



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0155301
(43) 공개일자 2022년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/713 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/113 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7031848
(22) 출원일자(국제) 2021년02월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년09월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/018071
(87) 국제공개번호 WO 2021/163654
국제공개일자 2021년08월19일
(30) 우선권주장
62/977,012 2020년02월14일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
아펠리스 파마슈티컬스 인코포레이티드
미국 매사추세츠 월섬 피프스 애비뉴 100 (우:
02451)
(72) 발명자
호스바흐, 마르쿠스
독일 95326 쿨름바흐 드라이브-마틴-루터-슈트라
췌 15
헬치, 캐서린
독일 95326 쿨름바흐 가벨스베르거 슈트라췌 5
(74) 대리인
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 55 항

(54) 발명의 명칭 보체 억제제를 위한 RNA

(57) 요약

miRNA 및 siRNA와 같은 RNA, 및 보체 매개 장애의 치료에서의 이의 용도가 기술된다.

대표도

패턴 #	위치	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	SS		PS 2OM	PS 2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2F	2F	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM
	AS	2OM	PS 2OM	PS 2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS 2F	PS 2OM
	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
2	SS		PS 2F	PS 2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM
	AS	2OM	PS 2OM	PS 2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	PS 2F	PS 2OM
	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
3	SS		PS 2F	PS 2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM
	AS	2OM	PS 2OM	PS 2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS 2F	PS 2OM
	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
4	SS		PS 2F	PS 2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM
	AS	2OM	PS 2OM	PS 2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS 2F	PS 2OM
	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
5	SS		PS 2OM	PS 2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2F	2F	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM
	AS	2OM	PS 2OM	PS 2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS 2F	PS 2OM
	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/32 (2013.01)
C12N 2310/343 (2013.01)
C12N 2310/346 (2013.01)
C12N 2320/30 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/980,100 2020년02월21일 미국(US)
63/062,321 2020년08월06일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA로서, 상기 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 상보성이고/이거나, 상기 센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 2

안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA로서, 상기 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3 또는 4개 이하의 뉴클레오티드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보성이고/이거나 상기 센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3 또는 4개 이하의 뉴클레오티드만큼 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보성인, siRNA.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출부 영역을 포함하는, siRNA.

청구항 6

제5항에 있어서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오티드 돌출부를 포함하는, siRNA.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함하는, siRNA.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서, 돌출부 영역은 서열번호 75의 단편에 상보성인, siRNA.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 3' 돌출부는 2-뉴클레오티드를 돌출부를 포함하는, siRNA.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단 및 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오티드를 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보성이 아닌, siRNA.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함하는, siRNA.

청구항 12

제11항에 있어서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오타이드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오타이드, 및/또는 인접한 뉴클레오타이드와의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는, siRNA.

청구항 13

제12항에 있어서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는, (i) 센스 가닥의 5' 말단; (ii) 센스 가닥의 3' 말단; (iii) 안티센스 가닥의 5' 말단; 및/또는 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단의 마지막 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는, siRNA.

청구항 14

제13항에 있어서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는, (i) 센스 가닥의 5' 말단; (ii) 센스 가닥의 3' 말단; (iii) 안티센스 가닥의 5' 말단; 및/또는 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단의 마지막 3개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는, siRNA.

청구항 15

제13항에 있어서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는, (i) 센스 가닥의 5' 말단; (ii) 센스 가닥의 3' 말단; (iii) 안티센스 가닥의 5' 말단; 및 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단의 마지막 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는, siRNA.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 다음의 센스/안티센스 서열번호 세트 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263, 264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오타이드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, siRNA.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 이상에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함하는, siRNA.

청구항 20

제19항에 있어서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함하는, siRNA.

청구항 21

제20항에 있어서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함하는, siRNA.

청구항 22

보체 매개 장애를 갖거나 이의 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 siRNA의 유효량을 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 siRNA를 암호화하는 핵산을 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 조성물의 투여 후, 대상체 또는 대상체로부터의 생물학적 샘플에서의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 상기 조성물의 투여 전 수준에 비해 감소되는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 투여 전 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소되는, 방법.

청구항 26

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 대상체에게 정맥내 또는 피하 투여되는, 방법.

청구항 27

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 대상체의 간세포에 투여되는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 조성물은 생체 외 간세포에 투여되는, 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 조성물은 생체 내 간세포에 투여되는, 방법.

청구항 30

제22항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 제제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 제2 제제는 항-C3 항체 또는 콤프스타틴 유사체인, 방법.

청구항 32

제22항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 보체 조절에 결함을 가지되, 선택적으로, 상기 결함은 대상체의 세포의 적어도 일부에 의한 하나 이상의 보체 조절 단백질의 비정상적으로 낮은 발현을 포함하는, 방법.

청구항 33

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 매개 장애는 만성 장애인, 방법.

청구항 34

제22항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 매개 장애는 적혈구에 대한 보체 매개 손상을 수반하되, 선

택적으로, 상기 장애는 발작성 야간 혈색소뇨증 또는 비정형 용혈성 요독 증후군인, 방법.

청구항 35

제22항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 매개 장애는 자가면역 질환이고, 선택적으로 상기 장애는 다발성 경화증인, 방법.

청구항 36

제22항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 매개 장애는 신장과 관련되되, 선택적으로, 상기 장애는 막증식성 사구체 신염, 루푸스 신염, IgA 신병증(IgAN), 원발성 막성 신병증(원발성 MN), C3 사구체 병증(C3G), 또는 급성 신장 손상인, 방법.

청구항 37

제22항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 보체 매개 장애는 중추 또는 말초 신경계 또는 신경근 접합부와 관련되며, 선택적으로, 상기 장애는 시신경 척수염, 길랑-바레 증후군, 다초점 운동 신경병증, 또는 중증 근무력증인, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 siRNA 및 담체 및/또는 부형제를 포함하는, 조성물.

청구항 39

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 하나 이상의 siRNA를 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 발현 벡터.

청구항 40

제39항에 있어서, C3 억제제(예를 들어, 앵타머, 항-C3 항체, 항-C3b 항체, 포유류 보체 조절 단백질, 또는 미니 인자 H)를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하는, 발현 벡터.

청구항 41

조성물로서,

(i) 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 센스 가닥; 및

(ii) 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 조성물.

청구항 42

서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 안티센스 핵산.

청구항 43

세포에서 보체 C3 발현을 감소시키거나 억제하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 세포를 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 siRNA, 제38항 또는 제41항의 조성물, 제39항 또는 제40항의 벡터, 또는 제42항의 안티센스 핵산

과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 접촉시키는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 상기 접촉시키는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소되는, 방법.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 세포는 대상체 내에 있는, 방법.

청구항 46

제22항 내지 제37항 또는 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있는, 방법.

청구항 48

대상체에서 C3의 발현을 감소시키거나 억제하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체의 세포를 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 siRNA, 제38항 또는 제41항의 조성물, 제39항 또는 제40항의 벡터, 또는 제42항의 안티센스 핵산과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 접촉시키는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 상기 접촉시키는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소되는, 방법.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있는, 방법.

청구항 52

대상체에서 C3의 발현을 감소시키거나 억제하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항의 siRNA, 제38항 또는 제41항의 조성물, 제39항 또는 제40항의 벡터, 또는 제42항의 안티센스 핵산을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 투여하는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 상기 투여하는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소되는, 방법.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 2월 14일에 출원된 미국 가출원 제62/977,012호, 2020년 2월 21일에 출원된 미국 가출원 제62/980,100호, 및 2020년 8월 6일에 출원된 미국 가출원 제63/062,321호의 이익을 주장하며, 이들 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

배경 기술

[0003] 보체는 선천 면역과 후천 면역 둘 모두에서 중요한 역할을 하는 30개 이상의 혈장 및 세포 결합 단백질로 이루어진 시스템이다. 보체계의 단백질은 다양한 단백질 상호작용 및 절단 이벤트를 통해 일련의 효소 캐스케이드에서 작용한다. 보체 활성화는 3개의 주요 경로를 통해 일어난다: 항체 의존성 고전 경로, 대안적인 경로, 및 만노오스 결합 렉틴(MBL) 경로. 부적절한 또는 과도한 보체 활성화는 다수의 심각한 질환 및 병태에 대한 근본적인 원인 또는 기여 인자이며, 지난 수십 년 동안 다양한 보체 억제제를 치료제로서 탐색하기 위한 상당한 노력이 있었다.

발명의 내용

[0004] 일 양태에서, 본 개시는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA를 특징으로 하며, 여기에서 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다.

[0005] 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3, 또는 4개 이하의 뉴클레오타이드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0006] 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌출 영역은 서열번호 75의 단편에 상보적이다. 일부 구현예에서, siRNA의 3' 돌출부는 2-뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다.

[0007] 일부 구현예에서, siRNA는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단과 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보적이지 않다.

[0008] 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오타이드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오타이드, 및/또는 인접한 뉴클레오타이드와의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다.

[0009] 일부 구현예에서, siRNA의 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 센스/안티센스 서열번호 세트 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오타이드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오타이드 서열을 포함한다: 서열번호 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263,

264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258.

- [0011] 일부 구현예에서, siRNA는 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 또는 전부에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다.
- [0012] 또 다른 양태에서, 본 개시는 보체 매개 장애를 갖거나 이의 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 방법은 siRNA의 유효량을 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 siRNA를 암호화하는 핵산을 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다.
- [0013] 일부 구현예에서, 조성물이 투여된 후, 대상체, 또는 대상체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액, 혈청 또는 혈장 샘플, 및/또는 간세포를 포함하는 샘플)에서의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 조성물이 투여되기 전의 수준에 비해 감소된다. 일부 구현예에서, C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 투여 전 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다.
- [0014] 일부 구현예에서, 조성물은 대상체에게 정맥내 투여되거나 피하 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 대상체의 간세포에 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 생체 외 간세포에 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 생체 내 간세포에 투여된다.
- [0015] 일부 구현예에서, 방법은 제2 제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 제제는 항-C3 항체 또는 콤프스타틴 유사체이다.
- [0016] 일부 구현예에서, 대상체는 보체 조절에 결함을 가지되, 선택적으로, 결함은 대상체의 세포의 적어도 일부에 의한 하나 이상의 보체 조절 단백질의 비정상적으로 낮은 발현을 포함한다. 일부 구현예에서, 보체 매개 장애는 만성 장애이다. 일부 구현예에서, 보체 매개 장애는 적혈구에 대한 보체 매개 손상을 수반하되, 선택적으로, 장애는 발작성 야간 혈색소뇨증 또는 비정형 용혈성 요독 증후군이다. 일부 구현예에서, 보체 매개 장애는 자가면역 질환이되, 선택적으로, 장애는 다발성 경화증이다. 일부 구현예에서, 보체 매개 장애는 신장과 관련되되, 선택적으로, 장애는 막증식성 사구체 신염, 루푸스 신염, IgA 신병증(IgAN), 원발성 막성 신병증(원발성 MN), C3 사구체 병증(C3G), 또는 급성 신장 손상이다. 일부 구현예에서, 보체 매개 장애는 중추 또는 말초 신경계 또는 신경근 접합부와 관련되며, 선택적으로, 장애는 시신경 척수염, 길랑-바레(Guillain-Barré) 증후군, 다초점 운동 신경병증, 또는 중증 근무력증이다.
- [0017] 일부 구현예에서, 조성물은 담체 및/또는 부형제를 포함한다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 siRNA 중 하나 이상을 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터를 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 C3 억제제(예를 들어, 앵타머, 항-C3 항체, 항-C3b 항체, 포유류 보체 조절 단백질, 또는 미니 인자 H)를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0019] 또 다른 양태에서, 본 개시는 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 안티센스 핵산을 특징으로 한다.
- [0020] 또 다른 양태에서, 본 개시는 세포에서 보체 C3 발현을 감소시키거나 억제하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 방법은 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA를 세포와 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기에서 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3, 또는 4개 이하의 뉴클레오타이드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌출 영역은 서열번호 75의 단편에 상보적이다. 일부 구현예에서,

siRNA의 3' 돌출부는 2-뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단과 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보적이지 않다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오타이드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오타이드, 및/또는 인접한 뉴클레오타이드와의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 센스/안티센스 서열번호 세트 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오타이드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오타이드 서열을 포함한다: 서열번호 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263, 264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258. 일부 구현예에서, siRNA는 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 또는 전부에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다.

[0021] 일부 구현예에서, 방법은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 안티센스 핵산을 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기술된 조성물 또는 발현 벡터를 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, 접촉시키는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 접촉시키는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 방법은 보체 C3 유전자의 mRNA 전사물의 분해를 얻기에 충분한 시간 동안 세포를 유지시킴으로써, 세포에서 보체 C3 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0024] 일부 구현예에서, 세포는 대상체 내에 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있다.

[0025] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서의 C3의 발현을 감소시키거나 억제하는 방법을 특징으로 하며, 방법은 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA를 대상체의 세포에 접촉시키는 단계를 포함하되, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3, 또는 4개 이하의 뉴클레오타이드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌출 영역은 서열번호 75의 단편에 상보적이다. 일부 구현예에서, siRNA의 3' 돌출부는 2-뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단과 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보적이지 않다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오타이드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오타이드, 및/또는 인접한 뉴클레오타

드와의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 센스/안티센스 서열번호 세트 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오티드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열을 포함한다: 서열번호 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263, 264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258. 일부 구현예에서, siRNA는 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 또는 전부에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다.

[0026] 일부 구현예에서, 방법은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 핵산을 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0027] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기술된 조성물 또는 발현 벡터를 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0028] 일부 구현예에서, 접촉시키는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 접촉시키는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다.

[0029] 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있다.

[0030] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서의 C3의 발현을 감소시키거나 억제하는 방법을 특징으로 하며, 방법은 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3, 또는 4개 이하의 뉴클레오티드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌출 영역은 서열번호 75의 단편에 상보적이다. 일부 구현예에서, siRNA의 3' 돌출부는 2-뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단과 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보적이지 않다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오티드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오티드, 및/또는 인접한 뉴클레오티드와의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 센스/안티센스 서열번호

세트 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오티드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열을 포함한다: 서열번호 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263, 264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258. 일부 구현예에서, siRNA는 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 또는 전부에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, 방법은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 안티센스 핵산을 투여하는 단계를 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기술된 조성물 또는 발현 벡터를 투여하는 단계를 포함한다.

[0033] 일부 구현예에서, 투여하는 단계 후의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 투여하는 단계 전의 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다.

[0034] 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있다.

[0035] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에서의 보체를 감소시키거나 억제하는 방법을 특징으로 하며, 방법은 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하는 siRNA를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 1, 2, 3, 또는 4개 이하의 뉴클레오티드만큼 상이한 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 돌출부는 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌출 영역은 서열번호 75의 단편에 상보적이다. 일부 구현예에서, siRNA의 3' 돌출부는 2-뉴클레오티드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 5' 말단, 3' 말단, 또는 5' 말단과 3' 말단 둘 모두에 적어도 하나의 추가적인 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 이는 서열번호 75의 단편에 상보적이지 않다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥 중 하나 또는 둘 모두는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드는 2'-O-메틸기를 포함하는 뉴클레오티드, 2'-플루오로기를 포함하는 뉴클레오티드, 및/또는 인접한 뉴클레오티드와의 포스포포티오에이트 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 센스 가닥은 서열번호 76-100, 126-150, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 255, 259, 264, 268, 272, 276, 325, 326, 및 327 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA의 안티센스 가닥은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 센스/안티센스 서열번호 세트 중 어느 하나의 센스 가닥 뉴클레오티드 서열/안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열을 포함한다: 서열번호 201/202, 203/204, 205/206, 207/208, 209/210, 211/212, 213/214, 215/216, 217/218, 219/220, 221/222, 223/224, 225/226, 227/228, 229/230, 231/232, 233/234, 235/236, 237/238, 239/240, 241/242, 243/244, 245/246, 247/248, 249/250, 251/252, 253/254, 201/256, 255/256, 255/257, 201/258, 255/258, 207/260, 259/260, 259/261, 207/262, 259/262, 217/263, 264/263, 264/265, 217/266, 264/266, 219/267, 268/267, 268/269, 219/270, 268/270, 231/271, 272/271, 272/273, 231/274, 272/274, 243/275, 276/275, 276/277, 243/278, 276/278, 325/275, 326/260, 및 327/258. 일부 구현예에서, siRNA는 센스 가닥의 5' 말단, 센스 가닥의 3' 말

단, 안티센스 가닥의 5' 말단, 및 안티센스 가닥의 3' 말단 중 하나 또는 전부에 부착된 적어도 하나의 리간드를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 적어도 하나의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 리간드는 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다.

[0036] 일부 구현예에서, 방법은 서열번호 101-125, 151-200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 257, 258, 260, 261, 262, 263, 265, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 277, 278, 및 300-324 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 안티센스 핵산을 투여하는 단계를 포함한다.

[0037] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기술된 조성물 또는 발현 벡터를 투여하는 단계를 포함한다.

[0038] 일부 구현예에서, 투여하는 단계 후의 보체 활성화는 투여하는 단계 전의 조절, 예를 들어 보체 활성화의 조절 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다.

[0039] 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 보체 매개 장애를 앓고 있다.

[0040] 정의

[0041] **항체:** 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 항원에 결합할 수 있는 면역글로불린 도메인을 함유하는 면역글로불린 또는 이의 유도체를 지칭한다. 항체는 임의의 종, 예를 들어, 인간, 설치류, 토끼, 염소, 닭 등일 수 있다. 항체는 인간 부류 중 어느 하나를 포함하는 임의의 면역글로불린 부류의 구성원일 수 있다: IgG, IgM, IgA, IgD, 및 IgE, 또는 IgG1, IgG2 등과 같은 이의 하위 부류. 본 발명의 다양한 구현예에서, 항체는 Fab', F(ab')₂, scFv(단쇄 가변) 또는 항원 결합 부위를 보유하는 다른 단편, 또는 재조합적으로 생성된 단편을 포함하여, 재조합적으로 생성된 scFv 단편과 같은 단편이다. 예를 들어, Allen, T., *Nature Reviews Cancer*, Vol.2, 750-765, 2002, 및 그의 참고 문헌을 참조한다. 항체는 1가, 2가 또는 다가일 수 있다. 항체는, 예를 들어, 설치류 기원의 가변 도메인이 인간 기원의 불변 도메인에 융합되어 설치류 항체의 특이성을 유지하는 키메라 또는 "인간화" 항체일 수 있다. 인간 기원의 도메인은 인간에서 먼저 합성된다는 의미에서, 인간으로부터 직접 유래할 필요는 없다. 대신에, "인간" 도메인은 인간 면역글로불린 유전자를 포함하는 게놈을 가진 설치류에서 생성될 수 있다. 예를 들어, Vaughan 등(1998), *Nature Biotechnology*, 16: 535-539를 참조한다. 항체는 부분적으로 또는 완전히 인간화될 수 있다. 항체는 다클론 또는 단클론일 수 있지만, 본 발명의 목적을 위해 단클론 항체가 대체적으로 바람직하다. 사실상 임의의 관심 분자에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 단클론 또는 다클론 항체는 (예를 들어, 분자 또는 이의 항원 단편에 대한 자연 노출 또는 면역화 후) 항체를 생산하는 동물의 혈액 또는 복수 유체로부터 정제될 수 있거나, 세포 배양 또는 유전자이식 유기체에서 재조합 기술을 사용하여 생산될 수 있거나, 적어도 부분적으로 화학적 합성에 의해 제조될 수 있다.

[0042] **대략(약):** 본원에서 사용되는, 수와 관련된 용어 "대략" 또는 "약"은, 달리 언급되거나 문맥으로부터 달리 명백하지 않는 한, 수의 어느 한 방향으로 대체적으로 5%, 10%, 15%, 또는 20%(보다 크거나 작음)의 범위 내에 속하는 수를 포함하는 것으로 이해된다(그러한 수가 가능한 값의 0% 미만이거나 100%를 초과하는 경우는 제외됨).

[0043] **상보성:** 당업계에서 허용되는 의미에 따르면, 본원에서 사용되는 "상보성"은 특정 염기, 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 또는 핵산 간의 정확한 페어링을 위한 용량을 지칭한다. 예를 들어, 아데닌(A)과 우라실(U)은 상보성이고; 아데닌(A)과 티미딘(T)은 상보성이고; 구아닌(G)과 시토신(C)은 상보성이며, 당업계에서 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기 쌍으로서 지칭된다. 가닥이 역평행 배향으로 정렬될 때 제1 핵산 서열의 특정 위치에서의 뉴클레오타이드가 제2 핵산 서열에서 반대에 위치한 뉴클레오타이드에 상보성인 경우, 뉴클레오타이드는 상보성 염기 쌍을 형성하고, 핵산은 그 위치에서 상보성이다. 제2 핵산에 대한 제1 핵산의 상보성 백분율은, 평가 윈도우에 걸친 최대 상보성에 대해 역평행 배향으로 이들을 정렬하고, 해당 윈도우 내에 상보성 염기 쌍을 형성하는 두 가닥 모두에서의 nt의 총 수를 결정하고, 이를 해당 윈도우 내의 nt의 총 수로 나누고, 이에 100을 곱함으로써 평가될 수 있다. 예를 들어, AAAAAA 및 TTTGTTAT는 총 16 nt 중 상보성 염기 쌍에 12 nt가 있기 때문에 75% 상보성이다. 특정 % 상보성을 얻는 데 필요한 상보성 nt의 수를 계산할 때, 분수는 가장 가까운 정수로 반올림된다. 비-상보성 뉴클레오타이드에 의해 점유된 위치는 불일치를 구성한다: 즉, 해당 위치는 비-상보성 염기 쌍에 의해 점유된다. 소정의 구현예에서, 평가 윈도우는 이중 부분 또는 표적 부분에 대해 본원에 기술된 길이를 갖는다. 상보성 서열은 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드와 두 뉴클레오타이드 서열의 전체 길이(서로 동일한 길이인 경우) 또는 보다 짧은 서열의 전체 길이(서로 상이한 길이인 경우)에 걸친 제2 뉴클레오타이드 서

열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 염기-페어링을 포함한다. 이러한 서열은 본원에서 서로에 대해 "완전한 상보성"(100% 상보성)으로 지칭될 수 있다. 평가 윈도우에 걸쳐 적어도 70% 상보성인 핵산은 해당 윈도우에 걸쳐 "실질적으로 상보성"인 것으로 간주된다. 소정의 구현예에서, 상보성 핵산은 평가 윈도우에 걸쳐 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 상보성이다. 본원에서 제1 서열이 제2 서열에 대해 "실질적인 상보성"이라고 지칭될 경우, 의도된 용도에 가장 적합한 조건 하에서 혼성화하는 능력을 유지하면서, 2개의 서열은 완벽하게 상보성일 수 있거나, 혼성화 시 하나 이상의 일치하지 않는 염기, 예를 들어, 혼성화 시 최대 약 5%, 10%, 15%, 20%, 또는 25%의 일치하지 않는 염기, 예를 들어 최대 30개 염기 쌍의 이중체에 대한 혼성화 시 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 불일치 염기 쌍을 포함할 수 있다. 혼성화 시, 2개의 올리고뉴클레오타이드가 하나 이상의 단일 가닥 돌출부를 형성하도록 설계되는 경우, 이러한 돌출부는 상보성 핵분열의 결정과 관련하여 불일치 또는 쌍을 이루지 않는 뉴클레오타이드로 간주되지 않는다는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, 길이가 21개 뉴클레오타이드인 하나의 올리고뉴클레오타이드 및 길이가 23개 뉴클레오타이드인 다른 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 여기에서 보다 긴 올리고뉴클레오타이드는 보다 짧은 올리고뉴클레오타이드에 완벽하게 상보성인 21개의 뉴클레오타이드 및 2개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함하는, dsRNA의 2개의 가닥은 본원에서 "완전한 상보성"인 것으로 지칭될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "상보성" 서열은, 혼성화 능력에 관한 요건이 충족되는 한, 하나 이상의 비-왓슨-크릭 염기 쌍 및/또는 비-자연 및 다른 변형된 뉴클레오타이드로 형성된 염기 쌍을 포함할 수 있다. 이러한 비-왓슨-크릭 염기 쌍은 G:U Wobble 또는 Hoogsteen 염기 쌍을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 당업자는, 소위 "wooble" 규칙에 따라, 구아닌, 시토신, 아데닌, 및 우라실은 이러한 염기를 보유하는 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 염기 페어링 특성을 실질적으로 변경시키지 않고 다른 염기로 대체될 수 있다는 것을 이해할 것이다(예를 들어, Murphy, FV IV & V Ramakrishnan, V., Nature Structural and Molecular Biology 11: 1251 - 1252 (2004) 참조). 예를 들어, 이노신을 그의 염기로서 포함하는 뉴클레오타이드는 아데닌, 시토신, 또는 우라실을 함유하는 뉴클레오타이드와 염기 쌍을 이룰 수 있다. 따라서, 우라실, 구아닌, 또는 아데닌을 함유하는 뉴클레오타이드는 본원에 기술된 억제 RNA의 뉴클레오타이드 서열에서, 예를 들어, 이노신을 함유하는 뉴클레오타이드로 대체될 수 있다. 용어 "상보성", "완전한 상보성", 및 "실질적인 상보성"은, 본 문맥으로 명백해질 바와 같이, 임의의 2개의 핵산 사이의 염기 일치도, 예를 들어, 센스 가닥과 dsRNA의 안티센스 가닥 사이, 또는 ds 억제 RNA의 안티센스 가닥(예를 들어, siRNA)과 표적 서열 사이, 또는 안티센스 올리고뉴클레오타이드와 표적 서열 사이의 염기 일치도에 대해 사용될 수 있다는 것이 이해될 것이다. 본원에서 사용되는, "혼성화"는 통상의 당업자가 이해할 수 있는 바와 같이, 특정 관심 조건 하에서 안정적인 이중체 구조가 형성되도록 상보성 부분을 포함하거나 이로 이루어진 2개의 핵산 서열 간의 상호작용을 지칭한다.

[0044] **보체 성분:** 본원에서 사용되는 용어 "보체 성분" 또는 "보체 단백질"은 보체 시스템의 활성화에 관여하거나 하나 이상의 보체 매개 활성화에 참여하는 분자이다. 고전적인 보체 경로의 성분은, 예를 들어, C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 및 막 공격 복합체(MAC)로도 지칭되는 C5b-9 복합체 및 전술한 것 중 어느 하나의 활성 단편 또는 효소 절단 산물(예를 들어, C3a, C3b, C4a, C4b, C5a 등)을 포함한다. 대안적인 경로의 성분은, 예를 들어, 인자 B, D, H 및 I를 포함하고, 해당 경로의 음성 조절자인 인자 H를 갖는 프로페딘을 포함한다. 력틴 경로의 성분은, 예를 들어, MBL2, MASP-1, 및 MASP-2를 포함한다. 보체 성분은 또한 가용성 보체 성분에 대한 세포 결합 수용체를 포함한다. 이러한 수용체는, 예를 들어, C5a 수용체(C5aR), C3a 수용체(C3aR), 보체 수용체 1(CR1), 보체 수용체 2(CR2), 보체 수용체 3(CR3) 등을 포함한다. 용어 "상보성 성분"은 보체 활성화를 위한 "트리거"로서 작용하는 분자 및 분자 구조, 예를 들어, 항원-항체 복합체, 미생물 또는 인공 표면에서 발견되는 외래 구조 등을 포함하는 것을 의도하지 않는다는 것을 이해해야 한다.

[0045] **숙주 세포:** 본원에서 사용되는 용어 "숙주 세포"는 외인성 DNA(재조합 또는 그렇지 않은 것)가 그 내부로 도입된 세포를 지칭한다. 본 개시를 읽는 당업자는 이러한 용어가 특정 대상체 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손 세포 또한 지칭한다는 것을 이해할 것이다. 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 후속 세대에서 특정 변형이 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손 세포는, 실제로 부모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 본원에서 사용될 때에는 용어 "숙주 세포"의 범위 내에 여전히 포함된다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 외인성 DNA(예를 들어, 재조합 핵산 서열)를 발현하기에 적합한 생물체로부터 선택되는 원핵 세포 및 진핵 세포를 포함한다. 예시적인 세포는, 원핵생물 및 진핵생물의 세포(단일 세포 또는 다중 세포), 박테리아 세포(예를 들어, 대장균, 바실러스(*Bacillus*) 종, 스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 종 등의 균주), 미코박테리아 세포, 곰팡이 세포, 효모 세포(예를 들어, *S. 세레비시아에*(*S. cerevisiae*), *S. 폼브*(*S. pombe*), *P. 파스토리스*(*P. pastoris*), *P. 메탄올리카*(*P. methanolica*) 등), 식물 세포, 곤충 세포(예를 들어, SF-9, SF-21, 바칼로바이러스 감염 곤충 세포, 트리코플루시아 니(*Trichoplusia ni*) 등), 비인간 동물 세포, 인간 세포, 또는 예를 들어 히브리도마스 또는 퀴드로마스와 같은 세포 융합체를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 인간, 원숭이, 유인원, 햄스터, 랫트, 또는

마우스 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 진핵 세포이고, 다음의 세포로부터 선택된다: CHO(예를 들어, CHO K1, DXB-1 1 CHO, Veggie-CHO), COS(예를 들어, COS-7), 망막 세포, Vero, CV1, 신장(예를 들어, HEK293, 293 EBNA, MSR 293, MDCK, HaK, BHK), HeLa, HepG2, WI38, MRC 5, Colo205, HB 8065, HL-60, (예를 들어, BHK21), Jurkat, Daudi, A431(상피), CV-1, U937, 3T3, L 세포, C127 세포, SP2/0, NS-0, MMT 060562, Sertoli 세포, BRL 3 A 세포, HT1080 세포, 골수종 세포, 종양 세포 및 전술한 세포로부터 유래된 세포주. 일부 구현예에서, 세포는 하나 이상의 바이러스 유전자를 포함한다.

[0046] **동일성:** 본원에서 사용되는 용어 "동일성"은 중합체 분자 간, 예를 들어, 핵산 분자(예를 들어, DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 간 및/또는 폴리펩티드 분자 간의 전반적인 관련성을 지칭한다. 일부 구현예에서, 중합체 분자는 이들의 서열이 적어도 서로 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 경우, 서로 "실질적으로 동일한" 것으로 간주된다. 2개의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 동일성 백분율의 계산은, 예를 들어, 최적의 비교 목적을 위해 2개의 서열을 정렬함으로써 수행될 수 있다(예를 들어, 갭은 최적의 정렬을 위해 제1 및 제2 서열 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있고, 비동일 서열은 비교 목적을 위해 무시될 수 있다). 특정 구현예에서, 비교 목적으로 정렬된 서열의 길이는 기준 서열 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 실질적으로 100%이다. 이어서, 서로 상응하는 위치에서의 뉴클레오티드를 비교한다. 제1 서열에서의 위치가 제2 서열에서의 상응하는 위치에서 동일한 잔기(예를 들어, 뉴클레오티드 또는 아미노산)에 의해 점유되는 경우, 분자는 그 위치에서 동일하다. 2개의 서열 간의 동일성 백분율은, 2개의 서열의 최적의 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 및 2개의 서열 간의 동일성 백분율의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 이루어질 수 있다. 예를 들어, 2개의 뉴클레오티드 서열 간의 동일성 백분율은, ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 Meyers와 Miller의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다(CABIOS, 1989, 4: 11-17). 일부 예시적인 구현예에서, ALIGN 프로그램으로 만들어진 핵산 서열 비교는 PAM120 중량 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 사용한다. 대안적으로, 2개의 뉴클레오티드 서열 간의 동일성 백분율은 NWSgapdna.CMP 매트릭스를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다.

[0047] **연결:** 본원에서 사용되는 용어 "연결된"은, 2개 이상의 모이어티에 대해 사용될 경우, 연결이 형성되는 조건 하에서, 바람직하게는 새로운 분자 구조가 사용되는 조건, 예를 들어 생리학적 조건 하에서, 모이어티가 연관된 상태를 유지하도록, 해당 모이어티가 물리적으로 연관되거나 서로 연결되어 충분히 안정적인 분자 구조를 형성하는 상태를 의미한다. 본 발명의 소정의 바람직한 구현예에서, 연결은 공유 결합이다. 다른 구현예에서, 연결은 비공유 결합이다. 모이어티는 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 2개의 모이어티가 직접 연결될 경우, 이들은 서로 공유 결합되거나 충분히 근접하여 2개의 모이어티 간의 분자간 힘이 그들의 연관성을 유지하도록 한다. 2개의 모이어티가 간접적으로 연결될 경우, 이들은 각각 제3 모이어티에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되며, 이는 2개의 모이어티 간의 연관성을 유지한다. 대체적으로, 2개의 모이어티가 "링커" 또는 "연결 모이어티" 또는 "연결 부분"에 의해 연결된 것으로 지칭될 경우, 2개의 연결된 모이어티 사이의 연결은 간접적이며, 통상적으로 연결된 모이어티의 각각은 링커에 공유 결합된다. 링커는 합리적인 수율을 생성하기에 충분한 양으로, (조건에 따라 적절하게 보호될 수 있는) 모이어티의 안정성과 일치하는 조건 하에서 합리적인 기간 내에, 연결될 2개의 모이어티와 반응하는 임의의 적절한 모이어티일 수 있다.

[0048] **마이크로RNA(miRNA):** 본원에서 사용되는 용어 "마이크로RNA" 또는 "miRNA"는 표적 유전자 발현의 전사 및/또는 전사 후 조절에 기능할 수 있는 소형 비암호화 RNA 분자를 지칭한다. 전술한 용어는 성숙한 miRNA 서열, 또는 일차 전사물(pri-miRNA) 및 줄기-루프 전구체(pre-miRNA)를 포함하는 전구체 miRNA 서열을 포함한다. 자연적으로 발생하는 miRNA의 생합성은 RNA 중합효소 II 전사에 의해 핵에서 개시되어, 일차 전사물(pri-miRNA)을 생성한다. 일차 전사물은 드로샤(Drosha) 리보뉴클레아제 III 효소에 의해 절단되어 약 70 nt의 줄기-루프 전구체 miRNA(pre-miRNA)를 생성한다. 이어서, pre-miRNA는 능동적으로 세포질로 내보내어지고, 여기에서 다이서(Dicer) 리보뉴클레아제에 의해 절단되어 성숙한 miRNA를 형성하며, 이는 "안티센스 가닥" 또는 "가이드 가닥" (표적 서열에 실질적으로 상보성인 영역을 포함함) 및 "센스 가닥" 또는 "패신저 가닥" (안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보성인 영역을 포함함)을 포함한다. 당업자는, 가이드 가닥이 표적 RNA의 표적 영역에 대해 완전하게 상보성일 수 있거나, 표적 RNA의 표적 영역에 대해 완전한 상보성 미만일 수 있다는 것을 이해할 것이다. 이러한 miRNA의 가이드 가닥은 miRNA와의 염기 페어링을 통해 표적 mRNA를 인식하는 RNA-유도 침묵 복합체(RISC)에 통합되고, 일반적으로 표적 mRNA의 번역 억제 또는 불안정화를 초래한다. 업계에서 이해되는 바와 같이, 자연적으로 발생하는 miRNA의 경우, 표적 mRNA 인식은 mRNA와의 불완전한 염기 페어링을 통해 발생한다. 일부 구현예에서, miRNA는 합성 또는 조작되고, 표적 mRNA 인식은 mRNA와의 완전한 염기 페어링을 통해 발생한다.

일반적으로, 표적 mRNA는 miRNA의 "시드" 서열에 상보성인 서열을 함유하며, 이는 일반적으로 miRNA의 뉴클레오타이드 2 내지 8에 해당한다. miRNA 및 관련 pri-miRNA 및 pre-miRNA 서열에 관한 정보는, miRNA 데이터베이스, 예컨대 miRBase(Griffith-Jones 등, 2008 Nucl Acids Res 36, (Database Issue: D154-D158)) 및 NCBI 인간 게놈 데이터베이스에서 얻을 수 있다.

[0049] **작동가능하게 연결됨:** 본원에서 사용되는 용어 "작동 가능하게 연결됨"은 기술된 구성 요소가 의도된 방식으로 기능할 수 있게 하는 관계에 있는 병치를 지칭한다. 기능적 요소에 "작동 가능하게 연결됨" 조절 요소는, 기능적 요소의 발현 및/또는 활성이 조절 요소와 호환 가능한 조건 하에서 달성되는 방식으로 연관된다. 일부 구현예에서, "작동 가능하게 연결됨" 조절 요소는 관심 코딩 요소와 인접하고(예를 들어, 공유 연결되고); 일부 구현예에서, 조절 요소는 관심 기능적 요소로의 전이하거나, 이로부터 작용한다.

[0050] **재조합:** 본원에서 사용되는 용어 "재조합"은 재조합 수단에 의해 설계, 조작, 제조, 발현, 생성, 제작 및/또는 단리된 폴리펩티드, 예컨대 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 폴리펩티드; 재조합, 조합 인간 폴리펩티드 라이브러리로부터 단리된 폴리펩티드; 형질전환된 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 양, 어류 등)로부터 단리된 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드 또는 이의 하나 이상의 구성 요소(들), 부분(들), 요소(들), 또는 이의 도메인(들)을 암호화하고/하거나 이의 발현을 유도하는 유전자 또는 유전자들, 또는 유전자의 구성 요소를 발현하도록 조작된 폴리펩티드; 및/또는 선택된 핵산 서열 요소를 서로 스플라이싱 또는 결합하는 단계, 선택된 서열 요소를 화학적으로 합성하는 단계, 및/또는 달리 폴리펩티드 또는 이의 하나 이상의 구성 요소(들), 부분(들), 요소(들), 또는 도메인(들)의 발현을 암호화하고/하거나 유도하는 핵산을 생성하는 단계를 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성되거나 단리된 폴리펩티드를 지칭하는 것으로 의도된다. 일부 구현예에서, 이러한 선택된 서열 요소 중 하나 이상은 자연에서 발견된다. 일부 구현예에서, 이러한 선택된 서열 요소 중 하나 이상은 가상적으로(*in silico*)로 설계된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 이러한 선택된 서열 요소는 알려진 서열 요소의 돌연변이 유발(예를 들어, 생체 내 또는 시험관 내)로부터, 예컨대, 예를 들어 관심 공급원 유기체(예를 들어, 인간, 마우스 등)의 생식선에서와 같은 천연 또는 합성 공급원으로부터 기인한다.

[0051] **RNA 간섭:** 본원에서 사용되는 용어 "RNA 간섭" 또는 "RNAi"는 대체적으로 이중-가닥 RNA 분자 또는 짧은 헤어핀 RNA 분자가 이중-가닥 또는 짧은 헤어핀 RNA 분자가 실질적으로 또는 전체적으로 상동성을 공유하는 핵산 서열의 발현을 감소시키거나 억제하는 방법을 지칭한다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 본래, RNAi 경로는 긴 이중가닥 RNA(dsRNA)를 통상적으로, "짧은 간섭 RNA"("siRNA")로 지칭되는, 2-염기 3' 돌출부를 갖는 21 내지 23개 염기 쌍의 이중 가닥 단편으로 절단하는, 다이서(Dicer)로 알려진 유형 III 엔도뉴클레아제에 의해 (길이 및 돌출부의 변화 또한 고려되지만) 시작되는 것으로 여겨진다. 이러한 siRNA는 표적 서열에 실질적으로 상보성인 영역을 포함하는 "안티센스 가닥" 또는 "가이드 가닥", 및 안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보성인 영역을 포함하는 "센스 가닥" 또는 "패신저 가닥"을 갖는 2개의 단일 가닥 RNA(ssRNA)를 포함한다. 당업자는, 가이드 가닥이 표적 RNA의 표적 영역에 대해 완전하게 상보성일 수 있거나, 표적 RNA의 표적 영역에 대해 완전한 상보성 미만일 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0052] **대상체:** 본원에서 사용되는 용어 "대상체" 또는 "시험 대상체"는 제공된 화합물 또는 조성물이, 예를 들어, 실험, 진단, 예방 및/또는 치료 목적으로 본 발명에 따라 투여되는 임의의 유기체를 지칭한다. 일반적인 대상체는 동물(예를 들어, 마우스, 랫트, 토끼, 비인간 영장류, 및 인간과 같은 포유류; 곤충; 벌레 등) 및 식물을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 질환, 장애 및/또는 병태를 앓고 있고/있거나 이에 취약할 수 있다.

[0053] **실질적으로:** 본원에서 사용되는 용어 "실질적으로"는 관심 특성 또는 성질의 전체 또는 거의 전체 범위 또는 정도를 나타내는 정성적인 조건을 지칭한다. 생물학적 기술 분야의 당업자는 생물학적 및 화학적 현상이 완료되고/되거나 완료 상태로 진행하거나 절대적 결과를 달성하거나 모면하는 경우는 거의 없다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 용어 "실질적으로"는 많은 생물학적 및/또는 화학적 현상에 내재된 완전성의 잠재적인 결여를 포착하기 위해 본원에서 사용된다.

[0054] **~을(를) 앓고 있는:** 질환, 장애 및/또는 병태를 "앓고 있는" 개체는 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상을 진단받았고/받았거나 이를 나타낸다.

[0055] **표적 유전자:** 본원에서 사용되는 "표적 유전자"는 그의 발현이 조절, 예를 들어 억제되어야 하는 유전자를 지칭한다. 본원에서 사용되는 용어 "표적 RNA"는 하나 이상의 miRNA를 사용하여 분해되거나 번역 억제되거나 달리 억제되는 RNA를 지칭한다. 표적 RNA는 또한 표적 서열 또는 표적 전사물로서 지칭될 수 있다. RNA는 표적 유전자로부터 전사된 일차 RNA 전사물(예를 들어, pre-mRNA) 또는 처리된 전사물, 예를 들어 폴리펩티드를 암호화하

는 mRNA일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "표적 부분" 또는 "표적 영역"은 표적 RNA의 뉴클레오타이드 서열의 인접 부분을 지칭한다. 일부 구현예에서, mRNA의 표적 부분은 적어도, 적절한 억제 RNA의 존재 하에 해당 부분 내에서 RNA 간섭(RNAi)-매개 절단을 위한 기질로서 기능하기에 충분히 길다. 표적 부분은 약 8 내지 36개 길이의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 약 10 내지 20개 또는 약 15 내지 30개 길이의 뉴클레오타이드일 수 있다. 표적 부분 길이는 전술한 범위 내의 특정 값 또는 하위 범위를 가질 수 있다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 표적 부분은, 약 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23, 또는 21-22개 뉴클레오타이드 길이 사이일 수 있다.

[0056] **치료제:** 본원에서 사용되는 용어 "치료제"는 대상체에게 투여될 경우, 치료 효과를 가지며/가지거나 원하는 생물학적 및/또는 약리학적 효과를 유도하는 임의의 체제를 지칭한다. 일부 구현예에서, 치료제는 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 완화, 개선, 경감, 억제, 예방, 발병 지연, 중증도 감소, 및/또는 발생을 감소시키는 데 사용될 수 있는 임의의 물질이다.

[0057] **치료적 유효량:** 본원에서 사용되는 용어 "치료적 유효량"은 치료 처방의 일부로서 투여될 경우, 원하는 생물학적 반응을 유도하는 물질(예를 들어, 치료제, 조성물 및/또는 제형)의 양을 의미한다. 일부 구현예에서, 물질의 치료적 유효량은 질환, 장애 및/또는 병태를 앓고 있거나 이에 걸리기 쉬운 대상체에게 투여될 경우, 질환, 장애 및/또는 병태의 치료, 진단, 예방 및/또는 발병을 지연하기에 충분한 양이다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 물질의 유효량은 원하는 생물학적 결과, 전달될 물질, 표적 세포 또는 조직 등과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 질환, 장애 및/또는 병태를 치료하기 위한 제형 내 화합물의 유효량은, 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 징후의 완화, 개선, 경감, 억제, 예방, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발생을 감소시키는 양이다. 일부 구현예에서, 치료적 유효량은 단일 투여량으로 투여되고; 일부 구현예에서, 치료적 유효량을 전달하기 위한 다수의 단위 투여량이 요구된다.

[0058] **치료:** 본원에서 사용되는 용어 "치료"는 치료를 제공하는 것, 즉 대상체의 임의의 유형의 내과적 또는 외과적 관리를 제공하는 것을 지칭한다. 치료는 질환, 장애 또는 병태의 진행을 역전, 완화, 억제시키고, 이의 가능성을 예방 또는 감소시키기 위해, 또는 질환, 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 징후의 진행을 역전, 완화, 억제시키고, 이의 가능성을 예방 또는 감소시키기 위해 제공될 수 있다. "예방"은 질환, 장애, 병태, 또는 이의 증상 또는 징후가 적어도 일부 개체에서 적어도 일정 기간 동안 발생하지 않게 하는 것을 지칭한다. 치료는, 보체 매개 병태를 나타내는 하나 이상의 증상 또는 징후가 발생한 후, 예를 들어 병태의 진행을 역전, 완화, 중증도 감소 및/또는 억제 또는 예방하고/하거나, 병태의 하나 이상의 증상 또는 징후를 역전, 완화, 중증도 감소 및/또는 억제하기 위해 대상체에게 체제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 본 개시의 조성물은 보체-매개 장애가 발생했거나, 일반 인구의 구성원에 비해 이러한 장애를 발달시킬 위험이 증가된 대상체에게 투여될 수 있다. 본 개시의 조성물은 예방적으로, 즉, 병태의 임의의 증상 또는 징후의 발생 전에 투여될 수 있다. 일반적으로, 이러한 경우 대상체는 병태가 발생할 위험에 처해 있다.

[0059] **핵산:** 용어 "핵산"은 임의의 뉴클레오타이드, 이의 유사체, 및 이의 중합체를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 리보뉴클레오타이드(RNA) 또는 데옥시리보뉴클레오타이드(DNA)인, 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 지칭한다. 이들 용어는 분자의 일차 구조를 지칭하며, 따라서 이중- 및 단일-가닥 DNA, 및 이중- 및 단일-가닥 RNA를 포함한다. 이들 용어는, 메틸화, 보호 및/또는 캡핑된 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드와 같지만 이에 한정되지 않는, 뉴클레오타이드 유사체 및 변형된 폴리뉴클레오타이드로부터 만들어진 RNA 또는 DNA의 유사체를 등가물로서 포함한다. 이 용어는 폴리- 또는 올리고-리보뉴클레오타이드(RNA) 및 폴리- 또는 올리고-데옥시리보뉴클레오타이드(DNA); 핵염기 및/또는 변형된 핵염기의 N-글리코시드 또는 C-글리코시드로부터 유래된 RNA 또는 DNA; 당류 및/또는 변형된 당류로부터 유래된 핵산; 및 인산염 브릿지 및/또는 변형된 인-원자 브릿지(본원에서 "뉴클레오타이드간 연결"로도 지칭됨)로부터 유래된 핵산을 포함한다. 이 용어는 핵염기, 변형된 핵염기, 당류, 변형된 당류, 인산염 브릿지 또는 변형된 인 원자 브릿지의 임의의 조합을 함유하는 핵산을 포함한다. 이의 예는, 리보오스 모이어티를 함유하는 핵산, 데옥시-리보오스 모이어티를 함유하는 핵산, 리보오스 및 데옥시리보오스 모이어티 둘 모두를 함유하는 핵산, 리보오스 및 변형된 리보오스 모이어티를 함유하는 핵산을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 점두어 폴리-는 2 내지 약 10,000개, 2 내지 약 50,000개, 또는 2 내지 약 100,000개의 뉴클레오타이드 단량체 단위를 함유하는 핵산을 지칭한다. 일부 구현예에서, 점두어 올리고-는 2 내지 약 200개의 뉴클레오타이드 단량체 단위를 함유하는 핵산을 지칭한다.

[0060] **벡터:** 본원에서 사용되는 용어 "벡터"는 연결된 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 벡터의 일 유형은 "플라스미드"이며, 이는 추가 DNA 분절이 결합될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 또 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이며, 여기에서 추가 DNA 분절은 바이러스 게놈 내에 결합될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자율적으로 복제할 수 있다(예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유류 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포 내로 도입될 때 숙주 세포의 게놈 내로 통합될 수 있고, 이에 따라 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 벡터는 이들이 작동 가능하게 연결되는 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 지칭된다.

[0061] 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성, 및 조직 배양 및 형질전환(예를 들어, 전기천공, 리포펙션)을 위한 표준 기술이 사용될 수 있다. 효소 반응 및 정제 기술은 제조업체의 사양에 따르거나, 당업계에서 통상 달성되거나, 본원에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. 전술한 기술 및 절차는 대체적으로 당업계에 공지된 종래의 방법에 따라, 그리고 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의되는 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참조 문헌에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. 예를 들어, Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (제2판, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))을 참조하며, 이는 어떠한 목적으로든 본원에 참조로서 통합된다.

도면의 간단한 설명

[0062] **도 1**은 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 이중체의 센스 및 안티센스 가닥의 예시적인 변형 패턴 1 내지 5를 개시하는 차트를 도시한다. 도 1에서, "20M"은 2'-O-메틸 변형을 나타내고, "2F"는 2'-플루오로 변형을 나타내며, "PS"는 인접한 3' 뉴클레오타이드와의 포스포로티오에이트 결합을 나타낸다.

도 2는 약 800 내지 약 1100의 n 및 약 40 kD의 PEG를 가정할 경우의 페그세타코플란("APL-2")의 구조를 도시한다.

도 3은 비인간 영장류를 대상으로 한 생체 내 연구의 결과를 나타낸다. 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 또는 비히클의 투여량으로 siRNA 58을 피하 주사로 투여하였다. 그래프는 각 군에 대해 투여 후 최대 67일 동안의 혈청 C3 단백질의 수준에 대한 시간에 따른 변화를 도시한다. ELISA 검정을 사용하여 혈청 내 C3 단백질의 수준을 측정하였다. -1일차의 값을 베이스라인으로서 사용하였다.

도 4는 비인간 영장류를 대상으로 한 생체 내 연구의 데이터를 나타낸다. 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 또는 비히클의 투여량으로 siRNA 58을 피하 주사로 투여하였다. 그래프는 주사 후 15일차에 비인간 영장류로부터 채취한 간 생검에서의 C3 mRNA 발현을 도시한다. 정량적 PCR 검정을 사용하여 샘플의 C3 mRNA의 수준을 측정하였다. 이들 실험에서, C3 mRNA 수준을 ActB mRNA 수준으로 정규화하였다.

도 5는 비인간 영장류를 대상으로 한 생체 내 연구의 데이터를 나타낸다. 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 또는 비히클의 투여량으로 siRNA 58을 피하 주사로 투여하였다. 그래프는 주사 후 46일차에 비인간 영장류로부터 채취한 간 생검에서의 C3 mRNA 발현을 도시한다. 정량적 PCR 검정을 사용하여 샘플의 C3 mRNA의 수준을 측정하였다. 이들 실험에서, C3 mRNA 수준을 ActB mRNA 수준으로 정규화하였다.

도 6은 시간 경과에 따른, 29일차까지 채취된 다양한 용량의 siRNA 58(3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 또는 비히클)을 주사한 비인간 영장류로부터의 혈청 내 대체 경로(AH50) 활성의 수준을 나타낸다. ELISA 검정을 사용하여 대체 경로 활성(AH50)을 결정하였다. -1일차의 값을 베이스라인으로서 사용하였다.

도 7은 siRNA 59를 단일 볼루스(A) 또는 3x 일일 볼루스(B)로 피하 투여한 후 혈장 C3 농도의 베이스라인 대비 백분율 변화를 도시한다. 0으로 표시된 값은 검정의 LLOQ 미만이었다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM(n = 3)을 나타낸다.

도 8은, ELISA(광학 밀도 측정; OD)를 사용하여 가용성 C5b-9 복합체를 검출하고 정량화하여, 비히클(A), siRNA (-) 대조군(B) 3 mg/kg의 siRNA 59(C), 10 mg/kg의 siRNA 59(D), 및 30 mg/kg의 siRNA 59(E)로 피하 치료한 동물 혈청에서의 대체 경로 활성을 측정된 결과를 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM(n = 3)을 나타낸다.

도 9는 siRNA 59의 단일 투여(A 및 B) 또는 3회의 일일 투여(C) 후, 3일차(A) 및 30일차(B 및 C)에서의 간 조직 중 C3 mRNA의 수준을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM(n = 3)을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] **I. 보체계**

[0064] 본 개시의 이해를 용이하게 하기 위해, 그리고 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하려는 의도 없이, 본 섹션은 보체 및 이의 활성화 경로에 대한 이해를 제공한다. 추가 세부 사항은, 예를 들어, Kuby Immunology, 제6판, 2006; Paul, W.E., Fundamental Immunology, Lippincott Williams & Wilkins; 제6판, 2008; 및 Walport MJ., Complement. First of two parts. N Engl J Med., 344(14):1058-66, 2001에서 찾을 수 있다.

