느 한 구현예에 기재된 병태, 장애 또는 질환을 치료하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1088] 397. 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이와 관련이 있는 병태, 장애 또는 질환을 치료하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1089] 398. 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이와 관련이 있는 AATD를 치료하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1090] 399. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 방법을 위한 의약을 제조하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1091] 400. 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이와 관련이 있는 병태, 장애 또는 질환 치료용 의약을 제조하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1092] 401. 인간 SERPINA1의 1024 G>A(E342K) 돌연변이와 관련이 있는 AATD 치료용 의약을 제조하기 위한, 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드, 화합물 또는 조성물.
- [1093] 402. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드 또는 화합물을 제조하는 방법으로서, 키랄 보조체를 포함하는 포스포아미다이트를 하이드록실 기와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.
- [1094] 403. 상기 구현예 중 어느 한 구현예의 올리고뉴클레오티드 또는 화합물을 제조하는 방법으로서, 포스포아미다

이트를 하이드록실 기와 커플링시키는 단계를 포함하고, 포스포아미다이트는



또는



[1095] R<sup>NS</sup>는 임의로 보호된 뉴클레오시드 모이어티이고;

[1096] R<sup>C1</sup>은 R, -Si(R)<sub>3</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R이고;

- [1097] 각각의  $R^{C2}$  및  $R^{C3}$ 는 독립적으로 R이고;
- [1098] 각각의 R은 독립적으로 -H이거나,  $C_{1-20}$  지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는  $C_{1-20}$  헤테로지방족,  $C_{6-20}$  아릴,  $C_{6-20}$  아릴지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는  $C_{6-20}$  아릴헤테로지방족, 1~10개의 헤테로원자를 갖는 5~20원 헤테로아릴, 및 1~10개의 헤테로원자를 갖는 3~20원 헤테로시클릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기이거나;
- [1099] 2개의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 함께 공유 결합을 형성하거나, 또는
- [1100] 동일한 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 해당 원자와 함께, 해당 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~20원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성하거나;
- [1101] 2개 이상의 원자 상의 2개 이상의 R 기는 임의로 그리고 독립적으로 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 해당 개재된 원자 외에도 0~10개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~30원 단환, 이환 또는 다환 고리를 형성하는 방법.
- [1102] 404. 구현예 402 또는 403에 있어서, 키랄 보조체를 포함하는 포스포아미다이트를 임의로 치환된 올리고뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드의 유리 하이드록실 기와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.
- [1103] 405. 구현예 402 또는 403에 있어서, 키랄 보조체를 포함하는 포스포아미다이트를 임의로 치환된 올리고뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드의 유리 5'-OH 기와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.
- [1104] 406. 구현예 403 내지 405 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에 0~2개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3~7원 포화 또는 부분 불포화 고리를 형성하는 방법.
- [1105] 407. 구현예 403 내지 406 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{C2}$ 와  $R^{C3}$ 는 이들의 사이에 개재된 원자와 함께, 질소 원자 외에는 헤테로원자를 갖지 않는 임의로 치환된 5원 포화 고리를 형성하는 방법.
- [1106] 408. 구현예 402 내지 407 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-Si(R)_3$ 이고, 각각의 R은 독립적으로  $C_{1-20}$  지방족 및  $C_{6-20}$  아릴로부터 선택되는 임의로 치환된 기인 방법.
- [1107] 409. 구현예 402 내지 407 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-SiPh_2Me$ 인 방법.
- [1108] 410. 구현예 402 내지 409 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-SO_2R$ 이고, R은 -H가 아닌 방법.
- [1109] 411. 구현예 402 내지 409 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-SO_2R$ 이고, R은 임의로 치환된  $C_{1-10}$  지방족인 방법.
- [1110] 412. 구현예 402 내지 409 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-SO_2R$ 이고, R은 임의로 치환된 페닐인 방법.
- [1111] 413. 구현예 402 내지 409 중 어느 한 구현예에 있어서, 포스포아미다이트에 대해,  $R^{C1}$ 은  $-SO_2R$ 이고, R은 페닐인 방법.
- [1112] 414. 구현예 402 내지 413 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{NS}$ 의 하이드록실 기는 보호되는 방법.
- [1113] 415. 구현예 402 내지 413 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{NS}$ 의 하이드록실 기는  $-ODMTr$ 로서 보호되는 방법.
- [1114] 416. 구현예 402 내지 413 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{NS}$ 의 5'-OH는 보호되는 방법.
- [1115] 417. 구현예 402 내지 413 중 어느 한 구현예에 있어서,  $R^{NS}$ 의 5'-OH는  $-ODMTr$ 로서 보호되는 방법.
- [1116] 418. 구현예 402 내지 417 중 어느 한 구현예에 있어서, 각각의 헤테로원자는 독립적으로 질소, 산소, 규소, 인, 및 황으로부터 선택되는 방법.

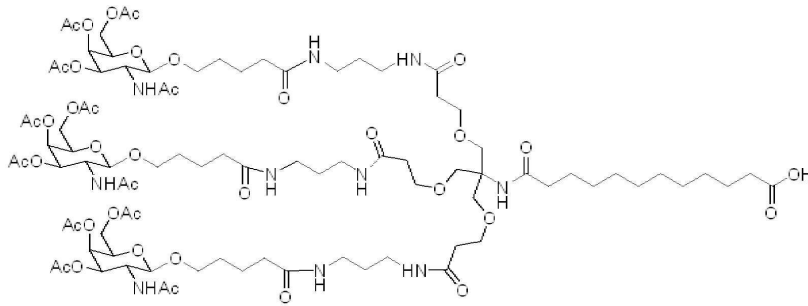
[1117] 419. 구현예 402 내지 418 중 어느 한 구현예에 있어서, C-6 아미노 링커와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

[1118] 420. 구현예 402 내지 419 중 어느 한 구현예에 있어서, GalNAc 함유 산과의 접합을 포함하는 방법.

[1119] 421. 구현예 402 내지 418 중 어느 한 구현예에 있어서, 임의로 치환된 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 포스포아미다이트와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

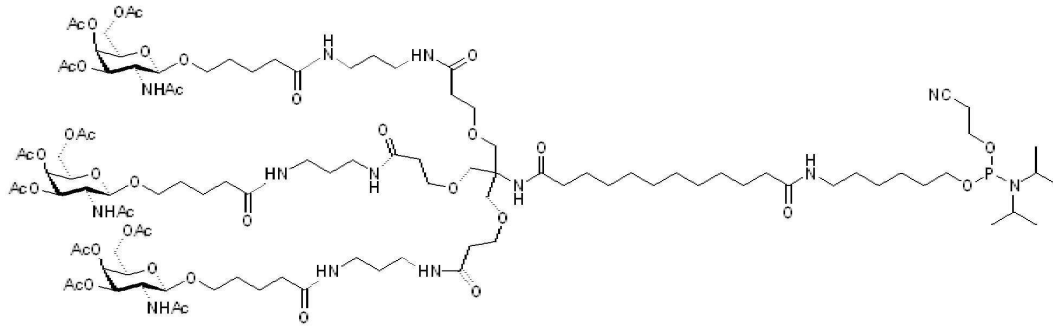
[1120] 422. 구현예 402 내지 418 중 어느 한 구현예에 있어서, 임의로 치환된 추가의 화학적 모이어티를 포함하는 포스포아미다이트 및 링커와 커플링시키는 단계를 포함하는 방법.

[1121] 423. 구현예 420에 있어서, GalNAc 함유 산은



의 구조를 갖는 방법.

[1122] 424. 구현예 421 또는 422에 있어서, 포스포아미다이트는



의 구조를 갖는 방법.

[1123] 425. 구현예 423 또는 424에 있어서, GalNAc(OAc)의 보호된 하이드록시 기를 -OH로 탈보호하는 단계를 포함하는 방법.

[1124] 실시예

[1125] 제공된 기술(화합물(올리고뉴클레오타이드, 시약 등), 조성물, 방법(제조 방법, 사용 방법, 평가 방법 등) 등)의 특정 실시예를 본원에 제시하였다. 당업자는 다수의 기술, 예를 들어, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, WO 2022/099159 등에 기재된 것들이 본 발명에 따라 제공된 기술을 준비 및/또는 제공된 기술의 특성 및/또는 활성을 평가하는 데 이용될 수 있음을 이해한다.

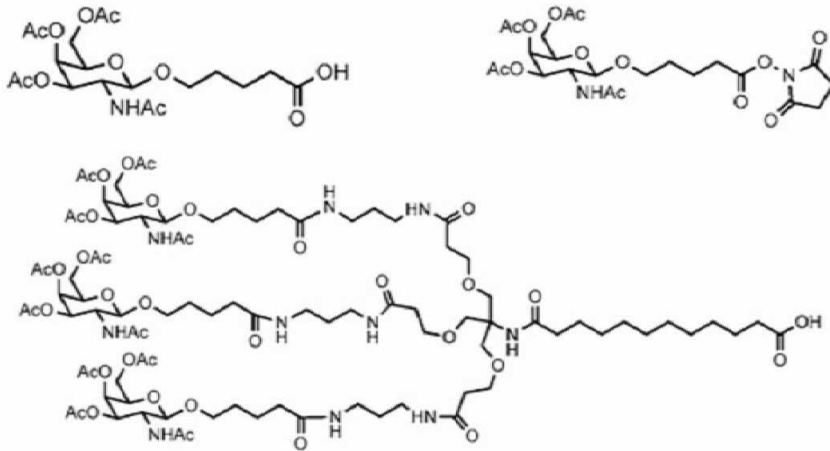
[1126] 실시예 1. 제공된 기술을 평가하기 위한 유용한 기술.

[1127] 본 발명에 따라, 예를 들어 아데노신 편집을 위해 제공된 기술을 평가하기 위해 다양한 기술이 활용될 수 있다. 일부 구현예에서 보고 분석이 활용될 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 및 조성물을 평가하고 다양한 세포, 예를 들어 마우스 또는 인간 1차 간세포, 세포주 등에서 편집을 제공하는 것으로 확인하였다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 및 조성물을 평가하고 대상체에서 편집을 제공하는 것으로 확인하였다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 및 조성물은 동물, 예를 들어, 마우스, 비인간 영장류(예를 들어, 시노플구스 마카크) 등에서 편집을 제공하는 것으로 평가하고 확인하였다. 일부 구현예에서, 세포, 대상체 등은 관련 표적 아데노신, 예를 들어, SERPINA1의 1024 G>A를 포함한다.