[0065] 보체는 감염원으로부터 신체를 보호하는 데 중요한 역할을 하는 선천적 면역계의 한 부분이다. 보체계는 고전적 경로, 대체 경로, 및 력틴 경로로 알려진 3개의 주요 경로에 관여하는 30개 이상의 혈청 및 세포 단백질을 포함한다. 고전적인 경로는 일반적으로 항원과 IgM 또는 IgG 항체의 복합체가 C1에 결합함으로써 촉발된다(그러나 소정의 다른 활성화인자도 또한 경로를 개시할 수 있음). 활성화된 C1은 C4 및 C2를 절단하여, C4a 및 C4b, 및 C2a 및 C2b를 생성한다. C4b 및 C2a는 결합하여 C3 전환효소를 형성하고, 이는 C3를 절단하여 C3a 및 C3b를 형성한다. C3에 전환효소에 대한 C3b의 결합은 C5 전환효소를 생성하며, 이는 C5를 C5a 및 C5b로 절단한다. C3a, C4a, 및 C5a는 아나필로독소이고 이는 급성 염증 반응에서 다수의 반응을 매개한다. C3a 및 C5a는 또한 호중구와 같은 면역계 세포를 유인하는 화학주성(chemotactic) 인자이다. 초기에 사용된 "C2a" 및 "C2b"라는 명칭은 후속적으로 과학 문헌에서 반전된 것으로 이해될 것이다.

[0066] 대안 경로는, 예를 들어, 미생물 표면 및 다양한 복합체 다당류에 의해 개시되고 증폭된다. 이러한 경로에서, 낮은 수준으로 자연적으로 발생하는 C3에서 C3(H₂O)으로의 가수분해는, 인자 D에 의해 절단되는 인자 B의 결합으로 이어지고, 이는 C3을 C3a 및 C3b로 절단함으로써 보체를 활성화시키는 유체 상 C3 전환효소를 생성한다. C3b는 세포 표면과 같은 표적에 결합하여 인자 B와 복합체를 형성하고, 이는 나중에 인자 D에 의해 절단되어 C3 전환효소를 생성한다. 표면-결합된 C3 전환효소는 추가 C3 분자를 절단하고 활성화시켜, 활성화 부위에 매우 근접하여 신속한 C3b 침착을 초래하고, 추가 C3 전환효소의 형성을 초래하며, 이는 결국 추가 C3b를 생성한다. 이러한 과정은 반응을 유의미하게 증폭시키는 C3 절단 및 C3 전환효소 형성의 사이클을 초래한다. C3의 절단 및 C3 전환효소에 대한 C3b의 또 다른 분자의 결합은 C5 전환효소를 생성한다. 이 경로의 C3 및 C5 전환효소는 세포 분자 CR1, DAF, MCP, CD59 및 fH에 의해 조절된다. 이들 단백질의 작용 모드는 쇄되 가속 활성화(즉, 전환효소를 해리하는 능력), 인자 I에 의한 C3b 또는 C4b의 분해에서 보조 인자로서 작용하는 능력, 또는 둘 모두를 포함한다. 일반적으로, 세포 표면 상의 보체 조절 단백질의 존재는 유의미한 보체 활성화가 그 위에 발생하는 것을 방지한다.

[0067] 두 경로 모두에서 생성된 C5 전환효소는 C5를 절단하여 C5a 및 C5b를 생성한다. 이어서, C5b는 C6, C7, 및 C8에 결합하여 C5b-8을 형성하고, 이는 C9의 중합을 촉매하여 C5b-9 막 공격 복합체(MAC)를 형성한다. MAC는 자체적으로 표적 세포막 내에 삽입되어 세포 용해를 유발한다. 세포막 상의 소량의 MAC는 세포 사멸 이외의 다양한 결과를 유발할 수 있다.

[0068] 력틴 보체 경로는 만노오스 결합 력틴(MBL) 및 MBL 연관 세린 프로테아제(MASP)의 탄수화물에 대한 결합에 의해 개시된다. MB1-1 유전자(인간에서 LMAN-1로 알려짐)는 소포체와 골지(Golgi) 간의 중간 영역에 국소화된 유형 I 통합 막 단백질을 암호화한다. MBL-2 유전자는 혈청에서 발견되는 가용성 만노오스-결합 단백질을 암호화한다. 인간 력틴 경로에서, MASP-1 및 MASP-2는 C4 및 C2의 단백질 분해에 관여하여, 전술한 C3 전환효소를 유도한다.

[0069] 보체 활성화는 보체 조절 단백질(CCP) 또는 보체 활성화(RCA) 단백질의 조절자로서 지칭되는 다양한 포유류 단백질에 의해 조절된다(미국 특허 제6,897,290호 참조). 이들 단백질은 리간드 특이성 및 보체 억제 메커니즘(들)과 관련하여 서로 상이하다. 이들은, C3b 및/또는 C4b를 보다 작은 단편으로 효소적으로 절단하기 위해, 전환효소의 정상적인 붕괴 및/또는 인자 I에 대한 보조 인자로서의 기능을 가속시킬 수 있다. CCP는 짧은 컨센서스 반복체(SCR), 보체 조절 단백질(CCP) 모듈, 또는 4개의 이황화 결합된 시스테인(2개의 이황화 결합), 프롤린, 트립토판, 및 다수의 소수성 잔기를 포함하는 보존된 모티프를 함유하는 약 50 내지 70개의 아미노산 길이인, SUSHI 도메인으로 알려진 다수의 (통상적으로 4 내지 56개의) 상동성 모티프의 존재를 특징으로 한다. CCP 계열은 보체 수용체 유형 1(CR1; C3b:C4b 수용체), 보체 수용체 유형 2(CR2), 막 보조 인자 단백질(MCP; CD46), 붕괴 가속 인자(DAF), 보체 인자 H(fH), 및 C4b-결합 단백질(C4bp)을 포함한다. CD59는 CCP와 구조적으로 무관한 막 결합 보체 조절 단백질이다. 보체 조절 단백질은 일반적으로 포유류, 예를 들어, 인간 숙주의 세포 및 조직에서 달리 발생할 수 있는 보체 활성화를 제한하는 역할을 한다. 따라서, "자체" 세포는 정상적으로는, 그렇지 않았다면 보체 활성화가 이들 세포 상에서 진행하게 될 유해한 효과로부터 보호된다. 보체 조절 단백질(들)의 결핍 또는 결함은, 예를 들어, 본원에서 논의된 바와 같이, 다양한 보체 매개 장애의 발병기전에 관여한다.

E 1

서열번호	표적 서열(5'에서 3')
76	UCAACUCACCUGAAUAA
77	AGGAUGCCACUAUGUCUA
78	CUUGAAGCCAAUCACAUG
79	UCCAAGCCUUGGCUCAAU
80	AGUCAAGGUCUACGCCUA
81	AAACUGUGGCUGUUCGCA
82	UGAGAUCUGUACCAGGUA
83	CUUUGUUCUCAUCUCGCU
84	AUCGGAUCUUCACCGUCA
85	UCAACUUCUCCUGCGAA
86	CGUGCUGCCCAGUUUCGA
87	AUAGGAACACCCUCAUCA
88	UGGUCAGGUCUUCUCUC
89	GCAACUCCAACAATUACC

90	CCUUUGUCAUCUUCGGGA
91	CAAUGACUUUGACGAGUA
92	ACGACUCCCAGGCAAAA
93	GAACAGAGAUACUACGGU
94	GUUUCGAGGUCAUAGUGG
95	AAUGAACAGAGAUACUAC
96	AGCUAAAAGACUUUGACU
97	CCAACUACAUGAACCUAC
98	CUACUCUGUUGUUCGAAA
99	GUGCGUUGGCUCAAUGAA
100	CUCCUGCGAAUGGACCGC

[0077] 억제 RNA의 투여는, 대상체, 또는 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액, 혈청 또는 혈장 샘플, 또는 간세포를 포함하는 샘플)에서의 C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준을 조성물이 투여되기 전의 수준 대비 감소시킨다. 일부 구현예에서, C3 전사물 또는 C3 단백질의 수준은 투여 전 수준에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 적어도 90%만큼 감소된다. C3 단백질의 수준은, 예를 들어, 혈액(혈청 또는 혈장) 샘플에서 측정될 수 있다.

[0078] III. 마이크로RNA

[0079] 본 개시는 또한 마이크로RNA이거나, 이를 포함하거나, 이를 암호화하는 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드와 관련된 조성물 및 방법을 포함한다. 마이크로RNA(miRNA)는 식물 및 동물의 게놈에서 DNA로부터 전사되지만 단백질로 번역되지 않는 고도로 보존된 부류의 소형 RNA 분자이다. 자연적으로 발생하는 miRNA는 먼저 긴 헤어핀-함유 일차 전사물(pri-miRNA)로서 전사된다. 일차 전사물은 드로샤(Drosha) 리보뉴클레아제 III 효소에 의해 절단되어 대략 70 nt 줄기 루프 전구체 miRNA(pre-miRNA)를 생성하고, 이는 "안티센스 가닥" 또는 "가이드 가닥"(표적 서열에 실질적으로 상보적인 영역을 포함함) 및 "센스 가닥" 또는 "패신저 가닥"(안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 포함함)을 포함한다. 이어서, pre-miRNA는 세포질로 능동적으로 내보내어지고, 여기에서 이는 다이서 리보뉴클레아제에 의해 절단되어 성숙한 miRNA를 형성한다. 처리된 마이크로RNA를 RNA-유도 침묵 복합체(RISC)에 혼입하여, 표적 mRNA 분해 및/또는 번역 억제를 유도하는 성숙한 유전자 침묵 복합체를 형성한다. 현재까지 식별된 miRNA 서열의 수는 매우 크고 증가하고 있으며, 예시적인 예는, 예를 들어, "miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature" Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. NAR, 2006, 34, Database Issue, D140-D144; "The microRNA Registry" Griffiths-Jones S. NAR, 2004, 32, Database Issue, D109-D111에서 찾을 수 있다.

[0080] 일부 구현예에서, miRNA는 예를 들어, 치료 목적으로 대상체에게 합성되고 국소 투여되거나 전신 투여될 수 있다. miRNA는 성숙한 분자 또는 전구체(예를 들어, pri- 또는 pre-miRNA)로서 설계되고/되거나 합성될 수 있다. 일부 구현예에서, pre-miRNA는 가이드 가닥 및 동일한 길이(예를 들어, 약 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 뉴클레오타이드 길이)의 패신저 가닥을 포함한다. 일부 구현예에서, pre-miRNA는 가이드 가닥 및 상이한 길이인 패신저 가닥을 포함한다(예를 들어, 하나의 가닥은 약 19개 뉴클레오타이드 길이이고, 다른 하나는 약 21개 뉴클레오타이드 길이임). 일부 구현예에서, miRNA는 내인성 mRNA의 코딩 영역, 5' 미번역 영역, 및/또는 3' 미번역 영역을 표적화할 수 있다. 일부 구현예에서, miRNA는 내인성 mRNA와 혼성화하고 이의 발현을 억제하기 위해 대상체의 내인성 mRNA와 상보적인 충분한 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 가이드 가닥을 포함한다.

[0081] 일부 구현예에서, miRNA는 서열번호 75(예를 들어, 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나)의 적어도 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 30개의 연속적인 뉴클레오타이드에 완전히 상보적인 영역을 포함하는 핵산 가닥을 포함한다. 일부 구현예에서, miRNA는 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 표적 부분에 완전히 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 갖는 성숙한 가이드 가닥을 포함한다.[0001]

[0082] IV. siRNA

[0083] 일부 구현예에서, 억제 RNA는 이중 가닥 RNA(dsRNA)이고, RNA 간섭(RNAi)에 의해 C3 발현을 억제한다. RNAi는

서열 특이적 전사후 유전자 침묵의 과정이며, 이에 의해, 예를 들어 표적 유전자좌에 상동인 이중 가닥 RNA(dsRNA)는 유전자 기능을 특이적으로 불활성화할 수 있다(Hammond 등, Nature Genet. 2001; 2:110-119; Sharp, Genes Dev. 1999; 13:139-141). 이러한 dsRNA-유도 유전자 침묵화는 리보뉴클레아제 III 절단에 의해 보다 긴 dsRNA로부터 생성된 짧은 이중-가닥 소형 간섭 RNA(siRNA)에 의해 매개될 수 있다(Bernstein 등, Nature 2001; 409:363-366 and Elbashir 등, Genes Dev. 2001; 15:188-200). RNAi-매개 유전자 침묵화는 서열-특이적 RNA 분해를 통해 발생하는 것으로 여겨지며, 여기에서 서열 특이성은 siRNA와 이의 표적 RNA 내의 상보성 서열의 상호작용에 의해 결정된다(예를 들어, Tuschl, Chem. Biochem. 2001; 2:239-245 참조). RNAi는, 예를 들어, siRNA(Elbashir 등, Nature 2001; 411: 494-498) 또는 폴드 백 줄기-루프 구조를 갖는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)(Paddison 등, Genes Dev. 2002; 16: 948-958; Sui 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99:5515-5520; Brummelkamp 등, Science 2002; 296:550-553; Paul 등, Nature Biotechnol. 2002; 20:505-508)의 사용을 포함할 수 있다.

[0084] 본 개시는 C3 전사물을 표적화하는 siRNA 분자, 예를 들어, C3 mRNA(서열번호 75)를 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA 분자는 서열번호 76 내지 100 중 어느 하나를 포함하는 표적 영역에 상보상인 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, siRNA 분자는, (i) 서열번호 76 내지 100(또는 이의 일부) 중 어느 하나와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열 및/또는 (ii) 서열번호 76 내지 100(또는 이의 일부) 중 어느 하나와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열에 상보성인 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0085] 일부 구현예에서, 본 개시의 siRNA는 어닐링된 상보성 단일 가닥 핵산 분자를 포함하는 (예를 들어, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 또는 27 염기 쌍의) 이중 가닥 핵산 이중체이다. 일부 구현예에서, siRNA는 어닐링된 상보성 단일 가닥 RNA를 포함하는 짧은 dsRNA이다. 일부 구현예에서, siRNA는 어닐링된 RNA:DNA 이중체를 포함하되, 이중체의 센스 가닥은 DNA 분자이고 이중체의 안티센스 가닥은 RNA 분자이다. 일부 구현예에서, siRNA는 서열번호 76 내지 100(또는 이의 일부) 중 어느 하나와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 갖는 센스 가닥을 포함한다.

[0086] 일부 구현예에서, siRNA는 다음의 표 2의 서열번호 101 내지 125 중 어느 하나와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다.

표 2

[0087]

서열번호	안티센스 서열(5'에서 3')
101	UUAUUACAGGUGAGUUGA
102	UAGACAUAGUGGCAUCCU
103	CAUGUAGUUGGCUUCAAG
104	AUUGAGCCAAGGCUUGGA
105	UAGGCGUAGACCUUGACU
106	UGCGAACAGCCACAGUUU
107	UACCUGGUACAGAUUCA
108	AGCGAGAUGAGAACAAAG
109	UGACGGUGAAGAUCCGAU
110	UUCGCAGGAGGAAGUUGA
111	UCGAAACUGGGCAGCACG
112	UGAUGAGGGUGUCCUAU
113	GAGAGAAGACCUUGACCA
114	GGUAAUUGUUGGAGUUGC
115	UCCCGAAGAUGACAAAGG
116	UACUCGUCAAAGUCAUUG
117	UUUUGCCUGGGAAGUCGU
118	ACCGUAGUAUCUCUGUUC
119	CCACUAUGACCUCGAAAC
120	GUAGUAUCUCUGUUCAUU
121	AGUCAAGUCUUUAGCU
122	GUAGGUUCAUGUAGUUGG
123	UUUCGAACAACAGAGUAG
124	UUCAUUGAGCCAACGCAC
125	GCGGUCCAUUCGAGGAG

[0088] 일부 구현예에서, siRNA는 이중체, 또는 이의 조합 내에 표적과의 불일치(들)을 포함한다. 불일치는 돌출 영역 및/또는 이중체 부분에서 발생할 수 있다. 염기 쌍은 해리 또는 용융을 촉진하는 그들의 성향에 기초하여 순위가 매겨질 수 있다(예를 들어, 특정 쌍의 결합 또는 해리의 자유 에너지에 기초하여, 가장 간단한 접근법은 개별적인 쌍을 기준으로 쌍을 검사하는 것이지만, 그의 다음 이웃 또는 유사한 분석이 사용될 수도 있다). 해리 촉진의 측면에서, A:U는 G:C보다 바람직하고; G:U는 G:C보다 바람직하며; I:C는 G:C(I=이노신)보다 바람직하다.

[0089] 일부 구현예에서, siRNA는 A:U, G:U, I:C, 및 불일치 쌍의 군으로부터 독립적으로 선택되는 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 이중체 부분 내에 처음 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 염기 쌍 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 이중체 부분 내의 1 위치에서의 뉴클레오티드는 A, dA, dU, U, 및 dT로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가적으로 또는 대안적으로, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 이중체 부분 내의 처음 1, 2 또는 3개의 염기 쌍 중 적어도 하나는 AU 염기 쌍이다. 예를 들어, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 이중체 부분 내의 처음 염기 쌍은 AU 염기 쌍이다.

[0090] 일부 구현예에서, 센스 가닥은 표적 서열과 동일하지 않은 3' 및/또는 5' 말단 상에 하나 이상의 (예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 뉴클레오티드를 포함할 수 있고/있거나, 안티센스 가닥은 표적 서열에 상보성이 아닌 3' 및/또는 5' 말단 상에 하나 이상의 (예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개의) 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 다음의 표 3에 열거된 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다. 표 3의 서열은 3' 말단에 아데닌(A) 뉴클레오티드를 함유하고, 이는 서열의 일부에서 표적 서열에 대해 상보성이다 (예를 들어, 표적 서열의 다음의 연속적인 뉴클레오티드에 대해 상보성이다). 표 3의 일부 서열에서, 3' 말단의 아데닌(A) 뉴클레오티드는 표적 서열에 대해 상보성이 아니다(예를 들어, 표적 서열의 다음의 연속적인 뉴클레오티드에 대해 상보성이 아니다).

표 3

[0091]

서열번호	센스 서열(5'에서 3')
126	UCAACUCACCGUAAUAAA
127	AGGAUGCCACUAUGUCUAA
128	CUUGAAGCCAACUACAUGA
129	UCCAAGCCUUGGCUCAAUA
130	AGUCAAGGUCUACGCCUAA
131	AAACUGUGGCUGUUCGCAA
132	UGAGAUCUGUACCAGGUAA
133	CUUUGUUCUACUCUCGUA
134	AUCGGAUCUACCGUCUAA
135	UCAACUCCUCCUGCGAAA
136	CGUGCUGCCCAGUUCGAA
137	AUAGGAACACCCUCAUCAA
138	UGGUAAGGUCUUCUCUCA
139	GCAACUCCAACAAUACCA
140	CCUUGUCAUCUUCGGGAA
141	CAAUGACUUUGACGAGUAA
142	ACGACUCCCAGGCAAAAA
143	GAACAGAGAUACUACGGUA
144	GUUUCGAGGUCAUAGUGGA
145	AAUGAACAGAGAUACUACA
146	AGCUAAAAGACUUUGACUA
147	CCAACUACAUGAACCUACA
148	CUACUCUGUUGUUCGAAAA
149	GUGCGUUGGCUCAAUGAAA
150	CUCCUGCGAAUGGACCGCA

[0092] 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 양 단부에 봉투한 단부를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 적어도 하나의 돌출 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 이중체의 센스 및/또는 안티센스 가닥 상에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오티드 3' 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중체화된

siRNA는 이중체의 센스 및/또는 안티센스 가닥 상에 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오타이드 5' 돌출부를 포함한다.

[0093] 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 C3 mRNA 전사물(서열번호 75)에 상보성인 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함하는 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 C3 mRNA 전사물(서열번호 75)에 상보성인 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오타이드를 포함하는 돌출부를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 서열번호 300 내지 324 중 어느 하나의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

표 4

[0094]

서열번호	안티센스 서열(5'에서 3')
300	UUUAAUACAGGUGAGUUGAUC
301	UUAGACAUAGUGGCAUCCUGG
302	UCAUGUAGUUGGCUUCAAGGA
303	UAUUGAGCCAAGGCUUGGAAC
304	UUAGCGUAGACCUUGACUGC
305	UUGCGAACAGCCACAGUUUUG
306	UUACCGGUACAGAUUCAAG
307	UAGCGAGAUAGAAACAAAGGC
308	UUGACGGUGAAGAUCCGAUAG
309	UUUCGAGGAGGAAGUUGACG
310	UUCGAAACUGGGCAGCACGUA
311	UUGAUGAGGGUGUCCUAUCG
312	UGAGAGAAGACCUUGACCACG
313	UGGUAAUUGUUGGAGUUGCCC
314	UUCCGAAGAUGACAAAGGCA
315	UUACUCGUCAAAGUCAUUGGA
316	UUUUUGCCUGGGAAGUCGUGG
317	UACCGUAGUAUCUCUGUUCAU
318	UCCACUAUGACCUCGAAACUG
319	UGUAGUAUCUCUGUUCAUUGA
320	UAGUCAAGUCUUUAGCUGC
321	UGUAGGUUCAUGUAGUUGGCU
322	UUUUCGAACAACAGAGUAGGG
323	UUUCAUUGAGCCAACGCACGA
324	UGCGGUCCAUUCGCAGGAGGA

[0095] 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 서열번호 300 내지 324 중 어느 하나의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하지만, 5' 말단에 "U"가 결여된다.

[0096] 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 C3 mRNA 전사물(서열번호 75)에 상보성이 아닌 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함하는 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 C3 mRNA 전사물(서열번호 75)에 상보성이 아닌 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 뉴클레오타이드를 포함하는 돌출부를 포함한다. 일례에서, 돌출부는 1, 2 또는 3개의 우라실 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 및/또는 센스 가닥 상에 3' 돌출부를 포함한다. 일례에서, 돌출부는 1, 2 또는 3개의 아데닌 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 및/또는 센스 가닥 상에 3' 돌출부를 포함한다.

[0097] 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 다음의 표 5에 열거된 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

표 5

[0098]

서열번호	안티센스 서열(5'에서 3')
151	UUUAAUACAGGUGAGUUGAUU
152	UAGACAUAGUGGCAUCCUUU
153	CAUGUAGUUGGCUUCAAGUU
154	AUUGAGCCAAGGCUUGGAUU
155	UAGGCGUAGACCUUGACUUU
156	UGCGAACAGCCACAGUUUUU
157	UACCGGUACAGAUUCAUU

158	AGCGAGAUGAGAACAAAGUU
159	UGACGGUGAAGAUCCGAUUU
160	UUCGCAGGAGGAAGUUGAUU
161	UCGAAACUGGGCAGCACGUU
162	UGAUGAGGGUGUCCUAUUU
163	GAGAGAAGACCUUGACCAUU
164	GGUAAUUGUUGGAGUUGCUU
165	UCCGAAGAUGACAAAGGUU
166	UACUCGUCAAAGUCAUUGUU
167	UUUUGCCUGGGAAGUCGUUU
168	ACCGUAGUAUCUCUGUUCUU
169	CCACUAUGACCUCGAAACUU
170	GUAGUAUCUCUGUUCAUUUU
171	AGUCAAGUCUUUAGCUUU
172	GUAGGUUCAUGUAGUUGGUU
173	UUUCGAACAACAGAGUAGUU
174	UUCAUUGAGCCAACGCACUU
175	GCGGUCCAUUCGCAGGAGUU

[0099] 일부 구현예에서, 이중체화된 siRNA는 다음의 표 6에 열거된 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

표 6

[0100]

서열번호	안티센스 서열(5'에서 3')
176	UUUAAUACAGGUGAGUUGAUU
177	UUAGACAUAGUGGCAUCCUUU
178	UCAUGUAGUUGGCUUCAAGUU
179	UAUUGAGCCAAGGCUUGGAUU
180	UUAGGCGUAGACCUUGACUUU
181	UUGCGAACAGCCACAGUUUUU
182	UUACCGGUACAGAUUCUAAU
183	UAGCGAGAUAGAACAAAGUU
184	UUGACGGUGAAGAUCCGAUUU
185	UUUCGCAGGAGGAAGUUGAUU
186	UUCGAAACUGGGCAGCACGUU
187	UUGAUGAGGGUGUCCUAUUU
188	UGAGAGAAGACCUUGACCAUU
189	UGGUAAUUGUUGGAGUUGCUU
190	UUCGGAAGAUGACAAAGGUU
191	UUACUCGUCAAAGUCAUUGUU
192	UUUUGCCUGGGAAGUCGUUU
193	UACCGUAGUAUCUCUGUUCUU
194	UCCACUAUGACCUCGAAACUU
195	UGUAGUAUCUCUGUUCAUUUU
196	UAGUCAAGUCUUUAGCUUU
197	UGUAGGUUCAUGUAGUUGGUU
198	UUUUCGAACAACAGAGUAGUU
199	UUUCAUUGAGCCAACGCACUU
200	UGCGGUCCAUUCGCAGGAGUU

[0101] 일부 구현예에서, siRNA는 (예를 들어, 센스 가닥의 일 단부 또는 양 단부 상에 및/또는 안티센스 가닥의 일 단부 또는 양 단부 상에) 5'-인산염 및/또는 3'-히드록실 기를 포함하고/하거나 본원에 기술된 하나 이상의 추가 변형을 포함할 수 있다.

[0102] **V. 변형**

[0103] 일부 구현예에서, 본 개시의 억제 RNA(예를 들어, siRNA 또는 miRNA)는 천연 핵염기 및/또는 천연 핵염기로부터

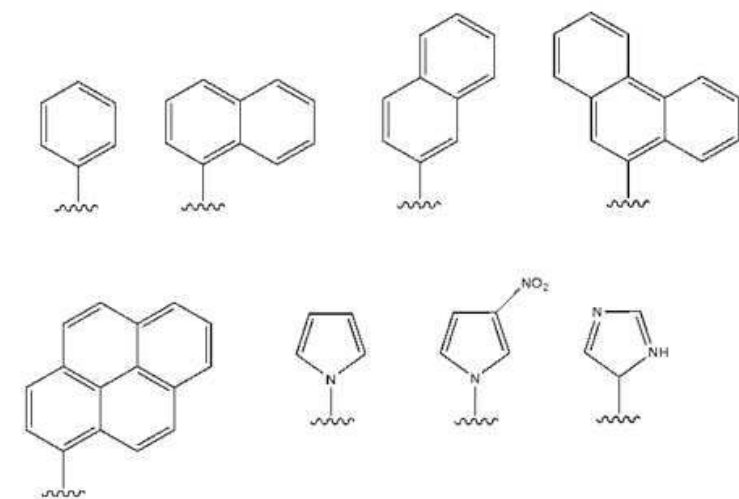
유래된 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함한다. 예로는, 아실 보호기, 2-플루오로우라실, 2-플루오로시토신, 5-브로모우라실, 5-요오드우라실, 2,6-디아미노퓨린, 아자시토신, 슈도이소시토신 및 슈도우라실과 같은 피리미딘 유사체 및 다른 변형된 핵염기, 예컨대 8-치환된 퓨린, 크산틴 또는 하이포크산틴(두 개의 후자는 자연 분해 산물임)에 의해 보호되는 각각의 아미노 군을 갖는 우라실, 티민, 아데닌, 시토신 및 구아닌을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예시적인 변형된 핵염기는, Chiu 및 Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048, Limbach 등, Nucleic Acids Research, 1994, 22, 2183-2196, 및 Revankar 및 Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, vol. 7, 313에 기술되어 있다.

[0104]

변형된 핵염기는 또한 페닐 고리와 같은 하나 이상의 아릴 고리가 첨가된 확장된 크기의 핵염기를 포함한다. Glen Research catalog(www.glenresearch.com); Krueger AT 등, Acc. Chem. Res., 2007, 40, 141-150; Kool, ET, Acc. Chem. Res., 2002, 35, 936-943; Benner S.A. 등, Nat. Rev. Genet., 2005, 6, 553-543; Romesberg, F.E. 등, Curr. Opin. Chem. Biol., 2003, 7, 723-733; Hirao, I., Curr. Opin. Chem. Biol., 2006, 10, 622-627에 기술된 핵염기 대체는 본원에 기술된 siRNA 분자에 유용한 것으로 고려된다. 변형된 핵염기는 또한 핵염기로 간주되지 않지만, 코린- 또는 포르피린-유래 고리와 같지만, 이에 한정되지 않는 다른 모이어티인 구조를 포함한다. 포르피린-유래 염기 대체는 Morales-Rojas, H 및 Kool, ET, Org. Lett., 2002, 4, 4377-4380에 기술되어 있다.

[0105]

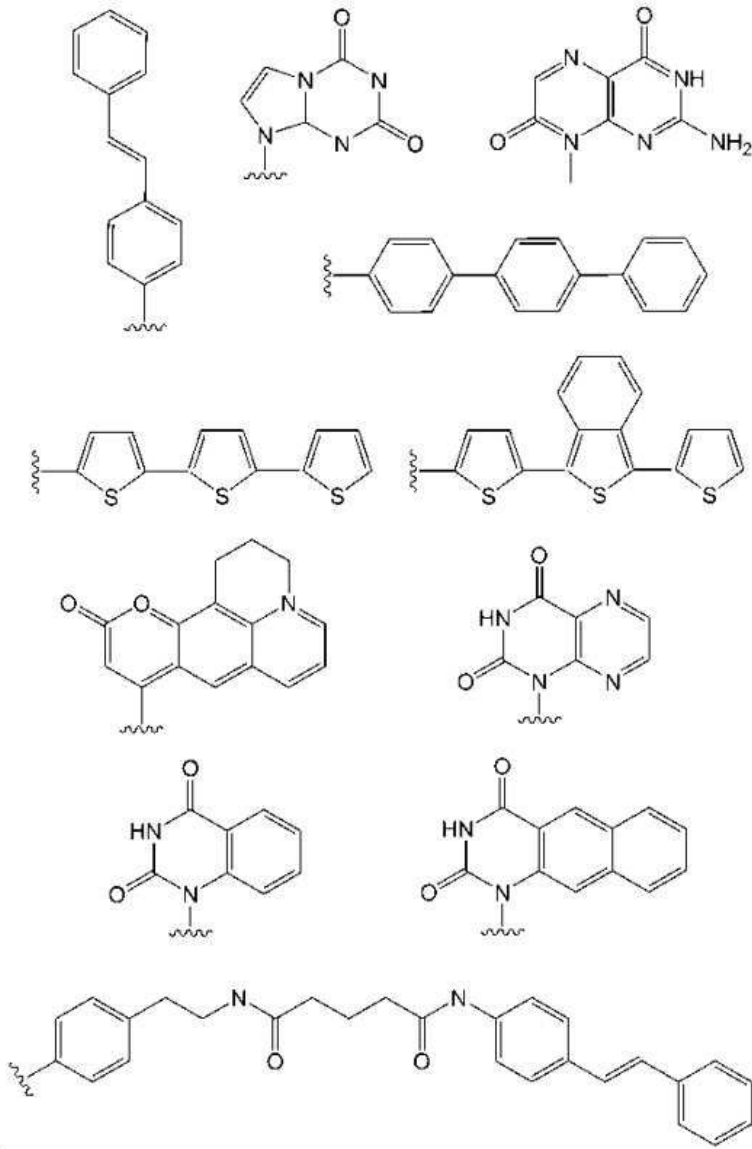
일부 구현예에서, 변형된 핵염기는 선택적으로 치환된 다음 구조식 중 어느 하나이다:



[0106]

[0107]

일부 구현예에서, 변형된 핵염기는 형광성이다. 예시적인 이러한 형광 변형된 핵염기는 아래에 나타낸 바와 같이, 페난트렌, 피렌, 스틸벤, 이소산틴, 이소잔토프테린, 테르페닐, 테르티오펜, 벤조테르티오펜, 쿠마린, 루마진, 테더링된 스틸벤, 벤조-우라실, 및 나프토-우라실을 포함한다:



[0108]

[0109]

일부 구현예에서, 변형된 핵염기는 치환되지 않는다. 일부 구현예에서, 변형된 핵염기는 치환된다. 일부 구현예에서, 변형된 핵염기는, 예를 들어, 형광 모이어티, 비오틴 또는 아비딘 모이어티, 또는 다른 단백질 또는 펩티드에 연결된 헤테로원자, 알킬기, 또는 연결 모이어티를 함유하도록 치환된다. 일부 구현예에서, 변형된 핵염기는 가장 고전적인 의미에서 핵염기가 아니지만 핵염기와 유사하게 기능하는 "범용 염기"이다. 이러한 범용 염기의 대표적인 일례는 3-니트로피콜이다.

[0110]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 siRNA는 변형된 당류에 공유 결합된 변형된 핵염기 및/또는 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드를 포함한다. 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드의 일부 예는, 4-아세틸시티딘; 5-(카르복시히드록실메틸)우리딘; 2'-O-메틸시티딘; 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘; 5-카르복시메틸아미노메틸우리딘; 디히드로우리딘; 2'-O-메틸슈도우리딘; 베타,D-가락토실퀴오신; 2'-O-메틸구아노신; N⁶-이소펜테닐아데노신; 1-메틸아데노신; 1-메틸슈도이리딘; 1-메틸구아노신; 1-메틸이노신; 2,2-디메틸구아노신; 2-메틸아데노신; 2-메틸구아노신; N⁷-메틸구아노신; 3-메틸-시티딘; 5-메틸시티딘; 5-히드록시메틸시티딘; 5-포르밀시토신; 5-카르복실시토신; N⁶-메틸아데노신; 7-메틸구아노신; 5-메틸아미노메틸우리딘; 5-메톡시아미노메틸-2-티오우리딘; 베타,D-만노실퀴오신; 5-메톡시카르보닐메틸우리딘; 5-메톡시우리딘; 2-메틸티오-N⁶-이소펜테닐아데노신; N-((9-베타,D-리보푸라노실-2-메틸티오피린-6-일)카르바모일)트레오닌; N-((9-베타,D-리보푸라노실푸린-6-일)-N-메틸카르바모일)트레오닌; 우리딘-5-옥시아세트산 메틸에스테르; 우리딘-5-옥시아세트산(v); 슈도우리딘; 퀴오신; 2-티오시티딘; 5-메틸-2-티오우리딘; 2-티오우리딘; 4-티오우리딘; 5-메틸우리딘; 2'-O-메틸-5-메틸우리딘; 및 2'-O-메틸우리딘을 포함한다.

- [0111] 일부 구현예에서, 뉴클레오시드는 6'-위치에서 (R) 또는 (S)-키랄리티를 갖는 6'-변형된 이환 뉴클레오시드 유사체를 포함하고, 미국 특허 제7,399,845호에 기술된 유사체를 포함한다. 다른 구현예에서, 뉴클레오시드는 5'-위치에서 (R) 또는 (S)-키랄리티를 갖는 5'-변형된 이환 뉴클레오시드 유사체를 포함하고, 미국 공개 번호 제20070287831호에 기술된 유사체를 포함한다. 일부 구현예에서, 핵염기 또는 변형된 핵염기는 5-브로모우라실, 5-요오드우라실, 또는 2,6-디아미노퓨린이다. 일부 구현예에서, 핵염기 또는 변형된 핵염기는 형광 모이어티와의 치환에 의해 변형된다.
- [0112] 변형된 핵염기의 제조 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제3,687,808호; 제4,845,205호; 제5,130,30호; 제5,134,066호; 제5,175,273호; 제5,367,066호; 제5,432,272호; 제5,457,187호; 제5,457,191호; 제5,459,255호; 제5,484,908호; 제5,502,177호; 제5,525,711호; 제5,552,540호; 제5,587,469호; 제5,594,121호; 제5,596,091호; 제5,614,617호; 제5,681,941호; 제5,750,692호; 제6,015,886호; 제6,147,200호; 제6,166,197호; 제6,222,025호; 제6,235,887호; 제6,380,368호; 제6,528,640호; 제6,639,062호; 제6,617,438호; 제7,045,610호; 제7,427,672호; 및 제7,495,088호에 기술되어 있다.
- [0113] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 siRNA는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 뉴클레오타이드의 인산염기 또는 연결 인은 당류 또는 변형된 당류의 다양한 위치에 연결된다. 비제한적인 예로서, 인산염기 또는 연결 인은 당류 또는 변형된 당류의 2', 3', 4' 또는 5' 히드록실 모이어티에 연결될 수 있다. 본원에 기술된 바와 같은 변형된 핵염기를 포함하는 뉴클레오타이드 또한 이러한 맥락에서 고려된다.
- [0114] 다른 변형된 당류 또한 siRNA 분자 내에 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 변형된 당류는 다음 중 하나를 포함하는 2' 위치에서 하나 이상의 치환기를 함유한다: -F; -CF₃, -CN, -N₃, -NO, -NO₂, -OR', -SR', 또는 -N(R')₂ (여기에서 각각의 R'은 독립적으로 본원에 기술되고 전술한 바와 같음); -O-(C₁-C₁₀ 알킬), -S-(C₁-C₁₀ 알킬), -NH-(C₁-C₁₀ 알킬), 또는 -N(C₁-C₁₀ 알킬)₂; -O-(C₂-C₁₀ 알케닐), -S-(C₂-C₁₀ 알케닐), -NH-(C₂-C₁₀ 알케닐), 또는 -N(C₂-C₁₀ 알케닐)₂; -O-(C₂-C₁₀ 알키닐), -S-(C₂-C₁₀ 알키닐), -NH-(C₂-C₁₀ 알키닐), 또는 -N(C₂-C₁₀ 알키닐)₂; 또는 -O--(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O--(C₁-C₁₀ 알킬), -O-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-NH-(C₁-C₁₀ 알킬) 또는 -O-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-NH(C₁-C₁₀ 알킬)₂, -NH-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O-(C₁-C₁₀ 알킬), 또는 -N(C₁-C₁₀ 알킬)-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O-(C₁-C₁₀ 알킬), 여기에서 알킬, 알킬렌, 알케닐 및 알키닐은 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 치환기의 예는, -O(CH₂)_nOCH₃, 및 -O(CH₂)_nNH₂를 포함하며, 여기에서 n은 1 내지 약 10, MOE, DMAOE, DMAEOE이다. 또한, WO 2001/088198; 및 Martin 등, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504에 기술된 변형된 당류가 본원에서 고려된다. 일부 구현예에서, 변형된 당류는, 치환된 실릴기, RNA 절단기, 리포터기, 형광 표지, 삼입체, 핵산의 약동학적 특성을 개선하기 위한 기, 핵산의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기, 또는 유사한 특성을 갖는 다른 치환기로부터 선택되는 하나 이상의 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 변형은 3' 말단 뉴클레오타이드 상의 당류의 3' 위치 또는 5' 말단 뉴클레오타이드의 5' 위치를 포함하는 당류 또는 변형된 당류의 2', 3', 4', 5', 또는 6' 위치 중 하나 이상에서 이루어진다.
- [0115] 일부 구현예에서, 리보오스의 2'-OH는 다음 중 하나를 포함하는 치환기로 대체된다: -H, -F; -CF₃, -CN, -N₃, -NO, -NO₂, -OR', -SR', 또는 -N(R')₂(여기에서 각각의 R'은 독립적으로 본원에 기술되고 전술한 바와 같음); -O-(C₁-C₁₀ 알킬), -S-(C₁-C₁₀ 알킬), -NH-(C₁-C₁₀ 알킬), 또는 -N(C₁-C₁₀ 알킬)₂; -O-(C₂-C₁₀ 알케닐), -S-(C₂-C₁₀ 알케닐), -NH-(C₂-C₁₀ 알케닐), 또는 -N(C₂-C₁₀ 알케닐)₂; -O-(C₂-C₁₀ 알키닐), -S-(C₂-C₁₀ 알키닐), -NH-(C₂-C₁₀ 알키닐), 또는 -N(C₂-C₁₀ 알키닐)₂; 또는 -O--(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O--(C₁-C₁₀ 알킬), -O-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-NH-(C₁-C₁₀ 알킬) 또는 -O-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-NH(C₁-C₁₀ 알킬)₂, -NH-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O-(C₁-C₁₀ 알킬), 또는 -N(C₁-C₁₀ 알킬)-(C₁-C₁₀ 알킬렌)-O-(C₁-C₁₀ 알킬), 여기에서 알킬, 알킬렌, 알케닐 및 알키닐은 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 2'-OH는 -H(데옥시리보오스)로 대체된다. 일부 구현예에서, 2'-OH는 -F로 대체된다. 일부 구현예에서, 2'-OH는 -OR'로 대체된다. 일부 구현예에서, 2'-OH는 -OMe로 대체된다. 일부 구현예에서, 2'-OH는 -OCH₂CH₂OMe로 대체된다.
- [0116] 변형된 당류는 또한 잠금 핵산(LNA)을 포함한다. 일부 구현예에서, 잠금 핵산은 아래에 표시된 구조를 갖는다. 아래의 구조의 잠금 핵산이 표시되어 있으며, 여기에서 Ba는 본원에 기술된 바와 같은 핵염기 또는 변형된 핵염

기를 나타내고, 여기에서 R^{2s} 는 $-OCH_2C4'$ -이다.



[0117]

[0118]

일부 구현예에서, 변형된 당류는, 예를 들어, Seth 등, J Am Chem Soc. 2010 October 27; 132(42): 14942-14950에 기술된 것과 같은 ENA이다. 일부 구현예에서, 변형된 당류는 XNA(크세노핵산), 예를 들어 아라비노스, 안히드로핵시톨, 트레오스, 2'플루오로아라비노스, 또는 시클로핵센에서 발견되는 것들 중 어느 하나이다.

[0119]

변형된 당류는 펜토피라노실 당류 대신, 시클로부틸 또는 시클로펜틸 모이어티와 같은 당류 모방체를 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 제4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 및 제5,359,044호 참조). 고려되는 일부 변형된 당류는, 리보오스 고리 내의 산소 원자가 질소, 황, 셀레늄, 또는 탄소로 대체되는 당을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 당류는 변형된 리보오스이고, 여기에서 리보오스 고리 내의 산소 원자는 질소로 대체되며, 질소는 알킬기(예를 들어, 메틸, 에틸, 이소프로필 등)로 선택적으로 치환된다.

[0120]

변형된 당류의 비제한적인 예는 글리세롤 핵산(GNA) 유사체를 형성하는 글리세롤을 포함한다. GNA 유사체의 일례는 Zhang, R 등, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 5846-5847; Zhang L, 등, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 4174-4175 및 Tsai CH 등, PNAS, 2007, 14598-14603에 기술되어 있다. 포르밀 글리세롤의 혼합된 아세트알 아미노산에 기초한 가요성 핵산(FNA)인 GNA 유래의 유사체의 다른 예는, Joyce GF 등, PNAS, 1987, 84, 4398-4402, 및 Heuberger BD 및 Switzer C, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 412-413에 기술되어 있다. 변형된 당류의 추가적인 비제한적인 예는 핵소피라노실(6'에서 4'), 펜토피라노실(4'에서 2'), 펜토피라노실(4'에서 3'), 또는 테트로피라노실(3'에서 2')을 포함한다.

[0121]

변형된 당류 및 당류 모방체는 다음을 포함하는 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다: A. Eschenmoser, Science (1999), 284:2118; M. Bohringer 등, Helv. Chim. Acta (1992), 75:1416-1477; M. Egli 등, J. Am. Chem. Soc. (2006), 128(33):10847-56; A. Eschenmoser in Chemical Synthesis: Gnosis to Prognosis, C. Chatgililoglu 및 V. Sniekus 편(Kluwer Academic, 네덜란드, 1996), p.293; K.-U. Schoning 등, Science (2000), 290:1347-1351; A. Eschenmoser 등, Helv. Chim. Acta (1992), 75:218; J. Hunziker 등, Helv. Chim. Acta (1993), 76:259; G. Otting 등, Helv. Chim. Acta (1993), 76:2701; K. Groebke 등, Helv. Chim. Acta (1998), 81:375; 및 A. Eschenmoser, Science (1999), 284:2118. 2' 변형에 대한 변형은, Verma, S. 등, Annu. Rev. Biochem. 1998, 67, 99-134 및 이의 모든 참조 문헌에서 찾을 수 있다. 리보오스에 대한 특정 변형은 다음의 참조 문헌에서 확인할 수 있다: 2'-플루오로(Kawasaki 등, J. Med. Chem., 1993, 36, 831-841), 2'-MOE(Martin, P. Helv. Chim. Acta 1996, 79, 1930-1938), "LNA"(Wengel, J. Acc. Chem. Res. 1999, 32, 301-310); PCT 공개 번호 WO2012/030683.

[0122]

특정 구현예에 따르면, 다양한 뉴클레오타이드 변형 또는 뉴클레오타이드 변형 패턴은 본원에 기술된 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 센스 또는 안티센스 가닥 중 어느 하나에 선택적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 센스 가닥에서의 일부 또는 모든 위치에서의 변형된 뉴클레오타이드 및/또는 변형 또는 미변형 테옥시리보 뉴클레오타이드를 사용하면서, (적어도 이의 이중체 부분 내에서) 안티센스 가닥에서의 미변형 리보뉴클레오타이드를 사용할 수 있다. 일부 구현예에서, 변형의 특정 패턴은 siRNA의 하나 또는 둘 모두의 가닥의 일부 또는 전부에 걸쳐 사용된다. 뉴클레오타이드 변형은 임의의 다양한 패턴으로 발생할 수 있다. 예를 들어, 교차 패턴이 사용될 수 있다. 예를 들어, 안티센스, 센스 가닥, 또는 둘 모두는 모든 다른 뉴클레오타이드 상에서 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 적어도 하나의 미변형 뉴클레오타이드를 갖는 센스 및/또는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0123]

일부 구현예에서, 센스 및/또는 안티센스 가닥은 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이중-가닥 siRNA는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 둘 모두에서 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 모티프는 절단 부위에서 또는 그 근처에서, 가닥 중 하나 또는 둘 모두에서 발생할 수 있다.

이러한 모티프의 예는 미국 특허 출원 공개 제20150197746호, 제20150247143호, 및 제20160298124호에 기술되어 있다.

[0124] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 19개 뉴클레오타이드의 길이의 블런트머(bluntmer, 뚫힌 것)이며, 여기에서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 7, 8, 9에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형 모티프 중 적어도 1개를 함유하고, 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유한다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 20개 뉴클레오타이드의 길이의 이중 말단 블런트머이며, 여기에서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 8, 9, 10에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유하고, 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유한다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 21개 뉴클레오타이드의 길이의 이중 말단 블런트머이며, 여기에서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 9, 10, 11에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유하고, 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유한다.

[0125] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 19개의 뉴클레오타이드 센스 가닥 및 21개의 뉴클레오타이드 안티센스 가닥을 포함하고, 여기에서 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 7, 8, 9에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유하고; 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형 모티프 중 적어도 하나를 함유하되, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 일 말단은 뚫힌 것이고, 다른 말단은 2개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 바람직하게는, 2개의 뉴클레오타이드 돌출부는 안티센스 가닥의 3' 말단에 있다. 2개의 뉴클레오타이드 돌출부가 안티센스 가닥의 3' 말단에 있는 경우, 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이 있을 수 있으며, 여기에서 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 돌출부 뉴클레오타이드이고, 제3 뉴클레오타이드는 돌출부 뉴클레오타이드 다음에 쌍을 이룬 뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 센스 가닥의 5'-말단 및 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 모두에서의 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 갖는다. 일부 구현예에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 각각의 잔기는 예를 들어, 교차 모티프로, 2'-O-메틸 또는 3'-플루오로로 독립적으로 변형된다.

[0126] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 19개의 뉴클레오타이드 센스 가닥 및 21개의 뉴클레오타이드 안티센스 가닥을 포함하고, 여기에서 (i) 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 3, 7, 8, 9, 12, 및 17에 2'-F 변형을 함유하고; (ii) 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 4, 5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 및 19에 2'-O-메틸 변형을 함유하고; (iii) 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 2 및 14에 2'-F 변형을 함유하고; (iv) 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 및 21에 2'-O-메틸 변형을 함유하되; 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 일 말단은 뚫힌 것이고, 다른 말단은 안티센스 가닥의 3'-말단에 2개의 뉴클레오타이드 돌출부를 포함한다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 3' 말단에 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하고, 여기에서 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 돌출부 뉴클레오타이드이고, 제3 뉴클레오타이드는 돌출부 뉴클레오타이드 다음에 있는 쌍을 이룬 뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 센스 가닥의 5'-말단 및 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 모두에서의 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 갖는다.

[0127] 일부 구현예에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형될 수 있다. 각각의 뉴클레오타이드는 동일하거나 상이한 변형으로 변형될 수 있으며, 이는 하나 이상의 비-연결 인산염 산소 및/또는 하나 이상의 연결 인산염 산소; 리보오스 당류 성분, 예를 들어, 리보오스 당류 상의 2' 히드록실의 변경; "탈린(dephospo)" 링커를 갖는 인산염 모이어티의 전체적 대체; 자연 발생 염기의 변형 또는 대체; 및 리보오스-인산염 골격 대체 또는 변형을 포함할 수 있다.

[0128] 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 잔기의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상, 예를 들어 100%는 LNA, CRN, cET, UNA, HNA(1,5-안히드로헥시톨 핵산), CeNA(시클로헥세닐 핵산 - 데옥시리보오스가 6-원 시클로헥센 고리로 대체된 DNA 모방체), 2'-메톡시메틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-데옥시, 2'-히드록실, 또는 2'-플루오로로 변형된다. 가닥은 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 잔기의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상, 예를 들어 100%는 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로

로 독립적으로 변형된다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 상이한 변형이 센스 가닥 및 안티센스 가닥 상에 존재한다. 이들 2개의 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형, 또는 다른 것일 수 있다.

[0129]

일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 이중체의 센스 및 안티센스 가닥은 도 1에서 패턴 1 내지 5로 표시된 변형 패턴 중 어느 하나를 포함한다. 도 1에서, 임의의 주어진 위치에서, "20M"은 2'-O-메틸 변형을 나타내고 "2F"는 2'-플루오로로 변형을 나타낸다. "PS"는 "PS"로 표시된 위치에서의 뉴클레오타이드와 "PS"로 표시된 위치에 대해 3'인 인접 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 서열번호 176 내지 200 및 300 내지 324에 개시된 안티센스 가닥 중 어느 하나는 도 1에 개시된 안티센스 가닥("AS")의 변형 패턴 1 내지 5 중 어느 하나에 따라 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 서열번호 126 내지 150에 개시된 센스 가닥 중 어느 하나는 도 1에 개시된 센스 가닥("SS")의 변형 패턴 1 내지 5 중 어느 하나에 따라 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 이중체의 센스 및/또는 안티센스 가닥은, 도 1의 패턴 1 내지 5로 표시된 변형 패턴 중 어느 하나를 포함하지만, 센스 및/또는 안티센스 가닥의 임의의 위치 1, 2, 3 또는 4는 패턴 1 내지 5 중 하나에서 이러한 위치 1, 2, 3 또는 4에 표시된 변형을 포함하지 않는다.

[0130]

일부 구현예에서, siRNA는 (도 1에 표시된) 변형 패턴 1 내지 5 중 어느 하나를 포함하고, (i) 센스 가닥의 5' 말단; (ii) 센스 가닥의 3' 말단; (iii) 안티센스 가닥의 5' 말단; 및/또는 (iv) 안티센스 가닥의 3' 말단의 마지막 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트 결합을 또한 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및/또는 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0131]

일부 구현예에서, siRNA는 도 1의 변형 패턴 1 내지 5 중 어느 하나에 따라 변형될 수 있고, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 리간드에 접합될 수도 있다. 일부 이러한 경우, 리간드는 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 말단 중 어느 하나에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, 전술한 siRNA는 리간드에 접합된 말단 단부(예를 들어, 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 말단)의 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트 결합을 포함하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 센스 가닥의 5' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하지 않는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0132]

일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 센스 가닥의 3' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하지 않는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0133]

일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 안티센스 가닥의 5' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이,

및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하지 않는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0134] 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 안티센스 가닥의 3' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하지 않는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0135] 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, 전술한 siRNA는 리간드에 접합된 말단 단부(예를 들어, 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 말단)의 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트 결합을 포함한다.

[0136] 예를 들어, 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 센스 가닥의 5' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0137] 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 센스 가닥의 3' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0138] 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 안티센스 가닥의 5' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된 화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0139] 일부 구현예에서, siRNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53)는 안티센스 가닥의 3' 말단에 접합된 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드, 예컨대, 본원에 기술된

화학식 XD 또는 XE의 GalNAc)를 포함하고, siRNA는 (i) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (ii) 3' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 3' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 센스 가닥; (iii) 5' 말단으로부터 위치 1 및 2에서의 뉴클레오타이드 사이, 및 5' 말단으로부터 위치 2 및 3에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥; 및 (iv) 3' 말단으로부터 위치 1, 2, 3 및 4에서의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.

[0140] 일부 구현예에서, 센스 및/또는 안티센스 가닥은 교차 패턴의 변형을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "교차 모티프"는 하나 이상의 변형을 갖는 모티프를 지칭하며, 각각의 변형은 하나의 가닥의 하나 이상의 뉴클레오타이드의 교차라는 기에서 발생한다. 예를 들어, 교차 뉴클레오타이드는 다른 뉴클레오타이드마다 하나씩, 또는 3개의 뉴클레오타이드마다 하나씩, 또는 이와 유사한 패턴을 지칭할 수 있다. 예를 들어, A, B 및 C 각각이 뉴클레오타이드에 대한 일 유형의 변형을 나타내는 경우, 교차 모티프는 "ABABABABAB...", "AABBAABBAABB ...", "AABAABAABAAB ...", "AAABAAABAAAB ?", "AAABBBAAABBB ...", 또는 "ABCABCABCABC ...", 동일 수 있다.

[0141] 교차 모티프에 포함된 변형의 유형은 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, A, B, C, D 각각이 뉴클레오타이드 상에서 일 유형의 변형을 나타내는 경우, 교차 패턴, 즉 모든 다른 뉴클레오타이드 상에서의 변형은 동일할 수 있지만, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 각각은 "ABABAB...", "ACACAC..." "BDBDBD..." 또는 "CDCDCD...", 등과 같은 교차 모티프 내에서의 변형의 여러 가능성으로부터 선택될 수 있다.

[0142] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 안티센스 가닥 상의 교차 모티프에 대한 변형 패턴에 대해 시프트된 센스 가닥 상의 교차 모티프에 대한 변형 패턴을 포함한다. 시프트는 센스 가닥의 변형된 뉴클레오타이드 군이 안티센스 가닥의 상이한 변형된 뉴클레오타이드 군에 상응하고 그 반대가 되도록 할 수 있다. 예를 들어, dsRNA 이중체에서 안티센스 가닥과 쌍을 이룬 경우, 센스 가닥에서의 교차 모티프는 가닥의 5'-3'으로부터 "ABABAB"로 시작할 수 있고, 안티센스 가닥에서의 교차 모티프는 이중체 부분 내에서 가닥의 5'-3'으로부터 "BAB ABA"로 시작할 수 있다. 다른 예로서, 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이에서 변형 패턴의 완전한 또는 부분적인 시프트가 있도록, 센스 가닥에서의 교차 모티프는 가닥의 5'-3'로부터 "AABBAABB"로 시작할 수 있고, 안티센스 가닥에서의 교차 모티프는 이중체 부분 내에서 가닥의 5'-3'으로부터 "BBAABBAA"로 시작할 수 있다.

[0143] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 2'-O-메틸 변형의 교차 모티프의 패턴을 포함하고, 센스 가닥 상의 2'-F 변형은 안티센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형 및 2'-F 변형의 교차 모티프의 패턴, 즉, 안티센스 가닥 상의 2'-F 변형 뉴클레오타이드와의 센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형 뉴클레오타이드 염기 쌍 및 그 반대의 경우에 대해 시프트를 갖는다. 센스 가닥의 위치 1은 2'-F 변형으로 시작할 수 있고, 안티센스 가닥의 위치 1은 2'-O-메틸 변형으로 시작할 수 있다.

[0144] 일부 구현예에서, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 존재하는 초기 변형 패턴을 차단하도록, 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프가 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 3개의 연속적인 뉴클레오타이드에 도입될 수 있다. 일부 구현예에서, 3개의 연속적인 뉴클레오타이드에 대한 3개의 동일한 변형의 모티프가 가닥 중 어느 하나에 도입될 경우, 해당 모티프 옆에 있는 뉴클레오타이드의 변형은 모티프의 변형과 상이한 변형이다. 예를 들어, 모티프를 함유하는 서열의 부분이 "...NaYYNb...", 일 경우, 여기에서 "Y"는 3개의 연속적인 뉴클레오타이드에 대한 3개의 동일한 변형의 모티프의 변형을 나타내고, "Na" 및 "Nb"는 Y의 변형과 상이한 모티프 "YYY" 옆의 뉴클레오타이드에 대한 변형을 나타내며, 여기에서 Na와 Nb는 동일하거나 상이한 변형일 수 있다.

[0145] 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드간 연결 변형은 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥 상의 모든 뉴클레오타이드 상에서 발생할 수 있거나; 각각의 뉴클레오타이드간 연결 변형은 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥 상에서 교차 패턴으로 발생할 수 있거나; 센스 가닥 또는 안티센스 가닥은 둘 모두 뉴클레오타이드간 연결 변형을 교차 패턴으로 함유할 수 있다. 센스 가닥에 대한 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교차 패턴은 안티센스 가닥과 동일하거나 상이할 수 있고, 센스 가닥에 대한 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교차 패턴은 안티센스 가닥에 대한 뉴클레오타이드간 연결 변형의 교차 패턴에 대해 시프트를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 6 내지 8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 안티센스 가닥은 5'-말단에서의 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및 3'-말단에서의 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함하고, 센스 가닥은 5' 말단 또는 3'-말단 중 하나에서의 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

- [0146] 특정 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 WO/2015/089368의 59페이지(20행) 내지 65페이지(15행), 또는 미국 특허 출원 공개 제20160298124호의 해당 문구 [0469] 내지 [0537], 또는 전술한 문헌 중 어느 하나 또는 둘 모두의 청구범위에 기술된 배열 및/또는 변형 패턴 중 어느 하나를 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 여기에서 전술한 센스 가닥은 전술한 안티센스 가닥에 상보성이되, 전술한 안티센스 가닥은 C3을 암호화하는 mRNA의 일부에 상보성인 영역(예를 들어, 본원에 기술된 표적 영역)을 포함하고, 여기에서 각각의 가닥은 약 14 내지 약 30개의 뉴클레오타이드 길이이고, 전술한 제제는 식 (III)으로 표시된다:
- [0147] 센스: $5' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } (X \text{ } X \text{ } X)_i \text{ } N_b \text{ } Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } N_b \text{ } (Z \text{ } Z \text{ } Z)_j \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 3'$
- [0148] 안티센스: $3' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } (X'X'X')_k \text{ } N_b \text{ } Y'Y'Y' \text{ } N_b \text{ } (Z'Z'Z')_l \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 5'$
- [0149] 식 중, i, j, k, 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고; p, p', q, 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이고; 각각의 N_a 및 N_a' 은 독립적으로, 변형 또는 미변형 또는 이의 조합인 0 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고(여기에서, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함함); 각각의 N_b 및 N_b' 은 독립적으로, 변형 또는 미변형 또는 이의 조합인 0 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고; 각각 존재할 수 있고 존재하지 않을 수도 있는 n_p , n_p' , n_q , 및 n_q' 의 각각은 독립적으로 돌출부 뉴클레오타이드를 나타내고; XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속적인 뉴클레오타이드에 대한 3개의 동일한 변형 중 하나의 모티프를 나타내고; N_b 에 대한 변형은 Y에 대한 변형과 상이하고, N_b' 에 대한 변형은 Y'에 대한 변형과 상이하되; 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 접합된다. 일부 구현예에서, i는 0이거나; j는 0이거나; i는 1이거나; j는 1이거나; i와 j는 모두 0이거나; i와 j는 모두 1이다. 일부 구현예에서, XXX는 X'X'X'에 상보성이고, YYY는 Y'Y'Y'에 상보성이며, ZZZ는 Z'Z'Z'에 상보성이다. 각각의 X가 동일한 변형을 포함하는 한, 각각의 X는 상이한 염기를 포함할 수 있음을 이해해야 한다. 예를 들어, XXX는 각각의 뉴클레오타이드가 2-F 변형을 포함하는 AGC를 나타낼 수 있다. 유사하게, 각각의 X', 각각의 Y, 각각의 Y', 각각의 Z, 및 각각의 Z는 상이할 수 있다.
- [0150] 일부 구현예에서, 식 (III)은 식 (IIIa)로 표시된다:
- [0151] 센스: $5' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } Y \text{ } Y \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 3'$
- [0152] 안티센스: $3' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } Y'Y'Y' \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 5'$
- [0153] 또는, 식 (III)은 식 (IIIb)로 표시된다:
- [0154] 센스: $5' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } N_b \text{ } Z \text{ } Z \text{ } Z \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 3'$
- [0155] 안티센스: $3' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } Y'Y'Y' \text{ } N_b \text{ } Z'Z'Z' \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 5'$
- [0156] 여기에서, 각각의 N_b 및 N_b' 은 독립적으로 1 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 또는, 식 (III)은 식 (IIIc)로 표시된다:
- [0157] 센스: $5' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } X \text{ } X \text{ } N_b \text{ } Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 3'$
- [0158] 안티센스: $3' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } X'X'X' \text{ } N_b \text{ } Y'Y'Y' \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 5'$
- [0159] 여기에서, 각각의 N_b 및 N_b' 은 독립적으로 1 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 또는, 식 (III)은 식 (IIId)로 표시된다:
- [0160] 센스: $5' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } X \text{ } X \text{ } X \text{ } N_b \text{ } Y \text{ } Y \text{ } Y \text{ } N_b \text{ } Z \text{ } Z \text{ } Z \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 3'$
- [0161] 안티센스: $3' \text{ } n_p \text{ } N_a \text{ } X'X'X' \text{ } N_b \text{ } Y'Y'Y' \text{ } N_b \text{ } Z'Z'Z' \text{ } N_a \text{ } n_q \text{ } 5'$
- [0162] 여기에서, 각각의 N_b 및 N_b' 은 독립적으로 1 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 N_a 및 N_a' 은 독립적으로 2 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드

드 서열을 나타낸다.

- [0163] 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드에 대한 변형은 LNA, CRN, cET, UNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알킬, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-테옥시, 2'-히드록실, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0164] 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드에 대한 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이다. 일부 구현예에서, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다. 일부 구현예에서, 리간드는 식 XA, XB, 또는 XC, 또는 아래에 나타낸 다른 GalNAc 구조에 도시되어 있다.
- [0165] 일부 구현예에서, 리간드는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다. 일부 구현예에서, 부착은 아래에 나타낸 식 XD에 도시된 바와 같다.
- [0166] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함한다.
- [0167] 일부 구현예에서, $p' > 0$; 또는 $p' = 2$ 이다.
- [0168] 일부 구현예에서, $q' = 0$, $p = 0$, $q = 0$ 이고, p' 돌출부 뉴클레오타이드는 C3 mRNA에 상보성이다. 일부 구현예에서, $q' = 0$, $p = 0$, $q = 0$ 이고, p' 돌출부 뉴클레오타이드는 C3 mRNA에 비상보성이다.
- [0169] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 n_p 는 포스포로티오에이트 연결을 통해 이웃 뉴클레오타이드에 연결된다.
- [0170] 일부 구현예에서, 리간드는 핵산 분자를 간세포로 표적화한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 리간드는 간세포 특이적 아시알로당단백질 수용체(ASGPR)에 결합하고, 예를 들어, 리간드는 갈락토오스 유도체, 예를 들어, GalNAc를 포함한다.
- [0171] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는, 예를 들어, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 활성, 안정성, 세포 분포 및/또는 세포 흡수를 조절, 예컨대 강화하고/하거나 전하 또는 용해도와 같은 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 하나 이상의 물리적 특성을 변경시키는 하나 이상의 모이어티에 접합되거나 그렇지 않은 경우 물리적으로 연관된다. 일부 구현예에서, 모이어티는 항체 또는 리간드를 포함할 수 있다. 리간드는 탄수화물, 펩티드, 단백질, 당단백질, 지질, 콜레스테롤, 스테로이드, 담즙산, 핵산 호르몬, 성장 인자, 또는 수용체일 수 있다. 일부 구현예에서, 자연적으로 발생하는 호르몬, 성장 인자, 또는 다른 리간드의 생물학적으로 비활성인 변이체가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 모이어티는 특정 세포 유형, 예를 들어, 간세포에 대해 억제 RNA(예를 들어, siRNA)를 표적화하는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적화 모이어티는 간세포 특이적 아시알로당단백질 수용체(ASGPR)에 결합한다.
- [0172] 일부 구현예에서, 모이어티는 가역적 연결을 통해 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 부착된다. "가역적 연결"은 가역적 결합을 포함하는 연결이다. "가역적 결합"(불안정한 결합 또는 절단 가능한 결합으로도 지칭됨)은 선택된 조건 하에서의 분자 내에서 다른 결합보다 더 신속하게 선택적으로 파괴되거나 절단될 수 있는 수소 원자에 대한 공유 결합 이외의 공유 결합이며, 이 결합은 동일한 분자에서 다른 공유 결합을 실질적으로 파괴하거나 또는 절단하지 않는 조건 하에서 선택적으로 파괴되거나 절단될 수 있다. 결합의 절단 또는 불안정성은 결합 절단의 반감기($t_{1/2}$)(결합의 절반이 절단되는 데 필요한 시간)의 관점에서 설명될 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 원에서의 관심 가역적 결합은 "생리학적으로 가역적인 결합"이며, 이는 결합이 일반적으로 겪거나 포유류 신체 내에서 겪는 것과 유사한 조건 하에서 절단될 수 있다는 것을 의미한다. 생리학적으로 가역적인 연결은 적어도 하나의 생리학적으로 가역적인 결합을 포함하는 연결이다. 일부 구현예에서, 생리학적으로 가역적인 결합은, pH, 온도, 산화 또는 환원 조건 또는 제제, 및 포유류 세포에서 발견되는 것에서 발견되거나 포유류 세포와 유사한 염 농도와 같은 화학적 조건을 포함하는, 포유류 세포 내 조건 하에서 가역적이다. 포유류 세포내 조건은 또한 포유류 세포 내에 정상적으로 존재하는 효소 활성, 예컨대 단백질분해 효소 또는 가수분해 효소의 존재를 포함한다. 효소적으로 불안정한 결합은 체내 효소, 예를 들어, 세포내 효소에 의해 절단된다. pH에 대한 불안정한 결합은 7.0 이하의 pH에서 절단된다. 가역적 결합 및 연결의 예 및 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 모이어티를 접합시키기 위한 이들의 사용은, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제20130281685호 및 제20150273081호에 기술되어 있다.
- [0173] 일부 구현예에서, 모이어티는 단백질 형질도입 도메인(PTD)을 포함한다. 단백질 형질도입 도메인은 도메인에 부착된 이중 분자의 흡수를 용이하게 하는 폴리펩티드 또는 이의 부분이다(이러한 이중 분자는 "카고(cargo)"로 지칭될 수 있음). 펩티드인 단백질 형질도입 도메인은 세포 침투 펩티드(CPP)로서 지칭될 수 있다. 다수의 단백질

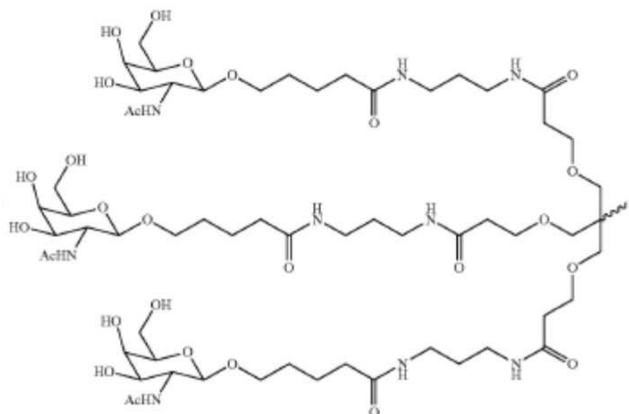
질 형질도입 도메인/펩티드가 당업계에 공지되어 있다. PTD는 다양한 자연 발생 또는 합성 아르기닌-농축 펩티드를 포함한다. 아르기닌-농축 펩티드는 적어도 30%, 예를 들어 적어도 40%, 50%, 60% 또는 그 이상의 아르기닌 잔기를 함유하는 펩티드이다. PTD의 예는 TAT(적어도 아미노산 49 내지 56), 안테노피디아 호메오도메인, HSV VP22, 및 폴리아르기닌을 포함한다. 이러한 펩티드는 양이온성, 소수성, 또는 양친수성 펩티드일 수 있고, 비표준 아미노산 및/또는 원형 순열성, 역설적, 레트로적, 역역설적, 또는 펩티도모방 버전의 사용과 같은 다양한 변형 또는 변경을 포함할 수 있다. PTD 및 카고의 부작은 공유 또는 비공유일 수 있다.

[0174] 사용될 수 있는 예시적인 PTD는 미국 특허 출원 공개 제20090093026호, 제20090093425호, 제20120142763호, 제20150238516호, 및 제20160215022호에 기술되어 있다. PTD는 동일하거나 상이할 수 있는 2개 이상의 PTD(예를 들어, 2 내지 10개의 PTD)를 포함할 수 있다. PTD는 서로 직접 연결되거나, 하나 이상의 아미노산 및/또는 하나 이상의 비-아미노산 모이어티, 예컨대 알킬 사슬 또는 올리고에틸렌 글리콜 모이어티를 포함할 수 있는 연결 부분에 의해 분리될 수 있다.

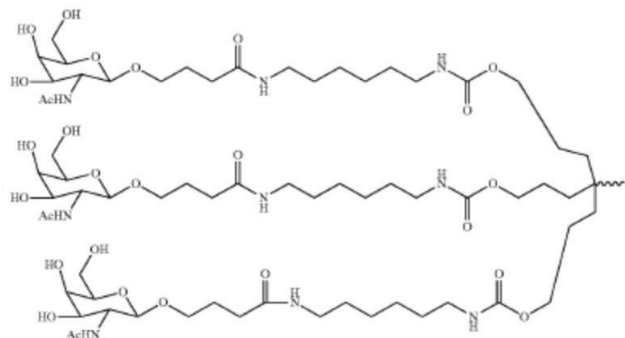
[0175] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 음이온성 전하 중화 모이어티를 포함하거나 이와 물리적으로 연관된다. 음이온성 전하 중화 모이어티는 물리적으로 연관된 핵산의 전체 순 음이온성 전하를 감소시킬 수 있는 분자 또는 화학 기를 지칭한다. 하나 이상의 음이온성 전하 중화 분자 또는 기는 핵산과 연관될 수 있으며, 여기에서 각각은 독립적으로 음이온성 전하의 감소 및/또는 양이온성 전하의 증가에 기여한다. 전하 중화는, 음이온성 전하 중화 분자 또는 기의 부재 하에 핵산의 음이온성 전하가 동일한 핵산보다 감소되거나, 중화되거나, 양이온성인 것을 의미한다. 포스포디에스테르 및/또는 포스포티오에이트 보호기는 음이온성 전하 중화기의 예이다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 음으로 하전된 기를 함유하는 골격(예를 들어, 포스포디에스테르 또는 포스포티오에이트 골격)의 순 음이온성 전하를 감소시키는 하나 이상의 위치에 보호기를 포함한다. 일부 구현예에서, 음으로 하전된 포스포디에스테르 골격은 세포질 티오에스테르아제의 작용에 의해 세포 내에서 하전된 포스포디에스테르 결합으로 전환되는 생가역성 포스포트리에스테르 보호기를 이용한 합성에 의해 중화되어, 발현을 억제하는 생물학적으로 활성인 제제, 예를 들어, RNAi를 매개할 수 있는 억제 RNA(예를 들어, siRNA)를 생성한다. 따라서, 때때로 짧은 간섭 리보핵 중성체(siRNN)로 지칭되는 이러한 제제는 siRNA 전구약물로서 작용할 수 있다. 골격은 완전히 중화될(즉, 하전되지 않을) 필요가 없다는 것을 이해해야 한다. 일부 구현예에서, 인산염기의 5% 내지 100%, 예를 들어, 25% 내지 50% 또는 50% 내지 75% 또는 75% 내지 100%가 보호된다. 소정의 구현예에서, 하나 또는 둘 모두의 가닥 상의 인산염기의 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개가 보호된다. 유용한 포스포디에스테르 및/또는 포스포티오에이트 보호기의 예, 이들을 제조하는 방법, 및 (예를 들어, RNAi 제제 전구약물을 생성하기 위한) 핵산에서의 이들의 사용은 미국 특허 출원 공개 제20110294869호, 제20090093425호, 제20120142763호, 및 제20150238516호에 기술되어 있다. 다양한 구현예에서, siRNA는 본원에 기술된 변형 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이는 2' 당류 변형(예를 들어, 2'-F, 2'-O-Me)을 포함할 수 있다. 또한, siRNN은 본원에 기술된 구성 또는 변형 패턴 중 어느 하나를 가질 수 있다.

[0176] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 부착된 모이어티는 탄수화물을 포함한다. 대표적인 탄수화물은 약 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 단당류 단위를 함유하는 단당류, 이당류, 삼당류 및 올리고당류를 포함한다. 특정 구현예에서, 탄수화물은 갈락토오스 또는 갈락토오스 유도체, 예컨대 갈락토사민, N-포르밀-갈락토사민, N-아세틸갈락토사민, N-프로피오닐-갈락토사민, N-n-부타노일-갈락토사민, 및 N-이소-부타노일갈락토사민을 포함한다. 소정의 특정 관심 구현예에서, 갈락토오스 유도체는 N-아세틸갈락토사민(GalNAc)을 포함한다. 소정의 구현예에서, 모이어티는 갈락토오스 또는 갈락토오스 유도체의 다수의 사례, 예를 들어, 다수의 N-아세틸갈락토사민 모이어티, 예를 들어, 3개의 GalNAc 모이어티를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "갈락토오스 유도체"는 갈락토오스 및 아시알로당단백질 수용체에 대한 친화도가 갈락토오스 이상인 갈락토오스 유도체 둘 모두를 포함한다. 용어 "갈락토오스 클러스터"는 일반적으로 다른 모이어티에 공유 부착됨으로써, 서로 물리적으로 연관된 적어도 2개의 갈락토오스 유도체를 포함하는 구조체를 지칭한다. 일부 구현예에서, 갈락토오스 클러스터는 2 내지 10개(예를 들어, 6개), 또는 2 내지 4개(예를 들어, 3개)의 말단 갈락토오스 유도체를 갖는다. 말단 갈락토오스 유도체는 갈락토오스 유도체의 C-1 탄소를 통해 다른 모이어티에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 2개 이상, 예를 들어, 3개의 갈락토오스 유도체는 분기점으로서 기능하고 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 부착될 수 있는 모이어티에 부착된다. 일부 구현예에서, 갈락토오스 유도체는 링커 또는 스페이서를 통해 분기점으로서 작용하는 모이어티에 연결된다. 일부 구현예에서, 분기점으로서 작용하는 모이어티는 링커 또는 스페이서를 통해 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 부착될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 갈락토오스 유도체는 아미드, 카르보닐, 알킬, 올리고에틸렌 글리콜 모이어티, 또는 이들의 조합을 포함하는 링커 또는 스페이서를 통해 분기점에 부착된다. 일부 구현예에서, 각각의 갈락토오스 유도체에 부착된 링커 또는 스페이서는 동일하다. 일부 구

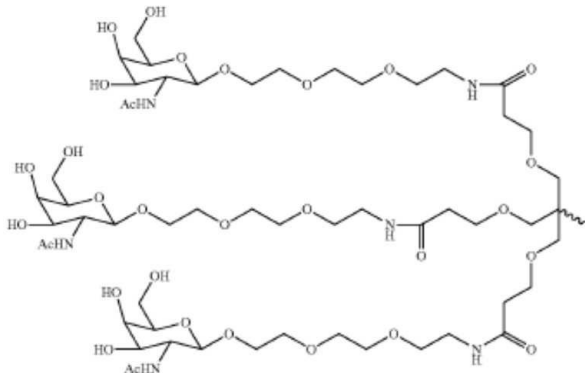
현예에서, 갈락토오스 클러스터는 각각 아시알로당단백질 수용체에 대한 친화도를 갖는 3개의 말단 갈락토사민 또는 갈락토사민 유도체(예를 들어, GalNAc)를 갖는다. 3개의 말단 GalNAc 모이어티가 분기점으로서 작용하는 모이어티에 (예를 들어, 당류의 C-1 탄소를 통해) 부착되는 구조체는 트리-안테너리 N-아세틸갈락토사민 (GalNAc₃)으로 지칭될 수 있다. 일부 구현예에서, 갈락토오스 유도체를 포함하는 하나 이상의 단량체 단위는 억제 RNA(예를 들어, siRNA) 내에 부위 특이적으로 혼입될 수 있다. 이러한 갈락토오스 유도체 함유 단량체 단위는 뉴클레오타이드 또는 비뉴클레오타이드 모이어티에 부착된 갈락토오스 유도체, 예를 들어, GalNAc를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 적어도 3개의 뉴클레오타이드-GalNAc 단량체 또는 적어도 3개의 비뉴클레오타이드-GalNAc 단량체는 부위 특이적으로 억제 RNA(예를 들어, siRNA)에 혼입된다. 일부 구현예에서, 이러한 혼입은 포스포라미디트(phosphoramidite) 화학을 사용하는 고상 합성 동안 또는 합성 후 접합을 통해 발생할 수 있다. 일부 구현예에서, 갈락토오스 유도체 함유 단량체 단위는 포스포디에스테르 결합을 통해 서로 결합되고/되거나 갈락토오스 유도체가 부착되지 않은 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 뉴클레오타이드에 결합된다. 일부 구현예에서, 2개, 3개 또는 그 이상의 갈락토오스 유도체 함유 단량체 단위는 연속적으로, 즉 갈락토오스 유도체가 없는 임의의 개재 단위 없이 배열된다. 일부 구현예에서, 탄수화물, 예를 들어, 갈락토오스 클러스터, 예를 들어, 트리-안테너리 N-아세틸갈락토사민 또는 둘 이상의 GalNAc 함유 단량체 단위는 가닥의 말단, 예를 들어, 센스 가닥의 3' 말단 또는 안티센스 가닥의 5' 말단에 존재한다. 예시적인 탄수화물(예를 들어, 갈락토오스 클러스터), 갈락토오스 유도체-함유 단량체 단위, 탄수화물-변형 억제 RNA, 및 이의 제조 및 사용 방법은, 미국 특허 출원 공개 제20090203135호, 제20090239814호, 제20110207799호, 제20120157509호, 제20150247143호, 미국 공개 '124; Nair, JK 등, J. Am. Chem. Soc. 136, 16958-16961 (2014); Matsuda, S. 등, ACS Chem. Biol. 10, 1181-1187 (2015); Rajeev, K. 등, ChemBioChem 16, 903 - 908 (2015); Migawa, MT. 등, Bioorg Med Chem Lett. 26(9):2194-7 (2016); Prakash, TP 등, J Med Chem. 59(6):2718-33 (2016)에 기술되어 있다. 예시적인 갈락토오스 클러스터가 아래에 도시되어 있다.



식 XA



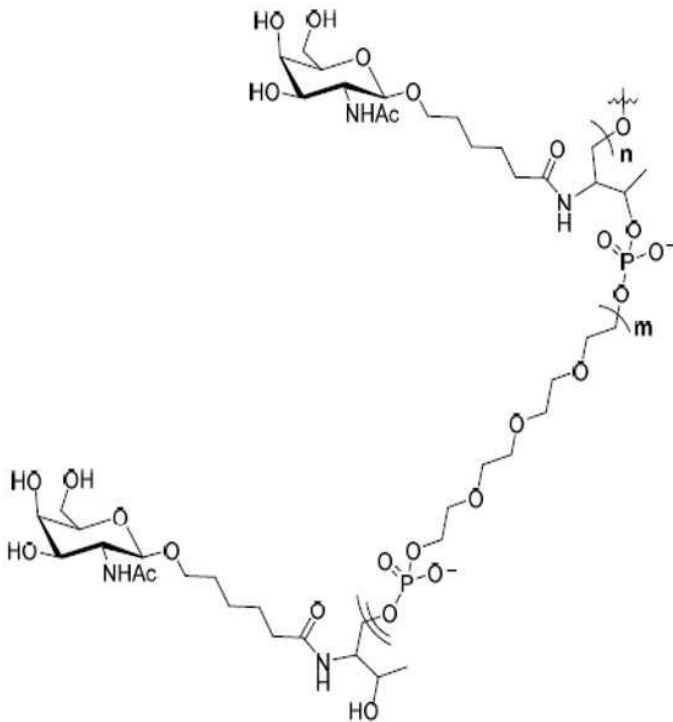
[0180] 식 XB



[0181]

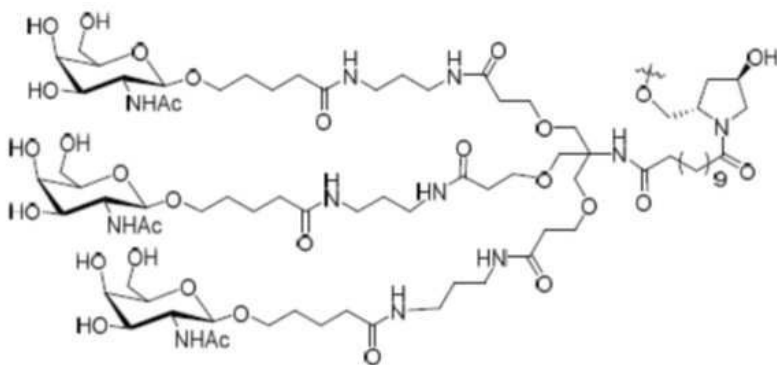
[0182] 식 XC

[0183] 추가적인 GalNAc 구조가 아래에 도시되어 있다(이는 Sharma 등, *Bioconjug. Chem.* 29:2478-2488 (2018)에 기술된 바와 같이 합성될 수 있음):

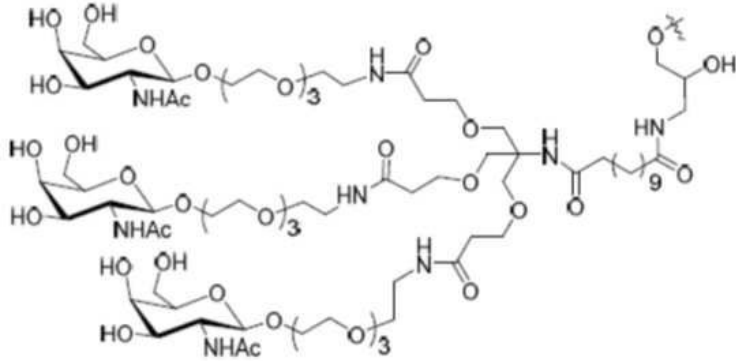


[0184]

[0185] 일부 구현예에서, $m = 0$ 이고 $n = 2$ 이다. 일부 구현예에서, $m = 1$ 이고 $n = 1$ 이다. 일부 구현예에서, $m = 1$ 이고 $n = 2$ 이다. 일부 구현예에서, $m = 1$ 이고 $n = 3$ 이다.



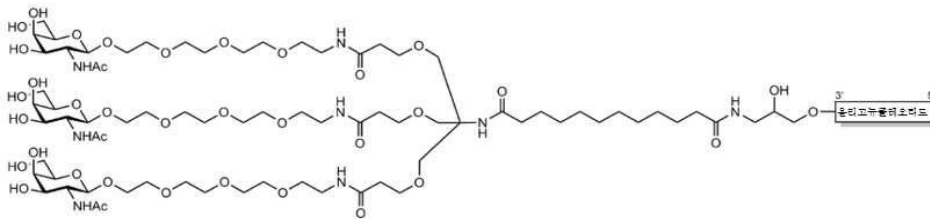
[0186]



[0187]

[0188]

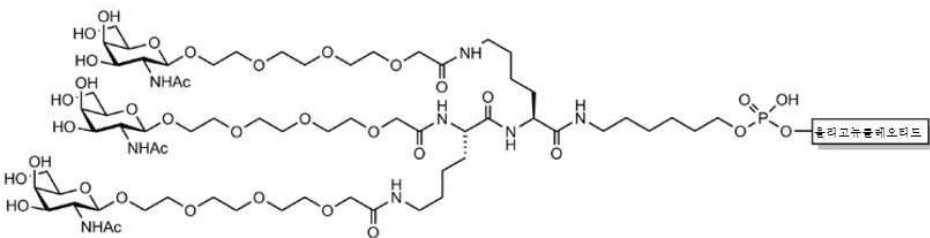
당업자는 각각의 GalNAc를 분기점에 연결하는 연결 모이어티의 구조가 다양할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 아래에 도시된 바와 같이 GalNAc에 접합된다:



[0189]

[0190]

식 XD(전술한 GalNAc가 3' 또는 5' 말단에서 어느 하나의 가닥(예를 들어, 센스 가닥)에서 접합될 수 있는 경우)



[0191]

[0192]

식 XE

[0193]

일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, 표 10 및 15에 나열된 siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어 siRNA 22, 32 및 53과 같은 siRNA)는 GalNAc 리간드(예를 들어, 식 XD 또는 XE의 GalNAc)에 접합된다.

[0194]

일부 구현예에서, (예를 들어, 식 XD 또는 XE에 나타난 바와 같은) GalNAc 리간드는 siRNA(예를 들어, siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어, siRNA 22, 32, 및 53)의 센스 또는 안티센스 가닥의 3'-말단 뉴클레오타이드에 접합된다. 일부 구현예에서, (예를 들어, 식 XD 또는 XE에 나타난 바와 같은) GalNAc 리간드는 siRNA의 센스 또는 안티센스 가닥의 3'-말단 뉴클레오타이드 상의 당류의 3' 위치에 접합된다.

[0195]

일부 구현예에서, (예를 들어, 식 XD 또는 XE에 나타난 바와 같은) GalNAc 리간드는 siRNA(예를 들어, siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어, siRNA 22, 32, 및 53)의 센스 또는 안티센스 가닥의 5'-말단 뉴클레오타이드에 접합된다. 일부 구현예에서, (예를 들어, 식 XD 또는 XE에 나타난 바와 같은) GalNAc 리간드는 siRNA의 센스 또는 안티센스 가닥의 5'-말단 뉴클레오타이드의 5' 위치에 접합된다.

[0196]

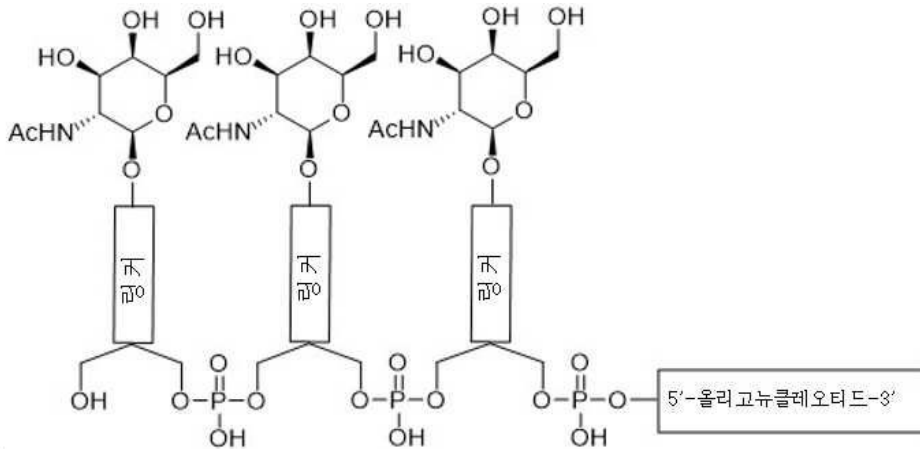
일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, 서열번호 1 내지 57의 siRNA, 예를 들어, siRNA 22, 32, 및 53)가 리간드(예를 들어, GalNAc 리간드)에 접합되는 경우, 억제 RNA는 리간드에 접합되는 뉴클레오타이드(들)에 대한 변형(예를 들어, 포스포로티오에이트 결합 "PS")을 포함하지 않을 수 있다.

[0197]

일부 구현예에서, (예를 들어, siRNA 1 내지 57 중 어느 하나, 예를 들어, siRNA 22, 32, 및 53과 같은) siRNA는 센스 또는 안티센스 가닥 중 하나의 일 단부에서 (예를 들어, 식 XD 또는 XE에 나타난 바와 같은) GalNAc 리간드에 접합된다. 일부 구현예에서, GalNAc 리간드에 접합되지 않은 다른 3개의 말단은 포스포로티오에이트 결합("PS")과 같은 변형을 함유한다. 일부 구현예에서, 변형은 2개, 3개, 또는 4개의 5' 또는 3'-가장 큰 뉴클레

오티드 사이의 PS 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, GalNAc 리간드에 접합된 말단은 2개, 3개 또는 4개의 5' 또는 3'-가장 큰 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트 결합을 함유하지 않는다.

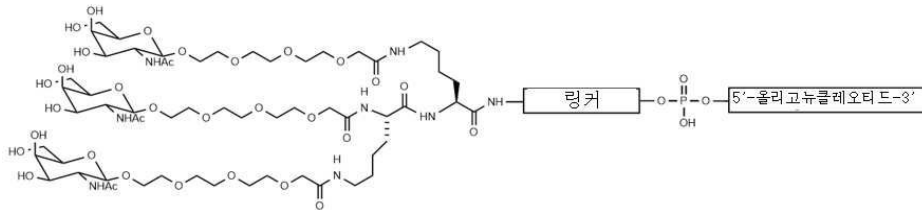
[0198] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 siRNA는 아래에 도시된 갈락토오스 구조에 접합될 수 있다:



[0199]

[0200] 일부 구현예에서, 링커는 아마이드, 카르보닐, 알킬, 올리고에틸렌 글리콜 모이어티, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0201] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 siRNA는 아래에 도시된 갈락토오스 구조에 접합될 수 있다:

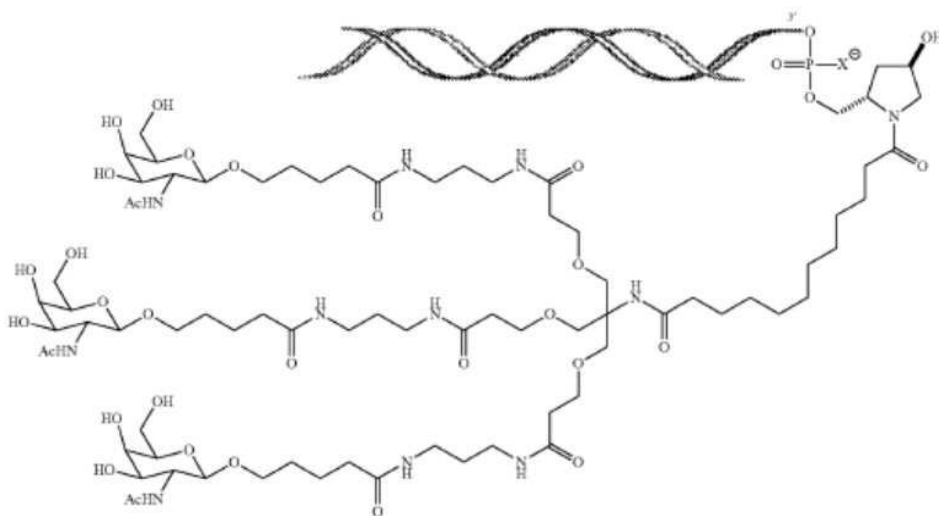


[0202]

[0203] 일부 구현예에서, 링커는 아마이드, 카르보닐, 알킬, 올리고에틸렌 글리콜 모이어티, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0204] GalNAc 리간드를 합성하는 방법, GalNAc 리간드를 억제 RNA에 접합하는 방법, 및 추가 GalNAc 리간드는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로서 통합되는 W02017/021385, W02017/178656, W02018/215391, W02019/145543, W02017/084987, W02017/055423, 및 W02012/083046에 기술된 것들을 포함한다.

[0205] 일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 아래에 도시된 바와 같이 리간드에 접합된다.

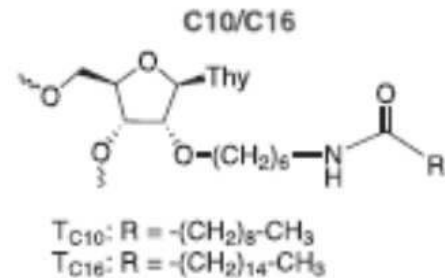


[0206]

[0207] 그리고, 여기에서 X는 O 또는 S이다. 대부분의 구현예에서, X는 O이다. 당업자는 갈락토오스 클러스터를 인산염기에 연결하는 연결 모이어티의 구조는 변할 수 있음을 이해할 것이다.

[0208]

특정 구현예에서, 모이어티는 친유성 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 토크페를, 예를 들어 알파-토크페를 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 콜레스테롤을 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 화합물은 알킬 또는 헤테로알킬기를 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 화합물은 팔미토일, 헥사텍-8-엔오일, 올레일, (9E,12E)-옥타데카-9,12-디엔오일, 디옥타노일, 또는 C16-C20 아실을 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 적어도 16개의 탄소 원자를 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 $-(CH)_n-NH-(C=O)-(CH)_m-CH_3$ 을 포함한다. 일부 구현예에서, n 및 m은 각각 독립적으로 1 내지 20이다. 일부 구현예에서, n + m은 적어도 10, 12, 14, 또는 16이다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 아래에 도시된 바와 같고/같거나 아래에 도시된 바와 같이 당 모이어티에 부착된다.



[0209]

[0210]

대체적으로, 모이어티는 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 말단 또는 내부 하위단위에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 모이어티는 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 변형된 하위단위에 부착된다. 당업자는 접합된 모이어티를 갖는 핵산을 제조하기 위한 적절한 방법을 알고 있다. 반응성 작용기를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 가닥은 제2 반응성 작용기를 포함하는 모이어티와 반응할 수 있으며, 여기에서 제1 및 제2 반응성 작용기는 핵산 가닥의 구조를 유지하는 것과 양립 가능한 조건 하에서 서로 반응할 수 있다. 일부 구현예에서, 모이어티는 상보성 안티센스 또는 센스 가닥과의 가닥의 혼성화 이전에 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 각각 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 가닥은 모이어티의 혼입 전에 이중체를 형성하도록 혼성화될 수 있다. 대체적으로, 본원에 기술된 다양한 접합 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, Hermanson, G., Bioconjugate Techniques, 제2판, Academic Press, San Diego, 2008를 참조한다.

[0211]

일부 구현예에서, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 키메라 siRNA이다. 본원에서 사용되는 "키메라" siRNA는 각각 적어도 하나의 단량체 단위로 이루어진 2개 이상의 화학적으로 구별되는 영역을 함유하는 siRNA이며, 여기에서 영역은 화합물에 구별되는 특성을 부여한다. 일부 구현예에서, 뉴클레아제 분해에 대한 siRNA의 증가된 내성, 증가된 세포 흡수, 및/또는 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화도를 부여하기 위해 적어도 하나의 영역이 변형되고, siRNA의 적어도 하나의 추가 영역은 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 하이브리드를 절단할 수 있는 효소(예를 들어, RNase H)에 대한 기질로서 기능할 수 있다. 일부 구현예에서, siRNA의 적어도 하나의 영역은 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 하이브리드를 절단할 수 있는 효소(예를 들어, RNase H)에 대한 기질로서 기능할 수 있고, 적어도 하나의 영역은 입체 차단에 의해 번역을 억제할 수 있다.

[0212]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 어닐링된 이중체 siRNA로서 표적 세포에 도입될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(예를 들어, siRNA)는 단일 가닥 센스 및 안티센스 핵산 서열로서 표적 세포에 도입되고, 표적 세포 내에서 어닐링되면 억제 RNA(예를 들어, siRNA) 이중체를 형성한다. 대안적으로, 억제 RNA(예를 들어, siRNA)의 센스 및 안티센스 가닥은 표적 세포에 도입되는 발현 벡터(예컨대, 본원에 기술된 발현 벡터)에 의해 암호화될 수 있다. 표적 세포 내에서 발현될 때, 전사된 센스 및 안티센스 가닥은 어닐링되어 억제 RNA(예를 들어, siRNA)를 재구성할 수 있다.

[0213]

본원에 기술된 억제 RNA(예를 들어, siRNA 또는 miRNA, 또는n siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 당업계에 공지된 표준 방법에 의해, 예를 들어, 자동화된 합성기의 사용에 의해 합성될 수 있다. 이러한 방법에 의해 생성된 RNA는 고도로 순수한 경향을 가지며, 효율적으로 어닐링되어 억제 RNA(예를 들어, siRNA) 이중체를 형성한다. 화학적 합성 후, 단일 가닥 RNA 분자는 탈보호되고, 어닐링되어 siRNA를 형성하고, (예를 들어, 겔 전기영동 또는 HPLC에 의해) 정제될 수 있다. 대안적으로, 표준 절차는, 예를 들어, 하나 이상의 RNA 중합효소 프로모터 서열(예를 들어, T7 또는 SP6 RNA 중합효소 프로모터 서열)을 운반하는 DNA 템플릿으로부터의 RNA의 시험관 내 전사에 사용될 수 있다. T7 RNA 중합효소를 사용하는 siRNA의 제조를 위한 프로토콜은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, Donze 및 Picard, Nucleic Acids Res. 2002; 30:e46; 및 Yu 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99:6047-6052 참조). 센스 및 안티센스 전사물은 2개의 독립적인 반응

에서 합성된 이후 어닐링될 수 있거나, 단일 반응에서 동시에 합성될 수 있다.

[0214] 억제 RNA(예를 들어, siRNA 또는 miRNA)는 또한 세포 내로 도입된 발현 작제물로부터의 RNA의 전사에 의해 세포 내에 형성될 수 있다(예를 들어, Yu 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99:6047-6052 참조). 억제 RNA(예를 들어, siRNA) 분자의 생체 내 생성을 위한 발현 작제물은, 예를 들어, 프로모터 요소 및 전사 종결 신호를 포함하는, siRNA 암호화 서열(들)의 적절한 전사에 필요한 요소에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 siRNA 암호화 서열을 포함할 수 있다. 이러한 발현 작제물에 사용하기 위한 바람직한 프로모터는 중합효소-III HI-RNA 프로모터(예를 들어, Brummelkamp 등, Science 2002; 296:550-553 참조) 및 U6 중합효소-III 프로모터(예를 들어, Sui 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; Paul 등, Nature Biotechnol. 2002; 20:505-508; 및 Yu 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99:6047-6052 참조)를 포함한다. siRNA 발현 작제물은 발현 작제물의 클로닝을 용이하게 하는 하나 이상의 벡터 서열을 추가로 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 표준 벡터는, 예를 들어, pSilencer 2.0-U6 벡터(Ambion Inc., Austin, Tex.)를 포함한다.

[0215] VI. 발현 벡터

[0216] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA는 발현 벡터를 사용하여 대상체에게 (예를 들어, 대상체의 세포, 예를 들어, 대상체의 간 세포에) 전달된다. 많은 형태의 벡터가 본원에 기술된 억제 RNA를 전달하는 데 사용될 수 있다. 발현 벡터의 비제한적인 예는 바이러스 벡터(예를 들어, 유전자 요법에 적합한 벡터), 플라스미드 벡터, 박테리오파지 벡터, 코스미드, 파지미드, 인공 염색체 등을 포함한다.

[0217] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 바이러스 벡터에 통합된다. 바이러스 벡터의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 레트로바이러스(예를 들어, 몰로니(Moloney) 쫓과 백혈병 바이러스(MMLV), 하비(Harvey) 쫓과 육종 바이러스, 쫓과 유방 종양 바이러스, 루스(Rous) 육종 바이러스), 아데노 바이러스, 아데노-연관 바이러스, SV40-유형 바이러스, 폴리오마바이러스, 엡스타인-바(Epstein-Barr) 바이러스, 유두종 바이러스, 헤르페스 바이러스, 우두 바이러스, 및 폴리오바이러스.

[0218] 생체 내에서, C3을 포함하는 많은 보체 단백질은 주로 간에서 합성된다. 이와 같이, 일부 구현예에서, 간세포는 본원에 기술된 억제 RNA의 전달을 위해 표적화된다. 바이러스 벡터의 여러 부류는, 레트로바이러스 벡터(예를 들어, Axelrod 등, PNAS 87:5173-5177 (1990); Kay 등, Hum. Gene Ther. 3:641-647 (1992); Van den Driessche 등, PNAS 96:10379-10384 (1999); Xu 등, ASAIJ J. 49:407-416 (2003); 및 Xu 등, PNAS 102:6080-6085 (2005) 참조), 렌티바이러스 벡터(예를 들어, McKay 등, Curr. Pharm. Des. 17:2528-2541 (2011); Brown 등, Blood 109:2797-2805 (2007); 및 Matrai 등, Hepatology 53:1696-1707 (2011) 참조), 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터(예를 들어, Herzog 등, Blood 91:4600-4607 (1998) 참조), 및 아데노바이러스 벡터(예를 들어, Brown 등, Blood 103:804-810 (2004) 및 Ehrhardt 등, Blood 99:3923-3930 (2002) 참조)를 포함하는 유전자 요법 작제물의 간 표적화 전달에 적합한 것으로 나타났다.

[0219] 레트로바이러스는 레트로바이러스 바이러스 계열에 속하는 외피로 덮인 바이러스이다. 일단 숙주의 세포에 존재하게 되면, 이 바이러스는 바이러스 역전사효소를 사용하여 바이러스의 RNA를 DNA로 전사함으로써 바이러스를 복제한다. 레트로바이러스 DNA는 숙주 게놈의 일부로서 복제되고, 프로바이러스로서 치장된다. 선택된 핵산은 벡터 내에 삽입되고 당염계에 공지된 기술을 사용하여 레트로바이러스 입자로 포장될 수 있다. 복제-결핍 레트로바이러스의 생성을 위한 프로토콜은 당염계에 공지되어 있다(예를 들어, Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W.H. Freeman Co., New York (1990) 및 Murry, E. J., Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991) 참조). 그런 다음, 재조합 바이러스를 분리하여 생체 내 또는 생체 외 대상체의 세포에 전달할 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 당염계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 미국 특허 제5,994,136호, 제6,165,782호 및 제6,428,953호를 참조한다. 레트로바이러스는 알파레트로바이러스속(예를 들어, 조류 백혈병 바이러스), 베타레트로바이러스속(예를 들어, 마우스 유방 종양 바이러스), 델타레트로바이러스속(예를 들어, 소 백혈병 바이러스 및 인간 T-림프자극성 바이러스), 엡실론레트로바이러스속(예를 들어, 월아이(Walleye) 진피 육종 바이러스) 및 렌티바이러스속을 포함한다.

[0220] 일부 구현예에서, 레트로바이러스는 레트로바이러스 계열의 렌티바이러스이다. 렌티바이러스 벡터는 비증식 세포를 형질도입하고 낮은 면역원성을 나타낼 수 있다. 일부 예에서, 렌티바이러스는 인간 면역결핍 바이러스(HIV-1 및 HIV-2), 시미안 면역결핍 바이러스(SIV), 고양이 면역결핍 바이러스(FIV), 말 감염 빈혈(EIA), 및 비스나 바이러스이지만, 이에 한정되지 않는다. 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 생체 내에서 상당한 수준의 핵산 전달을 달성할 수 있다.