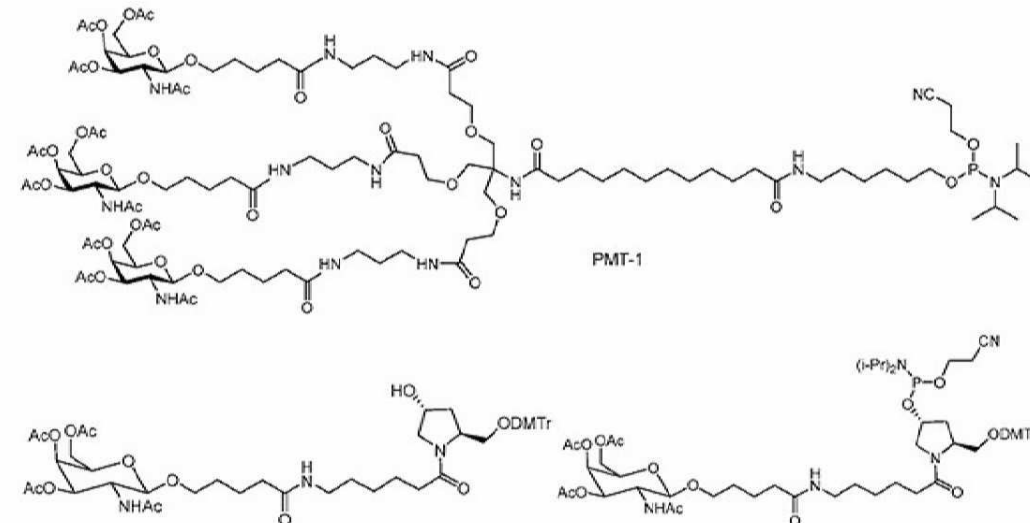
- [1128] 유용한 특정 기술이 본 발명 및 우선권 출원, WO 2021/071858, WO 2022/046667, 또는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전체는 독립적으로 참조로 포함된다.
- [1129] 일부 구현예에서, 제공된 기술, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물은 동물 모델에서 평가된다. 일부 구현예에서, 관찰된 양으로(예를 들어, 혈청 내 ng/mL) 및/또는 상대적으로(예를 들어, 총 단백질 또는 총 A1AT 단백질의 %로서) 원하는 산물(예를 들어, 혈청에서 적절하게 접힌 야생형 A1AT 단백질)의 수준, 특성 및/또는 활성이 증가되고/되거나 바람직하지 않은 산물(예를 들어, 혈청에서 돌연변이체(예를 들어, E342K) A1AT 단백질)의 수준, 특성 및/또는 활성이 감소된다.
- [1130] 올리고뉴클레오타이드 및 조성물은 본 발명에 따른 많은 기술을 이용하여 전달될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이들은 형질감염에 의해 전달되었다. 일부 구현예에서, 이들은 짐노틱 흡수에 의해 전달되었다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 전달을 촉진할 수 있는 모이어티를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 모이어티는 폴리펩티드, 예를 들어, 많은 경우에 세포 표면 상의 수용체에 대한 리간드이다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 전달에 이용될 수 있도록 세포, 조직 등의 유형 또는 집단에 의해 더 높은 수준으로 발현된다. 일부 구현예에서, 리간드는 ASGPR 리간드이다. 일부 구현예에서, 리간드는 GalNAc 또는 이의 유도체인거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 각각 독립적으로 폴리펩티드의 리간드인 2개 이상의 리간드 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 리간드 모이어티의 2개 이상의 카피를 포함한다. 일부 구현예에서, 모이어티는 위치 또는 환경의 하나 이상의 특성(예를 들어, pH, 산화환원 등)을 표적으로 한다.
- [1131] 일부 구현예에서, 제공된 기술의 기술은 증가된 안정성, 높은 수준의 편집 등을 제공할 수 있다.
- [1132] 일부 구현예에서, 제공된 기술은 높은 수준의 선택성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 또는 99.9%의 관찰된 아데노신 편집은 표적 아데노신에 있다. 일부 구현예에서, 암호화 영역에서 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 관찰된 아데노신 편집은 표적 아데노신에 있다. 일부 구현예에서, 표적 핵산(예를 들어, 표적 유전자의 전사체)에서 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 관찰된 아데노신 편집은 표적 아데노신에 있다. 일부 구현예에서, 표적 핵산(예를 들어, 표적 유전자의 전사체)의 암호화 영역에서 약 또는 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 관찰된 아데노신 편집은 표적 아데노신에 있다. 예를 들어, RNA-Seq와 같은 다양한 기술이 선택성을 평가하기 위해 당업자에게 이용 가능하다; 이러한 특정 기술은 본원 또는 우선권 출원, WO 2021/071858, WO 2022/046667, 또는 WO 2022/099159에 기재되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 독립적으로 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 선택성에 대한 백분율은 적어도 약 80%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 85%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 90%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 95%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 96%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 97%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 98%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 99%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 99.5%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 적어도 약 99.9%이다. 일부 구현예에서, 백분율은 약 100%이다. 일부 구현예에서, 오프-타겟 편집은 관찰되지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 높은 생체내 선택성을 제공한다.
- [1133] 제공된 기술이 제공할 수 있는 다양한 이점 및 장점을 예시하는 예로서, 예를 들어 본원의 도면 및 표에 다양한 결과가 제시되어 있다.
- [1134] 제공된 기술은 ADAR1 및/또는 ADAR2의 존재 하에 강력한 편집을 제공할 수 있다. 제공된 기술은 ADAR1-p110 및/또는 ADAR1-p150의 존재 하에 강력한 편집을 제공할 수 있다.
- [1135] 실시예 2. 올리고뉴클레오타이드 및 조성물 제조 기술.
- [1136] 제공된 기술(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, 조성물(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 조성물, 제약 조성물 등)을 제조하기 위한 다양한 기술(예를 들어, 포스포아미다이트, 핵염기, 뉴클레오시드 등)은 예를 들어, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252, WO 2021/071858, 및/또는 WO 2022/099159에 기재된 방법 및 시약을 포함하여 본 발명에 따라 이용될 수 있으며, 각각의 방법 및 시약은 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 본 발명은 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물을 제조하기 위한 유용한 기술을 제공한다. 많은 올리고뉴클레오타이드 및 이의 조성물, 예를

들어 표 1의 다양한 올리고뉴클레오티드 및 이의 조성물이 제조 및 평가되었고 다양한 활성, 예를 들어 아데노신 편집을 제공하는 것으로 확인되었다.

[1137] 예를 들어, GalNAc을 포함하는 추가의 화학적 모이어티를 도입하기 위해 다음 시약을 사용할 수 있다:



[1138]



[1139]

[1140] 일부 구현예에서, 제제는 하나 이상의 DPSE 및/또는 PSM 사이클을 포함한다.

[1141] 다양한 키랄 제어 올리고뉴클레오티드 조성물을 제조하였다. 유용한 특정 절차가 예로서 아래에 기재되어 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 혼합된 PS(포스포로티오에이트)/PO(천연 포스페이트 연결)/PN(예를 들어, n001과 같은 포스포릴 구아니딘 뉴클레오티드간 연결) 백본을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 포스포디에스테르(PO) 연결은 시아노에틸 아마이드를 사용하여 형성되었고, 포스포로티오에이트(PS) 연결(Sp 및 Rp; 일부 구현예에서는 모두 Sp)은 DPSE 키랄 아마이드를 사용하여 형성되었으며, 포스포아미데이트 연결(PN; 예를 들어, n001)(Sp 및 Rp) 연결은 PSM 아마이드를 사용하여 형성되었다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 5'-말단에서 트리안테나 GalNAc 모이어티와 같은 추가 모이어티를 포함한다. 5'-말단에 GalNAc 모이어티를 도입하기 위해, 일부 구현예에서 마지막 커플링 사이클로서 C-6 아미노 변형제와의 커플링에 의해 올리고뉴클레오티드를 합성하고 정제 및 탈염 후에 트리-안테나 GalNAc와 접합시켜 접합체를 제조하였다.

[1142] 올리고뉴클레오티드 조성물의 제조를 위한 예시 절차(25 μmol 규모)

[1143] 키랄 제어 PS 연결의 경우, DPSE 아마이드를 사용하였고, n001과 같은 키랄 제어 PN 연결의 경우, PSM 아마이드를 사용하였다. 올리고뉴클레오티드의 자동화된 고체상 합성을 아래에 제시된 사이클에 따라 수행하였다: PO 연결에 대한 정규 아마이드 사이클, 키랄 제어 PS 연결에 대한 DPSE 아마이드 사이클, n001과 같은 키랄 제어 PN 연결에 대한 PSM 아마이드 사이클.

정규 아미다이트 합성 사이클

단계	작업	시약 및 용매	부피	대기 시간
1	탈트리틸화	3% TCA / DCM	10 mL	65 초
2	커플링	0.2 M 단량체 / 20% IBN-MeCN 0.5 M CMIMT / MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 분
3	산화	50 mM I <sub>2</sub> / 피리딘-H <sub>2</sub> O(9:1, v/v)	2.0 mL	1 분
4	cap-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-루티딘 / MeCN 20% MeIm / MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 초

[1144]

DPSE 아미다이트 합성 사이클

단계	작업	시약 및 용매	부피	대기 시간
1	탈트리틸화	3% TCA / DCM	10 mL	65 초
2	커플링	0.2 M 단량체 / 20% IBN-MeCN 0.5 M CMIMT / MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 분
3	cap-1	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-루티딘 / MeCN	2.0 mL	2 분
4	황화	0.2 M XH / 피리딘	2.0 mL	6 분
5	cap-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-루티딘 / MeCN 20% MeIm / MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 초

[1145]

PSM 아미다이트 합성 사이클

단계	작업	시약 및 용매	부피	대기 시간
1	탈트리틸화	3% TCA / DCM	10 mL	65 초
2	커플링	0.2 M 단량체 / 20% IBN-MeCN 0.5 M CMIMT / MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 분
3	cap-1	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-루티딘 / MeCN	2.0 mL	2 분
4	이미드화	0.5 M ADIH 시약 / MeCN	2.0 mL	6 분
5	cap-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-루티딘 / MeCN 20% MeIm / MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 초

[1146]

[1147] 일부 구현예에서, 5'-말단에 Ga1NAc 모이어티를 도입하기 위해, 마지막 커플링 사이클로서 C-6 아미노 링커와의 커플링에 의해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

[1148] 절단 및 탈보호에 대한 예시 절차(25 μmol 규모)

[1149] 사이클 완료 후, CPG 지지체를 5 컬럼 부피/15분 동안의 20% 디에틸아민/아세트니트릴 세척 단계에 이어, ACN 세척 사이클을 처리하였다. CPG 고체 지지체를 건조시키고 50 mL 플라스틱관으로 옮겨 28°C에서 3시간 동안 1X 탈실릴화 시약(2.5 mL; 100 μL/μmol)으로 처리한 후 진한 NH<sub>3</sub>(5.0 mL; 200 μL/μmol)을 37°C에서 24시간 동안 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고 CPG를 막 여과로 분리하고 H<sub>2</sub>O 15 mL로 세척하였다. 미정제 물질(여과액)을 LTQ 및 RP-UPLC로 분석하였다. Ga1NAc과 같은 다른 추가의 화학적 모이어티와 접합되는 특정 올리고뉴클레오티드의 경우, 아미노기와 같은 적합한 반응성 기를 포함하는 올리고뉴클레오티드를 염화나트륨 구배를 사용하는 AKTA 순수 시스템 상에서 이온 교환 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 목적 생성물을 탈염하고 추가로 Ga1NAc 함유 산과의 접합시켰다. 접합 반응이 완료된 것으로 확인된 후, 물질을 이온 교환 크로마토그래피로 추가로 정제하고 접선 유동 여과(TFF)를 이용하여 탈염하여 목적 산물을 수득하였다. 추가의 화학적 모이어티(및 임의의 링커), 예를 들어 PMT-1을 포함하는 포스포아미다이트와 커플링시킴으로써 추가의 화학적 모이어티가 설치될 수도 있다.

- [1150] 예를 들어, 일부 구현예에서, WV-47595(L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SiN001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU)를 제조한 후 접합하여 WV-46312를 제조하였다. 유용한 합성 절차를 예로서 이하 설명한다.
- [1151] 제조에서, WV-47595의 합성은 CPG 지지체(로딩 72  $\mu\text{mol/g}$ )를 사용하는 1200  $\mu\text{mol}$  규모의 3.5 cm 직경 파인라인 컬럼을 사용하여 AKTA OP100 합성기(GE healthcare)에서 수행하였다. 특정 합성 사이클에는 5단계가 포함되었다: 탈트리틸화, 커플링, 캡핑 1(cap-1), 산화/황화/이미드화 및 캡핑 2(cap-2).
- [1152] 탈트리틸화: 탈트리틸화는 436 nm로 설정된 UV 감시 명령과 함께 톨루엔 중 3% DCA를 사용하여 수행하였다. 탈트리틸화 후, CPG 지지체는 2CV의 아세토니트릴을 사용하여 세척 사이클을 거쳤다.
- [1153] 커플링: DPSE 및 PSM 키랄 아미다이트를 0.2 M 농도로 (ACN 중 또는 ACN 중 20% IBN에서) 제조하였다. 아미다이트를 컬럼에 첨가하기 전에 5.83의 비율로 CMIMT 활성화제(아세토니트릴 중 0.5 M)와 인라인 혼합하였다. 커플링 혼합물을 10분 동안 재사이클링하여 커플링 효율을 극대화한 후, 2CV의 ACN으로 컬럼 세척을 수행하였다. 시아노에틸 아미다이트를 0.2 M 농도로 (ACN 중 또는 ACN 중 20% IBN에서) 제조하였다. 아미다이트를 컬럼에 첨가하기 전에 4.07의 비율로 ETT 활성화제(아세토니트릴 중 0.5 M)와 인라인 혼합하였다. 커플링 혼합물을 10분 동안 재사이클링하여 커플링 효율을 극대화한 후, 2CV의 ACN으로 컬럼 세척을 수행하였다.
- [1154] 캡핑 1: 입체정의 커플링의 경우, 컬럼을 키랄 보조 아민을 아세틸화할 수 있는 캡핑 1 용액(아세트산 무수물, 루티딘, ACN)으로 2분 동안 1 CV로 처리하였다. 이 단계 후에, 컬럼을 1.5 CV의 아세토니트릴로 세척하였다. 입체무작위 커플링의 경우 캡핑 1을 수행하지 않았다.
- [1155] 황화/이미드화/산화 단계: 황화는 피리딘/아세토니트릴(1.2당량) 중 0.1 M 잔탄 하이드라이드로 6분의 접촉 시간으로 수행한 후, 2CV 세척 단계를 수행하였다. 18당량 및 15분의 접촉 시간으로 아세토니트릴 중 0.3 M ADIH 시약으로 이미드화를 수행한 후, 2CV 세척 단계를 수행하였다. 산화 단계는 산화 시약(50 mM  $\text{I}_2$  / 피리딘- $\text{H}_2\text{O}$ (9:1, v/v)) 3.5당량 2.5분을 이용하여 수행한 후, 2CV 아세토니트릴 세척을 수행하였다.
- [1156] 캡핑 2: 캡핑 2 단계는 인라인(1:1) 혼합된 캡핑 A 및 캡핑 B 시약(예: cap-2 참조)을 이용하여 수행한 후, 2 CV ACN 세척을 수행하였다.
- [1157] 합성 완료 후, CPG 지지체를 최종적으로 5 컬럼 부피/15분 동안의 20% 디에틸아민/아세토니트릴 세척 단계에 이어, ACN 세척 사이클을 처리하였다. CPG 고체 지지체를 건조시키고 압력 용기로 옮겼다.  $\mu\text{mole}$  지지체/100  $\mu\text{L}$  탈실릴화 시약의 비율로 지지체를 탈실릴화 시약으로 처리하여 DPSE를 제거하였다. DMSO:물:TEA:TEA·3HF를 7.33:1.47:0.7:0.5의 비율로 혼합하여 탈실릴화 시약을 제조하였다. CPG 지지체를 인큐베이터 진탕기에서 27°C에서 3시간 동안 탈실릴화 시약의 존재 하에 인큐베이션하였다. 그 후, 진한 암모니아를  $\mu\text{mole}$  지지체/200  $\mu\text{L}$ 의 진한 암모니아의 비율로 첨가하였다. 혼합물을 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하고 진탕시켰다. 혼합물을 냉각시키고 0.2~0.45 미크론 필터를 사용하여 여과하고 CPG 지지체를 3회 행구어 모든 원하는 물질을 여과액으로서 수집하였다. 미정제 올리고뉴클레오티드를 함유하는 여과액을 RP-UPLC로 분석하고 Nanodrop One 분광광도계(Thermo Scientific)를 사용하여 정량화하여 110,000 OD/ $\mu\text{mole}$ 의 수율을 얻었다.
- [1158] 정제 및 탈염: 미정제 올리고뉴클레오티드를 Source 15Q(Cytiva)로 패키징된 Waters AP-2 유리 컬럼(2.0 cm x 20 cm)에 로딩했다. 다음의 완충액을 사용하여 AKTA150 Pure(GE Healthcare)에서 정제를 수행하였다: (완충액 A: 20 mM NaOH, 20% 아세토니트릴 v/v) (완충액 B: 20 mM NaOH, 2.5 M NaCl, 20% 아세토니트릴 v/v). 70~80% 범위의 전장 산물을 포함하는 원하는 분획을 함께 모았다. 이어서, 모은 물질을 2KD 재생 셀룰로스 막에서 탈염한 후 동결건조하여 접합할 준비가 된 폭신한 백색 케이크로 올리고뉴클레오티드를 수득하였다.
- [1159] WV-46312의 제조: 본 발명에 따라 올리고뉴클레오티드를 다른 모이어티와 접합시키는 다양한 기술이 이용될 수 있다. GalNAc 접합을 위한 유용한 프로토콜을 예로서 이하 설명한다. 접합 전 물질: WV-47595.01(.01은 배치 번호를 나타냄). 생성 물질: WV-46312.01.

시약	본 프로토콜에 대한 분자량	당량	부피 (mL)
WV-47595	10050.80	1	-
트리-안테나 GalNAc 산	2006	1.8	-
HATU	382	1.4	-
DIEA	129	10	-
아세트니트릴		-	4

수성 올리고뉴클레오티드 용액			
올리고뉴클레오티드 용액	농도 (mg/mL)	총 부피 (mL)	전체 (mg)
WFI 물 중 WV-47595	50	8	400

[1160]

[1161]

트리-안테나 GalNAc 산(-OAc로 보호된 하이드록실기) 및 HATU를 50 mL 플라스틱관에서 칭량하고 무수 아세트니트릴에 용해시킨 다음, DIEA를 관에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 37°C에서 10분 동안 교반하였다. 동결건조된 WV-47595를 별도의 관에서 물로 재구성하고 GalNAc 혼합물을 올리고뉴클레오티드 용액에 첨가하고 60분 동안 37°C에서 교반하였다. 반응을 RP-UPLC로 모니터링하였다. 반응은 1시간 내에 완료되는 것으로 밝혀졌다. 반응 혼합물을 진공 하에서 농축하여 아세트니트릴을 제거하고 생성된 GalNAc 접합된 올리고뉴클레오티드를 37°C에서 2시간 동안 진한 암모니아로 처리하였다. 최종 산물의 형성은 질량분석법 및 RP-UPLC로 확인하였다. 접합된 물질을 음이온 교환 크로마토그래피로 정제하고 접선 유동 여과(TFF)를 이용하여 탈염하여 최종 산물을 수득하였다 (목표 질량: 121±0.65; 실측된 질량: 12112.3). 유사한 절차를 사용하여 다양한 올리고뉴클레오티드 및 조성물을 제조하였다.

[1162]

올리고뉴클레오티드를 제조하기 위한 추가 기술은 예로서 아래에 설명되어 있다.

[1163]

올리고뉴클레오티드 조성물의 제조를 위한 예시 절차(50 μmol 규모)

[1164]

특정 입체순수 올리고뉴클레오티드를 MerMade12 합성기 및 표준 CPG를 사용하여 50 μmol 규모로 합성하였다. 일부 구현예에서는 5' 말단에 GalNAc를 통합하기 위해 아미다이트 접근법을 사용하였다. 일반적으로, 시아노에틸 아미다이트는 PO 연결을 제조하는 데 사용되었고, DPSE 아미다이트는 PS 연결에, PSM 아미다이트는 PN 연결에 사용되었다.

[1165]

일반적인 MerMade12, 50 μmol 사이클이 아래 표에 요약되어 있다:

단계	작업	시약 및 용매	부피	대략적인 총 시간
1	탈트리틸화	틀루엔 중 3% 디클로로아세트산	4 x 4.5 mL	5분
2	단일 커플링	ACN/IBN 조합 중 0.15 M 포스포아미다이트 및 ACN 중 0.5 M CMIMT	2.25 mL / 1.5 mL	5.5분
3	Cap 1	80% THF / 10% 2,6-루티딘 / 10% 아세트산 무수물	5 mL	4분
4	산화 (PO)	70% THF / 20% 피리딘 / 10% 물 중 0.02 M 요오드	6 mL	2분
	황화 (PS)	50% 피리딘 / 50% ACN 중 0.1 M 잔탄 하이드라이드.	5~6 mL	6.5분
	PN	ACN 중 0.3 M ADIH	6 mL	6.5분
5	Cap 2	80% THF / 10% 2,6-루티딘 / 10% 아세트산 무수물 80% THF / 10% 2,6-루티딘 / 10% 아세트산 무수물 및 THF 중 16% n-메틸이미다졸	2.5 mL / 2.5 mL	1.5분

[1166]

[1167]

CMIMT: N-시아노메틸이미다졸류 트리플레이트; ACN: 아세트니트릴; IBN: 이소부티로니트릴; ADIH: 2-아지도-4,5-디하이드로-1,3-디메틸-1H-이미다졸류 핵사플루오로포스페이트; THF: 테트라하이드로푸란. 원하는 길이에 도달할 때까지 사이클을 여러 번 수행하였다.

[1168]

GalNAc 아미다이트는 단일 10~15분 또는 2회 x 10분 절차로 커플링되었다. 각 커플링에 대해 2.20~2.25 mL의 아미다이트 중 0.1 M GalNAc 및 1.5 mL의 ACN 중 CMIMT를 첨가하였다.

[1169]

탈보호의 첫 번째 단계는 합성기에서 수행되었다. ACN 중 20% 디에틸아민 6 mL을 컬럼에 15분간 첨가한 후 ACN

으로 세척하고 건조시켰다. CPG를 튜브로 옮기고 5 mL의 불화물 용액을 첨가하였다. 불화물 용액은 디메틸술폰 시드, 물, 트리에틸아민 트리하이드로플루오라이드 및 트리에틸아민(15.5/3.1/1.0/1.8 부피비)으로 구성되었다. 실온에서 약 1시간 후, 약 10 mL의 30% 수산화암모늄을 첨가하고, 반응물을 37°C에서 밤새 인큐베이션하였다. CPG를 여과하고 물로 세척하고 여과액을 수집하였다.

[1170] 올리고뉴클레오타이드를 실온에서 음이온 교환 정제에 의해 정제하였다. 올리고뉴클레오타이드를 20 mM 수산화나트륨 기반 이동상으로 평형화한 후 Source Q15 수지로 충전된 컬럼에 로딩하였다. 정제된 올리고뉴클레오타이드는 20 mM 수산화나트륨 및 2.5 M 염화나트륨의 이동상을 이용한 구배 용리에 의해 분획으로 용리되었다. 분획을 분석하고 원하는 순도로 모은 다음 주사용수에 대해 G-25 Sephadex 컬럼을 사용하여 탈염하였다. UPLC, LC-MS 및 UV-Vis를 포함한 최종 분석 전에 탈염된 샘플을 건조하고, 재구성하고 및 멸균 여과했다.

[1171] 많은 올리고뉴클레오타이드 조성물이 합성되고 평가되었다. 예를 들어, 특정 제조된 올리고뉴클레오타이드 조성물 중 올리고뉴클레오타이드의 관찰된 MS 데이터 및 계산된 MS 데이터가 아래에 예시되어 있으며, 많은 다른 올리고뉴클레오타이드 조성물이 본 발명에 따라 제조되었다. 올리고뉴클레오타이드는 추가로 정제될 수 있다.

ID	계산된 MW	관찰된 MW
WV-44515	10321.65	10322.4
WV-46460	10661.04	10662.3
WV-50496	10672.11	10673.0
WV-50497	10623.00	10623.8
WV-50498	10719.12	10719.4
WV-46312	12110.65	12109.8
WV-47606	12450.04	12447.7
WV-47608	12185.70	12184.5
WV-49085	12462.07	12459.7
WV-49086	12520.15	12517.4
WV-49087	12403.03	12401.1
WV-49088	12461.11	12460.2
WV-49089	12635.35	12635.1
WV-49090	12411.10	12410.5
WV-49092	12508.12	12506.2

[1172]

[1173] 실시예 3. 제공된 기술은 지속적인 생체내 편집을 제공할 수 있다.

[1174] 특히, 제공된 기술은 지속적인 생체내 편집을 제공할 수 있다. 제공된 기술이 마우스 모델에서 지속적인 편집을 제공할 수 있음을 확인시켜 주는 특정 데이터는 도 48에 제시되어 있다. 야생형 및 트랜스제닉 hADAR 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 PBS 또는 10 mg/kg의 WV-44464 올리고뉴클레오타이드 조성물로 처리하였다. 매주 채혈을 통해 혈청을 수집하고 총 인간 AAT 단백질(전체, 야생형(M-AAT) 및 돌연변이체(Z-AAT))의 수준을 ELISA 및 질량 분석법으로 정량화하였다. 도 1에 도시된 바와 같이, 제공된 기술은 총 인간 AAT 혈청 농도를 증가시킬 수 있고, 야생형 AAT 단백질(M-AAT)을 생성하거나 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, AAT 혈청 농도는 마지막 투여 후 30일에 걸쳐 ≥3배 더 높은 것으로 관찰되었다(도 1의 (a)). 일부 구현예에서, 복원된 야생형 M-AAT는 마지막 투여 후 30일에 걸쳐 검출되었다(도 1의 (b)).