- [0221] 일부 구현예에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터이다. 아데노바이러스는 이중 가닥 DNA를 함유하는 방대한 바이러스 계열이다. 이들은 숙주의 세포 기계를 사용하여 숙주 세포의 핵 내에서 복제하여 바이러스 RNA, DNA 및 단백질을 합성한다. 아데노바이러스는 복제 세포 및 비복제 세포 모두에 영향을 미치고, 큰 이식유전자를 수용하며, 숙주 세포 계층 내에 통합하지 않고 단백질을 코딩하는 것으로 당업계에 알려져 있다.
- [0222] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터는 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터이다. AAV 시스템은 대체적으로 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, Kelleher 및 Vos, *Biotechniques*, 17(6):1110-17 (1994); Cotten 등, *P.N.A.S. U.S.A.*, 89(13):6094-98 (1992); Curiel, *Nat Immun*, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, *Curr Top Microbiol Immunol*, 158:97-129 (1992); 및 Asokan A 등, *Mol. Ther.*, 20(4):699-708 (2012) 참조). 제조할 AAV(rAAV) 벡터를 생성하고 사용하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,139,941호 및 제4,797,368호에 기술되어 있다.
- [0223] AAV1, AAV2, AAV3(예를 들어, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, 및 AAV11뿐만 아니라 이들의 변이체를 포함하는 여러 AAV 혈청형을 특성화하였다. 대체적으로, 임의의 AAV 혈청형은 본원에 기술된 억제 RNA를 전달하는 데 사용될 수 있다. 그러나, 혈청형은 상이한 항성을 가지며, 예를 들어, 이들은 상이한 조직을 우선적으로 감염시킨다. 일 구현예에서, 보체 단백질은 간에서 생성되기 때문에, AAV 혈청형은 적어도 혈청형 AAV2, AAV3(예를 들어, AAV3B), AAV5, AAV7, AAV8, 및 AAV9에서 발견되는 간 항성에 기초하여 선택된다(예를 들어, Shaoyong 등, *Mol. Ther.* 23:1867-1876 (2015) 참조).
- [0224] rAAV 벡터의 AAV 서열은 일반적으로 cis-작용 5' 및 3' 역위 말단 반복 서열을 포함한다(예를 들어, B. J. Carter, "Handbook of Parvoviruses", P. Tijsser 편집, CRC Press, pp. 155 168 (1990) 참조). ITR 서열은 약 145 bp의 길이이다. 일부 구현예에서, 다수의 변형이 허용되지만, 실질적으로 ITR을 암호화하는 전체 서열이 rAAV 벡터에 사용된다. 이들 ITR 서열을 변형하는 능력은 당업자의 기술 내에 있다 (예를 들어, Sambrook 등, "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 제2판, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); 및 K. Fisher 등, *J Virol.*, 70:520 532 (1996)과 같은 문헌 참조). 본 개시의 rAAV 벡터의 예는, 선택된 이식 유전자 서열 및 연관된 조절 요소가 5' 및 3' AAV ITR 서열의 측면에 위치하는 이식 유전자(예를 들어, 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 핵산)를 함유하는 "cis-작용" 플라스미드이다. AAV ITR 서열은 현재 식별된 포유류 AAV 유형을 포함하는 임의의 공지된 AAV로부터 수득될 수 있다.
- [0225] rAAV 벡터에 대해 위에서 식별된 주요 요소에 더하여, 벡터는 또한 벡터로 형질감염되거나 본 개시에 의해 생성된 바이러스로 감염된 세포에서의 이식유전자의 전사, 번역 및/또는 발현을 허용하는 방식으로 이식유전자에 작동가능하게 연결된 종래의 조절 요소를 포함할 수 있다. 발현 조절 서열은, 적절한 전사 개시, 종결, 프로모터 및 인핸서 서열; 스플라이싱 및 폴리아데닐화(polyA) 신호와 같은 효율적인 RNA 처리 신호; 세포질 mRNA를 안정화하는 서열; 번역 효율을 향상시키는 서열(즉, 코작(Kozak) 컨센서스 서열); 단백질 안정성을 향상시키는 서열; 및 원하는 경우, 암호화된 산물의 분비를 향상시키는 서열을 포함한다. 천연, 구성적, 유도성 및/또는 조직 특이적인 프로모터를 포함하는 다수의 발현 조절 서열이 당업계에 공지되어 있고, 본원에 기술된 벡터에 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 작동가능하게 연결된 코딩 서열은 기능적 RNA(예를 들어, miRNA 또는 siRNA)를 생성한다.
- [0226] 구성적 프로모터의 예는, (RSV 인핸서와 함께 선택적으로) 레트로바이러스 루스 육종 바이러스(RSV) LTR 프로모터, (CMV 인핸서와 함께 선택적으로) 시토메갈로바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, 및 디히드로폴레이트 리덕타아제 프로모터를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 유도성 프로모터는 유전자 발현의 조절을 가능하게 하고, 외생적으로 공급된 화합물, 온도와 같은 환경 요인에 의해서만, 또는 특정 생리학적 상태, 예를 들어, 급성기, 세포의 특정 분화 상태, 또는 복제 세포에서만 조절될 수 있다. 유도성 프로모터 및 유도성 시스템은 Invitrogen, Clontech 및 Ariad를 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 상업적 공급원으로부터 이용 가능하다. 다수의 다른 시스템이 기술되었고 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있다. 외인성으로 공급된 프로모터에 의해 조절되는 유도성 프로모터의 예는, 아연-유도성 양 메탈로티오닌(MT) 프로모터, 텍사메타손(Dex)-유도성 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV) 프로모터, T7 중합효소 프로모터 시스템, 엑디손 곤충 프로모터, 테트라시클린-억제성 시스템, 테트라시클린-유도성 시스템, RU486-유도성 시스템 및 라파마이신-유도성 시스템을 포함한다. 이러한 맥락에서 유용할 수 있는 또 다른 유형의 유도성 프로모터는 특정 생리학적 상태, 예를 들어, 온도, 급성기, 세포의 특정 분화 상태, 또는 세포 복제에 의해서만 조절되는 것들이다. 또 다른 구현예에서, 이식 유전자에 대한 천연 프로모터 또는 이의 단편이 사용된다. 추가의 구현예에서, 다른 자연 발현 조절 요소, 예컨대 인핸서 요소, 폴리아데닐화 부위 또는 코작 컨센서스 서열이 또한 자연 발현을 모방하기 위해 사용될 수 있다.
- [0227] 일부 구현예에서, 조절 서열은 조직 특이적 유전자 발현 능력을 부여한다. 일부 경우, 조직 특이적 조절 서열은

조직 특이적 방식으로 전사를 유도하는 조직 특이적 전사 인자에 결합한다. 이러한 조직 특이적 조절 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서 등)은 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 프로모터는 β -액틴 프로모터, pol II 프로모터, 또는 pol III 프로모터이다.

[0228] 일부 구현예에서, rAAV는 본원에 기술된 억제 RNA를 간세포에서 발현하도록 설계되고, rAAV는 간 세포에 대한 억제 RNA의 발현을 실질적으로 제한하는 하나 이상의 간 특이적 조절 요소를 포함한다. 대체적으로, 간 특이적 조절 요소는 간에서 독점적으로 발현되는 것으로 알려진 임의의 유전자로부터 유래될 수 있다. WO2009/130208은 간 특이적 방식으로 발현된, 세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A 멤버 1(또한 α -항트립신(SERPINA1; GeneID 5265로 알려짐), 아포지질단백질 C-I(APOC1; GeneID 341), 아포지질단백질 C-IV(APOC4; GeneID 346), 아포지질단백질 H(APOH; GeneID 350), 트랜스티레틴(TTR; GeneID 7276), 알부민(ALB; GeneID 213), 알도라아제 B(ALDOB; GeneID 229), 시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 E, 폴리펩티드 1(CYP2E1; GeneID 1571), 피브리노겐 알파 사슬(FGA; GeneID 2243), 트랜스페린(TF; GeneID 7018), 및 합토글로빈 관련 단백질(HPR; GeneID 3250)을 포함하는 여러 유전자를 식별한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바이러스 벡터는 이들 단백질 중 하나 이상의 게놈 유전자좌로부터 유래된 간 특이적 조절 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 프로모터는 간 특이적 프로모터 티록신 결합 글로불린(TBG)일 수 있다. 대안적으로, 다른 간 특이적 프로모터(예를 들어, The Liver Specific Gene Promoter Database, Cold Spring Harbor, <http://rulai.cshl.edu/LSPD/> 참조, 예컨대, 예를 들어 알파 1 항-트립신(A1AT); 인간 알부민(Miyatake 등, J. Virol. 71:5124-32 (1997)); humA1b; 헤파티티스 B 바이러스 코어 프로모터(Sandig 등, Gene Ther. 3:1002-9 (1996)); 또는 LSP1. 추가적인 벡터 및 조절 요소는, 예를 들어 Baruteau 등, J. Inherit. Metab. Dis. 40:497-517 (2017)에 기술되어 있음)를 사용할 수 있다.

[0229] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터(예를 들어, rAAV 벡터)는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 DNA 서열을 포함한다.

[0230] 일부 구현예에서, 벡터(예를 들어, 바이러스 벡터)는 C3 전사물의 표적 부분에 상보성인 핵산 가닥, 예를 들어, C3 mRNA(서열번호 75)를 포함하는 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상) miRNA 또는 siRNA를 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 다수의 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 각각의 뉴클레오타이드 서열은 본원에 기술된 상이한 억제 RNA를 암호화한다. 일부 구현예에서, 벡터는 적어도 2개의 상이한 억제 RNA를 암호화하는 다수의 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 여기에서 적어도 2개의 뉴클레오타이드 서열은 본원에 기술된 동일한 억제 RNA의 카피이다.

[0231] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 억제 RNA를 암호화하는 하나 이상의 서열에 추가하여, 벡터(예를 들어, 바이러스 벡터)는 하나 이상의 C3 억제제, 예를 들어, 본원에 기술된 C3 억제제를 암호화하는 하나 이상의 추가적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 예를 들어, C3 억제제는 폴리펩티드 억제제 및/또는 핵산 엡타머일 수 있다(예를 들어, 미국 특허 공개 제20030191084호 참조). 예시적인 폴리펩티드 억제제는, 콤프스타틴 유사체(예를 들어, 유전적으로 암호화 가능한 아미노산을 포함하는 본원에 기술된 콤프스타틴 유사체), 항-C3 또는 항-C3b 항체(예를 들어, scFv 또는 단일 도메인 항체, 예를 들어, 나노바디), C3 또는 C3b를 분해하는 효소(예를 들어, 미국 특허 제6,676,943호 참조), 또는 포유류 보체 조절 단백질(예를 들어, CR1, DAF, MCP, CFH, CFI, C1 억제제(C1-INH), 보체 수용체 1(sCR1)의 가용성 형태, TP10 또는 TP20(Avant Therapeutics), 또는 이의 일부를 포함한다. 추가적인 폴리펩티드 억제제는 소형 인자 H(예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제20150110766호 참조), 황색포도상구균 유래의 Efb 단백질 또는 보체 억제제(SCIN) 단백질, 또는 이의 변이체 또는 유도체 또는 모방체(예를 들어, 미국 특허 공개 제20140371133호 참조)를 포함한다.

[0232] 일부 구현예에서, 폴리펩티드 억제제는 숙주 세포로부터 발현된 폴리펩티드 억제제의 분비를 위한 분비 신호 서열에 연결된다.

[0233] VII. 발현 벡터의 생성

[0234] 발현 벡터, 예를 들어, rAAV를 수득하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 통상적으로, 방법은, AAV 캡시드 단백질 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 숙주 세포; 기능적 rep 유전자; AAV 역위 말단 반복체(ITR) 및 이식유전자로 이루어진 재조합 AAV 벡터; 및/또는 재조합 AAV 벡터를 AAV 캡시드 단백질 내로 포장할 수 있는 충분한 헬퍼 기능체를 배양하는 단계를 포함한다.

[0235] AAV 캡시드에서 rAAV 벡터를 포장하기 위해 숙주 세포에서 배양될 성분은 트랜스에서 숙주 세포에 제공될 수 있다. 대안적으로, 필요한 성분(예를 들어, 재조합 AAV 벡터, rep 서열, 캡 서열, 및/또는 헬퍼 기능체) 중 임의

의 하나 이상은 당업자에게 공지된 방법을 사용하여 필요한 성분 중 하나 이상을 함유하도록 조작된 안정적인 숙주 세포에 의해 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 안정적인 숙주 세포는 유도성 프로모터의 조절 하에 필요한 성분(들)을 함유한다. 다른 구현예에서, 필요한 성분(들)은 구성 프로모터의 조절 하에 있을 수 있다. 다른 구현예에서, 선택된 안정적인 숙주 세포는 구성 프로모터의 조절 하에 선택된 성분(들) 및 하나 이상의 유도성 프로모터의 조절 하에 선택된 다른 성분(들)을 함유할 수 있다. 예를 들어, (구성 프로모터의 조절 하에 E1 헬퍼 기능을 함유하는) 293 세포로부터 유래되지만, 유도성 프로모터의 조절 하에 rep 및/또는 cap 단백질을 함유하는 안정적인 숙주 세포가 생성될 수 있다. 다른 안정적인 숙주 세포는 통상적인 방법을 사용하여 당업자에 의해 생성될 수 있다.

[0236] 본 개시의 rAAV를 생성하는 데 필요한 제조합 AAV 벡터, rep 서열, cap 서열, 및 헬퍼 기능체는 임의의 적절한 유전적 요소(예를 들어, 벡터)를 사용하여 포장 숙주 세포에 전달될 수 있다. 선택된 유전적 요소는, 예를 들어, 유전자 조작, 제조합 조작, 및 합성 기술을 포함하는 핵산 조작의 기술로, 당업계에 공지된 임의의 적절한 방법에 의해 전달될 수 있다(예를 들어, Sambrook 등, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 참조). 유사하게, rAAV 비리온을 생성하는 방법은 공지되어 있고, 임의의 적절한 방법이 본 개시와 함께 사용될 수 있다(예를 들어, K. Fisher 등, *J. Virol.*, 70:520-532 (1993) 및 미국 특허 제5,478,745호 참조).

[0237] 일부 구현예에서, 제조합 AAV는 (예를 들어, 미국 특허 제6,001,650호에 기술된 바와 같은) 삼중 형질감염 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 일부 구현예에서, 제조합 AAV는 AAV 입자, AAV 헬퍼 기능 벡터, 및 부속 기능 벡터 내로 포장된 제조합 AAV 벡터(이식유전자 포함)로 숙주 세포를 형질감염시킴으로써 생성된다. AAV 헬퍼 기능 벡터는 "AAV 헬퍼 기능" 서열(즉, rep 및 cap)을 암호화하며, 이는 생산적인 AAV 복제 및 캡슐화를 위한 트랜스로 기능한다. 일부 구현예에서, AAV 헬퍼 기능 벡터는 임의의 검출 가능한 야생형 AAV 비리온(즉, 기능적 rep 및 cap 유전자를 함유하는 AAV 비리온)을 생성하지 않고 효율적인 AAV 벡터 생성을 지원한다. 본 개시와 함께 사용하기에 적합한 벡터의 비제한적인 예는 pHLP19(예를 들어, 미국 특허 제6,001,650호 참조) 및 pRep6cap6 벡터(예를 들어, 미국 특허 제6,156,303호 참조)를 포함한다. 부속 기능 벡터는 비-AAV 유래 바이러스 및/또는 AAV가 복제에 의존하는 세포 기능(즉, "부속 기능")에 대한 뉴클레오티드 서열을 암호화한다. 부속 기능은 AAV 유전자 전사의 활성화, 단계 특이적 AAV mRNA 스플라이싱, AAV DNA 복제, cap 발현 산물의 합성, 및 AAV 캡시드 어셈블리에 관여하는 모이어터를 포함하나 이에 한정되지 않는 AAV 복제에 필요한 기능을 포함한다. 바이러스 기반 부속 기능은 아데노바이러스, (단순 포진 바이러스 유형 1 이외의) 포진 바이러스, 및 우두 바이러스와 같은 임의의 공지된 헬퍼 바이러스로부터 유래될 수 있다.

[0238] 일부 구현예에서, 본 개시는 형질감염된 숙주 세포를 제공한다. 용어 "형질감염"은 세포에 의한 외래 DNA의 흡수를 지칭하기 위해 사용되며, 세포는 외인성 DNA가 세포 막 내부에 도입되었을 때 해당 세포는 "형질감염"되었다고 지칭한다. 다수의 형질감염 기술이 당업계에 대체적으로 공지되어 있다(예를 들어, Graham 등 (1973) *Virology*, 52:456; Sambrook 등 (1989) *Molecular Cloning, a laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Davis 등 (1986) *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; 및 Chu 등 (1981) *Gene* 13:197 참조). 이러한 기술은 뉴클레오티드 통합 벡터 및 다른 핵산 분자와 같은 하나 이상의 외인성 핵산을 적절한 숙주 세포 내로 도입하는 데 사용될 수 있다.

[0239] 일부 구현예에서, 숙주 세포는 포유류 세포이다. 숙주 세포는 AAV 헬퍼 작제물, AAV 미니유전자 플라스미드, 부속 기능 벡터, 및/또는 제조합 AAV의 생성과 연관된 다른 전달 DNA의 수용체로서 사용될 수 있다. 해당 용어는 형질감염된 원래 세포의 자손을 포함한다. 따라서, 본원에서 사용되는 "숙주 세포"는 외인성 DNA 서열로 형질감염된 세포를 지칭할 수 있다. 단일 부모 세포의 자손은 자연적, 우발적 또는 의도적인 돌연변이로 인해 반드시 원래 부모와 형태 또는 게놈 또는 총 DNA 보체가 완전히 동일할 수 있는 것은 아님을 이해할 것이다.

[0240] 대상체에게 전달하기에 적합한 AAV 바이러스 벡터를 생성하고 단리하기 위한 추가적인 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제7,790,449호; 미국 특허 제7,282,199호; WO2003/042397; WO2005/033321, WO2006/110689; 및 미국 특허 제7,588,772호에 기술되어 있다. 하나의 시스템에서, 생성자 세포주는 ITR이 측면에 위치한 이식유전자를 암호화하는 작제물 및 rep 및 cap을 암호화하는 작제물(들)로 일시적으로 형질감염된다. 또 다른 시스템에서, rep 및 cap을 안정적으로 공급하는 포장 세포주는 ITR이 측면에 위치하는 이식유전자를 암호화하는 작제물로 일시적으로 형질감염된다. 이들 시스템 각각에서, AAV 비리온은 헬퍼 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스 감염에 반응하여 생성되고, rAAV는 오염 바이러스로부터 분리된다. 다른 시스템은 AAV를 복구하기 위해 헬퍼 바이러스로의 감염을 필요로 하지 않는다 - 헬퍼 기능체(즉, 아데노바이러스 E1, E2a, VA, 및 E4 또는 헤르페스바이러스 UL5, UL8, UL52, 및 UL29, 및 헤르페스바이러스 중합효소)는 또한 시스템에 의해 트랜스로 공급된다. 이러한 시

시스템에서, 헬퍼 기능체를 암호화하는 작제물로 세포를 일시적으로 형질감염시킴으로써 헬퍼 기능을 공급하거나, 세포는 헬퍼 기능체를 암호화하는 유전자를 안정적으로 함유하도록 조작될 수 있으며, 이의 발현은 전사 또는 전사 후 수준에서 조절될 수 있다.

[0241] 또 다른 시스템에서, ITR 및 rep/cap 유전자가 측면에 위치한 이식유전자는 바클로바이러스 기반 벡터에 감염됨으로써 곤충 숙주 세포 내로 도입된다. 이러한 생성 시스템은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어 대체적으로, Zhang 등, 2009, Human Gene Therapy 20:922-929 참조). 이들 및 다른 AAV 생성 시스템의 제조 및 사용 방법은 또한 미국 특허 제5,139,941호; 제5,741,683호; 제6,057,152호; 제6,204,059호; 제6,268,213호; 제6,491,907호; 제6,660,514호; 제6,951,753호; 제7,094,604호; 제7,172,893호; 제7,201,898호; 제7,229,823호; 및 제7,439,065호에 기술되어 있다.

[0242] 재조합 벡터를 생성하기 위한 전술한 방법은 제한하려는 의도가 아니며, 다른 적절한 방법이 당업자에게 명백할 것이다.

[0243] VIII. 조성물 및 투여

[0244] 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA), 또는 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터는 보체 매개 질환 또는 장애, 예를 들어, 본원에 기술된 보체 매개 질환 또는 장애를 앓고 있거나 이에 걸리기 쉬운 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에 기술된 억제 RNA의 투여 경로 및/또는 방법은 원하는 결과에 따라 달라질 수 있다. 당업자, 즉, 의사는 원하는 반응, 예를 들어, 치료 반응을 제공하기 위해 투여량 처방이 조정될 수 있음을 인지하고 있다. 투여 방법은, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 경구, 설하, 뇌내, 경막내(예를 들어, 수조내 또는 요추 천자를 통해), 질내, 경피, 직장내, 흡입, 또는 국소, 특히 귀, 코, 눈, 또는 피부를 통하는 방법 등이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 억제 RNA의 조성물은, 예를 들어, 뇌실내 투여를 통해 중추 신경계(CNS)에 전달된다. 투여 모드는 실무자의 재량에 달려 있다.

[0245] 당업자는 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA), 또는 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터는, 다발성 경화증, 파킨슨병, 헌팅턴병, 알츠하이머병, 다른 만성 탈수초성 질환(예를 들어, 시신경 수초), 근위축성 측삭 경화증, 만성 통증, 뇌졸중, 알레르기성 신경염, 진행성 핵상 마비, 루이소체 치매(즉, 루이소체를 동반한 치매 또는 파킨슨병 치매), 전두측두엽 치매, 외상성 뇌 손상, 외상성 척수 손상, 다계통 위축증, 만성 외상성 뇌병증, 크로이츠펠트-야콥병 및 연수막 전이와 같은 CNS에 영향을 미치는 질환 또는 장애를 치료하기 위해 CNS에 (예를 들어, 척추강내 투여를 통해) 전달될 수 있다.

[0246] 본원에 기술된 억제 RNA(예를 들어, siRNA)를 세포에 전달하는 것은 다수의 상이한 방식으로 이루어질 수 있다. 생체 내 전달은 억제 RNA를 포함하는 조성물을, 예를 들어, 비경구 투여 경로, 예컨대 피하 또는 정맥내 또는 근육내 투여로 대상체에게 투여함으로써 수행될 수 있다.

[0247] 일부 구현예에서, 억제 RNA는 전달제와 연관된다. "전달제"는, 억제 RNA와 비공유 또는 공유 연관되거나, 억제 RNA와 공동 투여되고, 전달제의 부재 하에 생물학적 활성제가 전달되는 경우(예를 들어, 대상체에게 투여되는 경우) 그 결과보다 생물학적 활성제의 안정성 및/또는 효능을 증가시키는 하나 이상의 기능을 제공하는 물질 또는 엔티티를 지칭한다. 예를 들어, 전달제는 억제 RNA를 분해로부터 (예를 들어, 혈액 내에서) 보호할 수 있고, 억제 RNA의 세포 내로의 진입 또는 관심 세포 구획(예를 들어, 세포질) 내로의 진입을 용이하게 할 수 있고/있거나, 조절될 분자 표적을 함유하는 특정 세포와의 연관성을 향상시킬 수 있다. 당업자는 억제 RNA, 예를 들어 siRNA를 전달하는 데 사용될 수 있는 다수의 전달제를 인지할 것이다. Kanasty, R. 등, Nat Mater. 12(11):967-77 (2013)을 참고하여 이들 기술 중 일부를 검토하도록 한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 억제 RNA를 전신에 투여하기 위해, 억제 RNA는 나노입자, 덴드리머, 중합체, 리포솜, 또는 양이온성 전달 시스템과 같은 전달제와 연관될 수 있다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 양으로 하전된 양이온성 전달 시스템은 음으로 하전된 억제 RNA의 결합을 용이하게 하고, 또한 음으로 하전된 세포막에서의 상호작용을 향상시켜 세포에 의한 억제 RNA의 효율적인 흡수를 가능하게 하는 것으로 여겨진다. 지질(예를 들어, 양이온성 지질, 또는 중성 지질), 덴드리머, 또는 중합체는 억제 RNA에 결합될 수 있거나, 억제 RNA를 캡슐화하는 소포 또는 미셀(micelle)을 형성할 수 있다. 양이온성 제제 및 억제 RNA를 포함하는 복합체를 제조하고 투여하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 미국 특허 공개 제20160298124호에 기술된 전달제 중 어느 하나를 사용하는 것이 특히 고려된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 전신 투여를 위해 시클로텍스트린과 복합체를 형성한다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 지질 또는 지질 함유 입자와 함께 연관되어 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 양이온성 중합체(폴리펩티드 또는 비-폴리펩티드 중합체일 수 있음), 지질, 펩티드, PEG, 시클로텍스트린, 또는 이

의 조합과 함께 연관되어 투여되며, 이는 나노입자 또는 미립자의 형태일 수 있다. 지질 또는 펩티드는 양이온성일 수 있다. "나노입자"는 1 나노미터(nm) 초과, 약 150 nm 미만, 예를 들어, 20 nm 내지 50 nm 또는 50 nm 내지 100 nm 미만의 2차원 또는 3차원의 길이를 갖는 입자를 지칭한다. "미립자"는 150 nm 초과 및 약 1000 nm 미만의 2차원 또는 3차원의 길이를 갖는 입자를 지칭한다. 나노입자는 이에 공유 또는 비공유 부착된 표적화 모이어티 및/또는 세포 침투 모이어티 또는 막 활성 모이어티를 가질 수 있다. 지질 나노입자와 같은 나노입자는, 예를 들어, Tatiparti 등, Nanomaterials 7:77(2017)에 기술되어 있다. 예시적인 전달제, 제조 방법 및 억제 RNA의 전달에 사용되는 방법은 미국 특허 제7,427,605호; 제8,158,601호; 제9,012,498호; 제9,415,109호; 제9,062,021호; 제9,402,816호에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 당업계에 "스마티클(Smarticle)"로 알려진 전달 기술을 사용하는 것이 고려된다. 일부 구현예에서, 당업계에 "안정성 핵산 지질 입자"(SNALP)로 알려진 전달 기술을 사용하는 것이 고려되며, 여기에서 전달하고자 하는 핵산은 중성, 친수성 외부를 제공하는 확산성 폴리 에틸렌 글리콜-지질(PEG-지질) 접합체로 또한 코팅된 양이온성 및 약성 지질의 혼합물을 함유하는 지질 이중층에 캡슐화된다.

[0248] 일부 구현예에서, 전달제는 미국 특허 제9,044,512호에 기술된 것들과 같은 하나 이상의 아미노 알코올 양이온성 지질을 포함한다.

[0249] 일부 구현예에서, 전달제는 하나 이상의 아미노산 지질을 포함한다. 아미노산 지질은 아미노산 잔기(예를 들어, 아르기닌, 호모아르기닌, 노르아르기닌, 노르-노르아르기닌, 오르니틴, 리신, 호모리신, 히스티딘, 1-메틸히스티딘, 피리딜알라닌, 아스파라긴, N-에틸아스파라긴, 글루타민, 4-아미노페닐알라닌, 이의 N-메틸화 버전, 및 이의 측쇄 변형 유도체) 및 하나 이상의 친유성 꼬리를 함유하는 분자이다. 예시적인 아미노산 지질 및 핵산을 전달하기 위한 이들의 용도는 미국 특허 출원 공개 제20110117125호 및 미국 특허 제8,877,729호, 제9,139,554호, 및 제9,339,461호에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 미국 특허 출원 공개 제20130289207호에 기술된 것과 같은 막 용해성 폴리(아미도 아민) 중합체 및 폴리접합체가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 전달제는 중앙 펩티드를 포함하고 각 말단에 부착된 친유성 기를 갖는 리포펩티드 화합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 기는 자연적으로 발생하는 지질로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 친유성 기는 C(1-22)알킬, C(6-12)시클로알킬, C(6-12)시클로알킬-알킬, C(3-18)알케닐, C(3-18)알키닐, C(1-5)알콕시-C(1-5)알킬, 또는 스펡가닌, 또는 (2R,3R)-2-아미노-1,3-옥타데칸디올, 이코사스핑가닌, 스펡고신, 파이토스핑고신, 또는 cis-4-스핑게닌을 포함할 수 있다. 중앙 펩티드는 양이온성 또는 양친매성 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 리포펩티드의 예 및 핵산을 전달하기 위한 이들의 용도는, 예를 들어, 미국 특허 제9,220,785호에 기술되어 있다.

[0250] "마스킹 모이어티"는, 다른 제제(예를 들어, 중합체)와 물리적으로 연관될 경우, 하나 이상의 특성(생물리학적 또는 생화학적 특성) 또는 제제의 활성을 차폐, 억제 또는 불활성화시키는 분자 또는 기를 의미한다. 일부 구현예에서, 마스킹 모이어티는 억제 RNA에 공유 또는 비공유 부착될 수 있다. 마스킹 모이어티는 가역적일 수 있으며, 이는 가역 연결을 통해 마스킹하는 억제 RNA에 부착된다는 것을 의미한다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 원하는 수준의 불활성화를 달성하기 위해 충분한 수의 마스킹 모이어티가 마스킹된 억제 RNA에 연결된다.

[0251] 일부 구현예에서, 억제 RNA는, 중합체인 전달제에 접합된다. 유용한 전달 중합체는, 예를 들어, 폴리(아크릴레이트) 중합체(예를 들어, 미국 특허 공개 제20150104408호), 폴리(비닐 에스테르) 중합체(예를 들어, 미국 특허 공개 제20150110732호) 및 특정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 전달 중합체는 가역적으로 마스킹된 막 활성 중합체이다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 또는 중합체, 또는 둘 모두는 이에 접합된 표적화 모이어티를 갖는다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 또는 억제 RNA-표적화 모이어티 접합체는 전달 중합체와 함께 공동 투여되지만 중합체에 접합되지는 않는다. 이러한 맥락에서 "공동 투여"는 억제 RNA 및 전달 중합체가 중첩 기간 동안 대상체에 존재하도록 대상체에게 투여된다는 것을 의미한다. 억제 RNA-표적화 모이어티 접합체 및 전달 중합체는 동시에 투여되거나 순차적으로 전달될 수 있다. 동시 투여의 경우, 이들은 투여 전에 혼합될 수 있다. 순차 투여의 경우, 억제 RNA 또는 전달 중합체 중 하나가 먼저 투여될 수 있다. 억제 RNA 및 전달 중합체는 동일한 조성물로 투여될 수 있거나, 억제 RNA의 세포로의 세포질 전달이 중합체의 투여 없이 발생할 세포질 전달에 비해 향상되도록, 시간적으로 충분히 가깝게 개별적으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 및 전달 중합체는 15분, 30분, 60분, 또는 120분 이하의 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 전달 중합체는 표적화되고, 가역적으로 마스킹된 막 활성 중합체이다. 중합체는 억제 RNA의 향상된 세포질 전달이 필요한 세포에 중합체를 표적화하는 표적화 모이어티를 이에 부착한다. 억제 RNA는 선택적으로 동일한 표적화 모이어티를 사용하여 동일한 세포에 표적화될 수 있다. 즉, 억제 RNA는 억제 RNA-표적화 모이어티 접합체로서 투여될 수 있다. 본원에서 사용되는, 막 활성 중합체는 생물학적 막에 대해 다음의 효과 중 하나 이상을 유도할 수 있는 표면 활성, 양친매성 중합체이다: 비-막 투과성 분자가 세포에 진입하거나 막을 통과할 수 있게 하는 막의 변경 또는 파괴, 막

의 기공 형성, 막의 분열, 또는 막의 파괴 또는 용해. 본원에서 사용되는, 막 또는 세포 막은 지질 이중층을 포함한다. 막의 변경 또는 파괴는 다음의 검정 중 적어도 하나에서의 중합체의 활성화에 의해 기능적으로 정의될 수 있다: 적혈구 용해(용혈), 리포솜 누출, 리포솜 융합, 세포 융합, 세포 용해, 및 엔도솜 방출. 막 활성화 중합체는, 예를 들어, 막 내에 기공을 형성하거나, 엔도솜 또는 리소솜 소포를 파괴함으로써 소포의 내용물이 세포 세포질 내로 방출될 수 있게 함으로써, 형질막 또는 내부 소포막(예컨대, 엔도솜 또는 리소솜)을 파괴하거나 불안정하게 함으로써, 세포로의 폴리뉴클레오티드 전달을 향상시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 표적화된 가역적으로 마스킹된 막 활성화 중합체는 엔도솜 용해성 중합체이다. 엔도솜 용해성 중합체는 pH 변화에 반응하여, 엔도솜의 파괴 또는 용해를 야기하거나, 그렇지 않은 경우 엔도솜 또는 리소솜과 같은 세포 내부 막-밀폐 소포로부터 폴리뉴클레오티드 또는 단백질과 같은 정상적으로 세포 막 불투과성 화합물의 방출을 제공할 수 있는 중합체이다. 일부 구현예에서, 중합체는 가역적으로 변형된 양친매성 막 활성화 폴리아민이며, 여기에서 가역적인 변형은 막 활성을 억제하고, 폴리아민을 중화시켜 양전하를 감소시키고, 거의 중성인 전하 중합체를 형성한다. 가역적 변형은 또한 세포 유형 특이적 표적화를 제공할 수 있고/있거나 중합체의 비-특이적 상호작용을 억제할 수 있다. 폴리아민은 폴리아민 상의 아민의 가역적 변형을 통해 가역적으로 변형될 수 있다. 가역적으로 마스킹된 막 활성화 중합체는 마스킹될 경우 실질적으로 막 활성이 아니지만, 마스킹이 해제될 경우 막 활성이 된다. 마스킹 모이어티는 대체적으로 생리학적으로 가역적인 연결을 통해 막 활성화 중합체에 공유 결합된다. 생리학적으로 가역적인 연결을 사용함으로써, 마스킹 모이어티는 생체 내에서 중합체로부터 절단될 수 있고, 이에 의해 중합체를 마스킹 해제하고 마스킹되지 않은 중합체의 활성을 회복시킬 수 있다. 적절한 가역적 연결을 선택함으로써, 막 활성화 중합체의 활성은 접합체가 원하는 세포 유형 또는 세포 위치로 전달되거나 표적화된 후에 회복된다. 연결의 가역성은 막 활성화 중합체의 선택적 활성화를 제공한다. 생리학적으로 가역적인 결합은, pH, 온도, 산화 또는 환원 조건 또는 제제, 및 포유류 세포에서 발견되는 것에서 발견되거나 포유류 세포와 유사한 염 농도와 같은 화학적 조건을 포함하는, 포유류 세포 내 조건 하에서 가역적이다. 일부 구현예에서, 표적화 모이어티, 예를 들어, ASGPR 표적화 모이어티는 마스킹 모이어티로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, ASGPR 표적화 모이어티는 이에 접합된 친유성 모이어티를 갖는다. 예시적인 표적화 모이어티(예를 들어, ASGPR 표적화 모이어티), 생리학적으로 불안정한 결합(예를 들어, 효소적으로 불안정한 결합, pH 불안정 결합), 마스킹 모이어티, 막 활성화 중합체(예를 들어, 내삼투압 활성화 중합체), 친유성 모이어티, RNAi 제제-표적화 모이어티 접합체, 전달제-표적화 모이어티 접합체, RNAi 제제를 포함하는 접합체, 표적화 모이어티, 및 전달제, 및 핵산을 세포(예를 들어, 간 세포)에 전달하는 방법은, 미국 특허 출원 공개 제20130245091호, 제20130317079호, 제20120157509호, 제20120165393호, 제20120172412호, 제20120230938호, 제20140135380호, 제20140135381호, 제20150104408호, 및 제20150110732호에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제20120165393호에 기술된 바와 같은, 펩티드와 함께 공동 투여될 수 있다. 억제 RNA, 펩티드, 또는 둘 모두는 선택적으로 가역적 연결을 통해 이에 접합된 표적화 모이어티를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 마스킹 모이어티는, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제20150110732호에 기술된 바와 같은, 디펩티드-아미도벤질-카르보네이트 또는 이치환된 말레산 무수물 마스킹 모이어티를 포함한다.

[0252] 일부 구현예에서, 억제 RNA는 "네이키드" 형태로 투여될 수 있다. 즉 전달제의 부재 하에 투여될 수 있다. 네이키드 억제 RNA는 적절한 완충액 중에 있을 수 있다. 완충액은, 예를 들어, 아세테이트, 시트레이트, 프로라민, 카르보네이트, 또는 인산염, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 완충액은 인산염 완충 식염수(PBS)이다. 완충액의 pH 및 삼투압농도는 대상체에게 투여하기에 적합하도록 조정될 수 있다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 지질 또는 지질 함유 입자와 물리적으로 연관되지 않고 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 나노입자 또는 미립자와 물리적으로 연관되지 않고 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 양이온성 중합체와 물리적으로 연관되지 않고 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 시클로텍스트린과 물리적으로 연관되지 않고 투여된다. 일부 구현예에서, "네이키드" 형태로 투여되는 억제 RNA는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0253] 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA), 또는 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터는 약학적 조성물에 혼입될 수 있다. 이러한 약학적 조성물은 무엇보다도 생체 내 또는 생체 외에서의 대상체에 대한 투여 및 전달에 사용된다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 또한 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 함유한다. 이러한 부형제는 임의의 약학적 제제, 예를 들어, 조성물을 투여받는 개체에게 유해한 면역 반응을 그 자체로 유도하지 않고, 과도한 독성 없이 투여될 수 있는 약학적 제제를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한" 및 "생리학적으로 허용 가능한"은 하나 이상의 투여 경로, 생체 내 전달 또는 접촉에 적합한 생물학적으로 허용 가능한 제형, 기체, 액체 또는 고체, 또는 이들의 혼합물을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 물, 식염수, 글리세롤, 당류 및 에탄올과 같은 액체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염, 예를 들어, 염산염, 히드로브로미드, 인산

염, 황산염 등과 같은 무기산 염; 및 아세테이트, 프로피오네이트, 말로네이트, 벤조에이트 등과 같은 유기산 염 또한 이에 포함될 수 있다. 또한, 습윤제 또는 유화제, pH 완충 물질 등과 같은 보조 물질이 이러한 비히클에 존재할 수 있다.

- [0254] 약학적 조성물은 염으로서 제공될 수 있고, 염산, 황산, 아세트산, 락트산, 타르타르산, 말산, 숙신산 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다수의 산으로 형성될 수 있다. 염은 이에 상응하는 유리 염기 형태보다 수성 용매 또는 다른 양성자성 용매에서 보다 가용성인 경향이 있다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 동결 건조된 분말일 수 있다.
- [0255] 약학적 조성물은 용매(수성 또는 비수성), 용액(수성 또는 비수성), 유화액(예를 들어, 수중유 또는 유중수), 현탁액, 시럽, 엘릭서, 분산액 및 현탁액 매체, 코팅, 등장성 및 흡수 촉진제 또는 지연제를 포함할 수 있고, 약학적 투여 또는 생체 내 접촉 또는 전달과 양립할 수 있다. 수성 및 비수성 용매, 용액 및 현탁액은 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있다. 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체는 (코팅된 또는 코팅되지 않은) 정제, (경질 또는 연질) 캡슐, 마이크로비드, 분말, 과립 및 결정체를 포함한다. 보충 활성 화합물(예를 들어, 보존제, 향균제, 항바이러스제 및 항진균제) 또한 조성물에 혼입될 수 있다.
- [0256] 약학적 조성물은 본원에 제시된 바와 같이 또는 당업자에게 공지된 바와 같이, 특정 투여 또는 전달 경로와 호환되도록 제형화될 수 있다. 따라서, 약학적 조성물은 다양한 경로로 투여하기에 적합한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함한다.
- [0257] 비경구 투여에 적합한 조성물은 활성 화합물의 수성 및 비수성 용액, 현탁액 또는 유화액을 포함할 수 있으며, 이들 제제는 일반적으로 멸균 상태이고 의도된 수용자의 혈액과 등장성일 수 있다. 비제한적인 예시적인 예는 물, 완충 식염수, 헵크스 용액, 링거 용액, 텍스트로오스, 과당, 에탄올, 동물, 야채 또는 합성 오일을 포함한다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨, 소르비톨, 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 또한, 활성 화합물의 현탁액은 적절한 오일 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적절한 친유성 용매 또는 비히클은 참기름과 같은 지방유, 또는 에틸 올레에이트 또는 중성지방과 같은 합성 지방산 에스테르, 또는 리포솜을 포함한다. 선택적으로, 현탁액은 또한 고농축 용액의 제조를 가능하게 하기 위해 용해도를 증가시키는 적절한 안정화제 또는 제제를 함유할 수 있다.
- [0258] 공용매 및 보조제가 제형에 첨가될 수 있다. 공용매의 비제한적인 예는, 히드록실기 또는 다른 극성기, 예를 들어 알코올, 에컨대, 이소프로필 알코올; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 글리콜 에테르; 글리세롤; 폴리옥시에틸렌 알코올 및 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르를 포함한다. 보조제는, 예를 들어, 대두 레시틴 및 올레산과 같은 계면활성제; 소르비탄 트리올레에이트와 같은 소르비탄 에스테르; 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다.
- [0259] 약학적 조성물이 제조된 후, 이는 적절한 용기에 보관될 수 있고 치료를 위해 표지될 수 있다. 이러한 표지는 투여량, 빈도 및 투여 방법을 포함할 수 있다.
- [0260] 본 개시의 조성물, 방법 및 용도에 적합한 약학적 조성물 및 전달 시스템은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 제21판, Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2005 참조).
- [0261] 본 개시는 또한 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA), 또는 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터를 세포 또는 동물에 도입하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은, 억제 RNA가 대상체(예를 들어, 대상체의 세포 또는 조직)에서 발현되도록, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 대상체(예를 들어, 대상체의 세포 또는 조직)와 접촉시키는 단계, 또는 이를 대상체(예를 들어, 포유동물과 같은 대상체)에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 방법은 억제 RNA가 개체에서 발현되도록, 개체(포유동물과 같은 환자 또는 대상체)의 세포에 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 제공하는 단계를 포함한다.
- [0262] 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터(예를 들어, rAAV 벡터))의 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에게 충분한거나 유효한 양으로 투여될 수 있다. 투여량은 다양할 수 있고, 치료가 유도되는 질환의 유형, 발병, 진행, 중증도, 빈도, 지속 기간, 또는 확률, 원하는 임상 결과변수, 이전 또는 동시 치료, 대상체의 전반적 건강, 나이, 성별, 인종 또는 면역학적 능력 및 당업자가 이해할 수 있는 다른 요인에 따라 달라질 수 있다. 투여량, 횟수, 빈도 또는 지속 기간은, 치료 또는 요법의

임의의 부작용, 합병증 또는 다른 위험 인자 및 대상체의 상태에 의해 표시되는 바에 따라, 비례적으로 증가되거나 감소될 수 있다. 당업자는 치료적 또는 예방적 이점을 제공하기에 충분한 양을 제공하는 데 필요한 투여량 및 시간에 영향을 미칠 수 있는 인자를 이해할 것이다.

[0263] 치료 효과를 달성하기 위한 투여량, 예를 들어, 체중 킬로그램 당 벡터 게놈 단위(vg/kg)(예를 들어, 벡터 기반 전달의 경우) 또는 체중 kg당 mg 단위(mg/kg)의 투여량은, 투여 경로, 치료 효과를 달성하는 데 필요한 억제 RNA 발현의 수준, 치료될 특정 질환, 바이러스 벡터에 대한 임의의 숙주 면역 반응, 이중 억제 RNA에 대한 숙주 면역 반응, 및 발현된 억제성 RNA의 안정성을 포함하되 이에 한정되지 않는 여러 인자에 기초하여 달라질 수 있다. 당업자는, 억제제 RNA의 벡터 기반 전달을 위해, 전술한 인자뿐만 아니라 다른 인자에 기초하여 특정 질환 또는 장애를 가진 환자를 치료하기 위한 rAAV/벡터 게놈 투여량 범위를 결정할 수 있다. 대체적으로, 투여량은 치료 효과를 달성하기 위해, 적어도 1×10^8 이상, 예를, 들어, 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} , 1×10^{13} , 1×10^{14} , 또는 그 이상의 대상체의 체중 킬로그램 당 벡터 게놈(vg/kg) 범위일 것이다.

[0264] 일부 구현예에서, 억제 RNA의 조성물은 0.01 mg/kg 내지 50 mg/kg의 양으로 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 조성물은 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 조성물은 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제성 RNA 조성물은 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2.0 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 3.5 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 또는 약 50 mg/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 양은 0.01 mg/kg 내지 0.1 mg/kg, 0.01 mg/kg 내지 0.1 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 1.0 mg/kg, 1.0 mg/kg 내지 2.5 mg/kg, 2.5 mg/kg 내지 5.0 mg/kg, 5.0 mg/kg 내지 10 mg/kg, 10 mg/kg 내지 20 mg/kg, 20 mg/kg 내지 30 mg/kg, 30 mg/kg 내지 40 mg/kg, 또는 40 mg/kg 내지 50 mg/kg이다. 일부 구현예에서, 고정 투여량이 투여된다. 일부 구현예에서, 투여량은 5 mg 내지 1.0 g, 예를 들어, 5 mg 내지 10 mg, 10 mg 내지 20 mg, 20 mg 내지 40 mg, 40 mg 내지 80 mg, 80 mg 내지 160 mg, 160 mg 내지 320 mg, 320 mg 내지 640 mg, 640 mg 내지 1 g 이다. 일부 구현예에서, 투여량은 약 1 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 또는 1000 mg이다. 일부 구현예에서, 투여량은 일일 투여량이다. 일부 구현예에서, 투여량은 적어도 2일, 예를 들어, 적어도 7일, 예를 들어, 약 2, 3, 4, 6 또는 8주의 투여 간격으로 투여 요법에 따라 투여된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 억제 RNA 조성물은 적어도 7일의 투여 간격으로 투여 요법에 따라 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 조성물은 매일, 매주, 매월, 또는 2, 3, 4, 5 또는 6개월 또는 그 이상마다 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 투여량 및/또는 투여 요법 중 어느 하나는 피하 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 조성물은 1회 투여되고, 억제 수준이 후속하여 측정되며, 일단 억제 수준이 특정 수준으로 감소하면, 억제 조성물의 후속 투여량이 투여된다.

[0265] 일부 구현예에서, 대상체는 투여 후 적어도 2일, 예를 들어, 적어도 7일, 예를 들어, 약 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 또는 20주의 기간 동안 (예를 들어, 간 조직 내, 예를 들어, 간 생검에서의) C3 mRNA 발현에 의해 측정된 지속적인 C3 억제를 나타낸다. 일부 구현예에서, 대상체는 혈청 C3의 감소된 수준을 나타내고, 혈청 C3의 감소된 수준은 투여 후 적어도 2일, 예를 들어, 적어도 7일, 예를 들어, 약 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 또는 20주의 기간 동안 유지된다.

[0266] 유효량 또는 충분한 양은 단일 투여로 제공될 수 있고(의무는 아님), 다회 투여가 필요할 수 있고, 단독으로 투여되거나 다른 조성물(예를 들어, 본원에 기술된 다른 보체 억제제)과 조합하여 투여될 수 있다(의무는 아님). 예를 들어, 양은 대상체의 필요성, 치료될 질환의 유형, 상태 및 중증도 또는 치료 부작용(존재하는 경우)으로 표시되는 것에 따라 비례적으로 증가될 수 있다. 효과적인 것으로 간주되는 양은 또한 본원에 기술된 또 다른 보체 억제제의 투여와 같은 또 다른 치료제, 치료 요법 또는 프로토콜의 사용을 감소시키는 양을 포함한다.

[0267] 따라서, 본 개시의 약학적 조성물은 의도된 치료 목적을 달성하기 위해 유효량으로 활성 성분이 함유된 조성물을 포함한다. 치료적 유효 투여량을 결정하는 것은 본 개시에서 제공된 기술 및 지침을 사용하는 숙련된 의료 전문가의 능력 범위 내에 있다. 치료적 투여량은, 다른 인자 중에서, 대상체의 연령 및 일반 상태, 보체 매개 질환 또는 장애의 중증도, 및 본원에 기술된 억제 RNA의 발현 수준을 조절하는 조절 서열의 강도에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인간에서의 치료적 유효량은, 벡터 기반 치료에 대한 개별 환자의 반응에 기초하여 의료 종사자에 의해 결정될 수 있는 비교적 넓은 범위 내에 있을 것이다. 약제학적 조성물은 유전자- 및/또는 세포-기반 요법에 의해 또는 환자 또는 공여자 세포의 생체 외 변형에 의해, 생체 내에서 본원에 기술된 억제 RNA의 생성

을 허용하도록 대상체에게 전달될 수 있다.

[0268] 본 개시의 방법 및 용도는 전신적으로, 부분적으로 또는 국부적으로, 또는 예를 들어, 주사 또는 주입에 의한 임의의 경로에 의한 전달 및 투여를 포함한다. 생체 내 약학적 조성물의 전달은 대체적으로 종래의 주사기를 사용하는 주사를 통해 이루어질 수 있지만, 대류 강화 전달과 같은 다른 전달 방법이 또한 사용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,720,720호 참조). 예를 들어, 조성물은 피하, 표피, 피내, 경막내, 안내, 점막내, 복강내, 정맥내, 홍맥내, 동맥내, 경구, 간내, 뇌실내(예를 들어, 뇌실내 주사를 통해), 문맥을 통해, 또는 근육내로 전달될 수 있다. 다른 투여 모드는 경구 및 폐 투여, 좌제, 및 경피 도포를 포함한다. 보체 매개 장애 환자의 치료에 특화된 임상적 의의는 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA), 또는 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터의 투여를 위한 최적 경로를 결정할 수 있다.

[0269] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 대상체에게 1일 1회, 매주, 2, 3 또는 4주마다, 또는 심지어 더 긴 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 (i) 1일 1회, 매주, 2, 3, 또는 4주마다, 또는 심지어 더 긴 간격으로 투여되는 초기 투여; 이어서 (ii) 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 또는 10개월, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10년의 미투여 기간을 포함하는 투여 요법에 따라 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터는 (i) 최대 2, 4 또는 6주의 초기 기간 동안 1회 이상 투여되고, 이어서 (ii) 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10년의 미투여 기간이 이어질 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는, 예를 들어, 대체 경로 검정, 고전적 경로 검정, 또는 둘 모두를 사용하여 측정하는 것과 같이, C3 발현 및/또는 활성의 수준에 대해 치료 전 및/또는 후에 모니터링된다. 적절한 검정은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 용혈 검정을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는, C3 발현 및/또는 활성의 측정된 수준이 대조군 대상체에서의 C3 발현 및/또는 활성의 측정된 수준에 비해 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 100%, 200% 이상인 경우, 치료되거나 재치료된다.

[0270] IX. 질환, 장애 및 병태

[0271] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 기관, 조직 또는 세포에 대한 보체 매개 손상을 앓고 있거나 이에 대한 위험이 있는 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하는 벡터)는, 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 기관, 조직 또는 세포에 대한 보체 매개 손상을 앓고 있거나 이에 대한 위험이 있는 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 생체 외 기관, 조직 또는 세포와 접촉된다. 기관, 조직 또는 세포는 대상체 내로 도입될 수 있고, 그렇지 않으면 수용자의 보체 시스템에 의해 야기될 수 있는 손상으로부터 보호될 수 있다.

[0272] 특정 관심 용도는 다음을 포함한다: (1) 발작성 야간 혈색소뇨증 또는 비정형 용혈성 요독 증후군 또는 보체 매개 RBC 용해를 특징으로 하는 다른 장애와 같은 장애를 가진 개체에서 보체 매개 손상으로부터의 적혈구(RBC) 보호; (2) 보체 매개 손상으로부터의 이식된 장기, 조직 및 세포의 보호; (3) (예를 들어, 외상, 혈관 폐색, 심근경색, 또는 I/R 손상이 발생할 수 있는 다른 상황을 앓고 있는 개체에서의) 허혈/재관류(I/R) 손상 감소; 및 (4) 다양한 상이한 보체 매개 장애 중 임의의 것 중 보체 매개 손상으로부터 보체 성분에 노출될 수 있는 다양한 신체 구조(예를 들어, 망막) 또는 막(예를 들어, 활막)의 보호. 세포 또는 다른 신체 구조의 표면에서의 보체 활성화 억제의 유익한 효과는 직접적인 보체 매개 손상에 대한 세포 또는 구조 자체의 보호로부터 직접적으로 초래되는 것들에 한정되지 않는다(예를 들어, 세포 용해 방지). 예를 들어, 보체 활성화의 억제는 아나필로독소의 생성을 감소시킬 수 있고, 호중구 및 다른 전염증성 이벤트의 유입/활성화를 초래할 수 있고/있거나 세포내 내용물의 잠재적인 유해한 방출을 감소시킬 수 있으며, 이에 따라, 원격 기관 시스템 또는 전신에 잠재적으로 유익한 효과를 가질 수 있다.

[0273] A. 혈구 보호

[0274] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 보체 매개 손상에 대해 혈구를 보호하는 데 사용된다. 혈액 세포는 혈액의 임의의 세포 성분, 예를 들어, 적혈구(RBC), 백혈구(WBC), 및/또는 혈소판일 수 있다. 다양한 장애는 혈액 세포에 대한 보체 매개 손상과 연관이 있다. 이러한 장애는, 예를 들어, (a) 이러한 단백질을 암호화하는 유전자(들)의 돌연변이(들); (b) 하나 이상의 CRP의 생성 또는

는 적절한 기능에 필요한 유전자의 돌연변이(들); 및/또는 (c) 하나 이상의 CRP에 대한 자가항체의 존재로 인한, 개체의 세포 또는 가용성 CRP 중 하나 이상의 결핍 또는 결함으로 인해 발생할 수 있다. 보체-매개 RBC 용해는 다양한 원인의 세트(종종 특발성임)로 인해 발생할 수 있는 RBC 항원에 대한 자가항체의 존재로 인해 발생할 수 있다. CRP를 암호화하는 유전자의 이러한 돌연변이(들)를 가지고 있고/있거나 CRP에 대한 항체를 가지고 있거나 자신의 RBC에 대해 항체를 가지고 있는 개체는 보체 매개 RBC 손상을 수반하는 장애의 위험이 높다. 장애의 특징적인 하나 이상의 에피소드를 경험한 개체는 재발의 위험이 높다.

[0275] 발작성 야간 혈색소뇨증(PNH)은 보체 매개 혈관내 용혈, 혈색소뇨증, 골수 부전, 및 혈전성향증(혈전을 발생시키는 경향)을 특징으로 하는 후천성 용혈성 빈혈을 포함하는 비교적 희귀한 장애이다. 이는 전 세계적으로 백만 명당 약 16명의 개체에 영향을 미치며, 성별에 상관없이 발생하고, 모든 연령, 빈번히 매우 젊은 성인에서 발생할 수 있다(Bessler, M. & Hiken, J., Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 104-110 (2008); Hillmen, P. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 116-123 (2008)). PNH는 급성 용혈 에피소드에 의해 촉진되는 만성 및 쇠약성 질환이며, 유의한 이환율 및 기대 수명의 감소를 야기한다. 빈혈증 외에도, 많은 환자들이 복통, 연하곤란, 발기부전 및 폐고혈압을 경험하며, 신부전 및 혈전색전성 이벤트의 위험이 증가한다.