[1175] 실시예 4. 제공된 기술은 편집을 제공할 수 있다.

[1176] 다양한 유형의 당, 핵염기, 뉴클레오타이드간 연결 및 입체화학 및 이의 패턴을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 설계하고 평가하여, 본원에 기재된 바와 같은 2'-F를 포함하는 교대 블록 및 2'-OR(R은 C<sub>1-6</sub> 지방족)(2' -OMe 및 /또는 2' -MOE) 블록을 포함하는 블록, 천연 포스페이트 연결, 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 뉴클레오타이드간 연결, 음으로 하전되지 않은 뉴클레오타이드간 연결(예를 들어, n001s와 같은 포스포릴 구아닌 뉴클레오타이드간 연결), 제어된 입체화학, 이의 패턴 등을 포함하는 것들을 포함한 다양한 설계의 올리고뉴클레오타이드가 효율적인 편집을 제공할 수 있음을 확인하였다. 도 2 및 도 4에 도시된 바와 같이, 다양한 유형의 당(예를 들어, DNA 당, 2'-F 변형 당, 2'-OR(R은 수소가 아님) 변형 당 및 이의 패턴), 핵염기(변형 및 비변형 염기 및 이의 패턴), 뉴클레오타이드간 연결(예를 들어, 천연 포스페이트 연결, 음으로 하전되지 않은 뉴클레오타이드간 연결, 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및 이의 패턴) 및 입체화학(예를 들어, Rp, Sp 및 이의 패턴) 및 이의 패턴을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 강력한 편집 활성을 제공할 수 있다. hADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 1차 마우스 간세포를 짐노틱 흡수를 통해 GalNAc 접합 올리고뉴클레오타이드로 처리하였다. 처리 후 48시간 후에 RNA를 수확하고, RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 측정하였다(n=2 생물학적 복제).

특정 EC50(nM) 데이터를 아래에 제공하였다(도 2 및 도 4):

ID	EC50	95% CI (nM)	ID	EC50	95% CI (nM)
WV-44464	13.67	8.574 - 21.50	WV-46323	4.951	2.790 ~ 8.281
WV-46312	5.139	3.347 ~ 7.647	WV-46312	3.52	2.98~4.04
WV-46313	4.304	2.59 ~ 6.778	WV-47606	3.38	2.78~3.96
WV-46314	6.179	2.798 ~ 12.54	WV-47608	2.44	1.91~2.96
WV-46315	7.121	3.471 ~ 13.75	WV-49085	2.70	2.13~3.26
WV-46316	6.957	4.929 ~ 9.661	WV-49086	2.81	2.28~3.34
WV-46317	5.34	3.743 ~ 7.471	WV-49087	4.53	3.61~5.43
WV-46318	9.433	6.306 ~ 13.89	WV-49088	4.03	3.23~4.83
WV-46319	6.068	2.971 ~ 11.57	WV-49089	6.14	5.06~7.21
WV-46320	7.058	3.923 ~ 12.17	WV-49090	2.46	2.14~2.76
WV-46321	9.851	5.987 ~ 15.84	WV-49092	3.47	2.97~3.96
WV-46322	6.574	4.944 ~ 8.657			

[1177]

[1178]

[1179]

실시예 5. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다.

본원에 기재된 바와 같은 2'-F를 포함하는 교대 블록 및 2'-OR(R은 C<sub>1-6</sub> 지방족)(2'-OMe 및/또는 2'-MOE) 블록을 포함하는 블록, 천연 포스페이트 연결, 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결 뉴클레오티드간 연결, 음으로 하전되지 않은 뉴클레오티드간 연결(예를 들어, n001s와 같은 포스포릴 구아니딘 뉴클레오티드간 연결), 제어된 입체화학, 이의 패턴 등을 포함하는 것들을 포함한 다양한 유형의 당, 핵염기, 뉴클레오티드간 연결 및 입체화학 및 이의 패턴을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 설계하고 평가하였다. 제공된 기술이 마우스 모델에서 강력한 편집을 제공할 수 있음을 확인시켜 주는 특정 데이터는 도 3에 제시되어 있다. 수컷 및 암컷 트랜스제닉 hADAR 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 피하 투여를 통해 표시된 올리고뉴클레오티드 5 mg/kg으로 처리하였다. 처리 후 제7일에 간 생검을 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 측정하였다(성별 n=3마리). 도 3에 도시된 바와 같이, 제공된 올리고뉴클레오티드 조성물은 높은 편집 수준을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 조성물은 암컷 마우스와 비교하여 수컷 마우스에서 더 높은 편집 수준을 제공할 수 있다.

[1180]

[1181]

실시예 6. 제공된 기술은 원하는 특성과 기능을 가진 편집된 폴리펩티드를 생체 내에서 제공할 수 있다

일부 구현예에서, 본 발명은 특히 다양한 시스템, 예를 들어 다양한 세포, 조직 및/또는 기관에서 생체내 편집 활성을 제공하고, 원하는 특성 및 활성을 갖는 폴리펩티드, 예를 들어 일부 구현예에서는, 야생형 단백질을, 생성할 수 있는 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서 제공된 기술이 마우스 모델에서 편집을 제공할 수 있고/있거나 혈청에서 야생형 단백질을 포함하는 증가된 수준의 순환 단백질을 생성할 수 있음을 확인시켜 주는 특정 데이터는 도 5에 제시되어 있다. 야생형 및 트랜스제닉 hADAR 마우스를 제0일, 제2일 및 제4일에 PBS 또는 10 mg/kg의 WV-46312 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다. 매주 채혈을 통해 혈청을 수집하고 총 인간 AAT 단백질(야생형(PiM) 및 돌연변이체(PiZ))의 수준을 ELISA 및 질량 분석법으로 정량화하였다. 도 5에 도시된 바와 같이, 제공된 기술은 AAT 혈청 농도를 약 4배 이상 증가시킬 수 있고, 기준(예를 들어, 투여 전 수준)에 비해 혈청에서 높은 수준의 야생형 AAT를 생성할 수 있다.

[1182]

[1183]

[1184]

실시예 7. 제공된 기술은 시험관내 및 생체내 편집을 제공할 수 있다.

무엇보다도, 본 실시예는 제공된 기술이 편집을 제공할 수 있음을 추가로 확인시켜 주는 데이터를 제공한다.

도 6 및 도 7은 당 변형, 예를 들어 2-OR 변형(R은 -H가 아님)(예컨대, 2'-OMe, 2'-MOE 등), 2'-F 등이 편집을 제공하기 위해 본 발명에 따른 다양한 다른 구조적 요소와 함께 이용될 수 있음을 확인시켜 주는 데이터를 제공한다. 1차 마우스 간세포(huADAR/SA1 Tg)를 48시간 동안 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 표시된 올리고

뉴클레오티드 조성물로 처리하였다(집노틱). 다양한 유형의 연결(예: PS(포스포로티오에이트), PO(천연 포스페이트 연결) 및/또는 PN(예: n001과 같은 포스포릴 구아니딘 연결) 뉴클레오티드 연결) 및 다양한 유형의 당(예: 2'-OMe 변형 당, 2'-MOE 변형 당, 2'-F 변형 당, 천연 DNA 당 등)을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 평가하고 표적 아데노신의 편집을 제공함을 확인하였다. 일부 구현예에서, 증가된 수준의 2'-OMe 및/또는 2'-MOE 변형 당 및 PO 연결을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 특정 조건에서 기준에 비해 표적 아데노신의 유사하거나 증가된 편집을 제공한다. RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다.

[1185] 다양한 올리고뉴클레오티드 조성물에 대한 용량 반응을 평가하였다. 특정 조성물에 대한 특정 결과는 아래에 예로서 제시되어 있다. (인간 ADARp110 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된) 1차 마우스 간세포를 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 표시된 올리고뉴클레오티드 조성물로 48시간 동안 처리하였다. RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 다양한 변형을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 평가하고, 표적 아데노신의 편집을 제공함을 확인하였다. 약 1000 nM 내지 약 0.5 nM의 연속 희석 농도. 가장 낮은 농도에서 약 15%~40%의 편집이 관찰되고 가장 높은 농도에서 약 85%의 편집이 관찰됨.

ID	절대 EC50 (nM)	95% CI (nM)
WV-46312	7.74	1.09 ~ 14.39
WV-46313	4.19	1.88 ~ 6.51
WV-47597	6.74	4.45 ~ 9.03
WV-47598	7.02	3.53 ~ 10.52
WV-47599	6.73	4.44 ~ 9.02
WV-47600	8.24	6.18 ~ 10.29
WV-47601	5.03	3.61 ~ 6.45
WV-47602	3.76	1.32 ~ 6.2
WV-47603	6.93	5.21 ~ 8.66
WV-47604	8.01	6.17 ~ 9.85
WV-47605	6.98	4.01 ~ 9.95
WV-47606	4.32	3.19 ~ 5.46
WV-47607	4.89	1.3 ~ 8.48
WV-47608	3.26	0.41 ~ 6.11
WV-47609	10.71	7.38 ~ 14.04
WV-44464	10.70	6.11 ~ 15.29

[1186]

[1187] 본원에 기재된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드는 듀플렉스 영역을 포함할 수 있거나 듀플렉스로서 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드는 표적 아데노신을 표적화하고 편집할 수 있는 올리고뉴클레오티드와 듀플렉스를 형성한다. 특정 예가 예로서 아래에 제시되어 있다. 약 1000 nM 내지 약 0.5 nM의 연속 희석 농도. 가장 낮은 농도에서 약 5%~20%의 편집이 관찰되고 가장 높은 농도에서 약 70%~90%의 편집이 관찰됨. 1차 마우스 간세포(huADAR/SA1 Tg)를 48시간 동안 SERPINA1-Z 대립유전자를 표적으로 하는 표시된 올리고뉴클레오티드 조성물로 처리하였다(집노틱). 다양한 유형의 핵염기, 연결(예: PS(포스포로티오에이트), PO(천연 포스페이트 연결) 및/또는 PN(예: n001과 같은 포스포릴 구아니딘 연결) 뉴클레오티드 연결) 및 당(예: 2'-OMe 변형 당, 2'-F 변형 당, 천연 DNA 당, 2'-MOE 변형 당 등)을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 상응하는 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드와 듀플렉스를 형성할 수 있다. 특정 듀플렉스를 예로서 평가하였고, 표적 아데노신의 편집을 제공함을 확인하였다. RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 일부 구현예에서, 특정 듀플렉스는 기준에 비해 유사하거나 증가된 편집 활성을 제공하였다. 일부 구현예에서, 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드는 양쪽 말단에 2'-OR 변형 당(여기서 R은 -H가 아님, 예를 들어, 2'-OMe 변형 당, 2'-MOE 변형 당 등) 및/또는 변형 뉴클레오티드간 연결(예를 들어, 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 연결)을 포함한다. 일부 구현예에서, 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드는 2'-F 변형 당, 2'-OR 변형 당(여기서 R은 -H가 아님, 예를 들어, 2'-OMe 변형 당, 2'-MOE 변형 당 등) 및/또는 천연 RNA 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 내부 천연 RNA 당을 포함하는 듀플렉스화 올리고뉴클레오티드는 표적화 올리고뉴클레오티드(예를 들어, WV-46312)와 듀플렉스화될 때 더 높은 편집 효율을 제공할 수 있음이 관찰되었다.

올리고뉴클레오티드 (WV-)	절대 EC50 (nM)	95% CI (nM)
46312	3.90	2.25 ~ 5.54
46312/48444	8.92	7.72 ~ 10.1
46312/48445	5.71	4.89 ~ 6.52
46312/48446	2.91	2.32 ~ 3.50
46312/48447	9.68	8.36 ~ 10.9
46312/48448	6.58	5.83 ~ 7.33
46312/48449	3.08	2.47 ~ 3.68
46312/48450	16.66	14.4 ~ 18.8
46312/48451	8.83	7.92 ~ 9.73
46312/48452	3.09	2.64 ~ 3.53

[1188]

[1189]

본원에 기재된 바와 같이, 제공된 기술은 생체내 편집을 제공하고, 편집된 핵산에 의해 암호화되는 산물, 예를 들어 폴리펩티드를 제공할 수 있다. 예를 들어, 도 8은 SERPINA1의 생체내 편집 및 혈청 AAT 수준의 증가를 확인시켜 준다. 인간 ADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스에게 PBS 또는 10 mg/kg 올리고뉴클레오티드를 제0일, 제2일 및 제4일에 피하 투여하였다. 간 생검을 제7일에 수집하고 혈청 AAT를 투여 전 및 제7일에 수집하였다. 도 8에서 확인된 바와 같이, 제공된 올리고뉴클레오티드 조성물은 유의한 편집 활성 및 기준(예를 들어, PBS 대조군, 투여 전 수준)에 비해 증가된 수준의 혈청 AAT를 전달하였다. 혈청 AAT를 ELISA를 이용하여 정량화하였다. 특정 추가 결과가 도 9에 제시되어 있으며, 이는 생체 내에서 활성인 올리고뉴클레오티드를 제공하기 위해 본 발명에 따라 다양한 변형이 이용될 수 있음을 확인시켜 준다. 인간 ADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스에게 PBS 또는 10 mg/kg 올리고뉴클레오티드를 제0일에 피하 투여하였다. 간 생검을 제10일에 수집하였다. 혈청은 투여 전, 제7일 및 제10일에 수집하였다. 다양한 올리고뉴클레오티드 조성물을 평가하고 표적 아테노신 편집 및 혈청 AAT 수준 증가를 제공함을 확인하였다. RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 혈청 AAT를 ELISA를 이용하여 정량화하였다.

[1190]

실시예 8. 제공된 기술은 생체 내 편집을 제공하고 AAT 단백질 수준을 증가시킬 수 있다.

[1191]

특히, 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터의 전사체를 편집하여 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 교정할 수 있다. 본원에서 확인된 바와 같이, 일부 구현예에서, 제공된 기술은 치료적으로 유용할 수 있는 수준까지를 포함하여 혈청 AAT 수준을 증가시킬 수 있다.

[1192]

예를 들어, 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 WV-46312, WV-49090 및 WV-49092는 NSG-PiZ 마우스(일부 마우스에서는 PBS를 기준으로 함)에서 평가되었다. 효율적인 편집 및 M-AAT 단백질의 생성이 확인되었다. 올리고뉴클레오티드는 7주령의 NSG-PiZ 마우스(군당 n=5)에 2주마다 10 mg/kg을 피하 투여했다. 일부 마우스의 경우, 3 x 10 mg 부하 용량(제0주의 제0일, 제2일, 제4일)을 투여했다. 데이터에 따르면 간 생검에서 부하 용량 유무에 관계없이 약 50% 이상의 편집이 관찰되었다(SERPINA1 편집은 Sanger 시퀀싱으로 정량화됨; 1원 ANOVA와 다중 비교에 대한 조정(Tukey)). 총 혈청 AAT 단백질을 매주 ELISA로 정량화하였다. PBS와 비교하여, 혈청 AAT 단백질 수준은 혈청 AAT 단백질 수준이 평가되는 각 시점에서(최대 적어도 약 13주까지) 증가되었다. 일부 구현예에서, 흡수 주(용량 후 1주, 예를 들어 제1주, 제3주, 제5주 등)에 평가된 혈청 AAT 수준은 다음 짝수 주(용량 후 2주, 예를 들어 제2주, 제4주, 제6주 등)에 평가된 것보다 더 높은 것으로 관찰되었다. 부하 용량이 있는 경우, 혈청 AAT 수준은 각 시점에서 약 600 ug/mL 이상으로 증가되었다(예를 들어, 일부 구현예에서, 약 600, 800, 1000, 1200, 1400, 또는 1600 ug/mL 이상)(ELISA로 정량화된 총 혈청 AAT 단백질; 2원 ANOVA와 다중 비교에 대한 조정(Tukey)). 일부 구현예에서, 예를 들어 제13주에 혈청 AAT 단백질 수준의 약 4-7배 이상의 증가가 관찰되었다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 부하 용량의 유무에 관계없이 효과적인 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 부하 용량은 초기 시점(예를 들어, 제1~3주)에 더 높은 수준의 편집을 제공함이 관찰되었고, 몇 주 후에, 예를 들어, 제4주 후에, 부하 용량의 유무에 관계없이 혈청 AAT 수준에서 유의미한 차이가 관찰되지 않아, 예를 들어, 원하는 효과에 따라, 부하 용량의 유무에 관계없이, 제공된 기술이 사용될 수 있음이 확인되었다.

[1193]

특정 올리고뉴클레오티드를 또 다른 동물 모델, 즉 hADAR 및 SERPINA1-Z 대립유전자에 대해 형질전환된 마우스에서 평가하였다. 무엇보다도 편집 및 혈청 AAT 단백질 수준의 증가가 확인되었다. 예를 들어, WV-46312는 8~10주령 마우스에게 2주마다 10 mg/kg으로 피하 투여했다(또한 부하 용량으로 제0일, 제2일, 제4일에 투여함). 총

혈청 AAT 단백질을 매주 또는 2주마다 ELISA로 정량화하였다. PBS를 투여한 마우스와 비교하여, WV-46312를 투여한 마우스에서는 모든 평가 시점에서 혈청 AAT 단백질 수준이 증가되었다. 일부 구현예에서, 홀수 주(용량 후 1주, 예를 들어 제1주, 제3주, 제5주 등)에 평가된 혈청 AAT 수준은 다음 짝수 주(용량 후 2주, 예를 들어 제2주, 제4주, 제6주 등)에 평가된 것보다 더 높은 것으로 관찰되었다. 연구에서, 몇 주 동안, 그리고 제9주 이후부터 분석 마지막 주인 제19주(제18주의 투여 후 1주)까지 일관되게, 혈청 AAT 수준이 약 600 ug/mL 이상으로 증가되었다(일부 구현예에서는 약 800 ug/mL 이상). 일부 구현예에서, 혈청 AAT 단백질 수준의 약 5배 이상의 증가가 제19주에 관찰되었다. 일부 구현예에서, 약 60%의 RNA 편집이 제19주에 관찰되었다(간 생검 샘플의 Sanger 시퀀싱에 의해 평가함; PBS 처리에서는 편집 없음). 앞서 입증하고 다시 확인한 바와 같이 M-AAT가 생성되었다: 일부 구현예에서, 혈청 AAT의 약 70%가 M-AAT인 것으로 관찰되었다(간 생검 샘플의 질량 분석법에 의해 평가됨). PBS와 비교하여 호중구 엘라스타제 억제제의 유의미한 증가도 사용 가능한 호중구 엘라스타제 억제 분석 및 마우스 혈청 샘플을 사용하여 확인되었다(예를 들어, PBS의 경우 용량 전 평균 상대 엘라스타제 억제(%)는 약 25%였으며 제19주에는 20% 미만이었다; WV-46312의 경우 용량 전 평균 상대 엘라스타제 억제(%)는 약 25%였고, 제19주에는 60%를 초과하였다; 혼합 효과 분석, 제19주에  $p < 0.001$ ) PBS와 비교했을 때 PAS-D 양성 면적(%)이 크게 감소될 수 있는 것으로 확인되었다(예를 들어, PBS의 경우 평균 PAS-D 양성 면적(%)은 제4주, 제8주 및 제19주에 5%를 초과함; WV-46312의 경우 이 시점에서 모두 5% 미만임; 2원 ANOVA,  $p < 0.01$ ). 데이터에 따르면 소엽 염증의 감소: 예를 들어, 제19주에 소엽 염증 등급은 PBS의 경우 약 3 이상이었던 것에 비해 WV-46312의 경우 약 1 이하임(소엽의 염증성 병소 수에 기초한 등급: 0등급: 0; 1등급: 1~5; 2등급: 6~10; 3등급: 11~15;  $G4 \geq 16$ ; HALO 이미지 분석 소프트웨어 사용; Wilcoxon 순위 합계 검정,  $p = 0.03$ ), 및 평균 구형 직경의 감소(PAS-D 소구체 크기, 동물당 40개의 가장 큰 소구체; HALO 이미지 분석 소프트웨어 사용; Wilcoxon 순위 합계 검정,  $p < 0.0001$ )가 확인되었다. 유사한 혈청 AAT 단백질 증가 및 패턴이 WV-46312, WV-49090 및 WV-49092를 사용한 또 다른 연구에서 관찰되었으며, 여기서 제10주에서 제11주까지 약 600 ug/mL 혈청 AAT 단백질로의 유의한 증가가 관찰되었다.

[1194] 마우스 및 NHP를 포함하여 다양한 올리고뉴클레오티드의 독성을 평가하였다. 예를 들어, WV-49090은 마우스 및 NHP를 포함한 다양한 분석에서 평가되었으며 내약성이 우수하고 우수한 안전성 프로파일을 나타냈다. PK 데이터에 따르면 GalNAc 접합이 올리고뉴클레오티드를 전달할 수 있음이 확인되었다. 특정 데이터가 예로서 아래에 제시되어 있다.

ID	질량 (실측치)	질량 (목표치)
WV-46312	10315.4	10315.42
WV-49088	10665.77	10665.78
WV-49090	10616.76	10616.78
WV-49092	10712.77	10712.78

[1195] 실시예 9. 제공된 기술은 PiZ 대립유전자를 포함하는 인간 간세포에서 편집을 제공할 수 있다.

[1197] 무엇보다도 제공된 기술이 1차 인간 간세포의 PiZ 대립유전자로부터의 전사체를 효과적으로 편집할 수 있음이 확인되었다. 연구에서 WV-46312, WV-49090 및 WV-49092를 다음의 다양한 농도로 평가하였다: 0.33, 0.11, 0.03667, 0.01222, 0.00407, 0.00136, 0.00045, 및 0.00015 uM. 0.00015 uM을 포함한 각 농도에서 편집이 확인되었다(SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 표적으로 하지만 GalNAc이 없는 올리고뉴클레오티드에 대해 관찰된 약 47%(이 올리고뉴클레오티드는 농도 전반에 걸쳐 약 47% 내지 약 74%의 M-AAT RNA(%)를 제공함)와 비교하여, 세 가지 올리고뉴클레오티드 모두의 경우 약 55% 이상의 M-AAT RNA(%). 세 가지 올리고뉴클레오티드 모두, 약 0.01222 uM 이상의 농도에서 약 80% 이상의 M-AAT RNA(%)가 관찰되었다. 특정 평가의 EC75는 아래에 예시로 제시되어 있다:

ID	절대 EC75 (nM)	95% CI (nM)
WV-46312	3.75	1.41 ~ 6.08
WV-49090	2.47	1.05 ~ 3.89
WV-49092	2.58	1.11 ~ 4.04

[1198] 본원에서 확인된 바와 같이, 제공된 기술은 SERPINA1에서 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 포함하는 RNA의 효과적인 편집을 제공할 수 있다.

[1200] 실시예 10. 제공된 기술은 표적 전사체의 편집을 제공할 수 있다.