[0276] PNH는 1800년대에 처음으로 구분되는 개체로서 기술되었으나, 보체 활성화의 대체 경로를 발견한 1950년대에서야 PNH에서 용혈의 원인이 확실히 확립되었다(Parker CJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: an historical overview. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 93-103 (2008)). CD55 및 CD59는 일반적으로 글리코실 포스파티딜리노시톨(GPI) 앵커(특정 단백질을 혈장 막에 고정하는 당지질 구조체)를 통해 세포막에 부착된다. PNH는 GPI 앵커의 합성에 관여하는 단백질을 암호화하는 PIGA 유전자에서 체세포 돌연변이를 획득한 조혈 줄기 세포(들)의 비악성 클론 증식의 결과로 발생한다(Takeda J 등, Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Cell. 73:703-711 (1993)). 이러한 줄기 세포의 자손은 CD55 및 CD59를 포함하는 GPI 앵커 단백질이 결핍되어 있다. 이러한 결함은 이들 세포가 보체 매개 RBC 용해에 민감하게 한다. GPI 앵커 단백질에 대한 항체를 사용하는 유세포 계측법 분석 또한 종종 진단에 사용된다. 이는 세포 표면에서 GPI 앵커 단백질의 결핍을 검출하고, 결핍 정도 및 영향을 받은 세포의 비율의 결정을 가능하게 한다(Brodsky RA, Advances in the diagnosis and therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood Rev. 22(2):65-74 (2008)). PNH 유형 III RBC는 GPI-연결 단백질이 완전히 결핍되어 있고 보체에 매우 민감한 반면, PNH 유형 II RBC는 부분 결핍을 가지며 보다 덜 민감하다. FLAER는 형광 표지된 프로에로리신(GPI 앵커에 결합하는 박테리아 독소)의 비활성 변이체이며, PNH의 진단을 위한 유세포 계측법과 함께 점점 더 많이 사용되고 있다. 과립구에 대한 FLAER의 결합 결여는 PNH의 진단에 충분하다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, C3b의 침착으로부터 PNH RBC를 보호한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, PNH를 앓고 있는 대상체에서 혈관내 및 혈관의 용혈을 억제한다.

[0277] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 비정형 용혈 증후군(aHUS)을 앓고 있는 대상체에게 투여된다. aHUS는 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 혈소판 감소증, 및 급성 신부전을 특징으로 하는 만성 질환이며, 종종 보체 조절 단백질을 코딩하는 유전자의 돌연변이로 인해, 부적절한 보체 활성화에 의해 유발된다(Warwicker, P. 등, Kidney Int 53, 836-844 (1998); Kavanagh, D. & Goodship, T. Pediatr Nephrol 25, 2431-2442 (2010)). 보체 인자 H(CFH) 유전자의 돌연변이는 aHUS 환자에서 가장 흔한 유전적 이상이며, 이들 환자의 60 내지 70%는 질환 발병 후 1년 이내에 사망하거나 말기 신부전에 도달한다(Kavanagh & Goodship, 전술함). 인자 I, 인자 B, C3, 인자 H-관련 단백질 1-5, 및 트롬보모듈린에서의 돌연변이 또한 기술되었다. aHUS의 다른 원인은 CFH와 같은 보체 조절 단백질에 대한 자가항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 인자 I, 인자 B, C3, 인자 H-관련 단백질 1-5, 또는 트롬보모듈린에서의 돌연변이를 갖는 것으로 식별되었거나, 보체 조절 단백질, 예를 들어, CFH에 대한 항체를 갖는 것으로 식별된 대상체에게 투여된다.

[0278] 보체 매개 용혈은 RBC에 결합하여 보체 매개 용혈을 유도하는 항체를 포함하는 자가면역 용혈성 빈혈을 포함하는 다양한 다른 병태 군에서 발생한다. 예를 들어, 이러한 용혈은 원발성 만성 한랭 응집소 질환, 및 약물 및 다른 외래 물질에 대한 특정 반응에서 발생할 수 있다(Berentsen, S. 등, Hematology 12, 361-370 (2007));

Rosse, W.F., Hillmen, P. & Schreiber, A.D. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 48-62 (2004)). 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 만성 한랭 응집소 질환을 앓고 있거나 이에 대한 위험이 있는 대상체에게 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 용혈의 존재, 간 효소 상승, 및 낮은 혈소판 수에 의해 정의되고, 적어도 일부 대상체에서 보체 조절 단백질(들)의 돌연변이와 연관되는 HELLP 증후군을 앓고 있거나 이에 대한 위험이 있는 대상체를 치료하는 데 사용된다(Fakhouri, F. 등, 112: 4542-4545 (2008)).

[0279] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 온열 자가면역 용혈성 빈혈증을 앓고 있거나 이에 대한 위험이 있는 대상체에게 투여된다.

[0280] 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 대상체 내로 수혈될 혈액의 RBC 또는 다른 세포 성분을 보호하는 데 사용된다. 이러한 용도의 특정 예가 아래에서 추가로 논의된다.

[0281] B. 이식

[0282] 이식은 외상, 질환 또는 다른 병태를 통해 손상된 장기 및 조직을 대체하는 수단을 제공하는, 중요성이 증가하는 치료적 접근법이다. 신장, 간, 폐, 췌장 및 심장은 성공적으로 이식될 수 있는 기관 중 하나이다. 자주 이식되는 조직은 뼈, 연골, 힘줄, 각막, 피부, 심장 판막 및 혈관을 포함한다. 췌장섬 또는 섬세포 이식은 당뇨병, 예를 들어, 유형 I 당뇨병의 치료를 위한 유망한 접근법이다. 본 발명의 목적을 위해, 이식되거나, 이식되고 있거나, 이식된 장기, 조직 또는 세포(또는 세포 집단)는 "이식편"으로서 지칭될 수 있다. 본원의 목적을 위해, 수혈은 "이식편"으로 간주된다.

[0283] 이식은 이식편 기능 장애 및 잠재적으로 부전에 기여할 수 있는 다양한 손상 이벤트 및 자극을 이식편에 부여한다. 예를 들어, 허혈-재관류(I/R) 손상은 많은 이식편(특히 고형 기관)의 경우에서의 이환율 및 사망률의 빈번하고 유의한 원인이며, 이식편 생존 가능성의 주요 결정자일 수 있다. 이식 거부 반응은 유전적으로 상이한 개체들 간의 이식과 연관된 주요 위험 중 하나이며, 이는 이식편 부전 및 수용자로부터 이식편을 제거해야 할 필요로 이어질 수 있다.

[0284] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 보체 매개 손상으로부터 이식편을 보호하는 데 사용된다. 예를 들어, 세포-반응성 콤프스타틴 유사체는 이식편의 세포와 반응하여, 이에 공유 부착되고, 보체 활성화를 억제하게 된다. 세포-표적화 콤프스타틴 유사체는 이식편에서 표적 분자에 결합하고(예를 들어, 이식편에서 내피 세포 또는 다른 세포에 의해 발현됨), 보체 활성화를 억제한다. 표적 분자는, 예를 들어, 그의 발현이 손상 또는 염증과 같은 자극에 의해 유도되거나 자극되는 분자, 수용자에 의해 "비자기"로 인식되는 분자, 항체가 혈액기 항원 또는 이종항원과 같은 인간에서 흔히 발견되는 탄수화물 이종항원, 예를 들어 알파-갈 에피토프를 포함하는 분자일 수 있다. 일부 구현예에서, 보체 활성화의 감소는, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)와 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여 접촉되지 않은 이식편의 혈관 내 평균 C4d 침착의 평균 수준 대비, (예를 들어, 이식편 및 그들이 수용하는 다른 요법과 관련하여 일치하는 대상체에서의) 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)와 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여 접촉된 이식편의 혈관 내 평균 C4d 침착의 감소에 의해 입증될 수 있다.

[0285] 본 개시의 다양한 구현예에서, 이식편은, 이식 전, 이식 중 및/또는 이식 후에 C3 발현을 억제하는, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)와 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여 접촉될 수 있다. 예를 들어, 이식 전에, 공여자로부터 제거된 이식편은 세포 반응성, 지속성, 또는 표적화된 콤프스타틴 유사체를 포함하는 액체와 접촉될 수 있다. 예를 들어, 이식편은 용액에 잠겨지고/되거나 용액으로 관류될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식편의 제거 전에 공여자에게 투여된다.

일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식편의 도입 중 및/또는 이후에 수용자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식된 이식편에게 국부적으로 전달된다. 일부 구현예에서, 세포 반응성, 지속성, 또는 표적화된 콤프스타틴 유사체는 전신, 예를 들어, 정맥내 또는 피하 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식편의 도입 전에 수용자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 이식편을 수용한 후 하나 이상의 추가적인 투여량의 억제 RNA, 억제 RNA를 암호화하는 벡터, 및/또는 하나 이상의 추가적인 보체 억제제를 투여받는다.

[0286] 본 개시는 (a) 단리된 이식편; 및 (b) C3 발현을 억제하는 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 개시는 (a) 단리된 이식편; (b) 세포 반응성, 지속성 또는 표적화된 콤프스타틴 유사체; 및 (c) C3 발현을 억제하는 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 조성물은 공여자로부터 제거되고 수용자로의 이식을 기다리는 단리된 이식편과 같은 이식편(예를 들어, 기관)에 접촉하기에 적합한 (예를 들어, 행균, 세척, 담금, 관류, 유지 또는 보관하기에 적합한) 액체 용액을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 (a) 이식편(예를 들어, 기관)에 접촉하기에 적합한 액체 용액; 및 (b) C3 발현을 억제하는 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 조성물은 세포 반응성, 지속성, 또는 표적화된 콤프스타틴 유사체를 추가로 포함한다. 액체 용액은 이식편에 생리학적으로 허용 가능하고(예를 들어: 적절한 삼투성 조성, 비세포독성), 수용자에게 이식편을 후속적으로 도입하는 관점에서 의학적으로 허용 가능하며(예를 들어, 바람직하게는 멸균되거나 적어도 합리적으로 미생물 또는 다른 오염 물질이 없음), 세포 반응성 콤프스타틴 유사체와 호환되거나(즉, 콤프스타틴 유사체의 반응성을 파괴하지 않음) 지속성 또는 표적화된 콤프스타틴 유사체와 호환되는 임의의 액체 용액일 수 있다. 일부 구현예에서, 용액은 임의의 이러한 목적을 위해 당업계에 공지된 임의의 용액이다. 일부 구현예에서, 액체 용액은, Marshall's 또는 Hyperosmolar Citrate(Soltran[®], Baxter Healthcare), University of Wisconsin(UW) 용액(ViaSpan[®], Bristol Myers Squibb), Histidine Tryptophan Ketoglutarate(HTK) 용액(Custodial[®], Kohler Medical Limited), EuroCollins(Fresenius), 및 Celsior[®](Sangstat Medical), Polysol, IGL-1, 또는 AQIX[®] RS-1이다. 물론, 동일하거나 상이한 농도로 균등하거나 유사한 성분을 함유하는 다른 용액이 생리학적으로 허용 가능한 조성물의 범위 내에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 용액은 세포-반응성 콤프스타틴 유사체가 유의미하게 반응할 것으로 예상되는 성분(들)을 함유하지 않으며, 임의의 용액은 이러한 성분이 결여되도록 변형되거나 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포-반응성 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, 0.01 mg/ml 내지 100 mg/ml의 농도로 이식편-호환성 용액에 존재하거나, 이러한 농도를 달성하도록 용액에 첨가될 수 있다.

[0287] 일부 구현예에서, 이식편은 신장, 간, 폐, 췌장, 또는 심장과 같은 고형 기관이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 이식편은 뼈, 연골, 근막, 힘줄, 인대, 각막, 공막, 심낭, 피부, 심장 판막, 혈관, 양막, 또는 경막이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 이식편은 심장-폐 또는 췌장-신장 이식편과 같은 다중 기관을 포함한다. 일부 구현예에서, 이식편은 완전한 기관 또는 조직의 일부만을 포함한다. 예를 들어, 이식편은 기관 또는 조직의 일부, 예를 들어, 간엽, 혈관의 부위, 피부 플랩, 또는 심장 판막을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 이식편은 그의 기원 조직으로부터 단리되었지만 적어도 일부 조직 구조, 예를 들어 췌장 섬을 보유하는 단리된 세포 또는 조직 단편을 포함하는 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제는 결합 조직을 통해 서로 부착되지 않은 단리된 세포, 예를 들어, 말초 및/또는 제대혈로부터 유래된 조혈 줄기 세포 또는 전구 세포, 또는 전혈, 또는 적혈구(RBC) 또는 혈소판과 같은 임의의 세포 함유 혈액 산물을 포함한다. 일부 구현예에서, 이식편은 사망한 공여자(예를 들어, "뇌사 후 기증"(DBD) 공여자 또는 "심장사 후 기증" 공여자)로부터 취득된다. 일부 구현예에서, 이식편의 특정 유형에 따라, 이식편은 살아있는 공여자로부터 취득된다. 예를 들어, 신장, 간 절편, 혈액 세포는 공여자에 대한 과도한 위험 없이 건전한 의료 관행과 일치하는 생존 공여자로부터 종종 취득될 수 있는 이식편 유형 중 하나이다.

[0288] 일부 구현예에서, 이식편은 이종이식편이다(즉, 공여자 및 수용자는 상이한 종을 가짐). 일부 구현예에서, 이식편은 자가이식편이다(즉, 동일한 개체에서 신체의 일 부분으로부터 해당 신체의 다른 부분으로의 이식편)이다.

일부 구현예에서, 이식편은 이소이식편이다(즉, 공여자와 수용자는 유전적으로 동일하다). 대부분의 구현예에서, 이식편은 동종이식편이다(즉, 공여자 및 수용자는 동일한 종의 유전적으로 동일하지 않은 구성원이다). 동종이식편의 경우, 공여자 및 수용자는 유전적으로 관련이 있거나 그렇지 않을 수 있다(예를 들어, 가족 구성원). 일반적으로, 공여자 및 수용자는 적합한 혈액군(적어도 ABO 적합성 및 선택적으로 Rh, Kell 및/또는 다른 혈액 세포 항원 적합성)을 갖는다. 이러한 항체의 존재는 초급성 거부반응(즉, 이식이 수용자의 혈액과 접촉한 후 거의 즉시, 예를 들어, 몇 분 이내에 거부반응이 시작함)을 초래할 수 있기 때문에, 수용자의 혈액은 이식편 및/또는 수용자 및 공여자에 대한 동종항체에 대해 스크리닝될 수 있다. 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정을 사용하여 항-HLA 항체에 대한 대상체의 혈청을 스크리닝할 수 있다. 알려진 HLA 표현형의 림프구 패널과 함께 혈청을 인큐베이션한다. 혈청이 표적 세포 상에 HLA 분자에 대한 항체를 함유하는 경우, 보체 매개 용해로 인한 세포 사멸이 발생한다. 선택된 표적 세포 패널을 사용하여 검출된 항체에 특이성을 할당할 수 있다. 항-HLA 항체의 존재 또는 부재를 결정하는 데 유용한 다른 기술, 및 선택적으로, 이들의 HLA 특이성을 결정하는 데 유용한 다른 기술은 ELISA 분석, 유세포 계측법, 마이크로비드 어레이 기술(예를 들어, Luminex 기술)을 포함한다. 이러한 검정을 수행하기 위한 방법론은 공지되어 있고, 이를 수행하기 위한 다양한 키트가 상업적으로 이용 가능하다.

[0289] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 보체 매개 거부 반응을 억제한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 초급성 거부 반응을 억제한다. 초급성 거부 반응은 고전 경로를 통한 수용자의 보체계의 항체 매개 활성화에 의해 적어도 부분적으로 야기되고 이식편 상에 MAC 침착을 초래한다. 이는 일반적으로 이식편과 반응하는 기존 항체의 수용자에서의 존재에 기인한다. 이식 전의 적절한 일치화로 초급성 거부 반응을 회피하는 것을 시도하는 것이 바람직하지만, 예를 들어 시간 및/또는 자원 제약으로 인해 그렇게 하는 것이 항상 가능하지 않을 수 있다. 또한, 일부 수용자(예를 들어, 다중 수혈을 받은 개체, 이전에 이식을 받은 개체, 다수의 임신을 한 여성)는, 일반적으로 시험되지 않는 항원에 대한 항체를 잠재적으로 포함하여, 이미 너무 많은 사전에 형성된 항체를 가질 수 있기 때문에, 적시에 호환 가능한 이식편을 신뢰성있게 획득하는 것이 어렵거나 아마도 거의 불가능할 수 있다. 이러한 개체는 초급성 거부 반응의 위험이 높다.

[0290] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 급성 거부 반응 또는 이식편 부전을 억제한다. 본원에서 사용되는 "급성 거부 반응"은 이식 후 적어도 24시간, 일반적으로는 적어도 수일 내지 1주일, 이식 후 최대 6개월 사이에 발생하는 거부 반응을 지칭한다. 급성 항체 매개 거부반응(AMMR)은 종종 이식 후 최초의 몇 주 내의 공여자 특이적 동종항체(DSA)의 급성 증가를 포함한다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 기존의 혈장 세포 및/또는 메모리 B 세포의 새로운 혈장 세포로의 전환이 DSA 생성 증가에 역할을 하는 것이 가능하다. 이러한 항체는 이식편에 대한 보체 매개 손상을 초래할 수 있으며, 이는 이식편을 세포 반응성 콤프스타틴 유사체와 접촉시킴으로써 억제될 수 있다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 이식편에서 보체 활성화를 억제하는 것은 급성 이식편 부전에 대한 또 다른 기여인자인 백혈구(예를 들어, 호중구) 침윤을 감소시킬 수 있다.

[0291] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식체에 대한 보체 매개 I/R 손상을 억제한다. 아래에서 추가로 논의되는 바와 같이, I/R 손상은 이식된 장기에서 발생하는 것과 같이, 혈액 공급이 일시적으로 파괴된 조직의 재관류 시 발생할 수 있다. I/R 손상을 줄이면 급성 이식편 기능장애의 가능성이 감소하거나 그 중증도가 감소하고, 급성 이식편 부전의 가능성이 감소될 것이다.

[0292] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 급성 거부 반응 및/또는 이식편 부전을 억제한다. 본원에서 사용되는 "만성 거부 반응 또는 이식편 부전"은 이식 후 적어도 6개월, 예를 들어, 이식 후 6개월 내지 1, 2, 3, 4, 5년, 또는 더 많은 기간이 지난 후, 종종 수개월 내지 수년 후에 양호한 이식편 기능을 갖는 것을 지칭한다. 이는 이식편에 대한 만성 염증 및 면역 반응에 의해 야기된다. 본원의 목적을 위해, 만성 거부 반응은 이식된 조직의 내부 혈관의 섬유증을 지칭하는 데 사용되는 용어인 만성 동종이식편 혈관병증을 포함할 수 있다. 면역억제 요법이 급성 거부 반응의 발생률을 감소시켰기 때문에, 만성 거부 반응은 이식편 기능 장애 및 부전의 원인으로 더욱 두드러지고 있다. 동종항체의 B-세포 생성이 만성 거부

반응 및 이식편 부전의 발생에 있어서 중요한 요소라는 증거가 증가하고 있다(Kwun J. 및 Knechtle SJ, Transplantation, 88(8):955-61 (2009)). 이식편에 대한 조기 손상은 궁극적으로 만성 거부 반응으로 이어질 수 있는 섬유증과 같은 만성 프로세스를 유도하는 기여 인자일 수 있다. 따라서, 세포-반응성 콤프스타틴 유사체를 사용하여 이러한 조기 손상을 억제하는 것은 만성 이식편 거부 반응의 가능성 또는 중증도를 지연시키고/시키거나 감소시킬 수 있다.

[0293] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이식 거부 반응 및/또는 이식편 부전을 억제하기 위해 이식편 수용자에게 투여된다.

[0294] C. 허혈/재관류 손상

[0295] 허혈-재관류(I/R) 손상은 외상 후, 및 심근경색증, 뇌졸중, 중증 감염, 혈관 질환, 동맥류 복구, 심폐우회술 및 이식과 같은 일시적인 혈류 방해와 연관된 다른 병태에서의 조직 손상의 중요한 원인이다.

[0296] 외상 상황에서, 전신 저산소혈증, 저혈압, 및 타박상, 구획 증후군, 및 혈관 손상으로 인한 혈액 공급의 국소 중단은 대사 활성 조직을 손상시키는 허혈을 야기한다. 혈액 공급의 복원은 종종 허혈 자체보다 더 유해한 강한 전신 염증 반응을 촉발한다. 허혈성 영역이 재관류되면, 국소적으로 생성되고 방출되는 인자는 순환계로 진입하고, 먼 위치에 도달하며, 때때로 폐 및 장과 같은 원래 허혈성 손상에 의해 영향을 받지 않는 기관에 심각한 손상을 초래하여, 단일 및 다중 기관 기능장애를 초래한다. 보체 활성화는 재관류 직후에 발생하며, 직접적이거나 호중구에 대한 화학유인성 및 자극 효과를 통한 허혈성 손상 후의 주요 매개체이다. 3개의 모든 주요 보체 경로는 활성화되고, 협력적으로 또는 독립적으로 작용하여, 다수의 기관계에 영향을 미치는 I/R 관련 이상 이벤트에 관여한다. 본 개시의 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 최근에(예를 들어, 이전 2, 4, 8, 12, 24, 또는 48시간 이내에), 외상, 예를 들어, 대상체를 전신 저산소혈증, 저혈압 및/또는 국소 혈액 공급 중단으로 인한 I/R 손상의 위험에 처하게 하는 외상을 경험한 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 세포-반응성 콤프스타틴 유사체는, 혈관내로, 선택적으로 손상된 신체 부위에 공급하는 혈관 내로, 또는 직접적으로 해당 신체 부위로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 척수 손상, 외상성 뇌 손상, 화상 및/또는 출혈성 쇼크를 겪는다.

[0297] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 수술 절차, 예를 들어, 조직, 기관, 또는 신체의 일부분에 대한 혈류를 일시적으로 중단할 것으로 예상되는 수술 절차 전에, 도중에, 또는 이후에 대상체에게 투여된다. 이러한 절차의 예는 심폐 우회술, 혈관성형술, 심장 판막 복구/교체, 동맥류 복구, 또는 다른 혈관 수술을 포함한다. 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 수술 전, 후 및/또는 수술 절차와 중첩되는 기간 동안 투여될 수 있다.

[0298] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, MI, 혈전색전성 뇌졸중, 심부정맥 혈전증 또는 폐색전증을 겪은 대상체에게 투여된다. 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 조직 플라스미노겐 활성화제(tPA)(예를 들어, 알테플라제(Activase), 레테플라제(Retavase), 테넥테플라제(TNKase)), 안스트레플라제(Eminase), 스트렙토키나아제(Kabikinase, Streptase) 또는 유로키나아제(Abbokinase)와 같은 혈전용해제와 함께 투여할 수 있다. 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 수술 전, 후 및/또는 수술 절차와 중첩되는 기간 동안 혈전용해제와 함께 투여될 수 있다.

[0299] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, I/R 손상을 치료하기 위해 대상체에게 투여된다.

[0300] D. 다른 보체 매개 장애

[0301] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포

합하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 황반 변성(예를 들어, 연령 관련 황반 변성(AMD) 및 스타가르트(Stargardt) 황반 이영양증), 당뇨병성 망막병증, 녹내장, 또는 포도막염과 같은 안구 장애의 치료를 위해 눈에 도입된다. 예를 들어, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, AMD를 앓고 있거나 AMD의 위험이 있는 대상체의 치료를 위해 유리체강 내로 (예를 들어, 유리체내 주사에 의해) 도입되거나, 망막하강으로 (예를 들어, 망막하 주사에 의해) 도입될 수 있다. 일부 구현예에서, AMD는 신생혈관(습식) AMD이다. 일부 구현예에서, AMD는 건식 AMD이다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 건식 AMD는 지도모양 위축(geographic atrophy, GA), 중기 AMD, 및 초기 AMD를 포함한다. 일부 구현예에서, GA를 가진 대상체는 질환의 진행을 늦추거나 중단시키기 위해 치료된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, GA를 갖는 대상체의 치료는 망막 세포 사멸 속도를 감소시킨다. 망막 세포 사멸 속도의 감소는, 대조군(예를 들어, 가짜 투여를 받은 환자)과 비교하여, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)로 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와의 조합으로 치료된 환자에서의 GA 병변 성장 속도의 감소에 의해 입증될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 중기 AMD를 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 초기 AMD를 갖는다. 일부 구현예에서, 중기 또는 초기 AMD를 가진 대상체는 질환의 진행을 늦추거나 중단시키기 위해 치료된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 중기 AMD를 가진 대상체의 치료는 진행성 형태의 AMD(신생혈관 AMD 또는 GA)로의 진행을 늦추거나 예방할 수 있다. 일부 구현예에서, 초기 AMD를 가진 대상체의 치료는 중기 AMD로의 진행을 늦추거나 예방할 수 있다. 일부 구현예에서, 눈은 GA 및 신생혈관 AMD 둘 모두를 갖는다. 일부 구현예에서, 눈은 GA를 갖지만 습식 AMD를 갖지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 황반 변성(예를 들어, 연령 관련 황반 변성(AMD) 및 스타가르트(Stargardt) 황반 이영양증), 당뇨병성 망막병증, 녹내장, 또는 포도막염과 같은 안구 장애의 치료를 위해, 예를 들어 맥락막상 주사에 의해 맥락막상 공간에 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 녹내장, 포도막염(예를 들어, 후포도막염), 또는 당뇨병성 망막병증의 치료를 위해, 예를 들어 유리체내 주사 또는 망막하 주사에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 예를 들어 전방(anterior) 포도막염의 치료를 위해, 전방으로 도입된다.

- [0302] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 자가면역 질환, 예를 들어 하나 이상의 자가 항원에 대한 항체에 의해 적어도 부분적으로 매개되는 자가면역 질환을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0303] 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 예를 들어, 관절염(예를 들어, 류마티스 관절염)을 앓고 있는 대상체에서 활막강 내로 도입될 수 있다.
- [0304] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 뇌내 출혈을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0305] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 중증 근무력증(예를 들어, 전신성 중증 근무력증)을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0306] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 화농 한선염을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0307] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 면역 매개 괴사성 근병증을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0308] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포

함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 시신경 척수염(NMO)을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.

[0309] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 신장, 예를 들어 신장 사구체에 영향을 미치는 장애를 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 장애는 막증식성 사구체 신염(MPGN), 예를 들어, MPGN 유형 I, MPGN 유형 II, 또는 MPGN 유형 III이다. 일부 구현예에서, 장애는 IgA 신병증(IgAN)이다. 일부 구현예에서, 장애는 원발성 막성 신병증이다. 일부 구현예에서, 장애는 C3 사구체병증이다. 일부 구현예에서, 장애는 신장에 하나 이상의 보체 활성화 산물, 예를 들어, C3b를 함유하는 사구체 침착물을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 치료는 이러한 침착물의 수준을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 보체 매개 신장 장애를 앓고 있는 대상체는 단백뇨(비정상적으로 높은 수준의 소변 내 단백질) 및/또는 비정상적으로 낮은 사구체 여과율(GFR)을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 치료는 단백뇨의 감소 및/또는 GFR의 증가 또는 안정화를 초래한다.

[0310] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 신경퇴행성 질환을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 신경병성 통증을 앓고 있거나 신경병성 통증이 발생할 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 비부비동염 또는 비용종증을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 암을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 패혈증을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 성인 호흡 곤란 증후군을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다.

[0311] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 아나필락시스(anaphylaxis) 또는 주입 반응을 앓고 있거나 이에 대한 위험에 처한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 대상체는 아나필락시스 또는 주입 반응을 야기할 수 있는 약물 또는 비히클의 투여 전, 투여 동안, 또는 투여 후에 치료될 수 있다. 일부 구현예에서, 음식(예를 들어, 땅콩, 조개류, 또는 다른 음식 알레르기 유발 물질), 곤충 쏘임(예를 들어, 벌, 말벌)로부터의 아나필락시스에 대한 위험에 처해 있거나 이를 앓고 있는 대상체는, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터) 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여 치료된다.

[0312] 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 본 개시의 다양한 구현예에서, 국부적으로 또는 전신적으로 투여될 수 있다.

[0313] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 호흡기 질환, 예를 들어 천식 또는 만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 또는 특발성 폐섬유증을 치료하는 데 사용된다. 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 예를 들어, 흡입에 의해, 예를 들어 건조 분말로서 또는 분무를 통해 기도에 투여될 수 있거나, 다양한 구현예에서 주사, 예를 들어, 정맥내, 근육내 또는 피하로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 백터)는 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 중증 천식, 예를 들어 기관지 확장제 및/또는 흡입 코르티코스테로이드로 충분히 조절되지 않는 천식을 치료하

는 데 사용된다.

[0314] 일부 양태에서, 보체 매개 장애, 예를 들어, 만성 보체 매개 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로 투여하거나, 본원에 기술된 하나 이상의 추가 보체 억제제와 조합하여, 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, Th17-연관 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로 투여하거나, 본원에 기술된 하나 이상의 추가 보체 억제제와 조합하여, 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0315] 일부 양태에서, "만성 장애"는 적어도 3개월 동안 지속되고/되거나 당업계에서 만성 장애로서 인정되는 장애이다. 많은 구현예에서, 만성 장애는 적어도 6개월, 예를 들어, 적어도 1년, 또는 그 이상, 예를 들어, 무기한으로 지속된다. 당업자는 다양한 만성 장애의 적어도 일부 발현이 간헐적일 수 있고/있거나 시간 경과에 따라 중증도가 증가 및 약화될 수 있음을 이해할 것이다. 만성 장애는 진행성일 수 있는데, 예를 들어, 시간이 지남에 따라 보다 중증이 되거나 보다 넓은 영역에 영향을 미치는 경향을 갖는다. 다수의 만성 보체 매개 장애가 본원에서 논의된다. 만성 보체 매개 장애는, 예를 들어, 기여 인자 및/또는 적어도 부분적으로 원인 인자로서 보체 활성화(예를 들어, 과도하거나 부적절한 보체 활성화)가 관여하는 임의의 만성 장애일 수 있다. 편의상, 장애는 종종 장애를 앓고 있는 대상체에서 특히 영향을 받는 기관 또는 시스템을 참조하여 종종 그룹화된다. 다수의 장애가 다수의 기관 또는 시스템에 영향을 미칠 수 있으며, 이러한 분류(들)는 결코 제한되지 않음을 이해할 것이다. 또한, 다수의 상이한 장애 중 어느 하나를 앓고 있는 대상체에서 다수의 발현(예를 들어, 증상)이 발생할 수 있다. 본원의 관심 장애에 관한 비제한적인 정보는, 예를 들어, Cecil Textbook of Medicine(예를 들어, 제 23판), Harrison's Principles of Internal Medicine(예를 들어, 제17판), 및/또는 의학, 특정 신체 계통 또는 기관, 및/또는 특정 장애의 특정 영역에 초점을 맞춘 표준 교과서에서 찾을 수 있다.

[0316] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 Th2-연관 장애이다. 본원에서 사용되는 Th2-연관 장애는, 신체 또는 이의 일부, 예를 들어, 적어도 하나의 조직, 기관, 또는 구조에서, Th2 아형의 CD4+ 헬퍼 T 세포("Th2 세포")의 과도한 수 및/또는 과도하거나 부적절한 활성을 특징으로 하는 장애이다. 예를 들어, 장애에 의해 영향을 받는 적어도 하나의 조직, 기관, 또는 구조에서, 예를 들어, Th1 아형의 CD4+ 헬퍼 T 세포("Th1 세포")에 대해 Th2 세포가 우세할 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, Th2 세포는 일반적으로 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-5(IL-5), 및 인터루킨-13(IL-13)과 같은 특징적인 사이토카인을 분비하는 반면, Th1 세포는 일반적으로 인터페론- γ (IFN- γ) 및 종양 괴사 인자(TNF ?)를 분비한다. 일부 구현예에서, Th2-연관 장애는, 예를 들어, IFN- γ 및/또는 TNF?에 대해, 예를 들어, 적어도 하나의 조직, 기관, 또는 구조의 적어도 일부에서의, IL-4, IL-5, 및/또는 IL-13의 과도한 생성 및/또는 양을 특징으로 한다.

[0317] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 Th17-연관 장애이다. 일부 양태에서, 2012년 6월 22일에 출원된 "보체 억제제를 이용한 만성 질환 치료 방법(Methods of Treating Chronic Disorders with Complement Inhibitors)"이라는 제목의 PCT/US2012/043845에 보다 상세히 기술된 바와 같이, 보체 활성화 및 Th17 세포는 수지상 세포 및 항체를 수반하고 장애 범위의 기저에 있는 병리학적 면역 미세환경의 유지에 기여하는 사이클에 참여한다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 병리학적 면역 미세환경은, 일단 확립되면, 자립적이며 세포 및 조직 손상에 기여한다. 일부 양태에서, 지속성 콤프스타틴 유사체는 Th17-연관 장애를 치료하기 위해 사용된다.

[0318] 본원에서 사용되는 Th17-연관 장애는, 신체 또는 이의 일부, 예를 들어, 적어도 하나의 조직, 기관, 또는 구조에서, Th17 아형의 CD4+ 헬퍼 T 세포("Th17 세포")의 과도한 수 및/또는 과도하거나 부적절한 활성을 특징으로 하는 장애이다. 예를 들어, 장애에 의해 영향을 받는 적어도 하나의 조직, 기관, 또는 구조에서, 예를 들어, Th1 및/또는 Th2 세포에 대해 Th17 세포가 우세할 수 있다. 일부 구현예에서, Th17 세포의 우세는 상대적 우세성, 예를 들어, Th17 세포 대 Th1 세포의 비 및/또는 Th17 세포 대 Th2 세포의 비가 정상 값에 비해 증가된다. 일부 구현예에서, Th17 세포 대 T 조절 세포(CD4⁺CD25⁺ 조절 T 세포, "Treg 세포"로도 지칭됨)의 비는 정상 값에 비해 증가된다. Th17 세포의 형성 및/또는 Th17 세포의 활성화는 다양한 사이토카인, 예를 들어, 인터루킨 6(IL-6), 인터루킨 21(IL-21), 인터루킨 23(IL-23), 및/또는 인터루킨 1 β (IL-1 β)에 의해 촉진된다. Th17 세포의 형성은 전구체 T 세포, 예를 들어, 미처리 CD4+ T 세포의 Th17 표현형으로의 분화 및 기능적 Th17 세포로의 성숙을 포함한다. 일부 구현예에서, Th17 세포의 형성은 Th17 세포의 발생, 증식(팽창), 생존 및/또는 성숙의 임의의 양태를 포함한다. 일부 구현예에서, Th17-연관 장애는 IL-6, IL-21, IL-23, 및/또는 IL-1?의 과도한 생성 및/또는 양을 특징으로 한다. Th17 세포는 일반적으로 인터루킨-17A(IL-17A), 인터루킨-17F(IL-17F), 인터

루킨-21(IL-21), 및 인터루킨-22(IL-22)와 같은 특징적인 사이토카인을 분비한다. 일부 구현예에서, Th17-연관 장애는 Th17 효과기, 예를 들어 IL-17A, IL-17F, IL-21, 및/또는 IL-22의 과도한 생성 및/또는 양을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 과도한 생성 또는 양은 혈액에서 검출 가능하다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 과도한 생성 또는 양은 예를 들어, 적어도 하나의 조직, 기관 또는 구조에서 국소적으로 검출 가능하다. 일부 구현예에서, Th17-연관 장애는 Treg의 수 감소 및/또는 Treg-연관 사이토카인의 양 감소와 연관된다. 일부 구현예에서, Th17 장애는 임의의 만성 염증성 질환이며, 이 용어는 다양한 조직에 대한 면역 배설을 자행하는 것을 특징으로 하는 질환의 범위를 포함하며, (알려지지 않을 수 있는) 질환을 유발한 초기 배설로부터 해리되는 것으로 보인다. 일부 구현예에서, Th17-연관 장애는 임의의 자가면역 질환이다. 대부분의 "만성 염증성 질환"은 아닐지라도, 많은 경우 실제로는 자가면역 질환일 수 있다. Th17-연관 장애의 예는, 건선 및 아토피성 피부염과 같은 염증성 피부 질환; 전신 피부경화증 및 경화증; 염증성 장 질환(IBD)(예를 들어, 크론병 및 궤양성 대장염); 베체트병; 피부근염; 다발성 근염; 다발성 경화증(MS); 피부염; 수막염; 뇌염; 포도막염; 골관절염; 루푸스 신염; 류마티스 관절염(RA), 쇼그렌 증후군, 다발성 경화증, 혈관염; 중추신경계(CNS) 염증성 장애, 만성 간염; 만성 췌장염, 사구체신염; 유육종증; 갑상선염, 조직/장기 이식에 대한 병리학적 면역 반응(예를 들어, 이식 거부 반응); COPD, 천식, 세기관지염, 과민성 폐렴, 특발성 폐섬유증(IPF), 치주염 및 치은염을 포함한다. 일부 구현예에서, Th17 질환은 유형 1 당뇨병 또는 건선과 같은 고전적으로 공지된 자가 면역 질환이다. 일부 구현예에서, Th17-연관 장애는 연령 관련 황반 변성이다.

[0319] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 IgE 연관 장애이다. 본원에서 사용되는 "IgE-연관 장애"는 IgE의 과도하고/과도하거나 부적절한 생성 및/또는 양, IgE 생성 세포(예를 들어, B 세포 또는 혈장 세포를 생성하는 IgE)의 과도하거나 부적절한 활성화, 및/또는 호산구 또는 비만 세포와 같은 IgE 반응 세포의 과도하고/과도하거나 부적절한 활성을 특징으로 하는 장애이다. 일부 구현예에서, IgE-연관 장애는 대상체의 혈장 및/또는 국소에서 총 IgE 및/또는 일부 구현예에서, 알레르기 특이적 IgE의 수준이 상승하는 것을 특징으로 한다.

[0320] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는, 예를 들어, 고전적인 경로를 통해 보체를 활성화시킬 수 있는, 신체 내 자가항체 및/또는 면역 복합체의 존재를 특징으로 한다. 자가항체는, 예를 들어, 신체의 세포 또는 조직에서 자가 항원에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 자가항체는 혈관, 피부, 신경, 근육, 결합 조직, 심장, 신장, 갑상선 등에서 항원에 결합한다. 일부 구현예에서, 대상체는 시신경 척수염을 가지고 아쿠아포린 4에 대한 자가항체(예를 들어, IgG 자가항체)를 생성한다. 일부 구현예에서, 대상체는 유사천포창을 가지며, 헤미테스모즘의 구조적 성분(예를 들어, 막관통 콜라겐 XVII(BP180 또는 BPAG2) 및/또는 플라킨 패밀리 단백질 BP230(BPAG1))에 대한 자가항체(예를 들어, IgG 또는 IgE 자가항체)를 생성한다. 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 자가항체 및/또는 면역 복합체를 특징으로 하지 않는다.

[0321] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 호흡기 장애이다. 일부 구현예에서, 만성 호흡기 장애는 천식 또는 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)이다. 일부 구현예에서, 만성 호흡기 장애는 폐 섬유증(예를 들어, 특발성 폐 섬유증), 방사선 유도 폐 손상, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 과민성 폐렴(알레르기성 폐포염으로도 알려짐), 호산구성 폐렴, 간질성 폐렴, 유육종증, 베게너 육아종증, 또는 폐쇄성 세기관지염이다. 일부 구현예에서, 본 개시는 만성 호흡기 장애, 예를 들어, 천식, COPD, 폐 섬유증, 방사선 유도 폐 손상, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 과민성 폐렴(알레르기성 폐포염으로도 알려짐), 호산구성 폐렴, 간질성 폐렴, 유육종증, 베게너 육아종증, 또는 폐쇄성 세기관지염에 대한 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0322] 일부 구현예에서, 만성 보체-매개 장애는 알레르기성 비염, 비부비동염, 또는 비강 폴립증이다. 일부 구현예에서, 본 개시는 알레르기성 비염, 비부비동염, 또는 비강 폴립증에 대한 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0323] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 근골격계에 영향을 미치는 장애이다. 이러한 장애의 예는 염증성 관절병태(예를 들어, 류마티스 관절염 또는 건선성 관절염과 같은 관절염, 청소년 만성 관절염, 척추관절병증 라이터 증후군, 통풍)를 포함한다. 일부 구현예에서, 근골격계 장애는 영향을 받은 신체 부위(들)의 통증, 경직 및/또는 운동 제한과 같은 증상을 초래한다. 염증성 근육병증은 피부근육염, 다발근육염, 및 다양한 다른 것들을 포함하며, 이는 근육 약화를 초래하는 알려지지 않은 병인의 만성 근육 염증의 장애이다. 일부 구현예에서, 만

성 보체 매개 장애는 중증 근무력증이다. 일부 구현예에서, 본 개시는 근골격계에 영향을 미치는 임의의 전술한 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0324] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 외피계에 영향을 미치는 장애이다. 이러한 장애의 예는, 예를 들어, 아토피성 피부염, 건선, 유사천포창, 전신성 홍반루푸스, 피부근육염, 피부경화증, 피부근경화증, 쇼그렌 증후군, 및 만성 두드러기를 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시는 외피계에 영향을 미치는 임의의 전술한 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0325] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 신경계, 예를 들어, 중추 신경계(CNS) 및/또는 말초 신경계(PNS)에 영향을 미친다. 이러한 장애의 예는, 예를 들어, 다발성 경화증, 다른 만성 탈수초성 질환(예를 들어, 시신경 척수 또는 만성 염증성 탈수초 다발신경병증(CIDP)), 근위축성 측삭 경화증, 만성 통증, 뇌졸중, 알레르기성 신경염, 헌팅턴 병, 알츠하이머병, 파킨슨 병, 진행성 핵상 마비, 루이소체 치매(즉, 루이소체를 동반한 치매 또는 파킨슨병 치매), 전두 측두엽 치매, 외상성 뇌 손상, 외상성 척수 손상, 다계통 위축, 만성 외상성 뇌병증, 크로이츠펠트-야콥병, 및 연수막 전이를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 신경계에 영향을 미치는 임의의 전술한 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0326] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 순환계에 영향을 미친다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 장애는 혈관염증, 예를 들어, 혈관 및/또는 림프관 염증과 연관된 혈관염 또는 다른 장애이다. 일부 구현예에서, 혈관염은 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 거대 세포 동맥염, 처그-스트라우스(Churg-Strauss) 증후군, 현미경적 다발혈관염, 헤노흐-쑤렌레인(Henoch-Schonlein) 자반증, 타카야스 동맥염, 가와사키병, 또는 베체트병이다. 일부 구현예에서, 대상체, 예를 들어 혈관염 치료를 필요로 하는 대상체는 항중성구 세포질 항체(ANCA)에 대해 양성이다.

[0327] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 소화계에 영향을 미친다. 예를 들어, 장애는 염증성 장 질환, 예를 들어, 크론병 또는 궤양성 대장염일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시는 신경계에 영향을 미치는 만성 보체 매개 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 장애에 대한 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0328] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 갑상선염(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 산후 갑상선염), 심근염, 간염(예를 들어, C형 간염), 췌장염, 사구체 신염(예를 들어, 막증식성 사구체 신염 또는 막성 사구체 신염), 또는 지방층염이다.

[0329] 일부 구현예에서, 본 개시는 만성 통증을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법이 제공되며, 방법은 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)를 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 이의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 신경병성 통증을 앓고 있다. 신경병성 통증은 신경계의 원발성 병변 또는 기능 장애에 의해 개시되거나 유발되는 통증, 특히, 체성 감각계에 영향을 미치는 병변 또는 질환의 직접적인 결과로서 발생하는 통증으로 정의된다. 예를 들어, 신경병성 통증은 말초 신경의 소섬유 및/또는 CNS의 시신경-시상피계에 대한 손상을 동반하는 체성 감각 경로와 연관된 병변으로부터 발생할 수 있다. 일부 구현예에서, 신경병성 통증은 자가면역 질환(예를 들어, 다발성 경화증), 대사 질환(예를 들어, 당뇨병), 감염(예를 들어, 대상포진 또는 HIV와 같은 바이러스 질환), 혈관 질환(예를 들어, 뇌졸중), 외상(예를 들어, 부상, 수술), 또는 암으로부터 발생한다. 예를 들어, 신경병성 통증은 손상 치유 후 또는 말초 신경 말단의 자극 중단 후 지속되는 통증 또는 신경 손상으로 인해 발생하는 통증일 수 있다. 신경병성 통증의 예시적인 병태 또는 이와 연관된 병태는, 통증성 당뇨병성 신경병증, 포진후 신경통(예를 들어, 급성 대상포진 부위에서 지속되거나 급성 증상 후 3개월 이상 경과 시 재발하는 통증), 삼차 신경통, 암 관련 신경병성 통증, 화학요법 연관 신경병성 통증, HIV 관련 신경병성 통증(예를 들어, HIV 신경병증으로부터의 통증), 중추성/뇌졸중 후 신경병성 통증, 요통과 관련된 신경병증, 예를 들어, 요통(예를 들어, 척수근 압박, 예를 들어 디스크 탈출증으로 인해 발생할 수

있는 요추근 압박과 같은 신경근병증으로 인한 통증), 척추 협착증, 말초 신경 손상 통증, 환상 사지 통증, 다 발신경병증, 척수 손상 관련 통증, 척수병증, 및 다발성 경화증을 포함한다. 소정의 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 전술한 병태 중 하나 이상을 갖는 대상체에서 신경병증성 통증을 치료하기 위한 투여 일정에 따라 투여된다.

[0330] 일부 구현예에서, 만성 보체 매개 장애는 만성 안구 장애이다. 일부 구현예에서, 만성 안구 장애는 황반 변성, 맥락막 혈관신생(CNV), 망막 혈관신생(RNV), 안구 염증, 또는 전술한 것의 임의의 조합을 특징으로 한다. 황반 변성, CNV, RNV, 및/또는 안구 염증은 장애의 정의 및/또는 진단 특성일 수 있다. 이들 특성 중 하나 이상을 특징으로 하는 예시적인 장애는, 황반 변성 관련 병태, 당뇨병성 망막병증, 미숙아 망막병증, 증식성 유리체망막 병증, 포도막염, 각막염, 결막염, 및 공막염을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 황반 변성 관련 병태는, 예를 들어, 연령 관련 황반 변성(AMD) 및 스타가르트 황반 이영양증을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 습윤 AMD에 대한 치료를 필요로 한다. 일부 구현예에서, 대상체는 건식 AMD에 대한 치료를 필요로 한다. 일부 구현예에서, 대상체는 지도모양 위축증(GA)에 대한 치료를 필요로 한다. 일부 구현예에서, 대상체는 안구 염증에 대한 치료를 필요로 한다. 안구 염증은 결막(결막염), 각막(각막염), 상공막, 공막(공막염), 포도막, 망막, 혈관계 및/또는 시신경과 같은 다수의 안구 구조체에 영향을 미칠 수 있다. 안구 염증의 증상은, 눈의 백혈구(예를 들어, 호중구, 대식세포)와 같은 염증 관련 세포의 존재, 내인성 염증 매개체(들)의 존재, 안구 통증, 발적, 광 감수성, 시야 흐림 및 비문증 등과 같은 하나 이상의 증상을 포함할 수 있다. 포도막염은 눈의 포도막 내 염증, 예를 들어, 홍채, 모양체 또는 맥락막을 포함하는 포도막의 임의의 구조체에서의 염증을 지칭하는 일반적인 용어이다. 포도막염의 특정 유형에는 홍채염, 홍채섬포체염, 섬포체염, 계획막염 및 맥락막염이 포함된다. 일부 구현예에서, 만성 안구 장애는 녹내장과 같은 시신경 손상(예를 들어, 시신경 변성)을 특징으로 하는 안구 장애이다.

[0331] 전술한 바와 같이, 일부 구현예에서, 만성 호흡기 질환은 천식이다. 위험 인자, 역학, 발병기전, 진단, 천식의 현재 관리 등에 관한 정보는, 예를 들어 다음으로부터 찾을 수 있다: "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma". National Heart Lung and Blood Institute. 2007. <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.pdf>. ("NHLBI Guidelines"; www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm), Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2010 "GINA Report") 및/또는 Cecil Textbook of Medicine(제20판), Harrison's Principles of Internal Medicine(제17판)과 같은 내복약의 표준 교과서, 및/또는 폐의학에 중점을 둔 표준 교과서. 천식은 많은 세포 및 세포 요소가 비만 세포, 호산구, T 림프구, 대식 세포, 호중구 및 상피 세포와 같은 역할을 하는, 기도에서의 만성 염증성 장애이다. 천식 환자는 천명(wheezing), 호흡곤란(호흡곤란 또는 호흡곤란이라고도 함), 흉부 압박감 및 기침과 같은 증상과 관련된 재발 에피소드를 경험한다. 천식 환자는 쉼썩거림, 호흡곤란(디스프니아(dyspnea) 또는 숨가쁨증이라고도 함), 흉부 압박감 및 기침과 같은 증상과 연관된 반복적인 증상을 경험한다. 이러한 증상은 일반적으로, 자발적으로 또는 치료를 통해 종종 가역적인, 광 범위하지만 가변적인 기도 폐쇄와 연관이 있다. 염증은 또한 다양한 자극에 대한 기존의 기관지 과민성의 연관된 증가를 야기한다. 기도 과민성(자극에 대한 과장된 기관지 수축 반응)은 천식의 전형적인 특징이다. 대체적으로, 기도 제한은 기관지 수축 및 기도 부종으로 인한 것이다. 기도 제한의 가역성은 일부 천식 환자에서 불완전할 수 있다. 예를 들어, 기도 리모델링은 고정성 기도 협착을 초래할 수 있다. 구조적 변화는 기저막의 비후, 상피하 섬유증, 기도 평활근 비대증 및 과형성, 혈관 증식 및 확장, 및 점액선 과형성, 및 과다분비를 포함할 수 있다.

[0332] 천식을 갖는 개체는 해당 개체의 이전 상태로부터의 변화를 특징으로 하는 이벤트로서 식별되는 악화를 경험할 수 있다. 중증 천식 악화는 입원 또는 천식으로 인한 사망과 같은 심각한 결과를 예방하기 위한, 해당 개체 및 의사의 긴급 조치가 필요한 이벤트로 정의될 수 있다. 예를 들어, 중증 천식 악화는 일반적으로 OCS 없이 천식이 잘 조절되는 대상체에서 전신 코르티코스테로이드(예를 들어, 경구 코르티코스테로이드)의 사용을 필요로 하거나, 안정적인 유지 투여량의 증가를 필요로 할 수 있다. 중증 천식 악화는 대상체에게 문제가 되고, 치료의 변화에 대한 필요성을 유발하지만, 중증이 아닌 이벤트로 정의될 수 있다. 이러한 이벤트는 대상체의 일상적인 천식 변이의 보통의 범위를 벗어날 경우 임상적으로 식별된다.

[0333] 현재 천식에 대한 약물은 일반적으로 2가지 일반 분류로 분류된다: 흡입 코르티코스테로이드(ICS), 경구 코르티코스테로이드(OCS), 지속성 기관지 확장제(LABA), 류코트리엔 조절제(예를 들어, 류코트리엔 수용체 길항제 또는 류코트리엔 합성 억제제, 항-IgE 항체(오말리주맵(Xolair®)), 지속성 천식의 조절을 달성하고 유지하는

데 사용되는 크로몰린 및 네도크로밀과 같은 장기 조절 약물("조절제 약물"), 및 급성 증상 및 악화를 치료하는 데 사용되는 속효성 기관지 확장제(SABA)와 같은 속효성 약물. 본 발명의 목적을 위해, 이들 치료제는 "종래 요법"으로 지칭될 수 있다. 악화의 치료는 또한 조절제 약물 요법의 투여량 및/또는 강도를 증가시키는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, OCS의 과정은 천식 조절을 회복하는 데 사용될 수 있다. 현재의 지침은 지속적인 천식이 있는 대상체에 대해 매일 조절제 약물의 매일 투여 또는, 많은 경우, 조절제 약물의 다회 투여량의 투여를 요구한다(2 또는 4주마다 투여되는 Xolair는 예외로 함).

[0334]

대상체가 평균 1주에 2회를 초과하는 증상을 겪고/겪거나 일반적으로 증상 조절을 위해 1주에 2회를 초과하여 빠른 완화 약물(예를 들어, SABA)을 사용하는 경우, 대상체는 일반적으로 지속적인 천식을 갖는 것으로 간주된다. "천식 중증도"는 관련 동반이환이 치료되고 흡입기 기법과 순응도가 최적화되면 대상체의 천식을 조절하는 데 필요한 치료의 강도에 기초하여 분류될 수 있다(예를 들어, GINA Report; Taylor, DR, Eur Respir J 2008; 32:545-554 참조). 치료 강도에 대한 설명은, NHLBI Guidelines 2007, GINA Report, 및 이의 전 버전 및/또는 표준 의학 교과서와 같은 지침에서 찾을 수 있는 단계적 치료 알고리즘에서 권장되는 약물 및 투여량에 기초할 수 있다. 예를 들어, 천식은 표 7에 나타난 바와 같이 간헐적, 경증, 중등증, 또는 중증으로 분류될 수 있으며, 여기에서 "치료"는 대상체의 최선의 수준의 천식 조절을 달성하기에 충분한 치료를 지칭한다. 경증, 중등증 및 중증 천식의 범주는 일반적으로 간헐적 천식보다는 지속적인 천식을 암시한다는 것을 이해할 것이다. 당업자는 표 7이 예시적인 것이며, 이들 약물 모두가 일부 환경에서 천식 중증도의 평가에 영향을 미칠 수 있는 모든 의료 시스템에서 이용 가능하지 않을 것임을 이해할 것이다. 또한, 다른 새로운 접근법이 경증/중등증 천식의 분류에 영향을 미칠 수 있다는 점 또한 인정될 것이다. 그러나, 경증 천식은 매우 낮은 강도의 치료를 사용하여 양호하게 조절되는 능력으로 정의되고, 중증 천식은 고강도 치료가 필요한 것으로 정의되는 동일한 원칙이 여전히 적용될 수 있다. 천식 중증도는 또한 치료를 받지 않을 경우의 질환의 고유 강도에 기초하여 분류될 수 있다(예를 들어, NHLBI Guidelines 2007 참조). 평가는 현재 폐활량 측정 및 이전 2 내지 4주 동안의 증상に対する 환자의 기억에 기초하여 이루어질 수 있다. 현재의 손상 및 미래 위험의 파라미터가 평가될 수 있고, 이는 천식 중증도의 수준을 결정하는 데 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 천식 중증도는, 0 내지 4세, 5 내지 11세, 또는 ≥ 12 세인 개체에 대한 각각 NHLBI Guidelines의 도 3.4(a), 도 3.4(b), 도 3.4(c)에 도시된 바와 같이 정의된다.

표 7

[0335]

천식 분류	치료
간헐적	필요에 따라 SABA (일반적으로 주당 2회 이하)
경증	저용량 ICS 또는 다른 저강도 치료 (예를 들어, LTRA, 크로몰린, 네도크로밀, 테오필린)
중등증	저 내지 중간 용량 ICS 및 LABA 또는 다른 추가 치료
중증	고강도 치료 (고용량 ICS 및 LABA $\pm$ 경구 코르티코스테로이드 및/또는 다른 추가 치료)

[0336]

'천식 조절'은 천식의 발현이 치료에 의해 (약리학적이든 비약리학적이든) 감소되거나 제거된 정도를 지칭한다. 천식 조절은 증상 빈도, 야간 증상, 폐활량 측정 파라미터와 같은 폐 기능의 객관적 척도(예를 들어, 예측된 $\%FEV_1$, FEV_1 가변성, 증상 조절을 위한 SABA 사용 요건)와 같은 인자에 기초하여 평가될 수 있다. 현재의 손상 및 미래 위험의 파라미터가 평가될 수 있고, 이는 천식 조절의 수준을 결정하는 데 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 천식 조절은, 0 내지 4세, 5 내지 11세, 또는 ≥ 12 세인 개체에 대한 각각 NHLBI Guidelines의 도 4.3(a), 도 4.3(b), 또는 도 4.3(c)에 도시된 바와 같이 정의된다.

[0337]

일반적으로, 당업자는 천식 중증도 수준 및/또는 조절 정도를 결정하는 적절한 수단을 선택할 수 있고, 당업자에 의해 합리적인 것으로 간주되는 임의의 분류 방식이 사용될 수 있다.

[0338]

본 개시의 일부 구현예에서, 지속성 천식을 앓고 있는 대상체는, 투여 요법을 사용하여, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터) 단독으로 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와의 조합으로 치료된다. 일부 구현예에서, 대상체는 경증 또는 중등증 천식을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 중증 천식을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 종래의 요법을 사용하여 잘 조절되지 않는 천식을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는, 종래의 요법을 사용하여 치료될 경

우, 양호하게 조절되기 위해 ICS의 사용을 필요로 하는 천식을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 ICS의 사용에도 불구하고 잘 조절되지 않는 천식을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는, 종래의 요법을 사용하여 치료될 경우, 양호하게 조절되기 위해 ICS의 사용을 필요로 할 수 있는 천식을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 OCS를 포함하는 고 강도의 종래의 요법을 사용함에도 불구하고 잘 조절되지 않는 천식을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터)는, 단독으로, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합하여, 조절제 약물로서 투여되거나, 대상체가 종래의 조절제 약물의 사용을 중지하거나 투여량을 줄이는 것을 가능하게 한다.

[0339] 일부 구현예에서, 대상체는 대부분의 천식 개체에게 해당되는 알레르기성 천식을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 천식에 대한 비-알레르기성 유발인자(예를 들어, 감기, 운동)가 알려져 있지 않고/않거나 표준 진단 평가에서 식별되지 않는 경우, 천식 대상체는 알레르기성 천식이 있는 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 천식 대상체는 해당 대상체가 다음의 경우에 해당될 경우 알레르기성 천식을 갖는 것으로 간주된다: (i) 대상체가 민감성을 가지고 있는 알레르기 항원 또는 알레르기 항원(들)에 노출된 후 천식 증상(또는 천식 증상의 악화)이 재현 가능하게 발생하는 경우; (ii) 대상체가 민감성을 가지고 있는 알레르기 항원 또는 알레르기 항원(들)에 대해 특이적인 IgE를 나타내는 경우; (iii) 대상체가 민감성을 가지고 있는 알레르기 항원 또는 알레르기 항원(들)에 대해 양성 피부-프릭 시험을 나타내는 경우; 및/또는 (iv) 대상체가 알레르기성 비염, 습진 또는 상승된 총 혈청 IgE와 같은 아토피와 일치하는 특징의 다른 증상(들)을 나타내는 경우. 특정 알레르기 유발인자는 식별되지 않을 수 있지만, 예를 들어, 대상체가 특정 환경에서 악화 증상을 경험하는 경우 의심되거나 추론될 수 있음을 이해할 것이다.

[0340] 흡입에 의한 알레르기 항원 공격은 알레르기성 기도 질환을 평가하는 데 널리 사용되는 기술이다. 알레르기 항원의 흡입은, 예를 들어 비만 세포 및 호염기구 상에서 IgE 수용체에 결합된 알레르기 항원 특이적 IgE의 가교 결합을 초래한다. 분비 경로의 활성화가 계속되며, 기관지 수축 및 혈관 투과성의 매개체가 방출된다. 알레르기성 천식이 있는 개체는 알레르기 유발 항원 접촉 후, 예를 들어, 초기 천식 반응(EAR), 후기 천식 반응(LAR), 기도 과민 반응(AHR), 및 기도 호산구 증가증과 같은 다양한 증상을 나타낼 수 있으며, 이들 각각은 당업계에 공지된 바와 같이 검출되고 정량화될 수 있다. 예를 들어, 기도 호산구 증가증은 가래 및/또는 BAL 체액에서의 호산구의 증가로서 검출될 수 있다. 즉각적인 천식 반응(IAR)으로도 지칭되는 EAR은, 흡입 직후, 일반적으로 흡입 후 10분 이내에 감지할 수 있는 흡입에 의한 알레르기 항원 공격에 대한 반응, 예를 들어 FEV₁의 감소이다. EAR은 일반적으로 30분 이내에 최대치에 도달하고 투여 후 2 내지 3시간 이내에 원복된다. 예를 들어, 대상체는 그/그녀의 FEV₁이 베이스라인 FEV₁에 비해 해당 시간 창 내에서 적어도 15%, 예를 들어, 적어도 20% 감소하는 경우, "양성" EAR을 나타내는 것으로 간주될 수 있다(여기에서 "베이스라인"은 시험접종 전의 상태, 예를 들어 대상체가 천식 악화를 경험하지 않고 대상체가 민감성을 가지고 있는 알레르기 자극에 노출되지 않은, 대상체의 평소 상태와 동등한 상태를 지칭함). 후기 천식 반응(LAR)은 일반적으로 시험접종 후 3시간과 8시간 사이에 시작되며, 기도의 세포 염증, 기관지 혈관 투과성 증가, 및 점액 분비를 특징으로 한다. 이는 일반적으로 EAR과 연관이 있고 잠재적으로 보다 임상적으로 중요할 수 있는 것보다 더 큰 크기일 수 있는 FEV₁의 감소로서 검출된다. 예를 들어, 그/그녀의 FEV₁이 베이스라인 FEV₁과 비교 시 관련 기간 내에 베이스라인 FEV₁에 비해 적어도 15%, 예를 들어 적어도 20%만큼 감소하는 경우, 대상체는 "양성" LAR을 나타내는 것으로 간주될 수 있다. 지연 기도 반응(DAR)은 약 26 내지 32시간 사이에 시작하여, 약 32 내지 48시간 사이에 최대에 도달하고, 시험접종 후 약 56시간 이내에 완화될 수 있다(Pelikan, Z. Ann Allergy Asthma Immunol. 2010, 104(5):394-404).

[0341] 일부 구현예에서, 만성 호흡기 장애는 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)이다. COPD는 치료에도 불구하고 완전히 가역적이지 않고 일반적으로 점진적인 기도 제한을 특징으로 하는 병태의 스펙트럼을 포함한다. COPD의 증상은 디스프니아(호흡곤란), 운동 내성 감소, 기침, 가래 생성, 천명 및 흉부 압박감 등을 포함한다. COPD를 갖는 사람은 빈도와 기간이 다양할 수 있고 유의한 이환율과 관련이 있는 급성(예를 들어, 1주 미만 및 종종 24시간 이하의 과정에 걸쳐 발생함) 증상의 악화(COPD 악화로 지칭됨) 증상을 경험할 수 있다. 이들은 호흡기 감염, 유해한 입자에 대한 노출과 같은 이벤트에 의해 촉발될 수 있거나, 알려지지 않은 병인을 가질 수 있다. 흡연은 COPD에 대해 가장 흔히 발견되는 위험 인자이며, 다른 흡입 노출 또한 질환의 발생 및 진행에 기여할 수 있다. COPD에서의 유전적 인자의 역할은 적극적인 연구의 영역이다. COPD 환자의 적은 백분율은 알파-1 항트립신의 유전적 결핍, 세린 프로테아제의 주요 순환 억제제를 가지며, 이러한 결핍은 질환의 급속한 진행 형태로 이어질 수 있다.

[0342] COPD의 특징적인 병태생리학적 특징은 작은 기도의 협착 및 구조적 변화, 및 (특히 폐포 주위의) 폐 실질

(parenchyma)의 파괴를 포함하며, 가장 일반적으로는 만성 염증으로 인한 것이다. COPD에서 관찰된 만성 기도 제한은 일반적으로 이들 인자의 혼합을 포함하며, 기도 제한에 기여하는 데 있어서의 이들의 상대적인 중요도 및 증상은 사람마다 다르다. 용어 "폐기종"은 말단 세기관지의 원위에 있는 공기 공간(폐포)의 벽의 파괴를 동반하는 확대를 지칭한다. 용어 "폐기종"은 종종 이러한 병리학적 변화와 관련된 의학적 상태를 지칭하기 위해 임상적으로 사용된다는 점에 주목해야 한다. COPD를 갖는 일부 개체는, 임상 용어 상 2년 연속의, 1년의 3개월 동안 대부분의 날에 가래를 동반한 기침 증상으로 정의되는 만성 기관지염을 앓고 있다. COPD의 위험 인자, 역학, 발병기전, 진단 및 현재 관리에 관한 추가 정보는, 예를 들어, "Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease"(2009 개정판)(the Global Initiative on Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Inc. (GOLD) 웹사이트(www.goldcopd.org))에서 사용할 수 있으며, 또한 본원에서 "GOLD Report"로 지칭됨), the American Thoracic Society/European Respiratory Society Guidelines(2004)(the ATS 웹사이트 www.thoracic.org/clinical/copd-guidelines/resources/copddoc.pdf,에서 사용할 수 있으며, 본원에서 "ATC/ERS COPD Guidelines"로서 지칭됨), 및 Cecil Textbook of Medicine (제20판), Harrison's Principles of Internal Medicine(제17판)과 같은 내복 약의 표준 교과서, 및/또는 폐의학에 중점을 둔 표준 교과서에서 찾을 수 있다.

[0343] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 위에서 논의된 DC-Th17-B-Ab-C-DC 사이클을 억제(간섭, 파괴)한다. 예를 들어, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터)의 단독 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와 조합한 투여는, 보체가 DC 세포를 자극하여 Th17 표현형을 촉진하는 주기를 깨뜨릴 수 있다. 결과적으로, Th17 세포의 수 및/또는 활성은 감소하며, 이는 결과적으로 B 세포의 Th17-매개 자극 및 다클론 항체 생성의 양을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 이러한 효과는 보다 정상적이고 덜 병리학적인 상태로 면역학적 미세환경을 "재설정"시킨다. PCT/US2012/043845(WO/2012/178083) 및 미국 특허 공개 제20140371133호의 실시예 1에 기술된 바와 같이, 천식의 동물 모델에서 Th17-연관 사이토카인 생성에 대한 연장된 억제 효과를 갖는 보체 억제 능력을 뒷받침하는 증거가 확보되었다.

[0344] 일부 구현예에서, DC-Th17-B-Ab-C-DC 사이클을 억제하는 것은 질환-변형 효과를 갖는다. 임의의 이론에 구속되지 않고, 단순히 장애의 증상을 치료하기보다는, DC-Th17-B-Ab-C-DC 사이클을 억제하는 것은 증상이 양호하게 조절되고/되거나 질환의 악화에 기여할 수 있는 경우일지라도 진행 중인 조직 손상에 기여할 수 있는 근본적인 병리학적 메커니즘을 방해할 수 있다. 일부 구현예에서, DC-Th17-B-Ab-C-DC 사이클을 억제하는 것은 만성 장애를 관해로 진행시킨다. 일부 구현예에서, 관해는 만성 질환을 갖고 질환 재발 가능성을 갖는 대상체에서 질환 활성이 없거나 실질적으로 없는 상태를 지칭한다. 일부 구현예에서, 관해는 지속적인 요법의 부재 하에 또는 감소된 용량 또는 증가된 투여 간격으로 장기간(예를 들어, 적어도 6개월, 예를 들어, 6 내지 12개월, 12 내지 24개월 또는 그 이상) 동안 지속될 수 있다. 일부 양태에서, 보체의 억제는 Th17 세포가 풍부한 조직의 면역학적 미세 환경을 변화시키고 이를 조절 T 세포(Treg)가 풍부한 미세 환경으로 변형시킬 수 있다. 이렇게 하면 면역 체계가 스스로 "재설정"되어 관해 상태로 진입할 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 관해는 유발 이벤트가 발생할 때까지 지속될 수 있다. 유발 이벤트는, 예를 들어, 감염(감염원 및 자가 단백질 둘 모두와 반응하는 다클론 항체의 생성을 초래할 수 있음), 특정 환경 조건(예를 들어, 오존과 같은 높은 수준의 대기 오염, 또는 담배 연기와 같은 미립자 물질 또는 연기 성분, 알레르기 항원) 등에 대한 노출일 수 있다. 유전적 인자가 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 보체 성분을 암호화하는 유전자의 특정 대립유전자를 갖는 개체는 보다 높은 보체 활성의 베이스라인 수준, 보다 반응성인 보체 시스템 및/또는 보다 낮은 내인성 보체 조절 단백질 활성의 베이스라인 수준을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 개체는 AMD의 위험 증가와 연관된 유전자형을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 보체 단백질 또는 보체 조절 단백질, 예를 들어, CFH, C3, 인자 B를 암호화하는 유전자에서 다형성을 가질 수 있으며, 여기에서 다형성은 AMD의 위험 증가와 연관된다.

[0345] 일부 구현예에서, 면역학적 미세환경은 시간이 지남에 따라, 예를 들어, 만성 장애의 증상이 아직 발생하지 않은 대상체에서 또는 장애가 발생하고 본원에 기술된 바와 같이 치료된 대상체에서, 점진적으로 병적 상태로 더 편향될 수 있다. 이러한 전이는 확률적으로 및/또는 장애의 증상 발병을 유발하기에 충분한 강도가 아닌 누적된 "하위 임계값" 촉발 이벤트의 결과로 (예를 들어, 항체 수준 및/또는 친화도의 명백한 무작위 변동으로 인해 적어도 부분적으로) 발생할 수 있다.

[0346] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 억제 RNA(또는 본원에 기술된 억제 RNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터) 단독, 또는 본원에 기술된 하나 이상의 추가적인 보체 억제제와의 조합의 비교적 짧은 과정, 예를 들어, 1주 내지 6주, 예를 들어, 약 2 내지 4주는 장기 지속 효과를 제공할 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구

현예에서, 관해는 장기간, 예를 들어, 1 내지 3개월, 3 내지 6개월, 6 내지 12개월, 12 내지 24개월 또는 그 이상 동안 달성된다. 일부 구현예에서, 대상체는 증상의 재발 전에 예방적으로 모니터링되고/되거나 치료될 수 있다. 예를 들어, 대상체는 촉발 이벤트에 노출되기 전 또는 노출 시 치료될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는, 예를 들어, 바이오마커의 증가, 예를 들어, Th17 세포 또는 Th17 세포 활성의 표시자, 또는 보체 활성화 포함하는 바이오마커의 증가에 대해 모니터링될 수 있고, 이러한 바이오마커의 수준이 증가하면 치료될 수 있다. 추가 논의는, 예를 들어, PCT/US2012/043845를 참조한다.

[0347] **X. 병용 요법**

[0348] 일부 양태에서, 본 개시의 방법은 본원에 기술된 억제 RNA를 단독으로 또는 하나 이상의 추가 보체 억제제와 조합하여 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 억제 RNA는 이미 다른 보체 억제제로 치료를 받고 있는 대상체에게 투여되고; 일부 구현예에서, 다른 보체 억제제는 억제 RNA를 투여받고 있는 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 억제 RNA 및 다른 보체 억제제 둘 모두가 대상체에게 투여된다.

[0349] 일부 구현예에서, 억제 RNA의 투여는, 단일 요법으로서의 제2 보체 억제제의 투여와 비교 시, 제2 보체 억제제의 투여량을 감소시킬 수 있다(예를 들어, 개별 투여량의 보다 적은 양, 투여 빈도 감소, 투여 회수 감소, 및/또는 제2 보체 억제제에 대한 전체 노출 감소를 포함함). 임의의 이론에 구속되지 않고, 일부 구현예에서, 제2 보체 억제제의 투여량 감소는 그렇지 않을 경우 발생할 수 있는 하나 이상의 바람직하지 않은 부작용을 방지할 수 있다.

[0350] 일부 양태에서, 억제 RNA 및/또는 제2 보체 억제제의 감소된 투여 요법이 원하는 정도의 보체 억제를 달성하는데 필요하도록, 제2 보체 억제제와 조합된 억제 RNA의 투여는 대상체의 혈액 중 C3의 양을 충분히 줄일 수 있다.

[0351] 일부 양태에서, 억제 RNA 및/또는 제2 보체 억제제의 감소된 투여 요법이 보체 매개 장애의 하나 이상의 징후, 증상, 바이오마커 또는 결과 측정의 원하는 수준 또는 원하는 양의 개선을 달성하는데 필요하도록, 제2 보체 억제제와 조합된 억제 RNA의 투여는 대상체의 혈액 중 C3의 양을 충분히 줄일 수 있다.

[0352] 일부 구현예에서, 이러한 감소된 투여량은 단일 요법으로서의 억제 RNA 또는 제2 보체 억제제의 투여와 비교 시, 보다 작은 부피로 투여되거나, 보다 낮은 농도를 사용되거나, 보다 긴 투여 간격을 사용하거나, 또는 전술한 것들의 임의의 조합을 사용하여 투여될 수 있다.

[0353] 임의의 보체 억제제, 예를 들어, 당업계에서 공지된 보체 억제제는 본원에 기술된 억제 RNA와 조합하여 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 보체 억제제는 콤프스타틴 또는 콤프스타틴 유사체이다.

[0354] 콤프스타틴은 C3에 결합하여 보체 활성화를 억제하는 환형 펩티드이다. 미국 특허 제6,319,897호는 팔호로 표시된 2개의 시스테인 사이의 이황화 결합을 갖는, 서열 Ile- [Cys-Val-Val-Gln-Asp-Trp-Gly-His-His-Arg-Cys]-Thr(서열번호 1)을 갖는 펩티드를 기술한다. "콤프스타틴"이라는 명칭은 미국 특허 제6,319,897호에서 사용되지는 않았지만, 후속적으로 미국 특허 제6,319,897호에 개시된 서열번호 2와 동일한 서열을 갖지만 C 말단에서 아미드화된 펩티드를 지칭하기 위해 과학 및 특허 문헌(예를 들어, Morikis 등, *Protein Sci.*, 7(3):619-27, 1998 참조)에서 채택되었다. 용어 "콤프스타틴"은 이러한 사용과 일관되게 본원에서 사용된다. 콤프스타틴보다 더 높은 보체 억제 활성을 갖는 콤프스타틴 유사체가 개발되었다. 예를 들어, WO2004/026328(PCT/US2003/029653), Morikis, D. 등, *Biochem Soc Trans.* 32(Pt 1):28-32, 2004, Mallik, B. 등, *J. Med. Chem.*, 274-286, 2005; Katragadda, M. 등, *J. Med. Chem.*, 49: 4616-4622, 2006; WO2007062249(PCT/US2006/045539); WO2007044668(PCT/US2006/039397), WO/2009/046198(PCT/US2008/078593); WO/2010/127336(PCT/US2010/033345)을 참조한다.

[0355] 본원에서 사용되는 용어 "콤프스타틴 유사체"는 콤프스타틴 및 이의 임의의 보체 억제 유사체를 포함한다. 용어 "콤프스타틴 유사체"는 콤프스타틴 및 콤프스타틴에 기초하여 설계되거나 식별된 다른 화합물을 포함하며, 이들의 보체 억제 활성은, 예를 들어, 당업계에서 허용된 임의의 보체 활성화 검정 또는 실질적으로 유사하거나 균등한 검정을 사용하여 측정했을 경우, 콤프스타틴의 활성보다 적어도 50%만큼 크다. 소정의 적절한 검정은 미국 특허 제6,319,897호, WO2004/026328, Morikis, 전술함, Mallik, 전술함, Katragadda 2006, 전술함, WO2007062249(PCT/US2006/045539); WO2007044668(PCT/US2006/039397), WO/2009/046198(PCT/US2008/078593); 및/또는 WO/2010/127336(PCT/US2010/033345)에 기술되어 있다. 검정은, 예를 들어, 대안적인 또는 고전적인 경로 매개 적혈구 용해의 측정 또는 ELISA 검정일 수 있다. 일부 구현예에서, WO/2010/135717(PCT/US2010/035871)에 기술된 검정이 사용된다.

[0356] 표 8은 본 개시에 유용한 콤프스타틴 유사체의 비제한적인 목록을 제공한다. 유사체는 부모 펩티드, 콤프스타틴과 비교하여 지정된 위치(1 내지 13)에서 특정 변형을 나타내는 방식으로 좌측 열에 약칭 형태로 지칭된다. 당 업계에서의 사용과 일관되게, 본원에서 사용되는 "콤프스타틴", 및 콤프스타틴의 활성화에 비해 본원에 기술된 콤프스타틴 유사체의 활성화는 C-말단에서 아미드화된 콤프스타틴 펩티드를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 표 8의 펩티드는 C-말단에서 아미드화된다. 굵은 글씨체는 소정의 변형을 나타내는 데 사용된다. 콤프스타틴에 대한 활성화는 본원에 기술된 공개된 데이터 및 검정에 기초한다(WO2004/026328, WO2007044668, Mallik, 2005; Katragadda, 2006). 특정 구현예에서, 표 8에 열거된 펩티드는 본 개시의 치료 조성물 및 방법에 사용될 때 2개의 Cys 잔기 사이의 이황화 결합을 통해 고리화된다. 펩티드를 고리화하기 위한 대안적인 수단 또한 본 개시의 범위 내에 있다.

표 8

[0357]

펩티드	서열	서열 번호	콤프스타틴에 대 한 활성화
콤프스타틴	<i>H</i> -ICVVQDWGHHRCT- <i>CONH</i> ₂	8	*
Ac-콤프스타틴	<i>Ac</i> -ICVVQDWGHHRCT- <i>CONH</i> ₂	9	3배 이상
Ac-V4Y/H9A	<i>Ac</i> -ICVYQDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	10	14배 이상
Ac-V4W/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICVWQDWGAHRICT- <i>COOH</i>	11	27배 이상
Ac-V4W/H9A	<i>Ac</i> -ICVWQDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	12	45배 이상
Ac-V4W/H9A/T13dT -OH	<i>Ac</i> -ICVWQDWGAHRCdT- <i>COOH</i>	13	55배 이상
Ac-V4(2-Nal)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(2-Nal)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	14	99배 이상
Ac V4(2-Nal)/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICV(2-Nal)QDWGAHRICT- <i>COOH</i>	15	38배 이상
Ac V4(1-Nal)/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICV(1-Nal)QDWGAHRICT- <i>COOH</i>	16	30배 이상
Ac-V42IgI/H9A	<i>Ac</i> -ICV(2-IgI)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	17	39배 이상
Ac-V42IgI/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICV(2-IgI)QDWGAHRICT- <i>COOH</i>	18	37배 이상
Ac-V4Dht/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICVDhtQDWGAHRICT- <i>COOH</i>	19	5배 이상
Ac-V4(Bpa)/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICV(Bpa)QDWGAHRICT- <i>COOH</i>	20	49배 이상
Ac-V4(Bpa)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(Bpa)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	21	86배 이상
Ac-V4(Bta)/H9A -OH	<i>Ac</i> -ICV(Bta)QDWGAHRICT- <i>COOH</i>	22	65배 이상
Ac-V4(Bta)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(Bta)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	23	64배 이상
Ac-V4W/H9(2-Abu)	<i>Ac</i> -ICVWQDWG(2-Abu)HRICT- <i>CONH</i> ₂	24	64배 이상
+G/V4W/H9A +AN -OH	<i>H</i> -GICVWQDWGAHRICTAN- <i>COOH</i>	25	38배 이상
Ac-V4(5fW)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(5fW)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	26	31배 이상
Ac-V4(5-MeW)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(5-메틸-W)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	27	67배 이상
Ac-V4(1-MeW)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(1-메틸-W)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	28	264배 이상
Ac-V4W/W7(5fW)/H9A	<i>Ac</i> -ICVWQD(5fW)GAHRICT- <i>CONH</i> ₂	29	121배 이상
Ac-V4(5fW)/W7(5fW)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(5fW)QD(5fW)GAHRICT- <i>CONH</i> ₂	30	NA
Ac-V4(5-MeW)/W7(5fW)H9A	<i>Ac</i> -ICV(5-메틸-W)QD(5fW)GAHRICT- <i>CONH</i> ₂	31	NA
Ac-V4(1MeW)/W7(5fW)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(1-메틸-W)QD(5fW)GAHRICT- <i>CONH</i> ₂	32	264배 이상
+G/V4(6fW)/W7(6fW)H9A+N-OH	<i>H</i> -GICV(6fW)QD(6fW)GAHRICTN- <i>COOH</i>	33	126배 이상
Ac-V4(1-포르밀-W)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(1-포르밀-W)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	34	264배 이상
Ac-V4(5-메톡시-W)/H9A	<i>Ac</i> -ICV(1-메톡시-W)QDWGAHRICT- <i>CONH</i> ₂	35	76배 이상
G/V4(5f-W)/W7(5fW)/H9A+N-OH	<i>H</i> -GICV(5fW)QD(5fW)GAHRICTN- <i>COOH</i>	36	112배 이상

[0358] NA = 이용 불가

[0359] 본 개시의 조성물 및 방법의 특정 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 서열 9 내지 36으로부터 선택되는 서열을 갖는다. 일 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 서열번호 28의 서열을 갖는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "L-아미노산"은 단백질에 정상적으로 존재하는 임의의 자연 발생 좌회전성(levorotatory) 알파-아미노산 또는 이들

알파-아미노산의 알킬 에스테르를 지칭한다. 용어 "D-아미노산"은 우회전성(dextrorotatory) 알파-아미노산을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 지칭되는 모든 아미노산은 L-아미노산이다.

[0360] 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체(예를 들어, 본원에 개시된 콤프스타틴 유사체 중 어느 하나)의 하나 이상의 아미노산(들)은 N-알킬 아미노산(예를 들어, N-메틸 아미노산)일 수 있다. 예를 들어, 제한 없이, 펩티드의 환형 부분 내의 적어도 하나의 아미노산, 환형 부분에 대한 적어도 하나의 아미노산 N-말단, 및/또는 환형 부분에 대한 적어도 하나의 아미노산 C-말단은 N-알킬 아미노산, 예를 들어, N-메틸 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, 콤프스타틴의 위치 8에 상응하는 위치 및/또는 콤프스타틴의 위치 13에 상응하는 위치에서 N-메틸 글리신을 포함한다. 일부 구현예에서, 표 8의 콤프스타틴 유사체 중 하나 이상은, 예를 들어, 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, 콤프스타틴의 위치 8에 상응하는 위치 및/또는 콤프스타틴의 위치 13에 상응하는 위치에서 적어도 하나의 N-메틸 글리신을 함유한다. 일부 구현예에서, 표 8의 하나 이상의 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, 콤프스타틴의 위치 13에 상응하는 위치에서 적어도 하나의 N-메틸 이소류신을 함유한다. 예를 들어, 그의 서열이 표 8에 나열되어 있는 펩티드의 C-말단 단부 또는 그 부근의 Thr 또는 임의의 다른 콤프스타틴 유사체 서열은 N-메틸 Ile로 대체될 수 있다. 인지될 수 있는 바와 같이, 일부 구현예에서, N-메틸화 아미노산은 위치 8에서 N-메틸 Gly 및 위치 13에서 N-메틸 Ile을 포함한다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체(예를 들어, 표 8에 열거된 콤프스타틴 유사체 중 어느 하나)는 본원에 기술된 하나 이상의 치환 대신 또는 이에 추가하여 서열번호 8의 위치 3에 상응하는 위치에서 이소류신을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 서열번호 8 내지 36 중 어느 하나의 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, 여기에서 위치 3은 이소류신이다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 서열번호 25, 33 또는 36 중 어느 하나의 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, 여기에서 위치 4는 이소류신이다. 추가적인 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, W02019/166411에 기술되어 있다.

[0361] 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, 종래의 펩티드 합성 방법에 따라, 아미노산 잔기의 축합을 통해 당업계에 공지된 펩티드 합성의 다양한 합성 방법에 의해 제조될 수 있고, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 이를 암호화하는 적절한 핵산 서열로부터 시험관 내 또는 살아있는 세포에서의 발현에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 Malik(전술함), Katragadda(전술함), W02004026328, 및/또는 W02007062249에 기술된 바와 같은 표준 고상 방법론을 사용하여 합성될 수 있다. 아미노기 및 카르복실기, 반응성 작용기 등과 같은 잠재적으로 반응성인 모이어티가 보호될 수 있고, 이어서 당업계에 공지된 다양한 보호기 및 방법론을 사용하여 탈보호될 수 있다. 예를 들어, "Protective Groups in Organic Synthesis", 제3판, Greene, T. W. 및 Wuts, P. G. 편, John Wiley & Sons, New York: 1999를 참조한다. 펩티드는 역상 HPLC와 같은 표준 접근법을 사용하여 정제될 수 있다. 필요한 경우, 부분 입체이성질체 펩티드의 분리는 역상 HPLC와 같은 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 원하는 경우, 제제는 동결 건조될 수 있고, 이어서 적절한 용매, 예를 들어, 물에 용해될 수 있다. 생성된 용액의 pH는 NaOH와 같은 염기를 사용하여, 예를 들어 생리학적 pH로 조정될 수 있다. 펩티드 제제는, 예를 들어, 질량 및/또는 이황화 결합 형성을 확인하기 위해, 원하는 경우 질량 분광분석에 의해 특성화될 수 있다. 예를 들어, Mallik, 2005, 및 Katragadda, 2006을 참조한다.

[0362] 화합물 안정화, 면역원성 감소, 체내 수명 증가, 용해도 증가 또는 감소, 및/또는 분해에 대한 내성을 증가시키기 위해 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 분자를 첨가함으로써 콤프스타틴 유사체를 변형시킬 수 있다. 폐길화 방법은 당업계에 공지되어 있다(Veronese, F.M. & Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456, 2002; Davis, F.F., Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 457-458, 2002); Hinds, K.D. & Kim, S.W. Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 505-530 (2002; Roberts, M.J., Bentley, M.D. & Harris, J.M. Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 459-476; 2002); Wang, Y.S. 등, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 547-570, 2002). 폴리펩티드가 편리하게 부착될 수 있는 유도체화 PEG를 포함하는, PEG 및 변형된 PEG와 같은 매우 다양한 중합체가 Nektar Advanced Pegylation 2005-2006 Product Catalog, Nektar Therapeutics, San Carlos, CA에 기술되어 있으며, 이는 또한 적절한 접합 절차의 세부사항을 제공한다.

[0363] 일부 구현예에서, 서열번호 9 내지 36 중 어느 하나의 콤프스타틴 유사체는 N-말단, C-말단, 또는 둘 모두에서 하나 이상의 아미노산에 의해 연장되며, 여기에서 적어도 하나의 아미노산은, PEG를 콤프스타틴 유사체에 부착하도록 반응성 작용기와 접합을 용이하게 하는, 1차 또는 2차 아민, 설프히드릴기, 카르복실기(이는 카르복실레이트기로 존재할 수 있음), 구아니디노기, 페놀기, 인돌 고리, 티오에테르 또는 이미다졸 고리와 같은 반응성 작용기를 포함하는 측쇄를 갖는다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 일차 또는 이차 아민, 예를 들어, Lys 잔기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산을 포함한다. 예를 들어, Lys 잔기, 또는 Lys 잔기를 포함하는 서열은 본원에 기술된 콤프스타틴 유사체(예를 들어, 서열번호 9 내지 36 중 어느 하나)를 포함하는 콤프스타틴 유사

체)의 N-말단 및/또는 C-말단에 첨가된다.

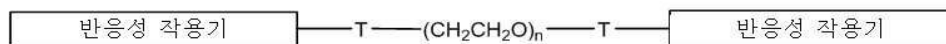
[0364] 일부 구현예에서, Lys 잔기는 강성 또는 가요성 스페이스에 의해 콤프스타틴 유사체의 환형부로부터 분리된다. 스페이스는, 예를 들어, 치환 또는 미치환, 포화 또는 불포화 알킬 사슬, 올리고(에틸렌 글리콜) 사슬, 및/또는 예를 들어, 링커와 관련하여 본원에 기술된 바와 같은 다른 모이어티를 포함한다. 사슬의 길이는, 예를 들어, 2 내지 20개의 탄소 원자 길이일 수 있다. 다른 구현예에서, 스페이스는 펩티드이다. 펩티드 스페이스는, 예를 들어, 1 내지 20개 아미노산의 길이, 예를 들어, 4 내지 20개 아미노산의 길이일 수 있다. 적절한 스페이스는, 예를 들어, 다수의 Gly 잔기, Ser 잔기, 또는 둘 모두를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 선택적으로, 스페이스에 일차 또는 이차 아민 및/또는 적어도 하나의 아미노산을 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 D-아미노산이다. 다양한 중합체 골격 또는 스캐폴드 중 어느 하나가 사용될 수 있다. 예를 들어, 중합체 골격 또는 스캐폴드는 폴리아미드, 다당류, 폴리무수물, 폴리아크릴아미드, 폴리메타크릴레이트, 폴리펩티드, 폴리에틸렌 옥사이드, 또는 덴드리머일 수 있다. 적절한 방법 및 중합체 골격은, 예를 들어, WO98/46270(PCT/US98/07171) 또는 WO98/47002(PCT/US98/06963)에 기술되어 있다. 일 구현예에서, 중합체 골격 또는 스캐폴드는 카르복시산, 무수물, 또는 숙신이미드기와 같은 다수의 반응성 작용기를 포함한다. 중합체 골격 또는 스캐폴드는 콤프스타틴 유사체와 반응한다. 일 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 카르복시산, 무수물, 또는 숙신이미드 기와 같은 다수의 상이한 반응성 작용기 중 어느 하나를 포함하며, 이는 중합체 골격 상의 적절한 기와 반응한다. 대안적으로, 중합체 골격 또는 스캐폴드를 형성하기 위해 서로 결합될 수 있는 단량체 단위가 먼저 콤프스타틴 유사체와 반응하고, 생성된 단량체는 중합체화된다. 또 다른 구현예에서, 단량체는 사전 중합체화되고, 작용기화되고, 이어서 상이한 조성물의 단체의 혼합물은 보다 긴 중합체로 조립된다.

[0365] 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체 모이어티는 선형 PEG의 각 말단에 부착된다. 사슬의 각 말단에 반응성 작용기를 갖는 이기능성 PEG가, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 반응성 작용기는 동일하며, 일부 구현예에서는 상이한 반응성 작용기가 각각의 말단에 존재한다.

[0366] 대체적으로 본원에 도시된 화합물 및 폴리에틸렌 글리콜 모이어티는 반복 단위의 우측 또는 반복 단위의 좌측에 산소 원자와 함께 그려져 있다. 단지 하나의 배향이 그려지는 경우, 본 개시는 주어진 화합물 또는 속에 대한 폴리에틸렌 글리콜 모이어티의 배향(즉, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ 및 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$) 둘 모두를 포함하거나, 화합물 또는 속이 다수의 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 함유하는 경우, 모든 배향의 조합이 본 개시에 의해 포함된다.

[0367] 일부 구현예에서, 이기능성 선형 PEG는 이의 말단 각각에 반응성 작용기를 포함하는 모이어티를 포함한다. 반응성 작용기는 동일하거나(상동이기능성) 상이할(이질이기능성) 수 있다. 일부 구현예에서, 이기능성 PEG의 구조는 대칭일 수 있고, 여기에서 동일한 모이어티는 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ 사슬의 각 말단의 산소 원자에 반응성 작용기를 연결하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 상이한 모이어티가 분자의 PEG 부분에 2개의 반응성 작용기를 연결하는 데 사용된다. 예시적인 이기능성 PEG의 구조는 아래에 도시되어 있다. 예시적인 목적을 위해, 반응성 작용기(들)가 NHS 에스테르를 포함하는 화학식이 도시되어 있지만, 다른 반응성 작용기가 사용될 수 있다.

[0368] 일부 구현예에서, 이기능성 선형 PEG는 식 A이고:



식 A

[0369] 여기서, 각각의 T 및 "반응성 작용기"는 아래에서 독립적으로 정의되고, 본원의 부류 및 하위 부류에서 기술되며, n은 위에서 정의되고 본원의 부류 및 하위 부류에서 기술된 바와 같다.

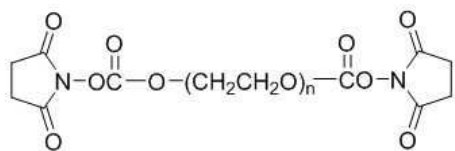
[0370]

[0371] 각각의 T는 독립적으로 공유 결합 또는 C_{1-12} 직쇄 또는 분지형 탄화수소s 사슬이고, 여기에서 T의 하나 이상의 탄소 단위는, 선택적으로 $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{N}(\text{R}^x)-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{N}(\text{R}^x)\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^x)-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{R}^x)\text{SO}_2-$, 또는 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^x)-$ 로 독립적으로 대체되고;

[0372] 각각의 R^x 는 독립적으로 수소 또는 C_{1-6} 지방족이다.

[0373] 반응성 작용기는 구조 $-\text{COO}-\text{NHS}$ 를 갖는다.

[0374] 식 A의 예시적인 이작용성 PEG는 다음을 포함한다:



식 I

일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체 상의 작용기(예를 들어, 아민, 히드록실, 또는 티올기)는 본원에 기술된 바와 같은 "반응성 작용기"를 갖는 PEG 함유 화합물과 반응하여 이러한 집합체를 생성한다. 예로서, 식 I은 다음의 구조를 갖는 콤프스타틴 유사체 집합체를 형성할 수 있다:



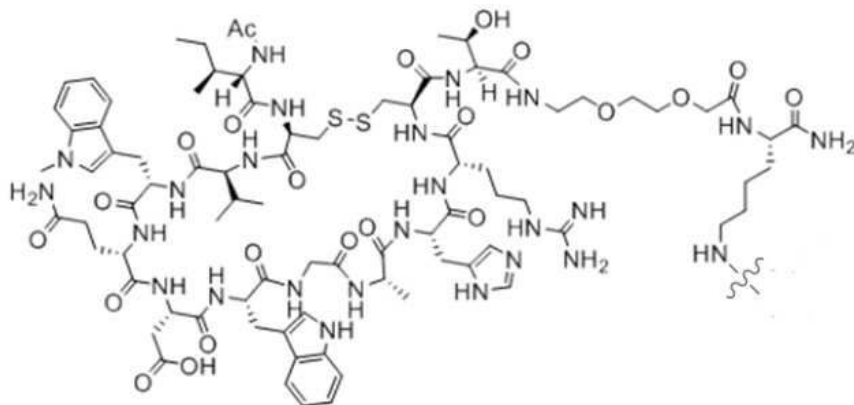
여기에서, 는 콤프스타틴 유사체 상의 아민기의 부착점을 나타낸다. 특정 구현예에서, 아민기는 리신 측쇄기이다.

특정 구현예에서, 이러한 집합체의 PEG 성분은 약 5 kD, 약 10 kD, 약 15 kD, 약 20 kD, 약 30 kD, 또는 약 40 kD의 평균 분자량을 갖는다. 특정 구현예에서, 이러한 집합체의 PEG 성분은 약 40 kD의 평균 분자량을 갖는다.

용어 "이작용성" 또는 "이작용성화된"은 때때로 PEG에 연결된 2개의 콤프스타틴 유사체 모이어티를 포함하는 화합물을 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 이러한 화합물은 문자 "BF"로 지정될 수 있다. 일부 구현예에서, 이작용화된 화합물은 대칭성이다. 일부 구현예에서, PEG와 각각의 이작용화된 화합물의 콤프스타틴 유사체 모이어티의 사이의 결합은 동일하다. 일부 구현예에서, PEG와 이작용화된 화합물의 콤프스타틴 유사체 사이의 각각의 연결은 카르바메이트를 포함한다. 일부 구현예에서, PEG와 이작용화된 화합물의 콤프스타틴 유사체 사이의 각각의 연결은 카르바메이트를 포함하고 에스테르를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 이작용화된 화합물의 각각의 콤프스타틴 유사체는 카르바메이트를 통해 PEG에 직접 연결된다. 일부 구현예에서, 이작용화된 화합물의 각각의 콤프스타틴 유사체는 카르바메이트를 통해 PEG에 직접 연결되고, 이작용화된 화합물은 다음의 구조를 갖는다:



본원에 기술된 식 및 구현예의 일부 구현예에서, 는 다음의 구조를 갖는 콤프스타틴 유사체에서의 리신 측쇄기의 부착 지점을 나타낸다:



기호 "~~~~"는 분자 또는 식의 나머지 부분에 대한 화학적 모이어티의 부착 지점을 나타낸다.

하나 이상의 반응성 작용기를 포함하는 PEG는, 일부 구현예에서, 예를 들어 다른 것들 중에서도, NOF America

Corp. White Plains, NY 또는 BOC Sciences 45-16 Ramsey Road Shirley, NY 11967, USA, 또는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0386] 일부 구현예에서, 링커는 본원에 기술된 콤프스타틴 유사체 및 본원에 기술된 PEG를 연결하는 데 사용된다. 콤프스타틴 유사체 및 PEG를 연결하기 위한 적절한 링커는 전술한 바와 같이 본원의 부류 및 하위 부류로 광범위하게 기술된다. 일부 구현예에서, 링커는 다수의 작용기를 가지고, 여기에서 하나의 작용기는 콤프스타틴 유사체에 연결되고 다른 하나의 작용기는 PEG 모이어티에 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 이작용성 화합물이다. 일부 구현예에서, 링커는 $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 의 구조를 가지며, n 은 1 내지 1000이다. 일부 구현예에서, 링커는 8-아미노-3,6-디옥사옥탄산(AEEAc)이다. 일부 구현예에서, 링커는 콤프스타틴 유사체의 중합체 모이어티 또는 작용기와의 접합을 위해 활성화된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, AEEAc의 카르복실기는 리신기의 측쇄의 아민기와 접합되기 전에 활성화된다.

[0387] 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체 상의 적절한 작용기(예를 들어, 아민, 히드록실, 티올, 또는 카르복시산기)가 PEG 모이어티와의 접합을 위해 직접적으로 또는 링커를 통해 사용된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 아민기를 통해 링커를 통한 PEG 모이어티에 접합된다. 일부 구현예에서, 아민기는 아미노산 잔기의 α -아미노기이다. 일부 구현예에서, 아민기는 리신 측쇄의 아민기이다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 의 구조(여기에서 n 은 1 내지 1000임)를 갖는 링커를 통해 리신 측쇄(ϵ -아미노기)의 아미노기를 통해 PEG 모이어티에 접합된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 AEEAc 링커를 통한 리신 측쇄의 아미노기를 통해 PEG 모이어티에 접합된다. 일부 구현예에서, $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 링커는 접합 후 콤프스타틴 리신 측쇄 상에 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 모이어티를 도입한다. 일부 구현예에서, AEEAc 링커는 접합 후 콤프스타틴 리신 측쇄 상에 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 모이어티를 도입한다.

[0388] 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 링커를 통해 PEG 모이어티에 접합되고, 여기에서 링커는 AEEAc 모이어티 및 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 링커를 통해 PEG 모이어티에 접합되며, 여기서 링커는 AEEAc 모이어티 및 리신 잔기를 포함한다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체의 C-말단은 AEEAc의 아미노기에 연결되고, AEEAc의 C-말단은 리신 잔기에 연결된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체의 C-말단은 AEEAc의 아미노기에 연결되고, AEEAc의 C-말단은 리신 잔기의 α -아미노기에 연결된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체의 C-말단은 AEEAc의 아미노기에 연결되고, AEEAc의 C-말단은 리신 잔기의 α -아미노기에 연결되고, PEG 모이어티는 전술한 리신 잔기의 ϵ -아미노기를 통해 접합된다. 일부 구현예에서, 리신 잔기의 C-말단은 변형된다. 일부 구현예에서, 리신 잔기의 C-말단은 아미드화에 의해 변형된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체의 N-말단은 변형된다. 일부 구현예에서, 콤프스타틴 유사체의 N-말단은 아세틸화된다.

[0389] 특정 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 M-AEEAc-Lys-B₂로서 표시될 수 있고, 여기에서 B₂는 차단 모이어티, 예를 들어, NH_2 이고, M은 서열번호 9 내지 36 중 어느 하나를 나타내며, 단, 서열번호 9 내지 36 중 어느 하나의 C-말단 아미노산은 펩티드 결합을 통해 AEEAc-Lys-B₂에 연결된다. 일작용성 또는 다작용성(예를 들어, 이작용성) PEG의 NHS 모이어티는 리신 측쇄의 유리 아민과 반응하여 일작용성화(하나의 콤프스타틴 유사체 모이어티)되거나 다작용성화(다수의 콤프스타틴 유사체 모이어티)된 PEG화된 콤프스타틴 유사체를 생성한다. 다양한 구현예에서, 반응성 작용기를 포함하는 측쇄를 포함하는 임의의 아미노산이 Lys 대신에 (또는 Lys에 추가하여) 사용될 수 있다. 적절한 반응성 작용기를 포함하는 일작용성 또는 다작용성 PEG는 NHS-에스테르 활성화 PEG와 Lys의 반응과 유사한 방식으로 이러한 측쇄와 반응할 수 있다.

[0390] 전술한 식 및 구조 중 어느 하나에 관하여, 콤프스타틴 유사체 성분이 본원에 기술된 임의의 콤프스타틴 유사체, 예를 들어 서열번호 9 내지 36의 임의의 콤프스타틴 유사체를 포함하는 구현예가 명시적으로 개시된다는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, 그리고 제한 없이, 콤프스타틴 유사체는 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 콤프스타틴 유사체 성분이 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는, 예시적인 PEG화된 콤프스타틴 유사체가 도 2에 도시되어 있다. PEG 모이어티는 본원에 기술된 바와 같은 다양한 구현예에서 다양한 상이한 분자량 또는 평균 분자량을 가질 수 있음을 이해할 것이다. 특정 구현예에서, 콤프스타틴 유사체는 약 800 내지 약 1100의 n 을 갖는 도 2의 화합물 및 약 40 kD의 평균 분자량을 갖는 PEG의 구조를 갖는 페그세타코플란("APL-2")이다. 페그세타코플란은 또한 폴리(옥시-1,2-에탄디일), α -히드로- ω -히드록시-, N -아세틸-L-이소류실-L-시스테인-L-발릴-1-메틸-L-트립토판-L-글루타미닐-L- α -아스파르트릴-L-트립토판글리실-L-알라닐-L-히스티딜-L-아르기닐-L-시스테인-L-트레오닐-2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]아세틸- N^6 -카르복시-L-리신아미드 시클릭(2-->12)-

(이황화물)을 갖는 15,15'-디에스테르; 또는 O,O' -비스[(S^2, S^{12} -시클로{ N -아세틸-L-이소류실-L-시스테인-L-발릴-1-메틸-L-트립토판-L-글루타미닐-L- α -아스파르틸-L-트립토판글리실-L-알라닐-L-히스티딜-L-아르기닐-L-시스테인-L-트레오닐-2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]아세틸-L-리신아미드})- $N^{6,15}$ -카르보닐]폴리에틸렌 글리콜($n = 800$ 내지 1100)으로 지칭된다. 추가적인 콤프스타틴 유사체는, 예를 들어, W02012/155107 및 W02014/078731에 기술되어 있다.

[0391] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 콤프스타틴 유사체는, 약 800 mg 내지 약 1200 mg, 예를 들어, 약 1060 mg 내지 약 1100 mg, 예를 들어, 약 1070 mg 내지 약 1090 mg, 예를 들어, 약 1075 mg 내지 약 1085 mg, 예를 들어, 약 1080 mg의 투여량으로, 약 4주, 약 8주, 약 12주, 약 16주, 약 20주, 약 24주, 약 28주, 약 32주, 약 36주, 약 40주, 약 44주, 약 48주, 약 52주, 약 1.2년, 1.4년, 1.6년, 1.8년, 2년, 3년, 4년, 5년 또는 그 이상 동안, 매주 2회 또는 3일마다 투여된다.

[0392] 일부 구현예에서, 하나 이상의 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA)를 포함하거나, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터를 포함하는 조성물은, 콤프스타틴 유사체 및/또는 억제 RNA 조성물이 보다 적은 빈도로 및/또는 보다 낮은 투여량으로 투여되도록, 콤프스타틴 유사체와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 억제 RNA(예를 들어, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA)를 포함하거나, 본원에 기술된 siRNA 또는 miRNA를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터를 포함하는 조성물은, 콤프스타틴 유사체가 약 800 mg 내지 약 1200 mg, 예를 들어, 약 1060 mg 내지 약 1100 mg, 예를 들어, 약 1070 mg 내지 약 1090 mg, 예를 들어, 약 1075 mg 내지 약 1085 mg, 예를 들어, 약 1080 mg의 투여량으로, 주 1회, 2주마다 1회, 월 1회, 2개월마다, 3개월마다, 4개월마다, 5개월마다 또는 그 이상마다 1회 투여되도록, 콤프스타틴 유사체와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0393] 일부 구현예에서, 보체 억제제는 항체, 예를 들어, 항-C3 및/또는 항-C5 항체, 또는 이의 단편이다. 일부 구현예에서, 항체 단편은 C3 또는 C5 활성화를 억제하는 데 사용될 수 있다. 단편화된 항-C3 또는 항-C5 항체는 Fab', Fab'(2), Fv, 또는 단쇄 Fv일 수 있다. 일부 구현예에서, 항-C3 또는 항-C5 항체는 단클론이다. 일부 구현예에서, 항-C3 또는 항-C5 항체는 다클론이다. 일부 구현예에서, 항-C3 또는 항-C5 항체는 면역화되지 않는다. 일부 구현예에서, 항-C3 또는 항-C5 항체는 완전한 인간 단클론 항체이다. 일부 구현예에서, 항-C5 항체는 에콜리주맙이다. 일부 구현예에서, 보체 억제제는 항체, 예를 들어, 항-C3 및/또는 항-C5 항체, 또는 이의 단편이다.

[0394] 일부 구현예에서, 보체 억제제는 폴리펩티드 억제제 및/또는 핵산 앵타머이다(예를 들어, 미국 특허 공개 제 20030191084 참조). 예시적인 폴리펩티드 억제제는 C3 또는 C3b를 분해하는 효소를 포함한다(예를 들어, 미국 특허 제6,676,943호 참조). 추가적인 폴리펩티드 억제제는 소형 인자 H(예를 들어, 미국 특허 공개 제 20150110766호 참조), Efb 단백질 또는 황색포도상구균 유래의 보체 억제제(SCIN) 단백질, 또는 이의 변이체 또는 유도체 또는 모방체(예를 들어, 미국 특허 공개 제20140371133호 참조)를 포함한다.