- [1201] 무엇보다도, 제공된 기술이 인간 환자 유도만능줄기세포(iPSC) 유래 간세포의 SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터의 전사체를 효과적으로 편집할 수 있음이 확인되었다. ZZ 유전자형을 갖는 인간 환자 iPSC 유래 간세포를 제0일에 플레이팅하고 제2일에 표시된 올리고뉴클레오티드(예: WV-46312, WV-49090, WV-49092)를 다양한 농도(예: 5, 1.25, 0.31, 0.08  $\mu$ M)로 처리하였다. 배지는 2일마다(예: 제2일, 제4일, 제6일, 제8일에) 새로 공급하였다. 제10일에 RNA를 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 도 10에서 확인된 바와 같이, 다양한 올리고뉴클레오티드(예: WV-46312, WV-49090, WV-49092)는 SERPINA1 전사체의 편집을 제공하였다(예를 들어, 5  $\mu$ M의 표시된 올리고뉴클레오티드로 처리된 세포에서 약 50%-60%의 편집(%)). 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 조성물은 특정 농도에서 다른 것보다 더 높은 편집을 제공한다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 조성물은 표적 전사체의 용량 의존적 편집을 제공한다.
- [1202] 실시예 11. 제공된 기술은 표적 전사체의 편집을 제공할 수 있다.
- [1203] 무엇보다도, 제공된 기술이 인간 환자 유도만능줄기세포(iPSC) 유래 간세포의 SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터의 전사체를 효과적으로 편집할 수 있음이 확인되었다. ZZ 유전자형을 갖는 인간 환자 iPSC 유래 간세포를 제0일에 플레이팅하고 제2일에 표시된 올리고뉴클레오티드(예: WV-46312, WV-44515)를 다양한 농도(예: 5, 1.25, 0.31, 0.08  $\mu$ M)로 처리하였다. 배지를 2일마다(예: 제4일, 제6일, 제8일에) 교환하고, 올리고뉴클레오티드를 2일마다(예: 제4일, 제6일, 제8일에) 다시 투여하였다. 제10일에 RNA를 수집하고 RNA 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 도 11에서 확인된 바와 같이, 다양한 올리고뉴클레오티드(예: WV-46312, WV-44515)는 SERPINA1 전사체의 편집을 제공하였다(예를 들어, 5  $\mu$ M의 표시된 올리고뉴클레오티드로 처리된 세포에서 약 80%-85% 이상의 편집(%)). GalNAc 접합이 있는 올리고뉴클레오티드 조성물 및 GalNAc 접합이 없는 올리고뉴클레오티드 조성물은 SERPINA1 전사체의 편집을 제공하였다. 환자 iPSC 유래 간세포는 아시알로당단백질 수용체(ASGPR)의 발현이 낮은 것으로 알려졌으며, 이는 임의의 특정 이론에 의해 제한되는 의도 없이 이 시스템에서 GalNAc 접합의 효과에 영향을 미칠 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 GalNAc 접합이 있거나 없이 편집을 제공한다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 조성물은 특정 농도에서 다른 것보다 더 높은 편집을 제공한다. 일부 구현예에서, 특정 올리고뉴클레오티드 조성물은 표적 전사체의 용량 의존적 편집을 제공한다.
- [1204] 실시예 12. 제공된 기술은 생체 내 편집을 제공하고 AAT 단백질 수준을 증가시킬 수 있다.
- [1205] 특히, 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터의 전사체를 편집하여 1024 G>A(E342K) 돌연변이를 교정할 수 있다. 본원에서 확인된 바와 같이, 일부 구현예에서, 제공된 기술은 치료적으로 유용할 수 있는 수준까지를 포함하여 혈청 M-AAT 수준을 증가시킬 수 있다.
- [1206] 예를 들어, 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 WV-49090이 NSG-PiZ 마우스에서 평가되었다. 일부 마우스에서는 PBS를 기준으로 사용하였다. 효율적인 편집, M-AAT 생성 및 야생형(M) AAT 단백질의 기능이 확인되었다. 올리고뉴클레오티드는 7주령의 NSG-PiZ 마우스(JAX 스톡 #028842; 처리군당 N=5)에 2주마다 10 mg/kg을 피하 투여했다. 한 마우스군은 제1주 동안(제0일, 제2일, 제4일에) 부하 용량을 투여받았고, 다른 군은 제1주 동안(제0일에) 단일 용량을 투여받았다. 이후 이들 군은 2주마다(예: 제2주, 제4주, 제6주, 제8주, 제10주, 제12주 동안) 추가 용량을 투여받았다. 마우스의 대조군은 PBS를 투여받았다. 투여 전 및 처리 후 제13주에 마우스로부터 혈청을 수집하였다. 기준선 측정을 위해 제0주에 또는 처리 후 제13주에 마우스 간 생검을 수집하였다. RNA를 간 생검으로부터 수집하였다. SERPINA1 mRNA의 상대 수준을 qPCR에 의해 결정하였다. SERPINA1의 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. Z(돌연변이체) 대 M(야생형) AAT 동형의 상대 존재비를 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS)으로 결정하였다. 혈청의 상대 엘라스타제 억제 활성을 시판되는 키트를 사용하여 시험관내 반응으로 결정하였다.
- [1207] 도 12에서 확인된 바와 같이, 제13주에 SERPINA1 전사체의 편집이(부하 용량 유무에 관계없이) WV-49090이 투여된 마우스에서 확인되었다(예: PBS의 경우 관찰된 약 0% 편집과 비교하여 약 45-50% 편집). 추가로, 도 13에 도시된 바와 같이, 상대 SERPINA1 mRNA 수준은 제0주의 기준선 상대 SERPINA1 mRNA 수준과 비교하여 WV-49090(부하 용량 및 부하 용량 없음)을 투여한 마우스에서 제13주에 유지되는 것으로 관찰되었다. 대조적으로, PBS를 투여한 마우스에서는 상대 SERPINA1 mRNA 수준의 유의한 감소(예를 들어 약 50%)가 관찰되었다. 도 14에서 확인된 바와 같이, 제13주에, PBS를 투여한 마우스에서 총 혈청 AAT 단백질의 100%가 Z-AAT 동형인 것과 비교하여, 총 혈청 AAT 단백질의 약 50%가 WV-49090(부하 용량 및 부하 용량 없음)을 투여한 마우스에서 M-AAT 동형이었다. 추가적으로, 도 15에 나타낸 바와 같이, 제13주에, PBS와 비교하여 WV-49090(부하 용량 및 부하 용량 없음)을 투여한 마우스에서 호중구 엘라스타제 억제제의 유의한 증가가 확인되었다. 예를 들어, PBS의 경우 상대

엘라스타제 억제(%)는 용량 전 약 20%, 제13주에 약 25%인 반면, WV-49090(부하 용량 및 부하 용량 없음)의 경우 상대 엘라스타제 억제(%)는 용량 전 약 20%, 제13주에 약 80%였다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 부하 용량의 유무에 관계없이 표적 전사체, 예를 들어 SERPINA1 RNA의 편집을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 부하 용량의 유무에 관계없이 SERPINA1 mRNA 수준을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 부하 용량의 유무에 관계없이 혈청 M-AAT 수준을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 기술은 부하 용량 유무에 관계없이 혈청 호중구 엘라스타제 억제 활성을 증가시킬 수 있다.

[1208] 실시예 13. 제공된 기술은 생체내 편집을 제공할 수 있다.

[1209] 무엇보다도 제공된 기술은 생체 내 편집을 제공할 수 있고 혈청 AAT 수준을 증가시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오티드(예: WV-46312, WV-49090, WV-49092)는 SERPINA1 PiZ 대립유전자로부터의 전사체 편집을 제공하고 인간 ADAR(huADAR) 형질전환 마우스에서 혈청 AAT 단백질 수준을 증가시키는 것으로 확인되었다. 올리고뉴클레오티드는 huADAR/SA-1 Tg 마우스에 제0일에 단일 용량(예를 들어, 10 mg/kg, 30 mg/kg 또는 100 mg/kg)으로 피하 투여되었으며, 후속적인 혈청 수집은 제0일(용량 전), 제7일, 제14일, 제21일, 제28일에 이루어졌고, 간 생검은 제7일(30 mg/kg의 경우) 및 제30일(10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg의 경우)에 수집하였다(군당 N=8). 일부 마우스에서는 PBS를 기준으로 투여했다. RNA를 간 생검으로부터 수집하였다. 조직 1g당 올리고 ug를 결정하기 위해 올리고뉴클레오티드의 존재에 대해 간 생검을 또한 조사하였다. SERPINA1의 편집을 Sanger 시퀀싱으로 정량화하였다. 혈청 AAT 수준을 ELISA로 정량화하였다. 세 개의 올리고뉴클레오티드 모두, 30 mg/kg의 올리고뉴클레오티드 조성물을 투여한 경우 제7일에 약 45% 이상의 편집이 관찰되었다. 추가로, 세 개의 올리고뉴클레오티드 모두, 올리고뉴클레오티드 조성물 100 mg/kg을 투여한 경우 제7일에 혈청 AAT 단백질 수준의 약 2.1배 이상의 변화가 관찰되었다.

[1210] 제0일의 단일 용량의 평균 RNA 편집(%)은 예시로서 아래 표에 제시되어 있다:

용량	평가일	WV-46312	WV-49090	WV-49092
10 mg/kg	28	2.5% (sem: 0.5)	4.0% (sem: 0.9)	7.0% (sem: 1.2)
30 mg/kg	7	60.1% (sem: 4.8)	46.3% (sem: 6.8)	61.6% (sem: 3.9)
30 mg/kg	28	3.8% (sem: 0.7)	7.1% (sem: 1.2)	11.8% (sem:3.1)
100 mg/kg	28	10.0% (sem: 1.5)	16.5% (sem: 4.1)	18.0% (sem:2.7)

sem: 평균의 표준오차.

[1211]

[1212] 용량 전 수준과 비교하여 제0일에 단일 용량 후 혈청 AAT의 변화 배수가 아래 표에 예시로 제시되어 있다:

용량	평가일	WV-46312	WV-49090	WV-49092
10 mg/kg	7	1.6 (sem: 0.1)	1.5 (sem: 0.1)	1.8 (sem: 0.1)
30 mg/kg	7	1.8 (sem: 0.1)	2.0 (sem: 0.2)	2.4 (sem: 0.1)
100 mg/kg	7	2.3 (sem:0.2)	2.7 (sem: 0.3)	2.1 (sem: 0.2)

sem: 평균의 표준오차.

[1213]

[1214] 특정 약동학(PK)/약력학(PD) 데이터가 아래 표에 예시로 제시되어 있다:

화합물	t <sub>1/2</sub> (일)	EC50 (µg/g)	EC50 <sup>a</sup> (µM)	V (mL/kg)	a <sup>b</sup>
WV-46312	4.00	7.04	0.682	143	1.01
WV-49090	7.10	19.6	1.85	229	-0.083
WV-49092	7.54	7.96	0.743	248	0.249

t<sub>1/2</sub>: 간 조직에서의 반감기. a: 평균 기본 중량이 µM 으로 변환하는 데 사용됨. b: 용량과 생체이용률 사이의 검정력 함수에 대한 지수.

[1215]

[1216] 본원에서 확인된 바와 같이, 제공된 기술은 SERPINA1 PiZ 대립유전자의 전사체의 효과적인 편집을 제공할 수 있다. 본원에서 확인된 바와 같이, 제공된 기술은 혈청 AAT 단백질의 증가를 제공할 수 있다.