[0395] 다양한 다른 보체 억제제 또한 본 개시의 다양한 구현예에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 보체 억제제는 자연적으로 발생하는 포유류 보체 조절 단백질 또는 이의 단편 또는 유도체이다. 예를 들어, 보체 조절 단백질은 CR1, DAF, MCP, CFH, 또는 CFI일 수 있다. 일부 구현예에서, 보체 조절 폴리펩티드는 자연적으로 발생하는 상태에서 정상적으로 막-결합된 것이다. 일부 구현예에서, 막관통 및/또는 세포내 도메인의 일부 또는 전부가 결여된 이러한 폴리펩티드의 단편이 사용된다. 예를 들어, 보체 수용체 1(sCR1)의 가용성 형태 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, TP10 또는 TP20(Avant Therapeutics)으로 알려진 화합물이 사용될 수 있다. C1 억제제(C1-INH) 또한 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 가용성 보체 조절 단백질, 예를 들어, CFH가 사용된다.

[0396] C1s의 억제제 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,515,002호는 C1s을 억제하는 화합물(푸라닐 및 티에닐 아미딘, 헤테로시클릭 아미딘, 및 구아니딘)을 기술한다. 미국 특허 제6,515,002호 및 제7,138,530호는 C1s을 억제하는 헤테로시클릭 아미딘을 기술한다. 미국 특허 제7,049,282호는 고전적인 경로 활성화를 억제하는 펩티드를 기술한다. 특정 펩티드는 WESNGQPENN(서열번호 73) 또는 KTISKAKGQPREPQVYT(서열번호 74) 또는 유의 미한 서열 동일성 및/또는 3차원 구조적 유사성을 갖는 펩티드를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 이들 펩티드는 IgG 또는 IgM 분자의 일부와 동일하거나 실질적으로 동일하다. 미국 특허 제7,041,796호는 보체 활성화를 억제하기 위한 C3b/C4b 보체 수용체 유사 분자 및 이의 용도를 개시한다. 미국 특허 제6,998,468호는 보체 활성화의 항-C2/C2a 억제제를 개시한다. 미국 특허 제6,676,943호는 폐렴구균(*Streptococcus pneumoniae*) 유래의 인간 보체 C3-분해 단백질을 개시한다.

- [0397] GenBank 수탁번호를 포함하여 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 다른 참조 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 또한, 물질, 방법 및 실시예는 단지 예시적인 것이며 제한하려는 것이 아니다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적절한 방법 및 물질이 본원에 기술된다.
- [0398] 본 개시는 다음의 실시예에 의해 추가적으로 예시된다. 예시는 단지 예시의 목적을 위해 제공된다. 이들은 어떠한 방식으로든 본 개시의 범위 또는 내용을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0399] **XI. 예시**
- [0400] 실시예 1: siRNA를 사용하는 HeLa 세포에서의 C3 발현의 녹다운
- [0401] 세포 배양
- [0402] HeLa 세포는 ATCC(ATCC, LGC Standards, Wesel, Germany와 제휴함, cat.# ATCC-CRM-CCL-2)로부터 획득하였고, 이를 가습 인큐베이터 중 37℃의 5% CO₂ 분위기 하에서, 10% 소태아 혈청(#1248D, Biochrom GmbH, Berlin, Germany) 및 100 U/ml 페니실린/100 µg/ml 스트렙토마이신(#A2213, Biochrom GmbH, Berlin, Germany)을 함유하도록 보충된 HAM's F12(#FG0815, Biochrom, Berlin, Germany)에서 배양하였다. siRNA를 이용한 HeLa 세포의 형질감염을 위해, 세포를 15,000 세포/웰의 밀도로 96-웰 조직 배양 플레이트(#655180, GBO, Germany)에 씨딩하였다.
- [0403] siRNA
- [0404] mRNA 전사물의 상이한 영역을 표적화하기 위해 177개의 siRNA를 설계하고 합성하였다. 이 실험에서, 각각의 siRNA의 센스 가닥은 C3 전사물(서열 번호 75) 상의 표적 영역 서열과 동일한 18개의 뉴클레오타이드, 및 3' 말단에서의 하나의 추가 아데닌 뉴클레오타이드를 함유하였다. 또한, 이 실험에서, 안티센스 가닥은 C3 전사물(서열 번호 75) 상의 표적 영역 서열에 상보적인 18개의 뉴클레오타이드, 및 5' 말단에서의 하나의 추가 우라실 뉴클레오타이드, 및 3' 말단에서의 2개의 추가 우라실 뉴클레오타이드를 함유하였다.
- [0405] 이 실험에서, siRNA는 다음의 변형 패턴을 포함하는 센스 가닥의 변형을 함유하였다:
- [0406] xsxsXfxxxXfXfXfxxXfxxxxXfxa
- [0407] 안티센스 가닥은 다음의 변형 패턴을 포함하였다:
- [0408] usXfsxxxxxxxxXfxxxxxsusu
- [0409] 여기에서, "x"는 임의의 뉴클레오타이드를 나타내고; 소문자는 2'-O-메틸기로 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "Xf"는 2'-플루오로기로 변형된 뉴클레오타이드("X"는 임의의 뉴클레오타이드일 수 있음)를 나타낸다. 예를 들어, "Af"는 2'-플루오로기로 변형된 아데닌 뉴클레오타이드를 나타낸다. "s"는 포스포로티오에이트 결합을 나타낸다.
- [0410] siRNA 및 C3 활성 검정의 형질감염 - 이중 투여량 실험
- [0411] siRNA의 형질감염은 역방향 형질감염에 대한 제조업체의 지침에 따라 리포펙타민 RNAiMax(Invitrogen/Life Technologies, Karlsruhe, Germany)을 사용하여 수행되었다. 이 실험에서, 각각 10 nM 및 0.5 nM의 4중 siRNA를 사용하여 이중 투여량 스크린을 수행하였다. Aha1을 표적으로 하는 siRNA는 C3 표적 mRNA 발현에 대한 비특이적 대조군으로서 동시에 제공되었고, Aha1 mRNA 수준과 관련하여 형질감염 효율을 분석하기 위한 양성 대조군으로서 제공되었다. 반딧불이-루시페라아제 및 레닐라-루시페라아제를 모의 형질감염으로서 사용하였다.
- [0412] siRNA와 함께 24시간 인큐베이션 후, 배지를 제거하고 세포를 150 µl 배지 용해 혼합물(1부피의 용해 혼합물, 2부피의 세포 배양 배지)에 용해시킨 다음, 53℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. bDNA 검정(ThermoFisher QuantiGene RNA 검정)은, ThermoFisher Scientific에서 설계하고 독일 Planegg 소재 Metabion International AG에서 합성한 인간 C3(수탁번호-# NM_000064 서열의 염기 106과 염기 907 사이)에 대한 프로브셋을 사용하여 제조업체의 지침에 따라 수행되었다. 어두운 실온에서 30분 인큐베이션한 후 1420 발광 계수기(WALLAC VICTOR Light, Perkin Elmer, Rodgau-Juegesheim, Germany)를 사용하여 발광을 판독하였다.
- [0413] Aha1 프로브셋과의 혼성화에 의해, 다른 2개의 표적 비특이적 대조군(반딧불이 루시페라아제 및 레닐라 루시페라아제의 경우)은 Aha1 mRNA 수준에 대한 대조군으로서 제공되었다. 각각의 96-웰 플레이트 및 이중 투여량 스크린의 두 용량에 대한 형질감염 효율은 Aha1-siRNA(GapDH로 정규화됨)가 있는 웰의 Aha1 수준을

[0414] 대조군으로 수득한 Aha1 수준과 관련시켜 계산하였다. 10 nM 투여량에서의 siAha1로의 형질감염 효율은 약 90%였고, 0.5 nM 투여량에서의 형질감염 효율은 약 85%였다.

[0415] siRNA의 활성은 각 표적의 최저 형광 또는 최저 mRNA 농도 백분율로 측정하였다. 각 웰에 대해, 표적 mRNA 수준을 각각의 GAPDH mRNA 수준에 대해 정규화하였다. 주어진 siRNA의 활성은 대조군 웰 전체에 걸쳐 평균화된 표적 mRNA 농도(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)에 비해, 치료된 세포에서의 각각의 표적의 mRNA 농도 백분율(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)로서 표현되었다.

[0416] 활성에 기초하여 상위 24개의 siRNA의 이중 투여량 스크린으로부터의 결과를 아래 표 9에 나타냈다. 아래의 표 10은 이들 siRNA에 대한 서열을 나타낸다.

표 9

siRNA ID	% 잔류 C3 mRNA[10 nm]	SD	% 잔류 C3 mRNA[0.5 nm]	SD
1	17	3	40	13
2	22	2	75	4
3	23	10	57	12
4	25	3	63	4
5	27	4	63	8
6	27	5	62	3
7	27	4	83	4
8	28	2	79	7
9	28	3	55	6
10	28	4	53	3
11	28	5	76	2
12	29	5	56	3
13	29	8	94	18
14	30	3	79	8
15	31	5	65	4
16	32	3	47	10
17	32	8	80	12
18	34	6	58	9
19	35	5	57	19
20	38	4	63	6
21	39	4	72	2
22	39	6	59	3
23	39	10	72	6
24	42	9	62	4

표 10

siRNA ID	센스 서열(5'에서 3')	안티센스 서열(5'에서 3')
1	uscsAfacuCfAfCfcuGfuaauAfaa (서열번호 201)	usUfsuauuacaggugAfguugasusu (서열번호 202)
2	asgsGfaugCfCfAfCuAfugucUfaa (서열번호 203)	usUfsagacauaguggCfauccususu (서열번호 204)
3	csusUfgaaGfCfCfaaCfuacaUfga (서열번호 205)	usCfsauguaguuggcUfucaagsusu (서열번호 206)
4	uscsCfaagCfCfUfugGfcucaAfua (서열번호 207)	usAfsuugagccaaggCfuuggasusu (서열번호 208)
5	asgsUfcaaGfGfUfcuAfcgccUfaa (서열번호 209)	usUfsaggcguagaccUfugacususu (서열번호 210)
6	asasAfcugUfGfGfcuGfuucgCfaa (서열번호 211)	usUfsgcgaacagccaCfaguususu (서열번호 212)
7	usgsAfgauCfUfGfuaCfcaggUfaa (서열번호 213)	usUfsaccugguacagAfucucasusu (서열번호 214)

8	csusUfuguUfCfUfcaUfcucgCfua (서열번호 215)	usAfsgecgagagagaAfcaggsusu (서열번호 216)
9	asusCfugaUfCfUfucAfccguCfaa (서열번호 217)	usUfsgacggugaagaUfccgausus (서열번호 218)
10	uscsAfacuUfCfCfucCfugcgAfaa (서열번호 219)	usUfsucgcaggaggaAfguugasusu (서열번호 220)
11	csgsUfgcuGfCfCfcaGfuucGfaa (서열번호 221)	usUfscgaaacugggcAfgcacgsusu (서열번호 222)
12	asusAfggaAfCfAfccCfucuCfaa (서열번호 223)	usUfsgaugaggguUfccuaggsusu (서열번호 224)
13	usgsGfucaAfGfGfucUfucUfca (서열번호 225)	usGfsagagaagaccUfgaccasusu (서열번호 226)
14	gsasAfacuUfCfAfcaAfaaCfca (서열번호 227)	usGfsguaauugugAfguugcsusu (서열번호 228)
15	cscsUfuugUfCfAfucUfucggGfaa (서열번호 229)	usUfscggaagaagaCfaaggsusu (서열번호 230)
16	csasAfugaCfUfUfugAfccgUfaa (서열번호 231)	usUfsacucgucaagUfcuaggsusu (서열번호 232)
17	ascsGfacuUfCfCfcaGfgcaAfaa (서열번호 233)	usUfsuugccugggaAfgucgsusu (서열번호 234)
18	gsasAfcagAfGfAfuaCfuacGfua (서열번호 235)	usAfsccguaguauCfuguugsusu (서열번호 236)
19	gsusUfucgAfGfGfucAfuaguGfga (서열번호 237)	usCfscacuaagaccUfgaaacsusu (서열번호 238)
20	asasUfgaaCfAfGfagAfuacuAfaa (서열번호 239)	usGfsuaguauCucugUfcuaggsusu (서열번호 240)
21	asgsCfuuaAfAfGfucUfuugaCfua (서열번호 241)	usAfsgucaagucuuUfuagcsusu (서열번호 242)
22	cscsAfacuUfCfAfugAfaccUfca (서열번호 243)	usGfsuagguucauguAfguuggsusu (서열번호 244)
23	csusAfcucUfGfUfugUfucgaAfaa (서열번호 245)	usUfsuucgaacaagaGfaguagsusu (서열번호 246)
24	gsusGfcguUfGfGfcUfaaUfca (서열번호 247)	usUfsucauugagccaAfcgcacsusu (서열번호 248)
25	csusCfcugCfGfAfauGfgaccGfca (서열번호 249)	usGfscgguccauucGfaggagsusu (서열번호 250)

[0419] 투여량 반응 실험

[0420] 두 투여량 모두에서 최상의 활성을 갖는 상위 12개의 siRNA를 투여량 반응 실험(DRC)에서의 시험을 위해 선택하였다. 100 nM에서 시작하여 약 10 fM까지의 6배 희석 단계로, 4회 주입으로 형질감염된 10가지 농도의 siRNA로, 투여량-반응 실험을 수행하였다. 모의 형질감염 세포는 DRC 실험에서의 대조군으로서 제공되었다.

[0421] 각 웰에 대해, 표적 mRNA 수준을 각각의 GAPDH mRNA 수준에 대해 정규화하였다. 주어진 siRNA의 활성은 모의 형질감염 웰(DRC) 전체에 걸쳐 평균화된 표적 mRNA 농도(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)에 비해, 치료된 세포에서의 각각의 표적의 mRNA 농도 백분율(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)로서 표현되었다.

[0422] DRC 실험으로부터의 IC50 및 IC80 값 및 이중 투여량 실험으로부터의 최대 KD 결과(10 nm 투여량)가 아래 표 11에 제시된다:

표 11

siRNA ID	IC50	IC80	최대 KD(HeLa)
9	0.751	#N/A	75%
10	0.172	#N/A	77%
23	0.775	45.873	79%
3	0.646	4.035	84%

22	0.246	442952.010	73%
20	0.395	#N/A	71%
18	0.564	#N/A	78%
4	0.208	11.812	81%
1	0.086	12.744	81%
12	0.349	#N/A	77%
5	0.445	14.092	81%
16	0.087	6.186	83%

[0424] 실시예 2: siRNA를 사용하는 HepG2 세포에서의 C3 발현의 knockdown

[0425] 실시예 1에서의 이중 투여량 실험을 HepG2 세포에서의 입증된 활성에 기초하여 상위 50개의 siRNA에 대해 반복하였다(실시예 1).

[0426] HepG2 세포는 ATCC(ATCC, LGC Standards, Wesel, Germany와 제휴함, cat.# ATCC-HB-8065)로부터 획득하였고, 이를 가습 인큐베이터 중 37℃의 5% CO₂ 분위기 하에서 10% 소 태아 혈청(#1248D, Biochrom GmbH, Berlin, Germany), 1 x 비필수 아미노산(#K0293; Biochrom, Berlin, Germany), 4 mM L-글루타민(#K0283, Biochrom, Berlin, Germany) 및 100 U/ml 페니실린/100 µg/ml 스트렙토마이신(#A2213, Biochrom GmbH, Berlin, Germany)을 함유하도록 보충된 MEM Eagle(#M2279, Sigma-Aldrich, Germany)에서 배양하였다.

[0427] siRNA 및 C3 활성 검정의 형질감염 - 이중 투여량 실험

[0428] siRNA를 이용한 HepG2 세포의 형질감염을 위해, 세포를 15,000 세포/웰의 밀도로 콜라겐 코팅된 96-웰 조직 배양 플레이트(#655150, GBO, Germany)에 씨딩하였다. siRNA의 형질감염은 씨딩 직후의 역방향 형질감염에 대한 제조업체의 지침에 따라 리포펙타민 RNAiMax(Invitrogen/Life Technologies, Karlsruhe, Germany)을 사용하여 수행되었다. 이 실험에서, 각각 10 nM 및 0.1 nM의 4중 siRNA를 사용하여 이중 투여량 스크린을 수행하였다. Aha1을 표적으로 하는 siRNA는 C3 표적 mRNA 발현에 대한 비특이적 대조군으로서 동시에 제공되었고, Aha1 mRNA 수준과 관련하여 형질감염 효율을 분석하기 위한 양성 대조군으로서 제공되었다. 반딧불이-루시페라아제 및 레닐라-루시페라아제를 모의 형질감염으로서 사용하였다.

[0429] siRNA와 함께 24시간 인큐베이션 후, 배지를 제거하고 세포를 150 µl 배지 용해 혼합물(1부피의 용해 혼합물, 2부피의 세포 배양 배지)에 용해시킨 다음, 53℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. bDNA 검정(ThermoFisher QuantiGene RNA 검정)은, ThermoFisher Scientific에서 설계하고 독일 Planegg 소재 Metabion International AG에서 합성한 인간 C3(수탁번호-# NM_000064 서열의 염기 106과 염기 907 사이)에 대한 프로브셋을 사용하여 제조업체의 지침에 따라 수행되었다. 어두운 실온에서 30분 인큐베이션한 후 1420 발광 계수기(WALLAC VICTOR Light, Perkin Elmer, Rodgau-Juegesheim, Germany)를 사용하여 발광을 판독하였다.

[0430] Aha1-siRNA는 C3 mRNA 발현에 대한 비특이적 대조군 및 Aha1 프로브셋을 사용하는 혼성화에 의한 Aha1 mRNA 수준의 측정에 의해 형질감염 효율을 분석하기 위한 양성 대조군으로서 제공되었다. 사용된 Aha-1 siRNA는 이전에 큰 세트의 후보군 siRNA로부터 선택되었고, 이는 시험관 내 및 생체 내에서 매우 활성이 있는 것으로 알려져 있다. 각각의 96-웰 플레이트에 대한 형질감염 효율을 Aha1-siRNA(GapDH에 대해 정규화됨)를 사용하는 Aha1-knockdown의 분석으로 비특이적 대조군과 비교하여 계산하였다. 대조군을 사용하여 Aha-1 수준에 대한 Aha1-siRNA(GapDH에 대해 정규화됨)를 획득하였다. 10 nM 투여량에서의 siAha1로의 형질감염 효율은 약 90%였고, 0.5 nM 투여량에서의 형질감염 효율은 약 85%였다.

[0431] siRNA의 활성은 각 표적의 형광 또는 mRNA 농도 백분율로 측정하였다. 각 웰에 대해, 표적 mRNA 수준을 각각의 GAPDH mRNA 수준에 대해 정규화하였다. 주어진 siRNA의 활성은 대조군 웰 전체에 걸쳐 평균화된 표적 mRNA 농도(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)에 비해, 치료된 세포에서의 각각의 표적의 mRNA 농도 백분율(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)로서 표현되었다.

[0432] 10 nM 및 0.1 nM 투여량에 대해, 활성에 기초한 상위 12개의 siRNA의 이중 투여량 스크린으로부터의 결과를 각각 아래 표 12 및 13에 나타냈다.

표 12

[0433]

siRNA ID	KD @ 10 nM	KD @ 0.1 nM
4	94%	66%

mRNA 전사물, 즉 서열번호 75에 상보성이라는 것을 제외하고는 "변이체0"에 사용된 패턴과 동일함)

`usXfsxXfxXfxXfxXfxXfxXfxXfxXfxsx("변이체2"에 사용된 패턴)`

usXfsxxxXfxxxxxxxXfxXfxxxsxsx("변이체4" 및 "변이체5"에 사용된 패턴)

여기에서, "x"는 임의의 뉴클레오타이드를 나타내고; 소문자는 2'-O-메틸기로 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "Xf"는 2'-플루오로기로 변형된 뉴클레오타이드("X"는 임의의 뉴클레오타이드일 수 있음)를 나타낸다. 예를 들어, "Af"는 2'-플루오로기로 변형된 아데닌 뉴클레오타이드를 나타낸다. "s"는 포스포포티오에이트 결합을 나타낸다.

투여량 반응 실험

siRNA의 형질감염은 역방향 형질감염에 대한 제조업체의 지침에 따라 리포펙타민 RNAiMax(Invitrogen/Life Technologies, Karlsruhe, Germany)을 사용하여 수행되었다.

각각의 siRNA를 HepG2 세포에서의 투여량 반응 실험(DRC)을 사용하여 시험하였다. C3 발현을 녹다운시키는 것으로 알려진 2개의 추가적인 siRNA(siRNA ID: 26 및 27)를 양성 대조군으로서 사용하였다.

100 nM에서 시작하여 약 10 fM까지의 6배 희석 단계로, 4회 주입으로 형질감염된 10가지 농도의 siRNA로, 투여량-반응 실험을 수행하였다. 모의 형질감염 세포가 음성 대조군으로서 제공되었다.

각 웰에 대해, 표적 mRNA 수준을 각각의 GAPDH mRNA 수준에 대해 정규화하였다. 주어진 siRNA의 활성은 모의 형질감염 웰(DRC) 전체에 걸쳐 평균화된 표적 mRNA 농도(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)에 비해, 치료된 세포에서의 각각의 표적의 mRNA 농도 백분율(GAPDH mRNA에 대해 정규화됨)로서 표현되었다.

DRC 실험으로부터의 IC50, IC80 값, 및 최대 KD를 아래의 표 14에 나타냈다. 아래의 표 15는 이들 siRNA에 대한 서열을 나타낸다.

丑 14

siRNA ID	설명	IC ₅₀ @ [nM]	IC ₈₀ @ [nM]	최대 KD
27	(+) 대조군	0.004	0.027	89%
26	(+) 대조군	0.006	0.062	86%
32	siRNA_1 변이체5	0.018	0.108	93%
22	siRNA_22 변이체0	0.054	0.475	91%
53	siRNA_22 변이체1	0.056	0.510	91%
33	siRNA_4 변이체1	0.075	0.601	91%
47	siRNA_10 변이체5	0.055	0.708	83%
28	siRNA_1 변이체1	0.001	0.711	95%
38	siRNA_9 변이체1	0.151	0.728	91%
4	siRNA_4 변이체0	0.179	0.885	91%
56	siRNA_22 변이체4	0.228	1.201	91%
9	siRNA_9 변이체0	0.210	1.325	90%
37	siRNA_4 변이체5	0.168	1.378	86%
57	siRNA_22 변이체5	0.029	1.381	91%
54	siRNA_22 변이체2	0.290	1.524	89%
34	siRNA_4 변이체2	0.324	1.641	86%
39	siRNA_9 변이체2	0.326	1.663	86%
55	siRNA_22 변이체3	0.265	1.736	89%
52	siRNA_16 변이체5	0.058	1.885	85%
1	siRNA_1 변이체0	0.345	2.198	84%
40	siRNA_9 변이체3	0.468	2.442	87%
10	siRNA_10 변이체0	0.024	2.799	90%
42	siRNA_9 변이체5	0.500	2.910	84%
43	siRNA_10 변이체1	0.096	3.219	82%
16	siRNA_16 변이체0	0.315	6.534	83%
31	siRNA_1 변이체4	0.343	7.640	81%
48	siRNA_16 변이체1	0.119	8.349	82%
41	siRNA_9 변이체4	1.397	11.098	84%
29	siRNA_1 변이체2	0.979	#N/A	68%
30	siRNA_1 변이체3	-	-	36%

35	siRNA_4_변이체3	0.622	-	55%
36	siRNA_4_변이체4	0.486	-	68%
44	siRNA_10_변이체2	0.386	-	76%
45	siRNA_10_변이체3	0.905	-	50%
46	siRNA_10_변이체4	0.540	-	63%
49	siRNA_16_변이체2	-	-	28%
50	siRNA_16_변이체3	-	-	16%
51	siRNA_16_변이체4	-	-	32%

표 15

[0457]

siRNA ID	siRNA 설명	센스 서열(5'에서 3')	안티센스 서열(5'에서 3')
26	(+) 대조군	CAACUCACCGUAAUAAAAUUU (서열번호 251)	pAUUUUUUACAGGUGAGUUGUU (서열번호 252)
27	(+) 대조군	GAGCCGUUCUCUACAAUUAUU (서열번호 253)	pUAAUUGUAGAGAACGGCUCUU (서열번호 254)
1	siRNA ID_1_변이체0	uscsAfacuCfAfCfcGfuaauAfaa (서열번호 201)	usUfsuauuacaggugAfguugasusu (서열번호 202)
28	siRNA ID_1_변이체1	uscsAfacuCfAfCfcGfuaauAfaa (서열번호 201)	usUfsuauuacaggugAfguugasusc (서열번호 256)
29	siRNA ID_1_변이체2	UfscsAfaCfuCfaCfcUfgUfaAfuAfaAf (서열번호 255)	usUfsuAfuUfaCfaGfgUfgAfgUfuGfasusc (서열번호 257)
30	siRNA_1_변이체3	UfscsAfaCfuCfaCfcUfgUfaAfuAfaAf (서열번호 255)	usUfsuauuacaggugAfguugasusc (서열번호 256)
31	siRNA_1_변이체4	UfscsAfaCfuCfaCfcUfgUfaAfuAfaAf (서열번호 255)	usUfsuauUfacaggugAfgUfugasusc (서열번호 258)
32	siRNA_1_변이체5	uscsAfacuCfAfCfcGfuaauAfaa (서열번호 201)	usUfsuauUfacaggugAfgUfugasusc (서열번호 258)
4	siRNA_4_변이체0	uscsCfaagCfCfUfugGfcucaAfua (서열번호 207)	usAfsuugagccaaggCfuuggasusu (서열번호 208)
33	siRNA_4_변이체1	uscsCfaagCfCfUfugGfcucaAfua (서열번호 207)	usAfsuugagccaaggCfuuggasusc (서열번호 260)
34	siRNA_4_변이체2	UfscsCfaAfgCfcUfuGfgCfuCfaAfuAf (서열번호 259)	usAfsuUfgAfgCfcAfaGfgCfuUfgGfasusc (서열번호 261)
35	siRNA_4_변이체3	UfscsCfaAfgCfcUfuGfgCfuCfaAfuAf (서열번호 259)	usAfsuugagccaaggCfuuggasusc (서열번호 260)
36	siRNA_4_변이체4	UfscsCfaAfgCfcUfuGfgCfuCfaAfuAf (서열번호 259)	usAfsuugAfgccaaggCfuUfggasusc (서열번호 262)
37	siRNA_4_변이체5	uscsCfaagCfCfUfugGfcucaAfua (서열번호 207)	usAfsuugAfgccaaggCfuUfggasusc (서열번호 262)
9	siRNA_9_변이체0	asusCfsggaUfCfUfucAfccguCfaa (서열번호 217)	usUfsgacggugaagaUfccgaususu (서열번호 218)
38	siRNA_9_변이체1	asusCfsggaUfCfUfucAfccguCfaa (서열번호 217)	usUfsgacggugaagaUfccgausag (서열번호 263)
39	siRNA_9_변이체2	AfsusCfsgGfaUfcUfuCfaCfcGfuCfaAf (서열번호 264)	usUfsgAfcGfgUfgAfaGfaUfcCfGafusag (서열번호 265)
40	siRNA_9_변이체3	AfsusCfsgGfaUfcUfuCfaCfcGfuCfaAf (서열번호 264)	usUfsgacggugaagaUfccgausag (서열번호 263)
41	siRNA_9_변이체4	AfsusCfsgGfaUfcUfuCfaCfcGfuCfaAf (서열번호 264)	usUfsgacGfgugaagaUfcCfgausag (서열번호 266)
42	siRNA_9_변이체5	asusCfsggaUfCfUfucAfccguCfaa (서열번호 217)	usUfsgacGfgugaagaUfcCfgausag (서열번호 266)
10	siRNA10_변이체0	uscsAfacuUfCfCfucCfugcgAfaa (서열번호 219)	usUfsucgcaggaggaAfguugasusu (서열번호 220)

43	siRNA10_변이체1	uscsAfacuUfCfCfucCfugcgAfaa (서열번호 219)	usUfsucgcaggaggaAfguugascsg (서열번호 267)
44	siRNA10_변이체2	UfscsAfaCfuUfcCfuCfcUfgCfgAfaAf (서열번호 268)	usUfsuCfgCfaGfgAfgGfaAfgUfuGfascsg (서열번호 269)
45	siRNA10_변이체3	UfscsAfaCfuUfcCfuCfcUfgCfgAfaAf (서열번호 268)	usUfsucgcaggaggaAfguugascsg (서열번호 267)
46	siRNA10_변이체4	UfscsAfaCfuUfcCfuCfcUfgCfgAfaAf (서열번호 268)	usUfsucgCfaggaggaAfgUfugascsg (서열번호 270)
47	siRNA10_변이체5	uscsAfacuUfCfCfucCfugcgAfaa (서열번호 219)	usUfsucgCfaggaggaAfgUfugascsg (서열번호 270)
16	siRNA_16_변이체0	csasAfugaCfUfUfugAfcgagUfaa (서열번호 231)	usUfsacucgucaaagUfcuugsusu (서열번호 232)
48	siRNA_16_변이체1	csasAfugaCfUfUfugAfcgagUfaa (서열번호 231)	usUfsacucgucaaagUfcuugsgsa (서열번호 271)
49	siRNA_16_변이체2	CfsasAfuGfaCfuUfuGfaCfgAfgUfaAf (서열번호 272)	usUfsaCfuCfUfcAfaAfgUfcAfuUfgsgsa (서열번호 273)
50	siRNA_16_변이체3	CfsasAfuGfaCfuUfuGfaCfgAfgUfaAf (서열번호 272)	usUfsacucgucaaagUfcuugsgsa (서열번호 271)
51	siRNA_16_변이체4	CfsasAfuGfaCfuUfuGfaCfgAfgUfaAf (서열번호 272)	usUfsacuCfgucaaagUfcAfuugsgsa (서열번호 274)
52	siRNA_16_변이체5	csasAfugaCfUfUfugAfcgagUfaa (서열번호 231)	usUfsacuCfgucaaagUfcAfuugsgsa (서열번호 274)
22	siRNA_22_변이체0	cscsAfacuAfCfAfugAfaccuAfca (서열번호 243)	usGfsuagguucauguAfguuggsusu (서열번호 244)
53	siRNA_22_변이체1	cscsAfacuAfCfAfugAfaccuAfca (서열번호 243)	usGfsuagguucauguAfguuggscsu (서열번호 275)
54	siRNA_22_변이체2	CfscsAfaCfuAfcAfuGfaAfcCfuAfcAf (서열번호 276)	usGfsuAfgGfuUfcAfuGfuAfgUfuGfgscsu (서열번호 277)
55	siRNA_22_변이체3	CfscsAfaCfuAfcAfuGfaAfcCfuAfcAf (서열번호 276)	usGfsuagguucauguAfguuggscsu (서열번호 275)
56	siRNA_22_변이체4	CfscsAfaCfuAfcAfuGfaAfcCfuAfcAf (서열번호 276)	usGfsuagGfuucauguAfgUfuggscsu (서열번호 278)
57	siRNA_22_변이체5	cscsAfacuAfCfAfugAfaccuAfca (서열번호 243)	usGfsuagGfuucauguAfgUfuggscsu (서열번호 278)

[0458] 표 14의 IC50 및 IC80 값은 변형 패턴이 성능 면에서 다양하다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 이들 siRNA 각각이 동일한 뉴클레오티드 서열, 및 C3 전사물의 동일한 영역을 기반으로 함에도 불구하고, siRNA ID: 32("변이체5"에서 식별된 변형 패턴을 사용함)는 siRNA ID: 1("변이체0"), 28 ("변이체1"), 29 ("변이체2"), 30 ("변이체3"), 및 31 ("변이체4")에 비해 보다 양호한 활성(각각 0.018 nM 및 0.108 nM의 IC50 및 IC80 값)을 가졌다.

[0459] 또한, 변형 패턴(즉, 상이한 변이체)의 성능은 siRNA 뉴클레오티드 서열(즉, C3 전사물의 표적 영역)에 따라 변하는 것으로 나타났다. 예를 들어, "변이체5"는 siRNA 1의 뉴클레오티드 서열을 기반으로 하는 siRNA의 C3 녹다운에서 가장 효과적인 것으로 나타난 반면(예를 들어 siRNA ID: 1(변이체0)과 비교된 siRNA ID: 32(변이체5) 참조), siRNA 22의 뉴클레오티드 서열을 기반으로 하는 siRNA에서는 "변이체0"이 C3 녹다운에서 가장 효과적인 것으로 나타났다(예를 들어, siRNA: 55(변이체3)과 비교된 siRNA ID: 22(변이체0) 참조).

[0460] 실시예 4: 비인간 영장류에서의 siRNA 58의 생체 내 평가

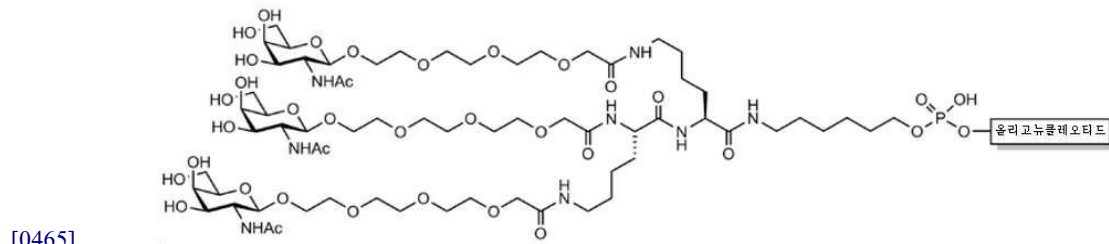
[0461] *siRNA* 작제물

[0462] 실시예 3의 siRNA 53을 선택하고 아래에 기술된 바와 같이 추가로 변형시켜 siRNA 58을 생성하였다.

표 16

siRNA ID	센스 서열(5'에서 3')	안티센스 서열(5'에서 3')
58	cscsAfacuAfCfAfugAfaccuAfcscsa (서열번호 325)	usGfsuagguucauguAfguuggscsu (서열번호 275)

[0464] 또한, siRNA 58의 센스 가닥의 5' 말단에서 NHC6 링커를 통해 아래에 도시된 GalNAc 구조체에 siRNA를 접합시켰다.



[0466] 식 XE

[0467] 이어서, 변형된 siRNA(이하 "siRNA 58"로 지칭됨)를 비인간 영장류에서 평가하였다.

[0468] 연구 설계

[0469] 미처리 수컷 시노몰구스 원숭이(각 군에서 n = 3)에게 3 mg/kg, 10 mg/kg, 또는 30 mg/kg siRNA 58, 또는 비히클(인산염 완충 식염수)을 1일차에 1회 투여량으로 피하(SC) 투여하였다.

[0470] 혈청 샘플은 -5, -1, 3, 8, 15, 22, 29, 40, 57, 67, 82, 97, 112, 127, 142, 157, 172 및 184일차에 채취되도록 스케줄링하였다(음의 값은 siRNA 58 또는 비히클을 주입하기 전의 날에 해당함). ELISA 검정을 사용하여 혈청 내 C3 단백질의 수준을 측정하였다. 추가적으로, 혈청 샘플을 대체 보체 경로 활성화(AH50)에 대해 또한 분석하였다. -1일차의 값을 베이스라인으로서 사용하였다.

[0471] 간 바늘 생검을 15, 46 및 79일차에 수행하였다. 정량적 PCR 검정을 사용하여 샘플의 C3 mRNA의 수준을 측정하였다. 이들 실험에서, C3 mRNA 수준을 ActB mRNA 수준으로 정규화하였다.

[0472] 결과

[0473] 도 3은 각 군에 대해 투여 후 최대 67일 동안의 혈청 C3 단백질의 수준에 대한 시간에 따른 변화를 나타낸다. 결과는 siRNA 58의 단일 SC 투여량이 베이스라인 값과 비교하여, 29일차까지 3 mg/kg 투여량에서 77%, 10 mg/kg 투여량에서 85%, 및 30 mg/kg 투여량에서 90%만큼 혈청 C3 단백질의 수준을 감소시켰고, 15일차까지 이러한 수준에 가까운 감소가 명백하다는 것을 나타낸다. 또한, 도 3의 데이터는 전술한 감소가 67일차까지 유지되었음을 나타낸다.

[0474] 도 4는 siRNA 58의 단일 투여량이 비히클 대조군과 비교하여, 15일차까지 3 mg/kg 투여량에서 89%, 10 mg/kg 투여량에서 97%, 및 30 mg/kg 투여량에서 99%만큼 간 C3 mRNA의 감소를 초래하였음을 나타낸다. 전술한 감소는 46일차까지 유지되었다(도 5).

[0475] 도 6은 67일차까지의 시간 경과에 따른, 채워진 혈청에서의 대체 보체 경로(AH50) 활성화의 수준을 나타낸다. 결과는 siRNA 58의 단일 SC 투여량이 베이스라인 값과 비교하여, 29일차까지 3 mg/kg 투여량에서 65%, 10 mg/kg 투여량에서 82%, 및 30 mg/kg 투여량에서 92%만큼 대체 보체 경로 활성을 감소시켰고, 감소는 15일차까지 이러한 수준에 도달한다는 것을 나타낸다. 추가적으로, 감소된 활성화는 67일차에서도 유지되었고, 활성화는 베이스라인 값과 비교하여 3 mg/kg 용량에서 68%, 10 mg/kg 용량에서 91%, 30 mg/kg 용량에서 98%만큼 감소하였다.

[0476] 실시예 5: 비인간 영장류에서의 siRNA 60의 생체 내 평가

[0477] siRNA 작제물

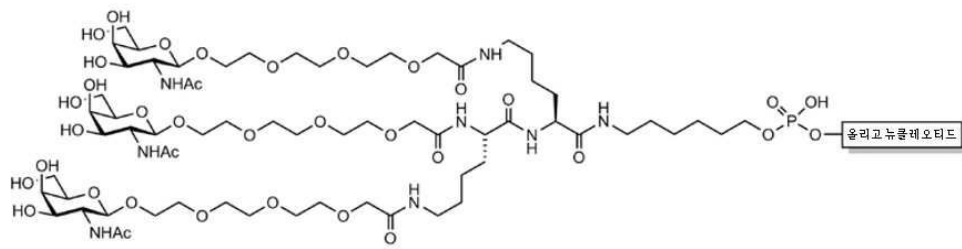
[0478] 실시예 3의 siRNA 32를 선택하고 아래에 기술된 바와 같이 추가로 변형시켜 siRNA 60을 생성한다.

표 17

[0479]

siRNA ID	센스 서열(5'에서 3')	안티센스 서열(5'에서 3')
60	uscsAfacuCfAfCfcuGfuaauAfsasa (서열번호 327)	usUfsuauUfacaggugAfgUfugasusc (서열번호 258)

[0480] 또한, siRNA 60의 센스 가닥의 5' 말단에서 NHC6 링커를 통해 아래에 도시된 GalNAc 구조체에 siRNA를 접합시킨다.



[0481]

[0482] 식 XE

[0483] 이어서, 변형된 siRNA(이하 "siRNA 60"으로 지칭됨)를 비인간 영장류에서 평가한다.

[0484] 연구 설계

[0485] 미처리 수컷 시노몰구스 원숭이(각 군에서 $n = 3$)에게 3 mg/kg, 10 mg/kg, 또는 30 mg/kg siRNA 60, 또는 비히클(인산염 완충 식염수)을 1일차에 1회 투여량으로 피하(SC) 투여한다.

[0486] 혈청 샘플은 -5, -1, 3, 8, 15, 22, 29, 40, 57, 67, 82, 97, 112, 127, 142, 157, 172 및 184일차에 채취된다(음의 값은 siRNA 60 또는 비히클을 주입하기 전의 날에 해당함). ELISA 검정을 사용하여 혈청 내 C3 단백질의 수준을 측정한다. 추가적으로, 혈청 샘플을 대체 보체 경로 활성화(AH50)에 대해 또한 분석한다. -1일차의 값을 베이스라인으로서 사용한다.

[0487] 간 바늘 생검을 15, 46 및 79일차에 수행한다. 정량적 PCR 검정을 사용하여 샘플의 C3 mRNA의 수준을 측정한다. 이들 실험에서, C3 mRNA 수준을 ActB mRNA 수준으로 정규화한다.

[0488] 실시예 6: siRNA 58의 오프 표적 분석 및 안전성

[0489] siRNA 58의 센스 및 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 서열을 잠재적 오프 표적 활성화에 대해 분석하였다(Lindow 등, 2012). 센스 및 안티센스 가닥에 대한 잠재적인 오프 표적 활성을 성숙한 인간 RNA 및 일차 인간 RNA에서 분석하였다.

[0490] 방법

[0491] 분석된 서열은 다음과 같다:

[0492] 안티센스(가이드) 가닥: 5'-uguagguucauguaguuggcu-3' (서열번호 321)

[0493] 센스(패신저) 가닥: 5'-ccaacuacaugaaccuaca-3' (서열번호 147)

[0494] 안티센스 가닥(성숙한 인간 RNA): 잠재적 오프 표적 유전자를 식별하기 위해, 다음의 파라미터를 사용하는 FASTA 패키지(v36; Pearson 2000)의 스미스-워터맨(Smith-Waterman) 갭 로컬 정렬(sSearch)을 사용하여 유사성 검색을 수행하였다:

[0495] -E 5000 미만의 E-값. E는 이러한 크기의 데이터베이스를 검색할 경우 우연히 보게 될 것으로 예상되는 검색 히트 횟수에 상응하며; 모든 잠재적 혼성화 오프 표적 서열이 검출되도록 하기 위해 비교적 높은 수가 사용된다.

[0496] -W(정렬 측부 위치의 수)는 5로 설정된다.

[0497] -n은 핵산 검색을 위한 파라미터이다.

[0498] -f 및 -g는 갭 정렬을 회피하도록 갭 생성 및 연장 페널티에 대해 1000으로 설정된다.

[0499] ssearch36 -n -W 5 -E 5000 -f 1000 -g 1000 query refMrna.fa

[0500] 안티센스 가닥(일차 인간 RNA): 핵 내에서 잠재적인 오프 표적 효과를 갖는 유전자를 식별하기 위해, (스플라이싱되지 않고 인트론을 함유하는) 일차 RNA에 대한 올리고뉴클레오타이드 서열의 일치도를 조사하였다. 구체적으로, 다음의 파라미터를 갖는 인간 게놈(버전 hg38)에 대한 FASTA 패키지(v36; Pearson 2000)에서의 스미스-워터맨 갭 로컬 정렬(sSearch)을 사용하여 이들 유사성 검색을 수행하였다:

[0501] -E 5000 미만의 E-값. E는 이러한 크기의 데이터베이스를 검색할 경우 우연히 보게 될 것으로 예상되는 검색 히

트 횟수에 상응하며; 모든 잠재적 혼성화 오프 표적 서열이 검출되도록 하기 위해 비교적 높은 수가 사용된다.

[0502] -W(정렬 측부 위치의 수)는 5로 설정된다.

[0503] -n은 핵산 검색을 위한 파라미터이다.

[0504] -f 및 -g는 겹 정렬을 회피하도록 겹 생성 및 연장 페널티에 대해 1000으로 설정된다.

[0505] `ssearch36 -n -W 5 -E 5000 -f 1000 -g 1000 query refGene.fa`

[0506] 게놈 정렬은 각각의 서열이 발견된 기준 게놈에서의 위치를 식별할 수 있지만; 기준 게놈 자체는 유전자 및 유전자 몸체의 위치를 함유하지 않는다. 따라서, 어떠한 유전자가 혼성화에 대한 가능성을 갖는지에 관한 정보를 얻기 위해, 정렬에 이어서, 히트의 sSearch 게놈 좌표를 베드 파일 포맷으로 변환하고, bedtools(v2.28.0) 교차를 사용하여 유전자에 대한 유전자 내 히트의 주석을 달았다. 유전자 위치는, "유전자 및 유전자 예측 표(Gene and gene predictions table)"로부터의 Gencodev32 및 hg38용 UCSC 게놈 브라우저 Table Viewer로부터 얻었다. bedtools를 갖는 주석을 위해 다음의 명령을 사용하였다:

[0507] `bedtools 교차 -a hitBedFile.bed -b geneBedFile.bed -wo`

[0508] -a 및 -b 노트 입력

[0509] -wo는 유전자 명칭을 얻는 데 필요한 히트 및 전체 주석의 원래 위치를 기록한다.

[0510] 센스 가닥(성숙한 인간 RNA): 잠재적 오프 표적 유전자를 식별하기 위해, 다음의 파라미터를 사용하는 FASTA 패키지(v36; Pearson 2000)의 스미스-워터맨(Smith-Waterman) 겹 로컬 정렬(sSearch)을 사용하여 유사성 검색을 수행하였다:

[0511] -E 5000 미만의 E-값. E는 이러한 크기의 데이터베이스를 검색할 경우 우연히 보게 될 것으로 예상되는 검색 히트 횟수에 상응하며; 모든 잠재적 혼성화 오프 표적 서열이 검출되도록 하기 위해 비교적 높은 수가 사용된다.

[0512] -W(정렬 측부 위치의 수)는 5로 설정된다.

[0513] -n은 핵산 검색을 위한 파라미터이다.

[0514] -f 및 -g는 겹 정렬을 회피하도록 겹 생성 및 연장 페널티에 대해 1000으로 설정된다.

[0515] (1) 16개 이상의 일치 수(2개 또는 1개의 불일치)를 갖는 11개 초과(짧은 센스 서열로 인해 13개로부터 감소됨)에 걸쳐 중단되지 않은 가장 긴 상보성, 및/또는 (2) 16개 일치(3개의 불일치)를 갖는 14 bp 이상의 중단 없는 상보성을 갖는 성숙한 RNA 서열을 찾기 위해 검색을 수행하였다.

[0516] 센스 가닥(일차 인간 RNA): 핵 내에서 잠재적인 오프 표적 효과를 갖는 유전자를 식별하기 위해, (스플라이싱되지 않고 인트론을 함유하는) 일차 RNA에 대한 올리고뉴클레오타이드 서열의 일치도를 조사하였다. 구체적으로, 다음의 파라미터를 갖는 인간 게놈(버전 hg38)에 대한 FASTA 패키지(v36; Pearson 2000)에서의 스미스-워터맨 겹 로컬 정렬(sSearch)을 사용하여 이들 유사성 검색을 수행하였다:

[0517] -E 5000 미만의 E-값. E는 이러한 크기의 데이터베이스를 검색할 경우 우연히 보게 될 것으로 예상되는 검색 히트 횟수에 상응하며; 모든 잠재적 혼성화 오프 표적 서열이 검출되도록 하기 위해 비교적 높은 수가 사용된다.

[0518] -W(정렬 측부 위치의 수)는 5로 설정된다.

[0519] -n은 핵산 검색을 위한 파라미터이다.

[0520] -f 및 -g는 겹 정렬을 회피하도록 겹 생성 및 연장 페널티에 대해 1000으로 설정된다.

[0521] `ssearch36 -n -W 5 -E 5000 -f 1000 -g 1000 query refGene.fa`

[0522] 어떠한 유전자가 아르곤나우트(Argonaut)에 의한 그들의 일차 mRNA의 오프 표적 절단 가능성을 갖는지에 관한 정보를 얻기 위해, 정렬에 이어서, 히트의 sSearch 게놈 좌표를 베드 파일 포맷으로 변환하고, bedtools(v2.28.0) 교차를 사용하여 유전자에 대한 유전자 내 히트의 주석을 달았다. 유전자 위치는, "유전자 및 유전자 예측 표(Gene and gene predictions table)"로부터의 Gencodev32 및 hg38용 UCSC 게놈 브라우저 Table Viewer로부터 얻었다. bedtools를 갖는 주석을 위해 다음의 명령을 사용하였다:

[0523] `bedtools 교차 -a hitBedFile.bed -b geneBedFile.bed -wo`

[0537] 식 XE

[0538] 이어서, 변형된 siRNA(이하 "siRNA 59"로 지칭됨)를 스프래그-다울리(Sprague-Dawley) 랫트에서 평가하였다.

[0539] 목표: 이 연구의 목표는 스프래그-다울리 랫트에게 단일 피하 주사로 투여될 경우, 3가지 투여량 수준에서의 siRNA 59의 혈장 약동학(PK) 및 제한된 조직 분포를 결정하는 것이었다. 본 연구의 이차 목적은 단일 피하 주사로서 투여된 siRNA 59의 3가지 투여량 수준 대 3일 동안 투여된 등가 투여량(1일 1회 투여)의 약력학적 효과를 비교하는 것이었다.

[0540] 방법

[표 19] 실험 연구 설계

군	TA	목표 투여량(mg/kg)	경로, 일	약력학 동물(PD)		약동학 동물(PK)		부검
				N	채혈 시점	N	채혈 시점	
1	siRNA 59	3 mg/kg	SC, 1 일	3	베이스라인 A, 투여 후 3, 8, 15, 22 및 29 일차	3	투여 후, 15(±5)분, 1 시간(±10 분), 4 시간(±10 분), 8 시간(±20 분), 24 시간(±20 분), 48 시간(±20 분), 및 72 시간(±20 분)	3 일차 -PK 동물 30 일차 -PD 동물
2		10 mg/kg	SC, 1 일	3		3		
3		30 mg/kg	SC, 1 일	3		3		
4		3 x 1 mg/kg (3 mg/kg ^B)	SC, 1 내지 3 일차	3		-		
5		3 x 3.3 mg/kg(10 mg/kg ^B)	SC, 1 내지 3 일	3		-		
6		3 x 10 mg/kg (30 mg/kg ^B)	SC, 1 내지 3 일	3		-		
7	siRNA (-) 대조군 ^C	3 x 10 mg/kg (30 mg/kg ^B)	SC, 1 내지 3 일	3		-		
8	비히클	n/a; TA 군에 전달된 최고 투여량에 일치하는 투여량	SC	3		3		

^A 베이스라인 채취 = -5 일차와 -1 일차 사이에 발생하는 하나의 채취 값

^B 4, 5, 6 및 7 군의 동물에게 각각 3, 10, 30 및 30 mg/kg 의 표시된 총 목표 투여량에 대해 3 회의 TA(또는 위약)를 매일 투여함.

^C 음성 대조군(랫트에서 교차 반응성이 아니고 C3 을 침묵시키지 않는 siRNA). SC = 피하; PK = 약동학; PD = 약력학; TA = 시험 물질

[0541] 연구설계:

[0542] 투여: 1군 내지 3군 및 8군으로부터의 동물에게 PBS 비히클, 또는 PBS 중 0.6, 2 및 6 mg/ml의 농도로 각각 제형화된 3, 10 또는 30 mg/kg siRNA 59를 5 ml 투여량의 단일 피하 주사로 투여하였다. 4군 내지 7군으로부터의 동물에게 10 mg/ml siRNA(-) 대조군, 또는 PBS 중 0.2, 0.6 및 2 mg/ml의 농도로 각각 제형화된 1, 3.3 또는 10 mg/ml siRNA 59를 5 ml 투여량의 3x 매일 피하 주사로 투여하였다.

[0543] 샘플링: PD 분석을 위해, 혈장 및 혈청 샘플을 베이스라인 및 투여 후 3, 8, 15, 22 및 29일차에 채취하였다. 투여 후 15분 및 1, 4, 8, 24, 48 및 72시간차에 혈장 샘플을 채취하였다. 투여 후 3일차 및 30일차 부검 시 간 샘플을 채취하였다.

[0544] 생체시료분석 방법: 혈장 PD 샘플을, 제조업체의 지침(Eagle Biosciences; 1:10,000의 혈장 희석)에 따라, 이중 항체 샌드위치 ELISA 키트를 사용하는 Confluence Discovery Technologies(MO, USA)에서 C3 단백질의 농도에 대해 분석하였다.

[0545] 혈청 PD 샘플을, AP Wieslab 검정(Eagle Biosciences, Cat# COMPL AP330)을 사용하는 Confluence Discovery Technologies(MO, USA)에서 대체 경로(AP) 보체 활성화에 대해 분석하였다.

[0546] PD 조직 샘플을, EpigenDx(MA, USA)에서 반 검증 RT-qPCR 방법을 사용하여 C3 mRNA 수준에 대해 분석하였다.

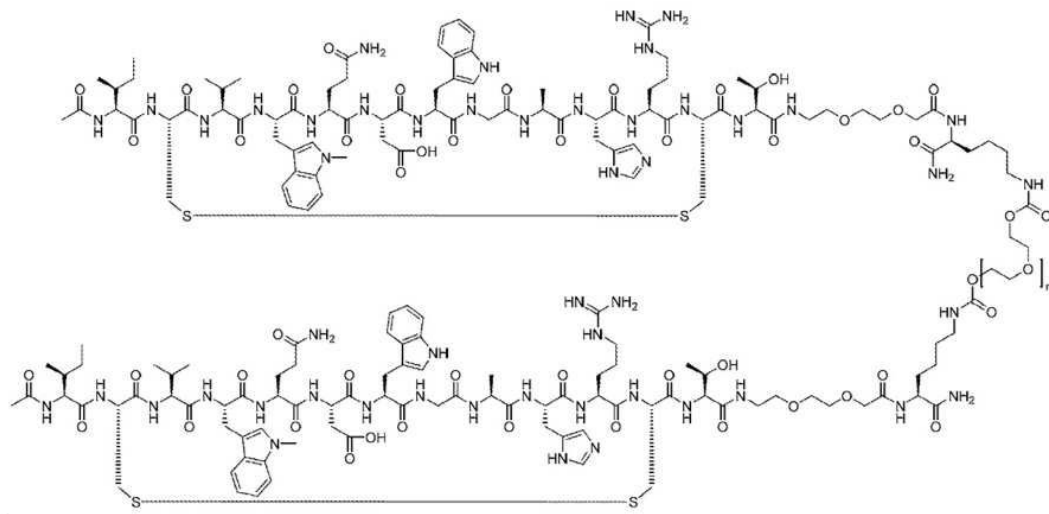
- [0547] 결과
- [0548] 순환 C3: 5개의 시점에서 혈장을 채취하여 C3 농도의 변화에 대해 평가하였다. siRNA에 대한 명확한 용량 의존적 반응이 투여량군 전반에서 관찰되었다(도 7). C3 단백질 감소의 최대 수준은 모든 투여량군에 대해 연구 8일차에 달성되었다. 혈장 C3 농도 데이터는 단일 투여량 치료군과 QDx3 등가 투여량군 간에 유사하였다. 혈장 C3 단백질의 베이스라인 수준으로의 완전한 회복은 3 mg/kg 투여량군에서만 관찰되었다. 10 및 30 mg/kg 투여량군은 29일차의 최종 채혈에서 각각의 베이스라인 C3 단백질 수준으로 완전히 회복된 것으로 보이지 않았다.
- [0549] 대체 경로 보체 활성화: 보체 활성화를 평가하기 위해, 단일 투여량 siRNA 59 및 비히클로 치료한 각각의 동물, 및 다중 투여량 siRNA(-) 대조군 치료 동물로부터의 혈청을, 대체 경로 활성화를 따르는 C5b-9의 형성을 측정하는 ELISA 기반 분석인 AP Wieslab 검정에 사용하였다(도 8). 도 8은, ELISA(광학 밀도 측정; OD)를 사용하여 가용성 C5b-9 복합체를 검출하고 정량화하여, 비히클(A); siRNA (-) 대조군(B); 3 mg/kg의 siRNA 59(C); 10 mg/kg의 siRNA 59(D); 및 30 mg/kg의 siRNA 59(E)로 피하 치료한 동물 혈청에서의 대체 경로 활성을 측정한 결과를 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM(n = 3)을 나타낸다. 혈청 AP 보체 활성화는 대조군 전체에 걸쳐 매우 가변적이었다. 고 투여량 siRNA 59 군의 혈청은 대체 경로 활성화의 약 90%의 평균 감소를 나타냈으며, 이는 투여 후 8일차에서 15일차까지 지속되었다.
- [0550] 간 조직에서의 C3 전사물: 연구의 두 최종 시점 모두에서, 간에서의 C3 mRNA의 감소는 투여량 의존적 방식으로 발생하는 것으로 관찰되었다(도 9). 치료 후 3일차에, 단일 투여량 PK 동물군에서의 간 C3 mRNA의 수준은 비히클 대조군에서의 C3 발현과 비교하여 유의미하게 감소하였다. 30 mg/kg siRNA 59로 치료한 동물에서, 간에서의 평균 C3 발현은 비히클 치료군에서의 유전자 발현의 3%였으며, 이는 30일차에 25%로 상승하였다. 치료 동물 중 어느 것도 연구 종료 30일차까지 C3 발현을 완전히 회복하지 못했다.
- [0551] 고찰: siRNA 59의 피하 투여 후, 혈장 내 C3 단백질 및 간 조직 내 C3 mRNA의 명확한 투여량 의존적 감소가 관찰되었다. 또한, 관찰된 투여량-반응은 siRNA 59를 단일 피하 볼투스로 3일의 과정에 걸쳐 매일 주사로 투여했을 경우 유사하였다. 29일차 및 30일차에, 간에서의 C3 혈장 단백질 농도 및 mRNA 발현은 각각 저 투여량군에서만 회복되었다.
- [0552] C3 혈장 단백질 수준 및 간 유전자 발현은 단일 투여량군 및 이들의 다회 투여량 등가물 사이의 모든 시점에서 유사하였다. 10 mg/kg 투여 후 C3 혈장 단백질 농도의 약 90% 감소에도 불구하고, 고 투여량 동물로부터의 혈청을 제외하고는, AP Wieslab 활성화의 변화는 어느 투여량군에서도 관찰되지 않았다. 어떤 치료군의 동물에서도 고통 또는 행동 변화의 징후가 관찰되지 않았고, TA 투여 후 체중 감소가 관찰되지 않았으며, 이는 본 연구에서 사용된 투여량이 내약성 측면에서 양호했음을 시사한다.
- [0553] 이러한 결과는 전신 순환 C3 단백질이 GalNAc-표지 siRNA 표적화 C3으로 치료한 후 투여량 의존적 방식으로 침묵화될 수 있음을 나타낸다.
- [0554] 균등물
- [0555] 당업자는 본원에 기술된 본 발명의 특정 구현예와 많은 균등물을 통상적인 실험을 사용하여 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 범주는 전술한 설명에 한정되는 것으로 의도되지 않고, 오히려 다음의 청구범위에 기재된 바와 같다.

도면

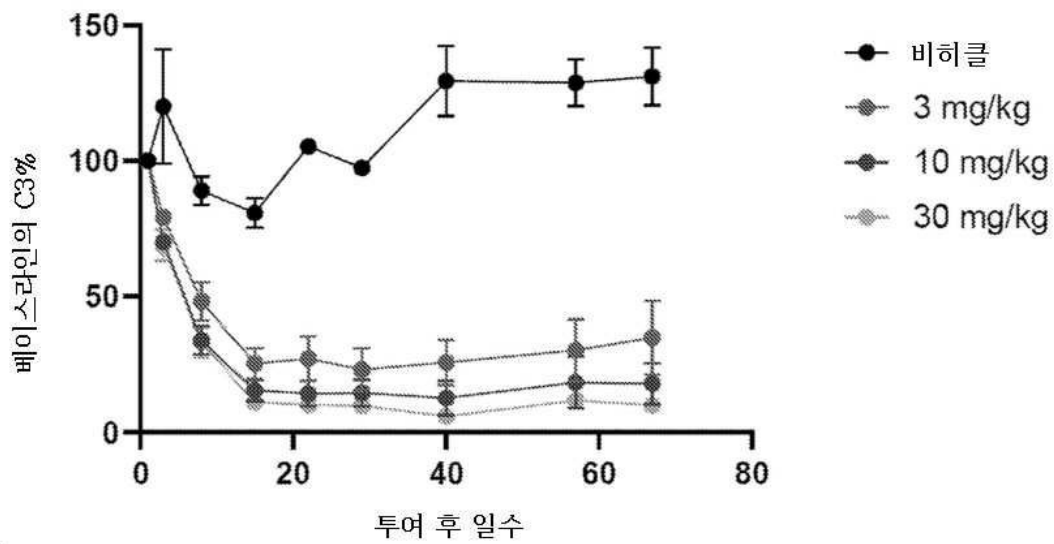
도면1

패턴 #	위치																			
1	SS			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				PS	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2F	2F	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM
	AS		PS	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS
		21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
2	SS			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				PS	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F
	AS		PS	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	PS
		21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
3	SS			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				PS	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F
	AS		PS	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	PS
		21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
4	SS			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				PS	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F	2OM	2F
	AS		PS	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS
		21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
5	SS			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				PS	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2F	2F	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM
	AS		PS	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2F	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	2OM	PS
		21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3

도면2

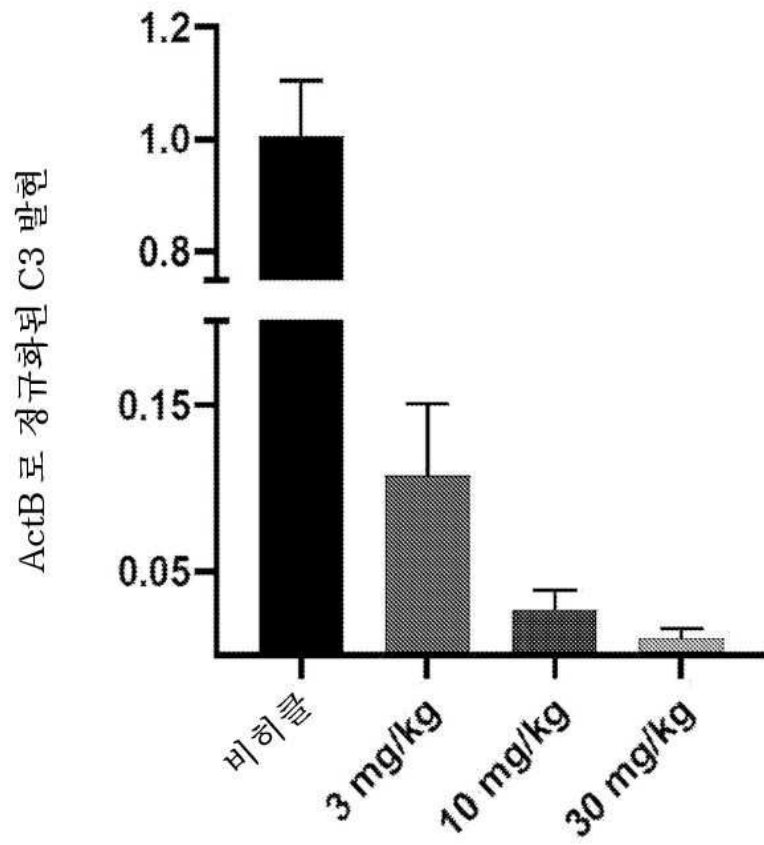


도면3



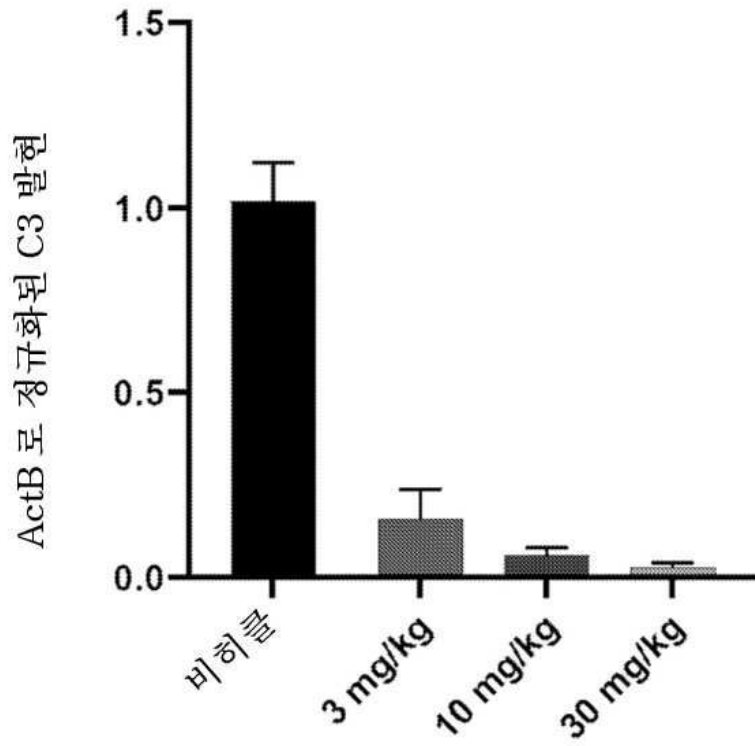
도면4

15 일차에서의 간 C3 mRNA 발현



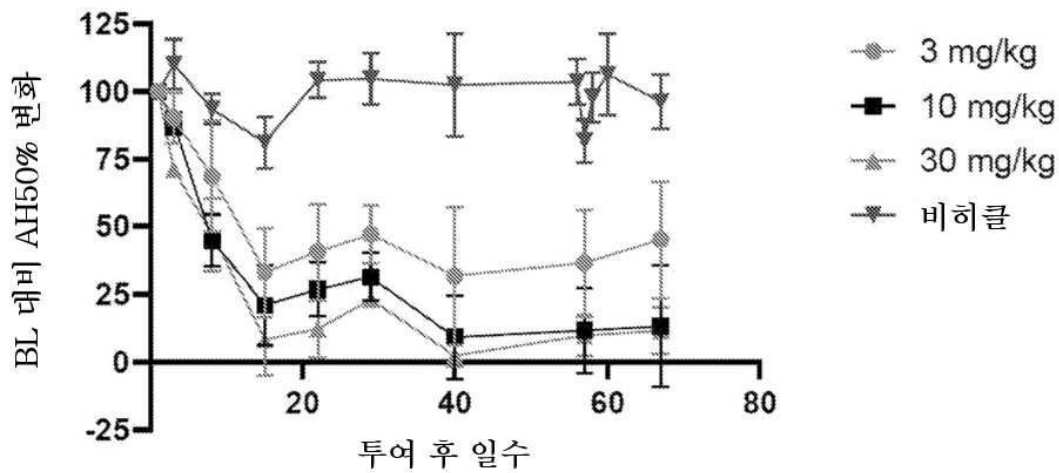
도면5

46 일차에서의 간 생검 C3 mRNA



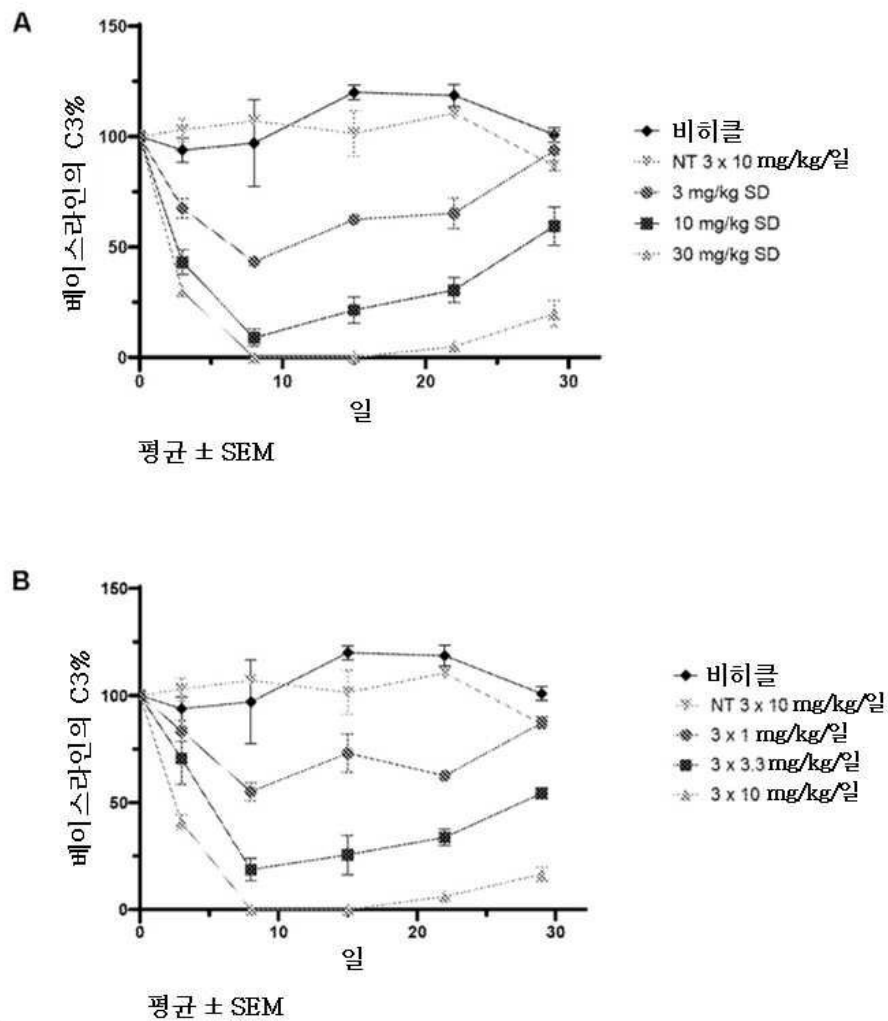
도면6

베이스라인-보정 AH50



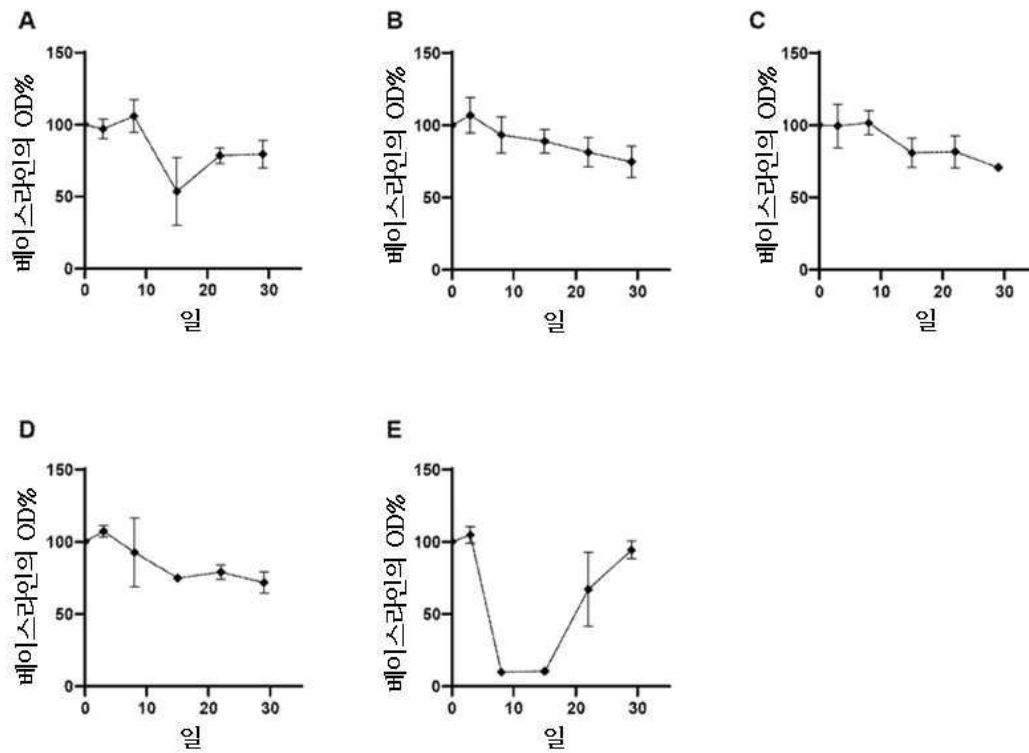
도면7

피하 투여 후 혈장 C3 농도의 변화



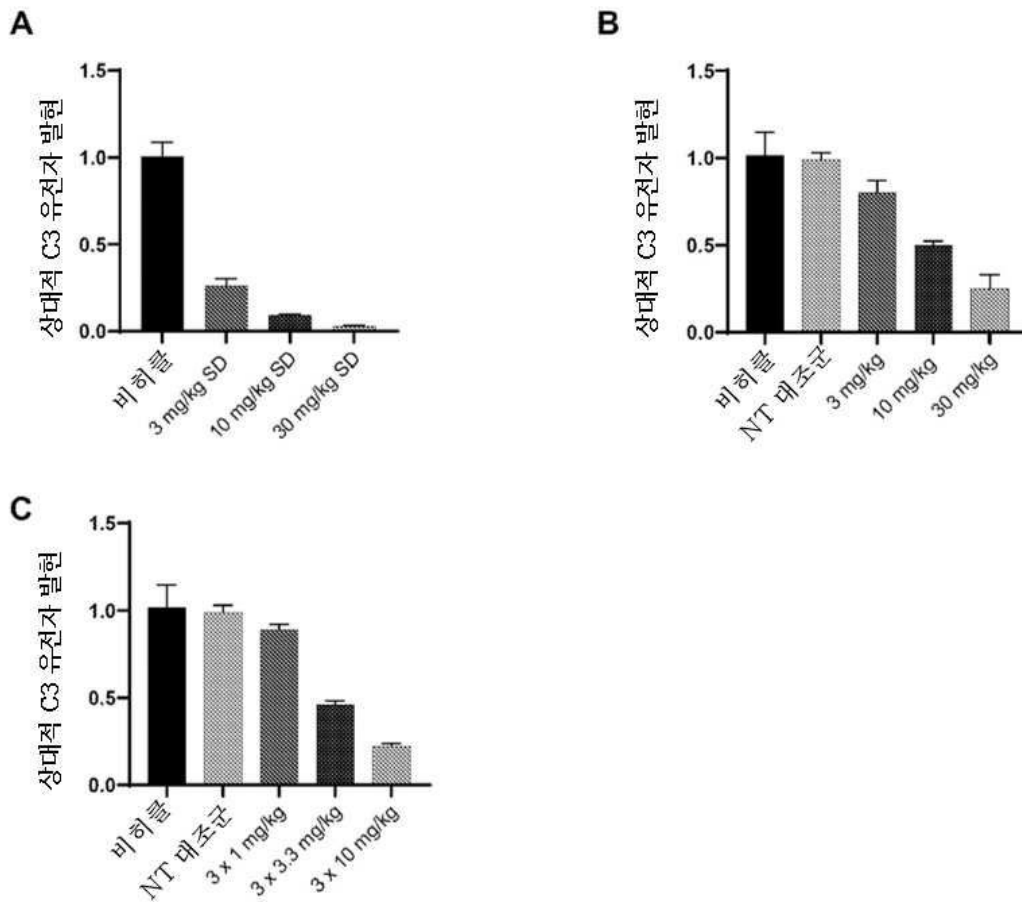
도면8

혈청 내 AP 보체 활성화의 측정



도면9

3 일차 및 30 일차에서의 간 조직 내 C3 mRNA 수준



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> APELLIS PHARMACEUTICALS, INC.

<120> RNAS FOR COMPLEMENT INHIBITION

<130> 2008575-0473

<140> PCT/US2021/018071

<141> 2021-02-13

<150> 63/062,321

<151> 2020-08-06

<150> 62/980,100

<151> 2020-02-21

<150> 62/977,012

<151> 2020-02-14

<160> 328

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> SITE

<222> (2)..(12)

<223> Disulfide bond

<400> 1

Ile Cys Val Val Gln Asp Trp Gly His His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<400> 5

000

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<400> 7

000

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term H

<220><223> C-term CONH2

<400> 8

Ile Cys Val Val Gln Asp Trp Gly His His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><223> C-term CONH2

<400> 9

Ile Cys Val Val Gln Asp Trp Gly His His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><223> C-term CONH2

<400> 10

Ile Cys Val Tyr Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><223> C-term COOH

<400> 11

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><223> C-term CONH2

<400> 12

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> d-Thr

<220><223> C-term COOH

<400> 13

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 14
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <220><223> N-term Ac
 <220><221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> 2-Nal
 <220><223> C-term CONH2
 <400> 14
 Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 15
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <220><223> N-term Ac
 <220><221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> 2-Nal
 <220><223> C-term COOH
 <400> 15
 Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 16
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 1-Nal

<220><223> C-term COOH

<400> 16

Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 2-Igl

<220><223> C-term CONH2

<400> 17

Ile Cys Val Gly Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 2-Igl

<220><223> C-term COOH

<400> 18

Ile Cys Val Gly Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Dht

<220><223> C-term COOH

<400> 19

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Bpa

<220><223> C-term COOH

<400> 20

Ile Cys Val Phe Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Bpa

<220><223> C-term CONH2

<400> 21

Ile Cys Val Phe Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Bta

<220><223> C-term COOH

<400> 22

Ile Cys Val Xaa Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 23

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Bta

<220><223> C-term CONH2

<400> 23

Ile Cys Val Xaa Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 24

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> 2-Abu

<220><223> C-term CONH2

<400> 24

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Xaa His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term H

<220><223> C-term COOH

<400> 25

Gly Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr Ala Asn

1 5 10 15

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 26

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 5-methyl-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 27

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 1-methyl-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 28

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 29

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 29

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 30

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 5f-Trp

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 30

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 5-methyl-Trp

<220

><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 31

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 1-methyl-Trp

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 32

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term H

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> 6f-Trp

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> 6f-Trp

<220><223> C-term COOH

<400> 33

Gly Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr Asn

1 5 10 15

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 1-formyl-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 34

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term Ac

<220><221> MOD_RES

<

222> (4)..(4)

<223> 1-methoxy-Trp

<220><223> C-term CONH2

<400> 35

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1 5 10

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><223> N-term H

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> 5f-Trp

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> 5f-Trp

<220><223> C-term COOH

<400> 36

Gly Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr Asn

1 5 10 15

<210> 37
<400> 37
000
<210> 38
<400> 38
000
<210> 39
<400> 39
000
<210> 40
<400> 40
000
<210> 41
<400> 41
000
<210> 42
<400> 42
000
<210> 43
<400> 43
000
<210> 44
<400> 44
000
<210> 45
<400> 45
000
<210> 46
<400> 46
000
<210> 47
<400> 47
000
<210> 48
<400> 48
000

<210> 49
<400> 49
000
<210> 50
<400> 50
000
<210> 51
<400> 51
000
<210> 52
<400> 52
000
<210
> 53
<400> 53
000
<210> 54
<400> 54
000
<210> 55
<400> 55
000
<210> 56
<400> 56
000
<210> 57
<400> 57
000
<210> 58
<400> 58
000
<210> 59
<400> 59
000
<210> 60

<400> 60
000
<210> 61
<400> 61
000
<210> 62
<400> 62
000
<210> 63
<400> 63
000
<210> 64
<400> 64
000
<210> 65
<400> 65
000
<210> 66
<400> 66
000
<210> 67
<400> 67
000
<210> 68
<400> 68
000
<210> 69
<400> 69
000
<210> 70
<400> 70
000
<210> 71
<400>
> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 73

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

1 5 10

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 74

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

1 5 10 15

Thr

<210> 75

<211> 5148

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 75

agauaaaaag ccagcuccag caggcgcugc ucacuccucc ccauccucuc ccucuguccc 60

ucugucccuc ugaccucgca cugucccagc accaugggac ccaccucagg ucccagccug 120

cugcuccugc uacuaacca ccucucccug gcucugggga gucccaugua cucuauc 180

acccccaaca ucuugcggu ggagagcgag gagaccaugg ugcuggaggc ccacgacgcg 240

caaggggaug uuccagucac uguuacuguc cagcacuucc caggcaaaaa acuagugcug 300

uccagugaga agacugugcu gacccugcc accaaccaca ugggcaacgu caccuucacg	360
auccagcca acaggaguu caagucagaa aagggcgca acaaguucgu gaccgugcag	420
gccaccuucg ggacccaagu gguggagaag guggugcugg ucagccugca gagcgguac	480
cucucaucc agacagacaa gaccaucac accccugcu ccacaguucu cuaucggauc	540
uucaccguca accacaagcu gcuaccgug ggccggacgg ucauggucaa cauugagaac	600
ccggaaggca ucccgucaa gcaggacucc uugucuucuc agaaccagcu uggcgucuug	660
cccuugucuu gggacauucc ggaacucguc acaugggcc aguggaagau ccgagccuac	720
uaugaaaacu caccacagca ggucuucucc acugaguug aggugaagga guacgugcug	780
cccaguuucg aggucauagu ggagccuaca gagaaauucu acuacauca uacgagaag	840
ggccuggagg ucaccaucac cgccagguuc cucuacggga agaaagugga gggaacugcc	900
uuugucaucu ucgggaucca ggauggcgaa cagaggauuu ccugccuga auccucaag	960
cgcauuccga uugaggauug cucgggggag guugugcuga gccggaaggu acugcggac	1020
ggggugcaga acccccgagc agaagaccug guggggaagu cuuuguacgu gucugccacc	1080
gucaucuugc acucaggcag ugacauggug caggcagagc gcagcgggau cccaucgug	1140
accucuccu accagaucca cuucaccaag acaccaagu acuucaaacc aggaugccc	1200
uuugaccuca ugguguucgu gacgaaccu gauggcucuc cagccuaccg agucccgug	1260
gcaguccagg gcgaggacac ugugcagucu cuaaccagg gagauggcgu ggccaaacuc	1320
agcaucaaca cacacccag ccagaagccc uugagcauca cggugcgac gaagaagcag	1380
gagcucucgg aggcagagca ggcuaccagg accaugcagg cucugccua cagcaccgug	1440
ggcaacucca acauuuaccu gcaucucua gugcuacua cagagcucag acccgggag	1500
accucaacg uacaauuccu ccugcgaaug gaccgcgcc acgaggccaa gauccgcuac	1560
uacaccuacc ugaucaugaa caaggcgagg cuuugaagg cgggacgcca ggugcgagag	1620
cccggccagg accugguugu gcugccccug uccaucacca ccgacucau ccuuccuuc	1680
cgccuggugg cguacuacac gcugaucggu gccagcggcc agagggaggu ggugccgac	1740
uccguguggg uggacgucaa ggacuccugc gugggcucgc ugguguaaa aagcgccag	1800
ucagaagacc ggcagccugu accugggcag cagaugacc ugaagauaga gggugaccac	1860
ggggccggg ugguaucgu ggccguggac aaggcgugu ucgugcugaa uaagaagaac	1920
aaacugacgc agaguaagau cugggacgug guggagaagg cagacaucgg cugcaccg	1980
ggcaguggga aggauuacgc cggugucuuc uccgacgcag ggcugaccuu cagcagcagc	2040

aguggccagc agaccgcca gagggcagaa cuucagugcc cgcagccagc gccccgccga	2100
cggcguuccg ugcagcucac ggagaagcga auggacaaag ucggcaagua cccaaggag	2160
cugcgcaagu gcugcgagga cggcaugcgg gagaaccca ugagguucuc gugccagcgc	2220
cggacccguu ucaucuccu gggcgaggcg ugcaagaagg ucuuccugga cugcugcaac	2280
uacaucacag agcugcgcg gcagcacgcg cgggccagcc accugggccu ggccaggagu	2340
aaccuggaug aggacaucau ugcagaagag acaucguuu cccgaaguga guucccagag	2400
agcuggcugu ggaacguuga ggacuugaaa gagccaccga aaauggaau cucuacgaag	2460
cucaugaaua uuuuuugaa agacuccauc accacguggg agauucuggc ugugagcaug	2520
ucggacaaga aagggaucug uguggcagac cccuucgagg ucacaguaau gcaggacuuc	2580
uucaucgacc ugcggcuacc cuacucuguu guucgaaacg agcaggugga aauccgagcc	2640
guucucuaca auuaccgga gaaccaagag cucaagguga ggguggaacu acuccacaa	2700
ccagccuucu gcagccuggc caccaccaag aggcgucacc agcagaccgu aaccaucucc	2760
ccaaguccu cguuguccgu uccauauguc aucgugccgc uaaagaccgg ccugcaggaa	2820
guggaaguca aggcugcugu cuaccaucau uucaucagug acggugucag gaaguccug	2880
aaggucgugc cggaaggau cagaauaac aaaacugugg cuguucgcac ccuggaucca	2940
gaacgccugg gccgugaagg agugcagaaa gaggacaucc caccugcaga ccucagugac	3000
caaguccgg acaccgaguc ugagaccaga auuuccugc aagggacccc aguggcccag	3060
augacagagg augccgucga cgcggaacgg cugaagcacc ucauugugac cccucgggc	3120
ugcggggaac agaacaugau cggcaugacg cccacgguca ucgcugugca uuaccuggau	3180
gaaacggagc agugggagaa guucggccua gagaagcggc agggggccuu ggagcucauc	3240
aagaaggguu acaccagca gcuggccuuc agacaacca gcucugccuu ugcggccuuc	3300
gugaaacggg caccagcac cuggcugacc gccuacugg ucaaggucuu cucucuggeu	3360
gucaaccuca ucgccaucga cuccaaguc cucugcgggg cuguuaaau gcugauccug	3420
gagaagcaga agcccagcg ggucuccag gaggaugcgc ccgugauaca ccaagaaug	3480
auugguggau uacggaacaa caacgagaaa gacauggccc ucacggccuu uguucucauc	3540
ucgcugcagg aggcuaaaga uauuugcgag gagcagguca acagccugcc aggcagcauc	3600
acuaaagcag gagacuuccu ugaagccaac uacauaacc uacagagauc cuacacugug	3660
gccauugcug gcuaugcucu ggcccagau ggagggcuga aggggccucu ucuaacaaa	3720
uuucugacca cagccaaaga uaagaaccgc ugaggaggacc cugguaagca gcucuacaac	3780
guggaggcca cauccaugc ccucuggcc cuacugcagc uaaaagacuu ugacuuugug	3840
ccuccgucg ugcguugcu caaugaacag agauacuacg guggugcua uggcucuacc	3900

caggccaccu ucaugguguu ccaagccuug gcucaauacc aaaaggacgc cccugaccac	3960
caggaacuga accuugaugu gucccuccaa cugcccagcc gcagcuccaa gaucacccac	4020
cguauccacu gggaaucugc cagccuccug cgaucagaag agaccaagga aaaugagggu	4080
uucacaguca cagcugaagg aaaaggccaa ggcaccuugu cgguggugac aauguaccu	4140
gcuaaggcca aagaucacu caccuguaau aaauucgacc ucaaggucac cauaaaacca	4200
gcaccggaaa cagaaaagag gccucaggau gccaagaaca cuaugauccu ugagaucugu	4260
accagguacc ggggagacca ggaugccacu augucuauau uggacauauc caugaugacu	4320
ggcuuugcuc cagacacaga ugaccugaag cagcuggcca augguuguaga cagauacauc	4380
uccaaguau agcuggacaa agccuuccc gauaggaaca cccucaucau cuaccuggac	4440
aaggucucac acucugagga ugacugucua gcuuucuaag uucaccaua cuuuaua	4500
gagcuuaucc agccuggagc agucaagguc uacgccuauu acaaccugga ggaaagcugu	4560
acccgguucu accauccgga aaaggaggau ggaaagcuga acaagcucug ccgugaugaa	4620
cugugccgcu gugcugagga gaauugcuuc auacaaaagu cggaugacaa gguacccug	4680
gaagaacggc uggacaaggc cugugagcca ggaguggacu auguguacaa gacccgacug	4740
gucaagguuc agcuguccaa ugacuuugac gaguacauca uggccauuga gcagaccauc	4800
aagucaggcu cggaugaggu gcagguugga cagcagcgca cguucaucag ccccaucaag	4860
ugcagagaag ccugaagcu ggaggagaag aaacacuacc ucaugugggg ucucuccucc	4920
gauuucuggg gagagaagcc caaccucagc uacauaucg ggaaggacac uuggguggag	4980
cacugcccg aggaggacga augccaagac gaagagaacc agaaacaug ccaggaccuc	5040
ggcgccuua ccgagagcau gguugucuuu ggugcccca acugaccaca ccccauucc	5100
cccacuccag auaaagcuuc aguuauaucu caaaaaaaaa aaaaaaaaa	5148
<210> 76	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 76	
ucaacucacc uguaauaa	18
<210> 77	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 77	

aggaugccac uaugucua	18
<210> 78	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 78	
cuugaagcca acuacaug	18
<210> 79	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 79	
uccaagccuu ggcucaau	18
<210> 80	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 80	
agucaagguc uacgccua	18
<210> 81	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 81	
aaacuguggc uguucgca	18
<210> 82	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 82	
ugagaucugu accaggua	18
<210> 83	
<211> 18	

<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 83	
cuuuguucuc aucucgcu	18
<210> 84	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 84	
aucggaucuu caccguca	18
<210> 85	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 85	
ucaacuuccu ccugcgaa	18
<210> 86	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 86	
cgugcugccc aguuucga	18
<210> 87	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 87	
auaggaacac ccucauca	18
<210> 88	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 88	
uggucaaggu cuucucuc	18

<210> 89
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 89
 gcaacuccaa caauuacc 18

<210> 90
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 90
 ccuuugucan cuucggga 18

<210> 91
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 91
 caaugacuuu gacgagua 18

<210> 92
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 92
 acgacuuccc aggcaaaa 18

<210> 93
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 93
 gaacagagau acuacggu 18

<210> 94
 <211> 18
 <212> RNA

<213> Homo sapiens	
<400> 94	
guuucgaggu cauagugg	18
<210> 95	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 95	
aaugaacaga gauacuac	18
<210> 96	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 96	
agcuaaaaga cuuugacu	18
<210> 97	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 97	
ccaacuacau gaaccuac	18
<210> 98	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 98	
cuacucuguu guucgaaa	18
<210> 99	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 99	
gugcguuggc ucaaugaa	18
<210> 100	

<211> 18

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 100

cuccugcgaa uggaccgc 18

<210> 101

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 101

uuauuacagg ugaguuga 18

<210> 102

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 102

uagacauagu ggcauccu 18

<210> 103

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 103

cauguaguug gcuucaag 18

<210> 104

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 104

auugagccaa ggcuugga

18

<210> 105

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 105

uaggcguaga ccuugacu

18

<210> 106

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 106

ugcgaacagc cacaguuu

18

<210> 107

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 107

uaccugguac agaucuca

18

<210> 108

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 108

agcgagauga gaacaaag 18

<210> 109

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 109

ugacggugaa gaucgga 18

<210> 110

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 110

uucgcaggag gaaguuga 18

<210> 111

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 111

ucgaaacugg gcagcacg 18

<210> 112

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 112

ugaugagggu guuccuau	18
<210> 113	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 113	
gagagaagac cuugacca	18
<210> 114	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 114	
gguaauuguu ggaguugc	18
<210> 115	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 115	
ucccgaa gau gacaaagg	18
<210> 116	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 116	
uacucgucaa agucauug	18

<210> 117	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 117	
uuuugccugg gaagucgu	18
<210> 118	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 118	
accguaguau cucuguuc	18
<210> 119	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 119	
ccacuaugac cucgaaac	18
<210> 120	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 120	
guaguaucuc uguucauu	18
<210> 121	

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 121

agucaaaguc uuuuagcu 18

<210> 122

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 122

guagguucau guaguugg 18

<210> 123

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 123

uuucgaacaa cagaguag 18

<210> 124

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 124

uucauugagc caacgcac 18

<210> 125

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 125

gcgguccauu cgcaggag 18

<210> 126

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 126

ucaacucacc uguaauaaa 19

<210> 127

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 127

aggauGCCac uauGucuaa 19

<210> 128

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 128

cuugaagcca acuacauga 19

<210> 129

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 129

uccaagccuu ggcuaaau

19

<210> 130

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 130

agucaagguc uacgccuaa

19

<210> 131

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 131

aaacuguggc uguucgcaa

19

<210> 132

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 132

ugagaucugu accagguaa

19

<210> 133

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 133
 cuuuguucuc aucucgcu 19
 <210> 134
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 134
 aucggaucuu caccgucaa 19
 <210> 135
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 135
 ucaacuuccu ccugcgaaa 19
 <210> 136
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 136
 cgugcugccc aguuucgaa 19
 <210> 137
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 137
auaggaacac ccucacaa 19
<210> 138
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 138
uggucaaggu cuucucua 19
<210> 139
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 139
gcaacuccaa caauuacca 19
<210> 140
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 140
ccuuugucau cuucgggaa 19
<210> 141
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 141

caaugacuuu gacgaguaa	19
<210> 142	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 142	
acgacuuccc aggcaaaaa	19
<210> 143	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 143	
gaacagagau acuacggua	19
<210> 144	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 144	
guuucgaggu cauagugga	19
<210> 145	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 145	
aaugaacaga gauacuaca	19

<210> 146
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 146
 agcuaaaaga cuuugacua 19
 <210> 147
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 147
 ccaacuacau gaaccuaca 19
 <210> 148
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 148
 cuacucuguu guucgaaaa 19
 <210> 149
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 149
 gugcguuggc ucaaugaaa 19
 <210> 150
 <211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 150

cuccugcgaa uggaccgca

19

<210> 151

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 151

uuauuacagg ugaguugauu

20

<210> 152

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 152

uagacauagu ggcauccuuu

20

<210> 153

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 153

cauguaguug gcuucaaguu

20

<210> 154

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 154

auugagccaa ggcuggauu

20

<210> 155

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 155

uaggcguaga ccuugacuuu

20

<210> 156

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 156

ugcgaacagc cacaguuuuu

20

<210> 157

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 157

uaccugguac agaucucauu

20

<210> 158

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 158
agcgagauga gaacaaaguu 20
<210> 159
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 159
ugacggugaa gauccgauuu 20
<210> 160
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 160
uucgcaggag gaaguugauu 20
<210> 161
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 161
ucgaaacugg gcagcacguu 20
<210> 162
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 162

ugaugagggu guuccuauuu 20

<210> 163

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 163

gagagaagac cuugaccauu 20

<210> 164

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 164

gguaauuguu ggaguugcuu 20

<210> 165

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 165

ucccgaagau gacaaagguu 20

<210> 166

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 166

uacucgucaa agucauuguu	20
<210> 167	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 167	
uuuugccugg gaagucguuu	20
<210> 168	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 168	
accguaguau cucuguucuu	20
<210> 169	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 169	
ccacuaugac cucgaaacuu	20
<210> 170	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 170	
guaguaucuc uguucauuuu	20

<210> 171
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 171
 agucaaaguc uuuuagcuuu 20

<210> 172
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 172
 guagguucau guaguugguu 20

<210> 173
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 173
 uuucgaacaa cagaguaguu 20

<210> 174
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 174
 uucaugagc caacgcacuu 20

<210> 175

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 175

gcgguccauu cgcaggaguu 20

<210> 176

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 176

uuuauuacag gugaguugau u 21

<210> 177

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 177

uuagacauag uggaucuu u 21

<210> 178

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 178

ucauguaguu ggcuucaagu u 21

<210> 179

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 179

uauugagcca aggcuggau u 21

<210> 180

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 180

uuaggcguag accuugacuu u 21

<210> 181

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 181

uugcgaacag ccacaguuuu u 21

<210> 182

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 182

uuaccuggua cagaucucu u 21

<210> 183

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 183

uagcgagaug agaacaaagu u 21

<210> 184

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 184

uugacgguga agauccgauu u 21

<210> 185

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 185

uuucgcagga ggaaguugau u 21

<210> 186

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 186

uucgaaacug ggcagcacgu u 21

<210> 187

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 187
uugaugaggg uguuccuauu u 21

<210> 188
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 188
ugagagaaga ccuugaccu u 21

<210> 189
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 189
ugguaauugu uggaguugcu u 21

<210> 190
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 190
uuccccaaga ugacaaaggu u 21

<210> 191
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 191

uuacucguca aagucuuugu u 21

<210> 192

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 192

uuuuugccug ggaagucguu u 21

<210> 193

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 193

uaccguagua ucucuguucu u 21

<210> 194

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 194

uccacuauga ccucgaaacu u 21

<210> 195

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 195
 uguaguaucu cuguucauuu u 21
 <210> 196
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 196
 uagucaaagu cuuuuagcuu u 21
 <210> 197
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 197
 uguagguuca uguaguuggu u 21
 <210> 198
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 198
 uuuucgaaca acagaguagu u 21
 <210> 199
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 199

uuucauugag ccaacgcacu u 21

<210> 200

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 200

ugcgguccau ucgcaggagu u 21

<210> 201

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 201
 ucaacucacc uguaauaaa
 <210> 202
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage

 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)

19

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222
 > (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 202
 uuuauuacag gugaguugau u
 <210> 203
 <211> 19
 <212> RNA

21

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 203

aggaugccac uaugucuaa

19

<210> 204

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 204

uuagacauag uggaucuu u

21

<210> 205

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220
 ><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 205
 cuugaagcca acuacauga

19

<210> 206
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 <221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 206

ucauguaguu ggcuucaagu u

21

<210> 207

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 207

uccaagccuu ggcuaaau

19

<210> 208

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <
 222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 208
 uauugagcca aggcuggau u
 <210> 209
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

21

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 209

agucaagguc uacgccuaa

<210> 210

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 210
 uuaggcguag accuugacuu u

21

<210> 211
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 211

aaacuguggc uguucgcaa

19

<210> 212

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 ><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 212

uugcgaacag ccacaguuuu u

21

<210> 213

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 213

ugagaucugu accagguaa

19

<210> 214

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 214
 uuaccuggua cagaucucau u
 <210> 215
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)

21

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 215
 cuuuguucuc aucucgcu
 <210> 216
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature

<

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 216

uagcgagaug agaacaaagu u

21

<210> 217

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 217

aucggaucuu caccgucaa

19

<210> 218

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222>

(12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 218

uugacgguga agauccgauu u

21

<210> 219

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 219

ucaacuuccu ccugcgaaa

19

<210> 220

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 220

uuucgcagga ggaaguugau u

21

<210> 221

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 221

cgugcugccc aguuucgaa

19

<210> 222
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 222

uucgaaacug ggcagcacgu u

21

<210> 223

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 223
 auaggaacac ccucacaa
 <210> 224
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

 <220><221> misc_feature

19

<222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <
 222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 224
 uugaugaggg uguuccuauu u

<210> 225
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)

 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 225

uggucaaggu cuucucuca

19

<210> 226

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222>

(12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222

> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 226

ugagagaaga ccuugaccu u

21

<210> 227

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223>
 > 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 227
 gcaacuccaa caauuacca
 <210> 228
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <220><221> modified_base

19

<222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 ><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 228

ugguaauugu uggaguugcu u

21

<210> 229

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 229
 ccuuugucau cuucgggaa

19

<210> 230
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 230
 uucccgaaga ugacaaaggu u
 <210> 231
 <211> 19
 <212> RNA

21

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 231

caaugacuuu gacgaguua

19

<210> 232

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<

222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<

222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 232

uuacucguca aagucuuugu u

21

<210> 233

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)

 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 233
 acgacuuccc aggcaaaaa
 <210> 234
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature

19

<222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 234

uuuuugccug ggaagucguu u

21

<210> 235

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 235

gaacagagau acuacggua

19

<210> 236

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220

><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 236

uaccguagua ucucuguucu u

21

<210> 237

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 237

guuucgaggu cauagugga

19

<210> 238

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 238

uccacuauga ccucgaaacu u

21

<210> 239

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 239
 aaugaacaga gauacuaca
 <210> 240
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)

19

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <
 222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 240

uguaguaucu cuguucauuu u

21

<210> 241

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)

 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 241
 agcuaaaaga cuuugacua
 <210> 242
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)

19

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222>

(12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 242
 uagucaaagu cuuuuagcuu u

21

<210> 243
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 243
 ccaacuacau gaaccuaca
 <210> 244
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

19

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 244
 uguagguuca uguaguuggu u
 <210> 245
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)

21

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 245
 cuacucuguu guucgaaaa

19

<210> 246
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 246

uuuucgaaca acagaguagu u

21

<210> 247

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 247

gugcguuggc ucaaugaaa

19

<210> 248

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <
 222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 248
 uuucauugag ccaacgcacu u
 <210> 249
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)

21

<223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 249

cuccugcgaa uggaccgca

19

<210> 250

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 250

ugcgguccau ucgcaggagu u 21

<210> 251

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 251

caacucaccu gaaauaaaau u 21

<210> 252

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> pAdenine

<400> 252

auuuauuaca ggugaguugu u 21

<210> 253

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 253

gagccguucu cuacaauuau u

21

<210> 254

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> pUracil

<400> 254

uaauuguaga gaacggcucu u

21

<210> 255

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220
 ><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <400> 255
 ucaacucacc uguaauaaa
 <210> 256
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)

19

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 ><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 256

uuuauuacag gugaguugau c

21

<210> 257

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223>
 > Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 257
 uuuauuacag gugaguugau c
 <210> 258
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)

21

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <
 223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 258

uuuauuacag gugaguugau c

21

<210> 259

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 <221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <400> 259
 uccaagccuu ggcucaaua
 <210>
 260
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

19

<222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221>
 > modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221>
 > modified_base

<222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature

 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 260
 uauugagcca aggcuuggaa c
 <210> 261
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

21

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223
 > 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 261

uauugagcca aggcugggaa c

21

<210> 262

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<

222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 262

uauugagcca aggcuggaa c

21

<210> 263

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222>

(2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <
 220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 263

uugacgguga agauccgaua g

21

<210> 264

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

<221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222
 > (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <400> 264
 aucggaucuu cacgucuaa
 <210> 265
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)

19

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (6)..(6)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)

 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223>
 > 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 265
 uugacgguga agauccgaua g

21

<210> 266
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221>

> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 266

uugacgguga agaucgga g

<210> 267

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

21

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 ><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220>
 ><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 267
 uuucgcagga ggaaguugac g
 <210> 268
 <211
 > 19
 <212> RNA

21

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (11)..(11)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (13)..(13)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (15)..(15)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222>
 > (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (19)..(19)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<400> 268

ucaacuuccu ccugcgaaa

19

<210> 269

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220>

<221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222>

> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 269

uuucgcagga ggaaguugac g

21

<210> 270

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222
 > (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 270

uuucgcagga ggaaguugac g

21

<210> 271

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 271

uuacucguca aagucauugg a

21

<210> 272

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220>

<221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<400> 272

caaugacuuu gacgaguua

<210>

273

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

19

<223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 > (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 273

uuacucguca aagucuuagg a

21

<210> 274

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222>

> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222>
 (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 274

uuacucguca aagucuuagg a

21

<210> 275

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <
 222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 275

uguagguuca uguaguuggc u

21

<210> 276

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221>
 > modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <400> 276

ccaacuacau gaaccuaca

19

<210> 277
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223>
 Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (4)..(4)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220>
 <221> modified_base

<222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base

 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 277
 uguagguuca uguaguuggc u
 <210> 278
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

21

<220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (5)..(5)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (7)..(7)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (8)..(8)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base

<222> (9)..(9)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <
 223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(21)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 278
 uguagguuca uguaguuggc u

21

<210> 279
 <400> 279
 000
 <210> 280
 <400> 280
 000
 <210> 281
 <400> 281
 000
 <210> 282
 <400> 282
 000
 <210> 283
 <400> 283
 000
 <210> 284
 <400> 284
 000
 <210> 285
 <400> 285
 000
 <210> 286
 <400> 286

000

<210> 287

<400> 287

000

<210> 288

<400> 288

000

<210> 289

<400> 289

000

<210> 290

<400> 290

000

<210> 291

<400> 291

000

<210> 292

<400> 292

000

<210> 293

<400> 293

000

<210> 294

<400> 294

000

<210> 295

<400> 295

000

<210>

> 296

<400> 296

000

<210> 297

<400> 297

000

<210> 298
 <400> 298
 000
 <210> 299
 <400> 299
 000
 <210> 300
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 300
 uuuuuuacag gugaguugau c 21
 <210> 301
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 301
 uuagacauag uggcauccug g 21

 <210> 302
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 302
 ucauguaguu ggcuucaagg a 21
 <210> 303
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 303

uauugagcca aggcugggaa c 21

<210> 304

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 304

uuaggcguag accuugacug c 21

<210> 305

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 305

uugcgaacag ccacaguuuu g 21

<210> 306

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 306

uuaccuggua cagaucuaa g 21

<210> 307

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 307

uagcgagaug agaacaaagg c 21

<210> 308

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 308

uugacgguga agauccgaua g 21

<210> 309

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 309

uuucgcagga ggaaguugac g 21

<210> 310

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 310

uucgaaacug ggcagcacgu a 21

<210> 311

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 311	
uugaugaggg uguuccuauc g	21
<210> 312	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 312	
ugagagaaga ccuugaccac g	21
<210> 313	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 313	
ugguaauugu uggaguugcc c	21
<210> 314	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 314	
uucccgaga ugacaaaggc a	21
<210> 315	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 315	

uuacucguca aagucauugg a	21
<210> 316	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 316	
uuuuugccug ggaagucgug g	21
<210> 317	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 317	
uaccguagua ucucuguuca u	21
<210> 318	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 318	
uccacuauga ccucgaaacu g	21
<210> 319	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide	
<400> 319	
uguaguaucu cugucauug a	21

<210> 320

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 320

uagucaaagu cuuuuagcug c 21

<210> 321

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 321

uguagguuca uguaguuggc u 21

<210> 322

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 322

uuuucgaaca acagaguagg g 21

<210> 323

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 323

uuucauugag ccaacgcacg a 21

<210> 324

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 324

ugcgguccau ucgcaggagg a

21

<210> 325

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (10)..(10)

 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(18)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(19)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 325
 ccaacuacau gaaccuaca

19

<210> 326
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (2)..(2)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (15)..(15)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-Fluoro modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(18)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (18)..(18)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(19)
 <223> Phosphorothioate linkage
 <220><221> modified_base
 <222> (19)..(19)
 <223> 2'-O-Methyl modified nucleotide
 <400> 326

uccaagccuu ggcuaaau

19

<210> 327
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (3)..(3)

<223>

> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (5)..(5)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (7)..(7)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (8)..(8)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (9)..(9)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (10)..(10)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (12)..(12)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (13)..(13)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (14)..(14)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (15)..(15)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (16)..(16)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> 2'-Fluoro modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(18)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (18)..(18)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(19)

<223> Phosphorothioate linkage

<220><221> modified_base

<222> (19)..(19)

<223> 2'-O-Methyl modified nucleotide

<400> 327

ucaacucacc uguaauaaa

19

<210> 328

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 328

Ile Cys Val Trp Glu Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1

5

10