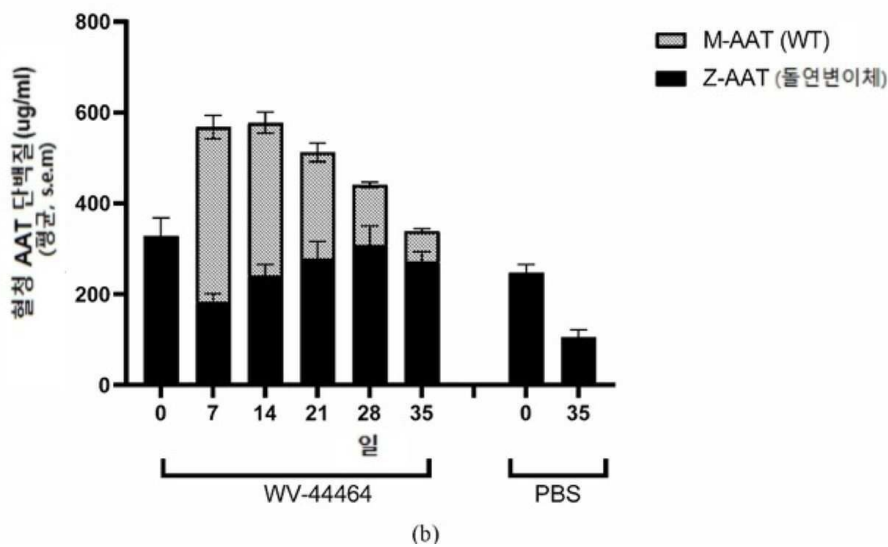
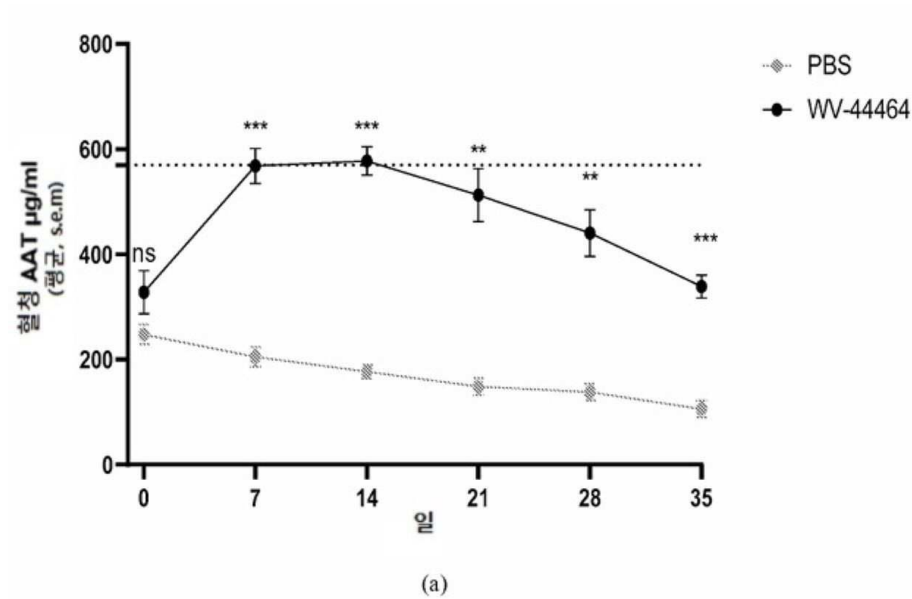
[1217]

다양한 구현예가 본원에서 설명되고 예시되었지만, 당업자는 기능을 수행하고/하거나 결과 및/또는 하나 이상의 장점(본 발명에 기재됨)을 얻기 위한 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 쉽게 구상할 것이며, 이러한 각각의 변화 및/또는 변형은 포함되는 것으로 간주된다. 더 일반적으로, 당업자는 본원에 설명된 모든 파라미터, 지수,

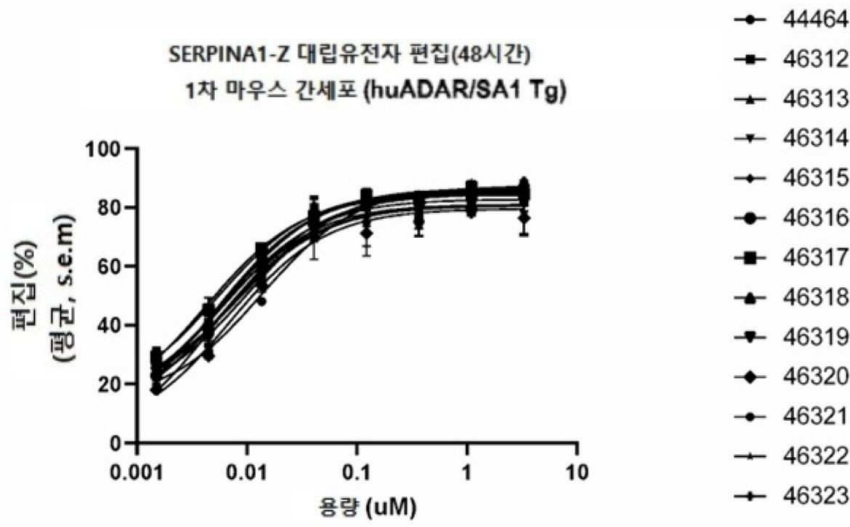
재료 및 구성이 예시적인 것이며 실제 파라미터, 치수, 재료 및/또는 구성이 특정 응용 또는 본 발명의 교시가 사용되는 응용에 의존할 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여, 본 발명의 구현예에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 따라서, 전술한 구현예는 단지 예로서 제시되며, 첨부된 청구범위 및 이에 대한 균등의 범위 내에서, 청구된 기술이 구체적으로 설명되고 청구된 것과 다르게 실시될 수 있음을 이해해야 한다. 게다가, 둘 이상의 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법의 임의의 조합은, 그러한 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트 및/또는 방법이 서로 모순되지 않는 경우, 본 발명의 범주 내에 포함된다.

도면

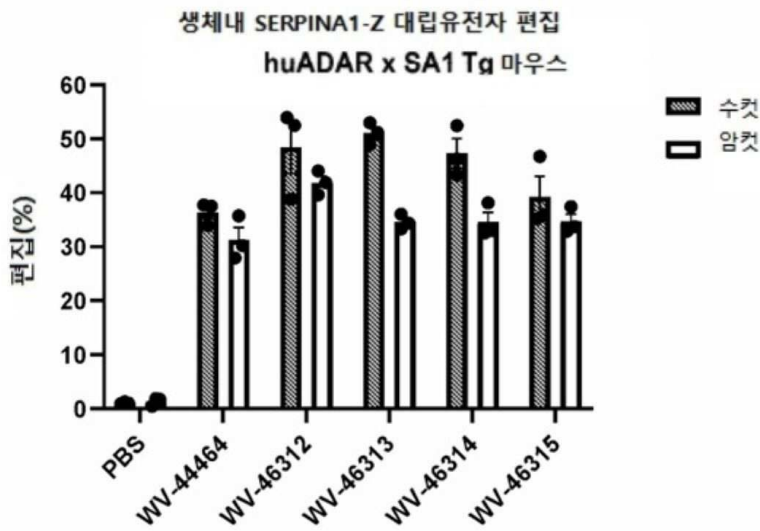
도면1



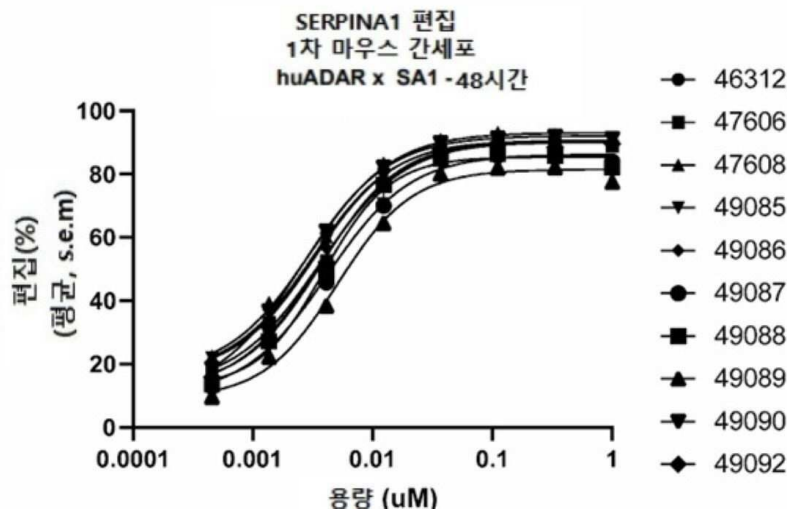
도면2



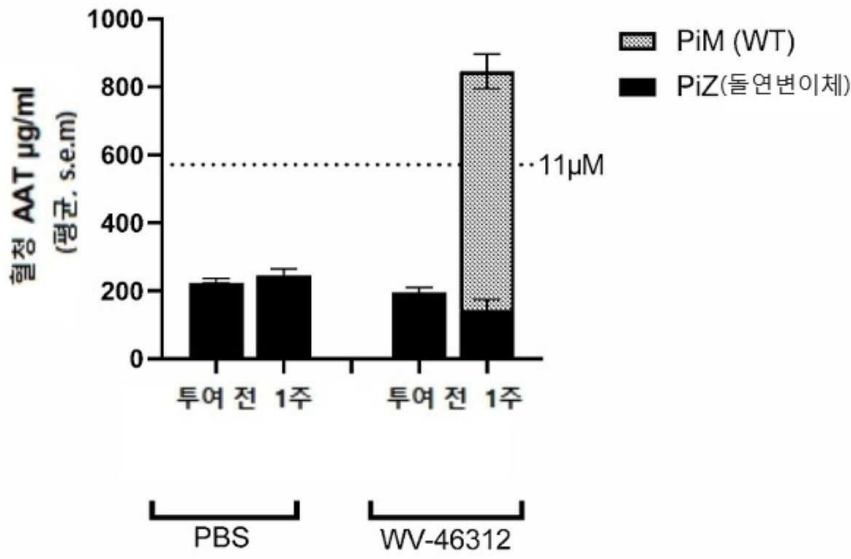
도면3



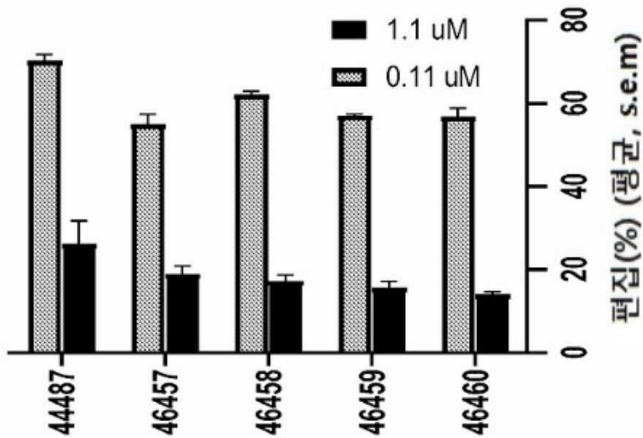
도면4



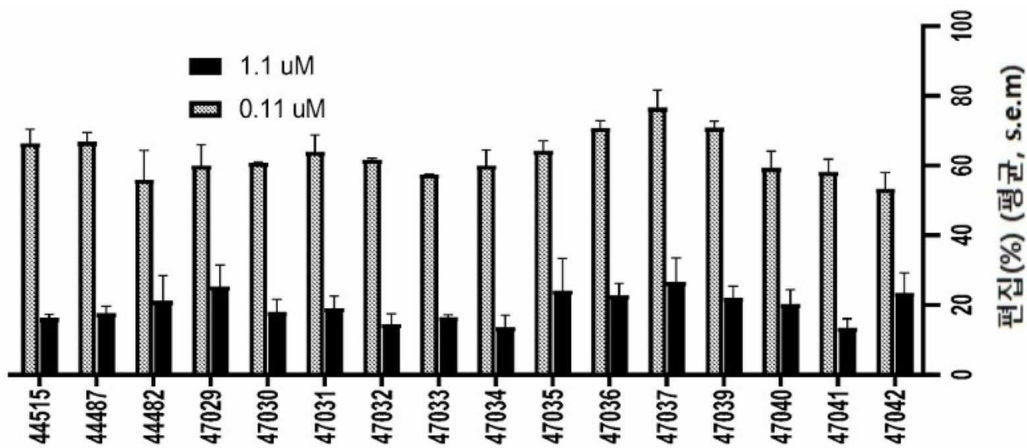
도면5



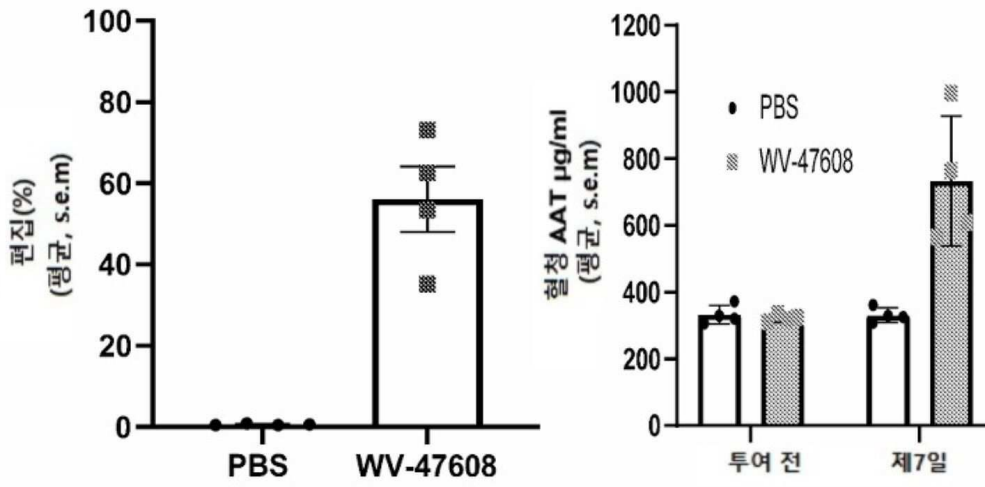
도면6



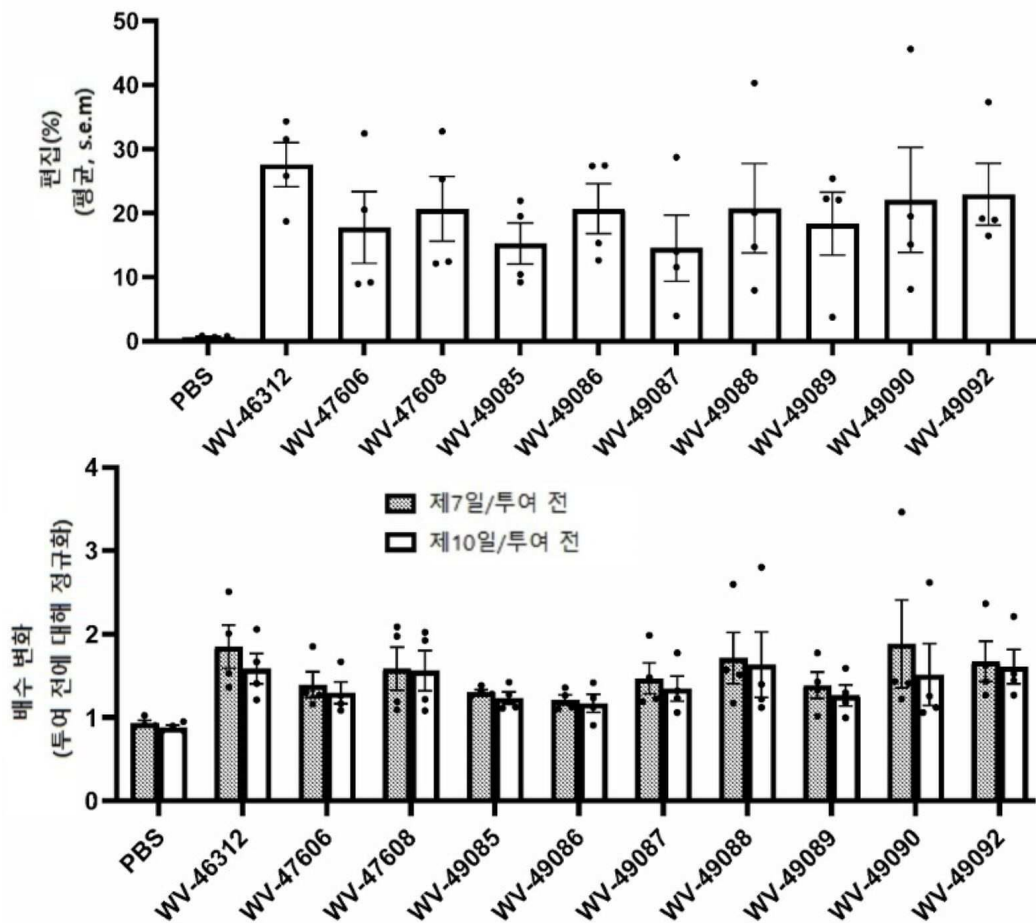
도면7



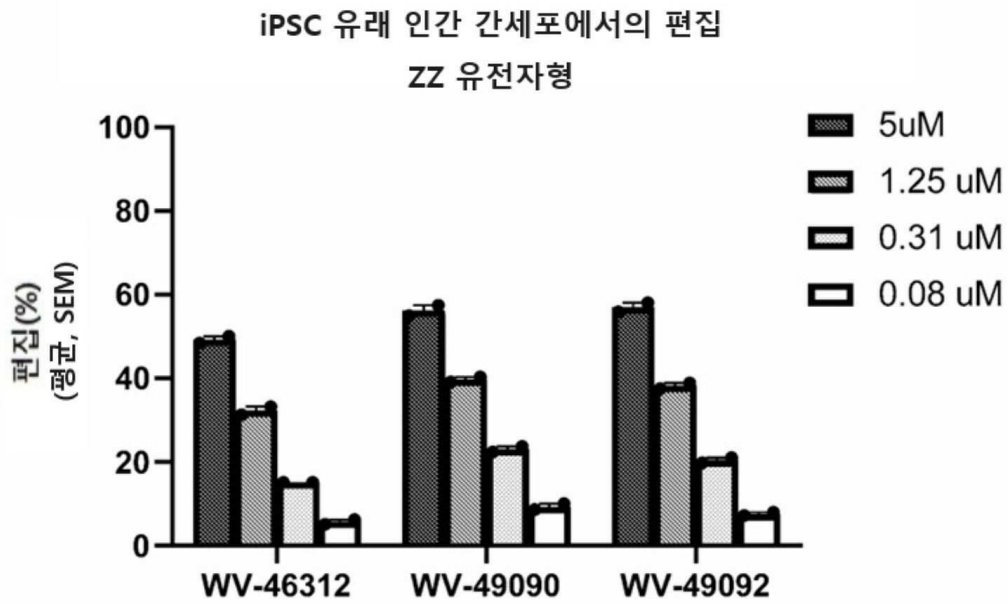
도면8



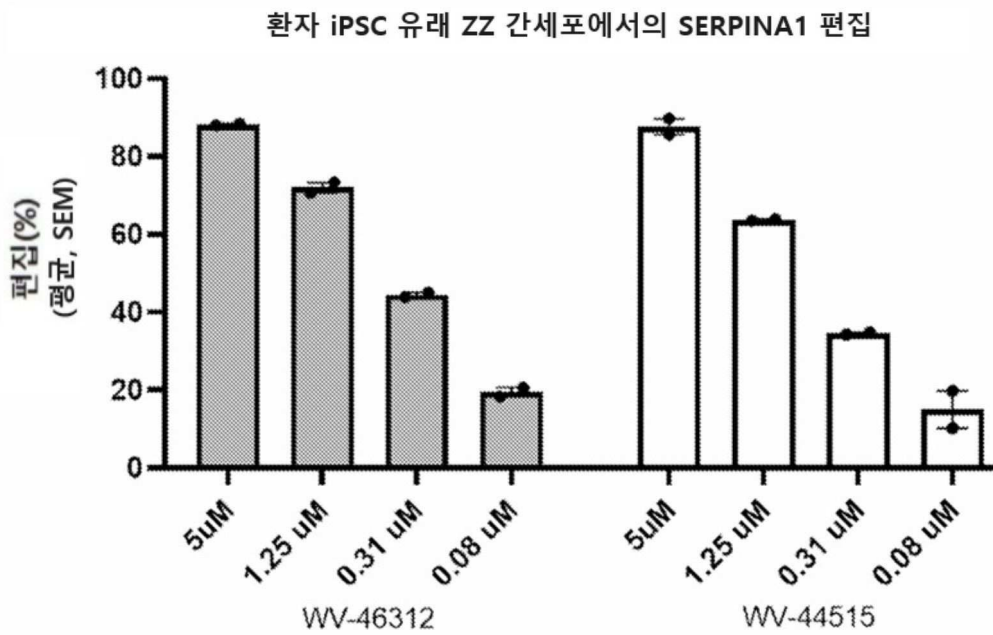
도면9



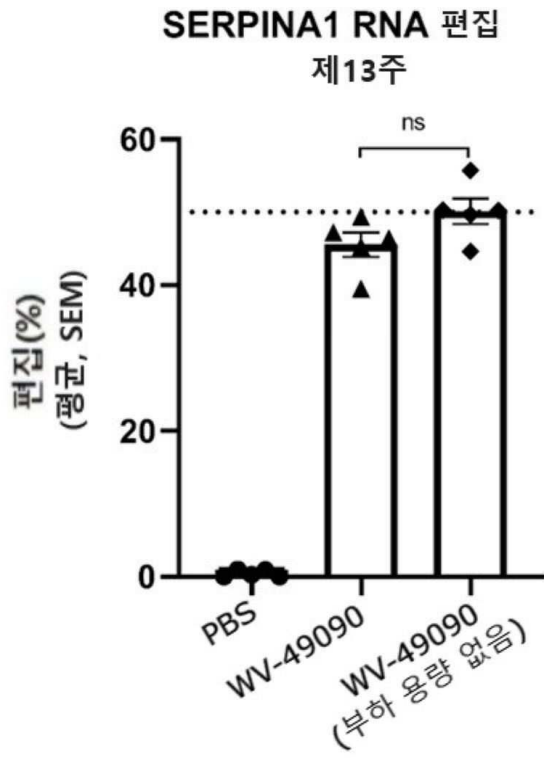
도면10



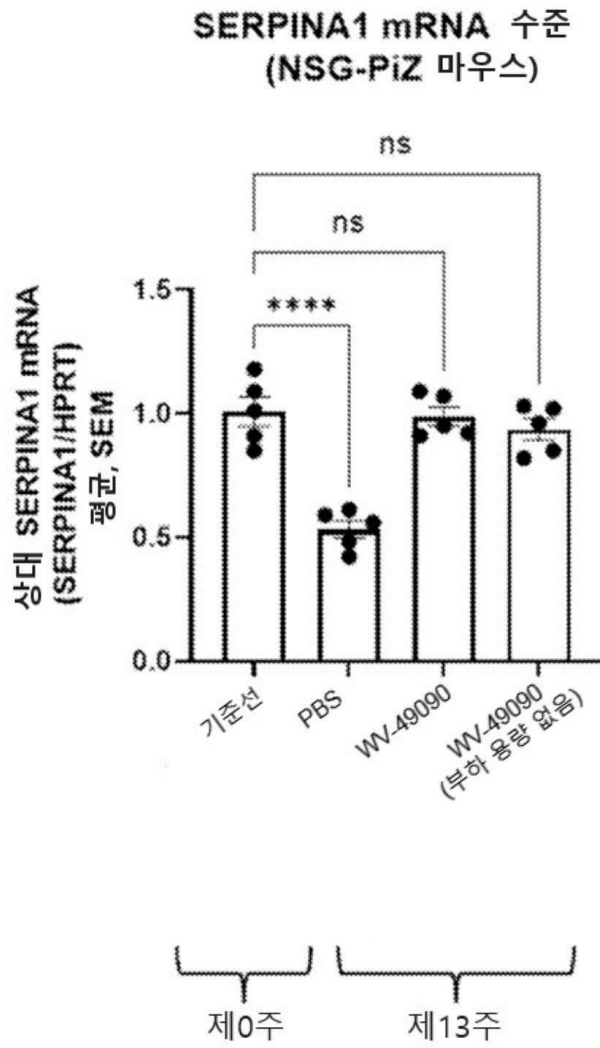
도면11



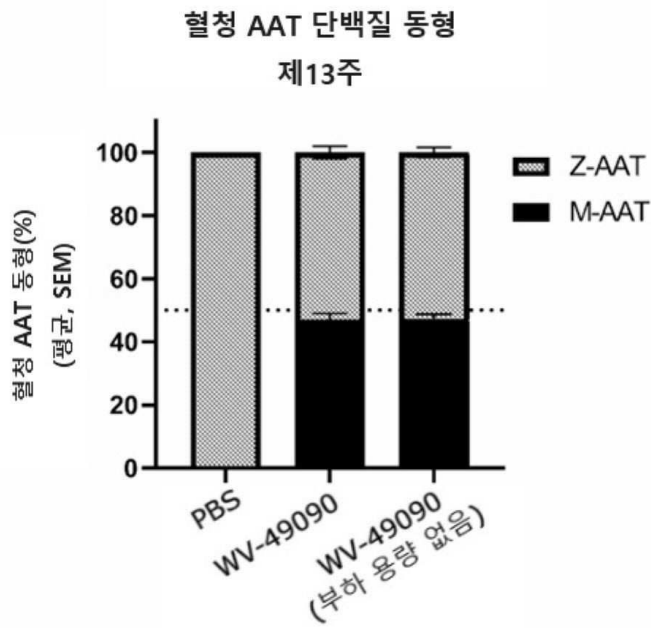
도면12



도면13



도면14



도면15

